

**REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**Université Mentouri de Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et de Physiologie Animale**

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister

En Toxicologie Cellulaire

Thème

**Effet toxicologique de quelques
plantes algériennes**

Par :

M^{me} MAAMERI ép^{se} HABIBATNI ZINEB

Devant le jury :

Président : KHELIFI D	Prof. Unv. Constantine	Faculté des Sciences
Rapporteur : HAMDI-PACHA Y	Prof. Unv. Constantine.	Faculté des Sciences
Examineur : ZAGHDAR M	Prof. Unv. Constantine.	Faculté de Médecine
Examineur : BELKHIRI A	M.C. Unv. Constantine	Faculté de Médecine

Année Universitaire : 2008-2009

REMERCIEMENTS

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A **Dieu tout puissant** qui a permis que je sois ce que je suis aujourd'hui. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuille toujours diriger mes pas.

A Monsieur **HAMDI- PACHA** Professeur au Département des Sciences Vétérinaires d'El Khroub. Tout au long de ce travail vous nous avez donné la confirmation de votre connaissance du domaine pharmacotoxicologie. Votre dévouement pour la recherche et votre rigueur scientifique sont connus de tous. Veuillez trouver dans cet ouvrage l'expression de mes remerciements les plus chaleureux et mes plus profonds respects.

A Monsieur **D.KHELIFI** Professeur à l'Université de Constantine et responsable du laboratoire de recherche Biochimie Génétique. Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury. Votre dévouement pour l'enseignement, la recherche et votre rigueur scientifique ne sont plus à démontrer. Veuillez trouver par ces quelques mots Monsieur le Professeur, l'expression de notre profonde reconnaissance et nos remerciements les plus chaleureux.

A Monsieur **M. ZAGHDAR** Professeur à l'Université de Constantine. Notre maître et juge. C'est un réel plaisir pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury. Votre simplicité dans l'art de transmettre la connaissance nous a largement convaincu. Veuillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect.

A Monsieur **A.BELKHIRI** Maître de conférence à l'Université de Constantine, Faculté de Médecine. C'est pour nous un grand plaisir que vous ayez accepté d'être membre de ce jury. Votre courage et votre détermination pour la recherche et l'enseignement font de vous un exemple exceptionnel à suivre. Veuillez trouver ici notre profonde reconnaissance.

Je remercie vivement, pour leur précieuse aide et leur assistance Melle **K.BEROUAL**, **K.KOHIL** et **W.ABDELAZIZ** maîtres assistantes à l'Université de Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Toute ma gratitude va également à Monsieur **A.HAMEDECHI** et Madame **F.MESSACI** pour leur contribution efficace aux études statistiques de cette recherche.

Ma reconnaissance va également à tout le personnel du laboratoire de biochimie CHU de Constantine surtout Mme **N.KOUIDER**, ainsi que le personnel du laboratoire d'Anapathologie de la clinique rénale **DAKSI**, Constantine.

Dédicaces

Je dédie mon modeste travail :

A la mémoire de ceux qui n'ont pas pu partager avec moi cet instant de bonheur et de joie ; A mon père et A ma mère que dieu les bénissent.

A mon cher époux pour sa disponibilité son soutien moral et surtout sa patience.

A mes très chers enfants : Amira, Yasser et Amani que j'adore.

A toute la famille MAAMERI, à toute la famille HABIBATNI, surtout ma belle mère HALIMA que dieu la garde.

A toute l'équipe du laboratoire de recherche pharmaco-toxicologie (département des sciences vétérinaire ; UMC) : Mesdames : Djaalab, Riachi et Serrakta, ainsi que Messieurs: Djerrou et Boukeloua.

A toutes mes amies: Amina, Ilhem, Linda, Nacéra, Malika et Mimi.

A tout le personnel administratif et technique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Constantine.

LEXIQUE DES ABREVIATIONS

Al	: albumine
ALAT	: alanine aminotransférase
ASAT	: aspartate aminotransférase
B.E.E	: Bio Enhanced Extraction.
°C	: degré Celsius
cm	: centimètre
Conj	: conjonctive
Créa	: créatinine
C.P.S	: code de la santé publique
Cyt	: cytochrome
D.C.I	: dénomination commune internationale
D.H.E.A	: déhydroépiandrostérone
DL	: dose létale
Eryt	: érytème
g	: gramme
Gly	: glycémie
I.O.I	: Indice d'Irritation Oculaire
I.I.P.C	: Indice d'Irritation Primaire cutanée
J O	: journal officiel de la république française
Kg	: kilogramme
Lp	: lapin
l	: litre
m	: mètre
μ	: micro
μm	: micromètre
mg	: milligramme
ml	: millilitre
nm	: nanomètre
mn	: minute
Oede	: œdème
ORL	: OphtalmoRhinoLaryngée
%	: pourcentage
Prot	: protides totaux
UI	: unité internationale
Ur	: urée
UV	: ultraviolet
TGO	: transaminase glutamique oxaloacétique
TGP	: transaminase glutamique pyruvate
<	: inférieure
>	: supérieure
V.L.D.L	: very low density lipoprotein

Liste des illustrations

Tableaux

Tableau 1 : Propriétés des principes actifs

Tableau 2: Forme galénique les plus courantes

Tableau 3: Principales iso enzymes du cytochrome P450 humain impliquées dans le métabolisme des médicaments (listes des molécules non exhaustives).

Tableau 4 : Résultats de l'irritation oculaire du ZAY3

Tableau 5 : Détermination des indices d'irritation oculaire

Tableau 6 : Résultats de l'indice d'irritation primaire cutanée du ZAY3

Tableau 7 : Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée

Tableau 8: Données quantitatives relatives à l'étude de l'irritation cutanée par application itérative du ZAY3

Tableau 9 : Comparaison des moyennes entre lot témoin et le lot traité chez les lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 10: résultats de l'analyse de l'Urée (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 11: résultats de l'analyse de la TGP (ALAT) (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 12: résultats de l'analyse de la glycémie (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 13 : résultats de l'analyse de la créatinine (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 14: résultats de l'analyse de la TGO (ASAT) (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 15 : résultats de l'analyse de l'albumine (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

Tableau 16: résultats de l'analyse des protides totaux (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

-

Figures

Fig. 1 : Diverses formes d'utilisation des plantes médicinales.

Fig. 2 : Variation de l'urée chez les traités et les témoins.

Fig. 3 : Variation de la TGP chez les traités et les témoins.

Fig. 4 : Variation de la (Gly), chez les traités et les témoins.

Fig. 5 : Variation de la (Créa) chez les traités et les témoins.

Fig. 6 : Variation de la TGO chez les traités et les témoins.

Fig. 7 : Variation de (Alb) chez les lapins traités et les témoins.

Fig. 8: Variation des (Prot) chez les traités et les témoins.

Images

Image 1 : fleur de *Chamonilla recutita*

Image 2: feuille et gel d'*Aloé vera*

Image 3: racines d'*Astragalus membranaceus*

Image 4: racines de *Discorea villosa*

Image 5: fruit d'*Ananas comosus*

Photos :

Photo 1 : Micrographie du foie en coupe transversale (G:40X10) (original)

Photo 2: Micrographie de la muqueuse rectale en coupe transversale (G:40X10) (original)

Photo 3 : Micrographie de la peau en coupe transversale (G:40X10)

Photo 4 : Micrographie de la muqueuse rectale en coupe transversale (G:40X10)

SOMMAIRE

ABREVIATIONS

Introduction

Revue bibliographique

1- Généralités sur le médicament

1-1- Définition	3
1-2- Formulation de médicament	3
1-2-1- Principe actif	3
1-2-2- Excipient	4
1-2-3- Voie d'administration avantages et inconvénients	5
1-2-4 -Formes galénique	6
1-2-5- Articles de conditionnement	7
1-3- Législation d'un médicament commercialisé	7
1-3-1- Autorisation de mise sur le marché	8
1-3-2- Dénomination des médicaments	8
a. Nom déposé	8
b. Dénomination Commune Internationale (DCI)	8
1-3-3- Le brevet	

2- Devenir du médicament dans l'organisme

2-1- Introduction	9
2-2- Résorption	9
2-2-1- Trajet digestif	9
2-2-2- Passage hépatique et résorption	9
2-2-3- L'effet du premier passage hépatique	9
2-2-4- Facteurs modifiants la résorption	10
2-3- Distribution	10
2-3-1- Définition	10
2-3-2- Distribution dans le sang	11
2-3-3- Distribution dans les tissus	11
2-4- Biotransformation	11

2-4-1- Réaction de la phase I	11
2-4-1-1- Réaction d'oxydation	11
2-4-1-2- Réaction de réduction	12
2-4-1-3- Réaction d'hydrolyse	12
2-4-2- Réaction de la phase II; conjugaison	12
2-5- Elimination	13
2-5-1- Elimination rénale	13
2-5-2- Elimination hépatique	13
2-5-3- Autres voies d'élimination	14
3-Phytothérapie	
3-1- Définition	15
3-2- Historique	16
3-3- Principes actifs des plantes médicinales	17
3-3-1- Composés du métabolisme primaire	17
3-3-1-1- Polysaccharides	17
3-3-1-2- Les glucosides cyanogéniques	17
3-3-1-3- Glucosinolates	17
3-3-2- Composés phénoliques, shikimates, acétates	17
3-3-2-1- Phénols	17
3-3-2-2- Flavonoïdes	17
3-3-2-3- Tanins	18
3-3-2-4- Anthocyanes	18
3-3-2- 5-Coumarines.....	18
3-3-2- 6-Anthraquinones.....	18
3-3-3- Terpènes et stéroïdes.....	19
3-3-3-1- Glucides cardiaques.....	19
3-3-3-2- Huiles essentielles.....	19
3-3-3-3- Saponines.....	19
3-3-3- 4-Substances amères.....	19
3-3-4- Alcaloïdes.....	19
3-3-5- Vitamines	21
3-3-4- Minéraux	20
3-4- Principales plantes médicinales.....	22
3-4-1- Chamomilla recutita	22

3-4-1-1- Principaux constituants.....	22
3-4-1-2- Principaux effets.....	23
3-4-1-3- Usages traditionnels.....	23
3-4-2- Aloe vera.....	23
3-4-2-1- Principaux constituants.....	24
3-4-2-2- Principaux effets.....	24
3-4-2-3- Usages traditionnels.....	24
3-4-3-Astraglus membranaceus.....	25
3-4-3-1- Principaux constituants.....	25
3-4-3-2- Principaux effets.....	25
3-4-3-3 Usages traditionnels.....	25
3-4-4- Discorea villosa.....	26
3-4-4-1- Principaux constituants.....	26
3-4-4-2- Principaux effets.....	26
3-4-4-3 Usages traditionnels.....	26
3-4-5- Ananas comosus.....	27
3-4-5-1- Principaux constituants.....	27
3-4-5-2- Principaux effets.....	27
3-4-5-3- Usages traditionnels.....	28
3-4-6- Plantes à lipides.....	28
3-4-6-1- Carthamus tinctorius.....	28
3-4-6-1- Prinus dulcis.....	28
3-4-6-3- Simmondsiae sinensis.....	29

4-Toxicité

4-1-Introduction.....	30
4-2- Hépatotoxicité.....	30
4-2-1- Physiologie et anatomie du foie.....	30
4-2-2- Principales lésions hépatiques.....	31
4-2-2-1- Stéatose.....	31
4-2-2-2- Nécrose hépatique.....	32
4-2-2-3- Cirrhose.....	32
4-2-3- Procédures d'évaluation.....	32
4-2-3-1- Examens.....	33
4-3- Néphrotoxicité.....	33

4-3-1- Physiologie du rein.....	33
4-3-2- Structure rénale.....	34

4-3-3- Principales lésions rénales.....	35
4-3-4- Procédures d'évaluation.....	35
4-3-4-1-Analyses des urines.....	35
4-3-4-2- Analyse sanguine.....	35
4-4- Toxicologie de l'œil.....	36
4-4-1- Anatomie de l'œil.....	36
4-4-2- Sites d'action des toxiques.....	36
4-4-3- Procédures d'évaluation.....	37
4-4-3-1- Examen macroscopique.....	37
4-4-3-2- Examens histologiques et biochimiques.....	37
4-5- Toxicologie de la peau	37
4-5-1- Epiderme.....	37
4-5-2- Derme.....	38
4-5-3- Fonctions de la peau.....	38
4-5-4- Principes thérapeutiques dans les maladies de la peau.....	39
4-5-4-1- Traitement systémique.....	39
4-5-4-2- Traitement local.....	39
4-5-5- L'hypoderme.....	39
4-5-6- Les annexes cutanées.....	40
4-5-7-Principaux effets toxiques.....	40
4-5-7-1-Irritation	40
4-5-7-2- Sensibilisation et phototoxicité.....	40
4-5-8- Procédures d'évaluation.....	40
4-6- Muqueuse rectale.....	40
4-6-1- Introduction.....	40
4-6-2-Anatomie descriptive du rectum.....	41
4-6-2-1-Le rectum pelvien.....	41
4-6-2-2-Le rectum périnéal ou canal anal.....	41
4-6-3-Vascularisation du rectum.....	42
4-6-3-1-Artères.....	42
4-6-4-2-Veines rectale.....	42
Matériel et Méthodes	
1- Protocole.....	47
2-Produit ZAY3.....	48

3-Mode d'extraction.....	48
3-1-Processus B.E.E (Bio Enhanced Extraction) 48	
3-2- Extraction48	
3-3- Optimisation.....	49
4- Animaux de l'étude.....	49
5- Etude de l'innocuité cutanée du ZAY3.....	49
5-1- Test d'irritation oculaire.....	49
5-2- Test d'irritation primaire cutanée.....	52
5-3- Test d'agressivité superficielle cutanée par application itérative pendant six semaines du ZAY3.....	53
5-4- Test d'évaluation de l'agressivité superficielle du ZAY3 sur la muqueuse rectale du lapin.....	54
6 -Etude biochimique.....	54
7-Etude histologique.....	55
7-1- Fixation des pièces.....	55
7-2- Déshydratation.....	55
7-3- Inclusion.....	56
7-4- Coupe des pièces.....	56
7-5- Coloration.....	56
8- Analyse statistique des résultats.....	57
Résultats	
1- Résultats dermatologiques.....	58
2- Résultats biochimiques.....	61
3- Investigations histologiques.....	66
Interprétation et discussion	71
Conclusion	76
Perspectives	77
Références bibliographiques	78
Annexes	
Résumés	

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps, les humains apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectifs de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains. (**Verdrager, 1978; Iserin, 2001**).

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre des multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces dernières années l'homme n'a eu que les plantes pour se soigner, qu'ils s'agissent des maladies bénignes, rhumes ou toux ou plus sérieuses telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, le traitement à base de plantes revient au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. (**Iserin, 2001**).

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels, est bien acceptée par l'organisme, elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. (**Verdrager, 1978; Fernandez, 2003**).

De nos jours, les plantes se sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique. Il est difficile d'imaginer le monde sans la quinine (dérivé du genre *Cinchona*), qui est employée contre la malaria, sans la digoxine (du genre *Digitalis*) qui soigne le cœur ou encore l'éphédrine (du genre *Ephedra*), que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre le rhume. Ces trois plantes ainsi que beaucoup d'autres sont largement utilisées par la médecine classique (**Bruneton, 1999; Fernandez, 2003**).

Donc partout dans le monde les grands laboratoires pharmaceutiques orientent à nouveau leur effort vers une nouvelle prospection du milieu naturel (**Sevenet, 1994**).

A la recherche d'une couverture médicale efficace, l'Algérie a été confrontée à une double problématique, celle de la satisfaction de besoins médicamenteux pour la prévention de la santé de la population, et celle de faire face à une énorme facture des importations des médicaments (**Serrakta, 1999**). Cette facture a atteint 1.043 milliards de dollars pour les premiers mois de l'année 2008 (**Site 1**).

Notre modeste contribution à cette dépendance d'une part et notre curiosité d'autre part nous a amené à travailler sur les médicaments à base de plantes.

Le médicament nous a été confié par une firme pharmaceutique algérienne dont la composition est à base de plantes (*Chamomilla recutita*, *Aloe vera*, *Astragalus membranaceus*, *Discorea villosa*, *Ananas comosus*), vitamines (A, C et E.) et minéraux (magnésium, sodium et potassium)

Nous avons attribué à ce médicament un nom de code ZAY 3, c'est sous ce vocal que nous continuerons à le désigner tout au long de l'exposé de ce travail.

Cette étude est réalisée dans le but :

D'apprécier l'innocuité cutanée du ZAY 3 par les tests;

- Irritation oculaire
- Irritation primaire cutanée
- Aggressivité superficielle cutanée par application itérative
- Aggressivité superficielle de la muqueuse rectale

D'apprécier l'effet toxicologique sur :

- Le sang par le dosage des paramètres biochimiques à savoir; l'urée, la créatinine., la glycémie, les transaminases TGO(ASAT) et TGP(ALAT), les protéides totaux, et l'albumine.
- Le foie, le rein, la peau et la muqueuse rectale par des coupes histologique.

1- GENERALITES SUR LE MEDICAMENT

1-1 Définition

Le médicament, médiateur de santé, doué d'une représentation symbolique très puissante, ce complexe alchimie d'un principe actif a l'efficacité scientifiquement démontrée (**Dominique, 2002**).

Selon l'article L.5111-1 du code de la santé publique (C.S.P). On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques (**Moulin, 2002 ; Dominique, 2002**).

Deuxième partie de l'article L.5111-1, sont notamment considérés comme des médicaments les produits diététiques qui renferment dans leur composition des substances chimiques ou biologiques ne constituant pas elles – mêmes des aliments, mais dont la présence confère à ces produits, soit des propriétés spéciales recherchées en thérapeutique diététique, soit des propriétés de repas d'épreuve (**Dominique, 2002**).

Les médicaments peuvent être d'origine végétale, animale, synthétique ou biogénétique (**Moulin, 2002**).


1-2 Formulation du médicament

1-2-1- Principe Actif

Au point de départ de la formulation d'un nouveau médicament, il y a le principe actif, c'est-à-dire substance dont l'activité thérapeutique a été établie et qui a fait l'objet de nombreuses études de part la des chimistes, des toxicologues et des pharmacologues (**Le Hir, 2001**) (**tableau 1**).

Le principe actif peut exister sous plusieurs formes cristallines ou sous la forme de dérivés tel que sels, hydrates. Le choix se fera en fonction du mode d'administration, de considération de stabilité et de biodisponibilité (**Le Hir, 1997**).

Tableau 1 : Propriétés des principes actifs (LeHir, 1997)

Propriétés physico-chimiques	Devenir dans l'organisme
<ul style="list-style-type: none"> - Caractères organoleptiques - Propriétés physiques : solubilité - Propriétés chimiques : <div style="margin-left: 100px;">  <ul style="list-style-type: none"> • Température • Humidité • Oxygène • Lumière • divers </div>	<ul style="list-style-type: none"> - Pharmacocinétique <ul style="list-style-type: none"> - Répartition - Biotransformation - Elimination - Activité thérapeutique <ul style="list-style-type: none"> - Lieu - Mécanisme - Effets secondaires <p style="margin-left: 20px;">Biodisponibilité</p> <ul style="list-style-type: none"> - Profil optimal

1-2-2- Excipient

Il s'agit de plusieurs substances responsables de la forme pharmaceutique et sans action pharmacologique (**Dominique, 2002**).

Les excipients utilisés sont extrêmement nombreux, ce qui explique d'une part, la diversité des caractéristiques physiques et chimiques des principes actifs, dont ils doivent être les auxiliaires, et d'autre part, la variété des rôles qu'ils ont à jouer :

- Faciliter l'administration du principe actif
- Améliorer l'efficacité du principe actif
- Assurer la stabilité et par conséquent la conservation jusqu'à la limite d'utilisation fixée (**LeHir, 2001**).

Une seule propriété commune à tous les excipients : l'inertie vis à vis

- Du principe actif
- Du matériau de conditionnement
- De l'organisme

Les excipients utilisés en pharmacie sont très nombreux :

- Les excipients minéraux
- Les excipients organiques ou l'eau.
- Alcool éthylique, propylène glycol, glycérol

- Les glycérides
- Cires
- Sucres, dérivés de sucre et macromolécules
- Surf actif
- Conservateurs, colorants et aromatisants. (**Kassa, 1986 ; LeHir, 2001 ; Ashok et al., 2006**).

1-2-3- Voie d'administration

Le choix de la voie d'administration dépend d'une part du type d'action souhaité selon qu'on cherche une action locale ou générale et d'autre part des circonstances de l'administration par exemple situation d'urgence, volume important à administrer. (**Moulin, 2002**).

Il existe deux grandes voies d'administration du médicament dans le flux sanguin.

1-2-3-1-Voie d'administration directe

C'est une voie dont le principe actif est introduit immédiatement dans le milieu intérieur c'est le cas de la voie intraveineuse, intracardiaque mais aussi intramusculaire

a. Avantages

- Apparition rapide de l'effet pharmacologique
- Il n'y a pas d'irritation
- Il n'y a pas de destruction du médicament par le pH acide ou les ferments gastriques et intestinaux
- La dose reçue est à peu près égale à la dose administrée
- Recommandées pour les comateux et les malades non coopérants,
- L'effet psychologique favorable est important en thérapeutique (**Daoud, 1990**)

b. Inconvénients

Résident dans la difficulté d'administration et nécessite de précautions particulières avant l'asepsie. (**Dominique, 2002**).

1-2-3-2- Voie d'administration indirecte

C'est toute voie dont le principe actif passe par divers trajet pour arriver dans la circulation générale, soit par voies digestives ou entérales ou par voies transmuqueuses.

Elle présente plusieurs avantages :

- Facilité d'administration
- Aucune précaution du point de vue asepsie

Mais l'inconvénient c'est que le médicament doit subir une véritable « course d'obstacle » et cela retarde ses délais d'action. (**Dominique, 2002 ; Toutou, 2007**).

1-2-4- Forme galénique

Le choix de la forme galénique s'écoule de celui de la voie d'administration

Tableau 2: Formes galéniques les plus courantes (**LeHir, 2001**)

Voies	Formes principales
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Comprimés, solutions
Ophtalmique	Solutions aqueuses
O.R.L	Solution aqueuse pulvérisée ou non
Percutanée	Pommades et solutions

1-2-4-1- Les médicaments de la peau

Certains médicaments sont destinés à l'usage externe, ils s'appliquent généralement sur la peau ou sur les muqueuses (**Françoise, 2006**).

Le médicament est incorporé dans un support et le tous sont appliqués sur la peau où il doit agir (**Haan, 1984**).

Etant donné que la peau est une membrane souple et résistante qui enveloppe entièrement le corps, avec une épaisseur variable de 0.5 mm. Suivant la région du corps jusqu'à 2mm aux parties soumises à des frottements fréquents, une surface totale de 1.5 m² à 2 m² chez l'adulte et environ 1/6ème de la masse totale du corps (**Françoise, 2006**).

La peau a une structure qui se distingue en trois parties : L'épiderme, le derme et L'hypoderme (**Françoise, 2006**).

La peau est un organe assez complexe par rapport à ces propriétés physiques, (hydrophobe et résiste aux intempéries). En conséquences, les médicaments destinés à être appliqués sur la peau doivent pouvoir pénétrer le derme et donc être lipophiles, c'est-à-dire laisser passer les matières grasses.

La forme de référence est la pommade, il existe deux grands groupes de pommades, les pommades proprement dites et les crèmes.

a. Pommades

D'après la **Pharmacopée française, 1965** , sous le terme de pommade , on désigne des préparations de consistance molle destinée à être appliquées sur la peau et les muqueuses, la portion de corps gras prédomine sur les constituants hydrophiles, il existe aussi des pommades exclusivement composées de corps gras.

b. Crème

Les crèmes dermiques sont des pommades de consistance molles dont la phase aqueuse est importante (**Pharmacopée française, 1965**).

Une crème est un mélange stable de graisse dans l'eau, la graisse et l'eau seules n'étant pas miscible, il faut toujours leur ajouter des substances, stabilisantes pour les lier, par rapport aux pommades et aux pâtes, les crèmes présentent l'avantage de ne pas paraître grasse au toucher et de pouvoir pénétrer facilement dans la peau. De plus, on peut l'utiliser sur les parties poilues.

Les crèmes peuvent se dessécher et se décomposer. Leur décomposition sont à éviter, autant que possible en y ajout des conservateurs (**Haan et al., 1984**).

1-2-5- Articles de conditionnement

Les articles de conditionnement jouent plusieurs rôles :

- Protection : assurer la conservation du médicament jusqu'au moment de l'utilisation.
- Fonctionnel : conçu pour faciliter l'emploi du médicament.
- Identification et information : Il comporte pour cela un étiquetage et des notices avec mode d'emploi, précaution à prendre, numéro du lot de fabrication. (**LeHir, 1997**).

D'une manière générale, les propriétés demandées à un matériau de conditionnement sont :

- Posséder une résistance physique suffisante tout en étant aussi léger et aussi peu encombrant que possible, d'être :

- Imperméable aux constituants du médicament ;
- Isoler le médicament des facteurs extérieurs qui pourraient nuire à sa conservation (air, humidité, lumière)
- Inerte vis-à-vis du contenu
- D'une qualité primordiales, d'une innocuité absolue (**LeHir, 2001**).

1-3- Législation d'un médicament commercialisé

Un médicament commercialisé se caractérise essentiellement par son

- AMM (autorisation de mise sur le marché) qui autorise son exploitation sous une forme donnée, avec un nom donnée ; pour traiter des pathologies données à une posologie donnée ;
- Nom commercial et sa domination commune internationale (D.C.I) retenus par l'AMM (**Dominique, 2002**).

1-3-1- Autorisation de mise sur le marché (AMM)

Une fois tous les essais réalisés, le laboratoire dépose un dossier en vue d'obtenir une AMM, le dossier comprend :

- Un compte rendu des expertises analytiques, pharmacologique, toxicologique et cliniques;
- Composition qualitative et quantitative ;
- Description du procédé de fabrication ;
- Contrôle de matières et des articles de conditionnement;
- Contrôle effectué sur les produits semi-fini;
- Contrôle des produits finis ;
- Description des conditions de conservation et du mode d'administration. (**Menad, 2000 ; LeHir, 2001**).

1-3-2- Dénomination des médicaments

a. Nom déposé

Le médicament est présente le plus souvent sous un nom dit « de fantaisie » en deux ou trois syllabes évoquant selon le cas, l'indicateur (exemple : AVLOCARDYL ®, pour évoquer le cœur) ou une abréviation de la DCI (exemple : OFLOCET ®, pour évoquer l'ofloxacine).

Le nom est souvent suivi d'un ® (comme registered) ou TM (Trade Mark) pour montrer qu'il s'agit d'un nom déposé.

b. La Dénomination Commune International DCI

La Dénomination Commune International (**DCI**) est une abréviation de la formule chimique en trois ou quatre syllabes et évoquant autant que possible la famille médicamenteuses. Elle s'impose à tout fabriquant et sa mention en petits caractères sous commerciale est obligatoire.

Exemples : - Nom déposé : AVLOCARDYL

- DCI : propranolol

c. Le brevet

La législation sur les brevets, définie dans le code de la propriété intellectuelle, s'applique aux médicaments, il existe deux niveaux de protection :

- La protection de la molécule
- La protection spéciale du médicament (**Dominique, 2002**).

2- DEVENIR DU MEDICAMENT DANS L'ORGANISME

2-1- Introduction

Les études de pharmacocinétique vont permettre de définir le temps pendant lequel le médicament va résider dans les cellules et plus généralement dans l'organisme et les études du métabolisme vont permettre d'identifier le processus de transformation, mais aussi d'élimination de la molécule (**Zimmermann, 2006**).

Le devenir d'un médicament dans l'organisme dépend de ses propriétés physico-chimique et des interactions médicament/ organisme.

Ainsi les médicaments de faible poids moléculaire, lipophiles et non ionisées, les molécules fortement ionisées, peu liposolubles et de poids moléculaire élevés, ont un transfert transmembranaire limité et lent (**Bourrillon, 2008**).

2-2- Résorption

La résorption est le passage d'un médicament dans la circulation générale à partir de son lieu d'administration (**Dominique, 2002**)

2-2-1- Trajet digestif

Le médicament subit l'action des sucs digestifs à savoir :salivaire, gastrique et pancréatique (**Pebret, 2003**)

2-2-2- Passage hépatique et résorption

A hauteur de l'intestin grêle, le médicament est résorbé et passe dans la foie par le système porte hépatique.

Si la fonction glycogénique du foie est bien connue, cette fonction de stockage et de régulation s'applique en réalité à une infinité de substance (dont les médicaments), c'est donc la fonction endocrine qui est en jeu (**Dominique, 2002**).

2-2-3- L'effet du premier passage hépatique

Il arrive que certains médicaments sont stockés, lors leur 1^{er} passage par la foie, et donc n'agissent pas immédiatement, c'est lors de la 2^{ème} administration que le médicament est libéré par le foie (**Dominique, 2002**).

Lorsque le médicament a une forte affinité pour l'hépatocytes et les enzymes hépatiques, une fraction de la dose absorbée et captée lors de « la première traversée », diminuant la quantité de médicament retrouvée dans la circulation systémique (**Diquet et Soubrie, 1998**).

2-2-4- Facteurs Modifiants la résorption

a. Solubilité aqueuse

Elle détermine la facilité avec laquelle la substance entrera dans le liquide extracellulaire, alors que la solubilité dans les lipides déterminera le passage à travers les membranes. L'une n'exclue pas l'autre : une substance peut être soluble dans l'eau et les lipides. Exemple : l'alcool.

b. Vitesse de dissolution dans le tube digestif pour les formes solides (comprimés)

c. L'étendue de la surface absorbante, déterminée par la voie d'administration ;

d. La concentration de substance au point d'administration (Helali, 1994 ;

Carruters et Hoffman, 2000).

2-3- Distribution

2-3-1- Définition

Après leur absorption, les médicaments vont être distribués aux différents tissus par la circulation sanguine (Helali, 1994).

La répartition du principe actif dans les tissus dépend de la fixation du médicament sur les protéines sanguine (notamment l'albumine), des caractères physico-chimiques du médicament, de la vascularisation des tissus et de l'affinité des tissus pour le médicament.

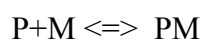
La fixation protéique permet de distinguer les médicaments sous forme liée (aux protéines) et sous forme libre (circulant librement dans le plasma sanguin).

La forme libre (est la seule forme où le médicament est actif). Elle lui permet de diffuser dans les tissus, d'être transformée ou excrétée par les reins ou le foie (Pebret, 2003).

La fixation protéique dépend du nombre des sites de fixation sur la protéine, la concentration molaire de ces protéines fixatrices : Albumine pour les acides faibles (thiopental), alpha-1-glycoprotéine pour les bases faibles (anesthésique locaux de type amide) et enfin, de la constante d'affinité (intensité de la liaison médicament – protéine) (Saint-Maurice, 2004).

2-3-2- Distribution dans le sang

Le principe actif peut être transporté par les éléments figurés (Exemple : Anesthésiques généraux transportés par les globules rouges) ou transporté par les protéines du plasma, si nous appelons P : les protéines et M la fraction libre du principe actif, nous obtenons :



La fraction du principe actif une fois fixée sur les protéines devient inactive, ce phénomène est réversible.

Plus le pourcentage de fixation aux protéines plasmatiques est grand, plus le médicament met du temps à agir et plus il sera long à être éliminé de l'organisme (**Pebert, 2003**).

2-3-3- Distribution dans les tissus

Seule la fraction libre peut passer dans les tissus, la distribution dépend de la nature du tissu (gras, maigre), du débit sanguin (plus ou moins grande arrivée de principe actif) et de la richesse des tissus en récepteurs au principe actif (**Pebert, 2003**).

2-4- Biotransformation

Le médicament n'agit pas et ne circule pas comme un agent « étranger » mais il suit tous les mécanismes biochimiques des cellules et des tissus vivants. C'est en reproduisant le cheminement des différents médiateurs ou substances qu'il agit (**Dominique, 2002**).

En raison de la richesse de son équipement enzymatique contenu dans le réticulum endoplasmique, le foie est le principal organe impliqué dans les processus de biotransformation (**Saint Maurice, 2004**).

Ces enzymes sont capables d'oxyder, de réduire, d'hydrolyser ou de conjuguer ces molécules. L'oxydation, la réduction et l'hydrolyse sont des activités regroupées sous le nom de « métabolisme de phase I » qui conduit à des dérivés dont les groupements fonctionnels sont plus souvent des hydroxyles (-OH), des amines (-NH₂) ou des carboxyles (-COOH). Ces groupements fonctionnels sont susceptibles d'être ensuite conjugués. C'est la réaction de la phase II (**Diquet et soubrie, 1998 ; Graham et Depovere, 2002**).

2-4-1- Réaction de phase I

2-4-1-1- Réaction d'oxydation

Elles sont majoritairement localisées dans les microsomes hépatiques (**Diquet et soubrie, 1998**). Ce type de réaction est très fréquent, il est généralement gouverné par le cytochrome P.450 qui se trouve dans les hépatocytes (**Schorderet et al., 1992**).

Le cytochrome P.450 constitue, en fait, non pas une enzyme unique mais une famille d'isoenzyme à fer, métabolisant préférentiellement tel ou tel type de médicament. Les changements des degrés d'oxydoréduction du fer sont à l'origine des biotransformations catalysées par l'enzyme (**Mann foed et Hollinger, 2003**).

Tableau 3: Principales isoenzymes du Cytochrome P450 humain impliquées dans le métabolisme des médicaments (listes des molécules non exhaustive) selon **Diquet et Soubrie, 1998**.

	Cy P 1A2	Cy P 2C9	Cy P 2D6	Cy P 3A3 ^{3/4}
Substrat	théophylline Caféine Tacrine	Phénoïne Diclofenac Piroxicam	Codéine Captopril Imipramine Fluoxétine	Cyclosporine- Tacrolimus Ketoconazole Midazolam Lovastatine
Inhibiteur	Cimétidine Quinolones Fluvoxamine	Isoniazide Sulfaphenzol Ritonavir	Quinidine Fluoxétine Cimetidine	Macrolides Azoles
Inducteur	Rifampicine Omeprazole Cigarette	Rifampicine		Carbamazépine Phénytoïne Phénobarbital

2-4-1-2-Réaction de réduction

Il ne s'agit pas d'une voie de transformation prépondérante dans le tissu des mammifères. Elle est cependant parfois importante à cause de l'action des bactéries intestinales chez lesquelles cette voie de métabolisation est développée (**Schorderet et al., 1998**).

2-4-1-3- Réaction d'hydrolyse

C'est une voie métabolique qui intervient dans le foie, dans différents tissus et même dans le plasma. Les enzymes des types des estérases sont le plus souvent non spécifiques. La réaction d'hydrolyse par le clivage d'un ester ou d'un amide est chez l'homme très rapide (**Diquet et Soubrie, 1998**).

2-4-2- Réaction de phase II, conjugaison

La phase II comporte des réactions de conjugaison, soit par l'acide glucuronique (glucorono conjugaison), soit par le sulfate (sulfo conjugaison catalysée par des sulfotransférases) ou encore l'acétate (acétylation catalysée par des N- Acétyl transférase) et le glutathion.

La conjugaison avec l'acide glucuronique est la plus fréquente des conjugaisons. Elle est catalysée par le système enzymatique de la glucoronyltransférase et concerne les molécules possédant un groupement hydroxylé, carboxylé ou aminé.

Les glucoroconjugués sont très hydrosolubles ce qui explique la facilité avec laquelle, ils sont éliminés dans l'urine et la bile. Dans quelques cas, les esters sont instables et après

hydrolyse dans l'urine ou le plasma redonnant la molécule mère. Lorsqu'un médicament est métabolisé, il est rarement de façon unique et plusieurs voies métaboliques sont possible **(Diquet et Soubrie, 1998)**.

2-5- Elimination

Une drogue utilisable comme médicament doit nécessairement «être rapidement éliminés par l'organisme (si non, il y a risque d'accumulation).

Le pourcentage d'élimination (par mm) d'un médicament est donc un paramètre important qui permet de régler la posologie (pour une concentration optimale du médicament).

L'élimination peut se faire par divers émonctoires (essentiellement rein et foie, accessoirement poumon), sous forme active ou sous forme inactive et le plus souvent en solution (urine, bile) , parfois sous forme mal soluble (Fèces) ou à l'état de gaz (CO₂) ou de vapeur**(Molin, 2002 ; Dipin et al., 2005)**.

2-5-1-Elimination rénale

La voie rénale est la voie d'excrétion principale, donc, la plupart des molécules sont éliminées dans les urines soit sous forme inchangées, soit sous forme de produits de dégradation. Le plus souvent les médicaments ou leurs métabolismes ont une masse moléculaire bien inférieure à 5000 et sont de ce fait filtrés par le glomérule.

Une réaction active est également observée pour quelques molécules ente autres des cations ou anions qui sont secrétés dans la lumière du tubule par des systèmes de transport spécifiques. Selon le pH urinaire et la structure chimique des molécules filtrées peuvent également être réabsorbées.

Cette propriété est utilisée dans certains surdosages pour accélérer l'élimination du médicament en bloquant la réabsorption **(Diquet et Soubrie 1998 ; Herlin et Faure, 2007)**.

L'âge, les interactions médicamenteuses et l'insuffisance rénale diminueront l'élimination des médicaments principalement excrétés par voie rénale **(Saint-Maurice, 2004 ; Herlin et Faure, 2007)**.

2-5-2- Elimination hépatique

Les médicaments éliminés principalement par la bile sont secrétés activement par l'hépatocyte dans les canalicules biliaires. Pour cela, la molécule à excréter doit être polaire et avoir un poids moléculaire élevé. Après excrétion dans la bile, le médicament se trouve

dans la lumière intestinale, où il peut être réabsorbé, ce qui constitue alors le cycle entéro-hépatique (**Saint-Maurice, 2004**).

2-5-3- Autres voies d'élimination

Ces autres voies sont secondaires. Le principe actif peut être excrété dans la salive, la sueur, le lait, en revanche l'élimination lactée est à connaître en raison des risques d'intoxication lors de l'allaitement.

Enfin, certains médicaments volatiles peuvent être excrétés par les poumons (exemple : anesthésique généraux volatiles) (**Saint-Maurice, 2004 ; Herlin et Faure, 2007**).

3- PHYTOTHERAPIE

3-1- Définition

On appelle phytothérapie, la thérapeutique par les plantes (du grec phyto : plante et thérapie : soin).

C'est une thérapeutique qui utilise les plantes ou formes galéniques dérivées de plantes excluant les principes d'extraction puis isolés des plantes. Ainsi de nombreuses formes galéniques peuvent être utilisées comme tisanes (infusées, décoctées, macérées), extraits, teintures, ou des huiles essentielles (Hosttmann, 1997 ; Catier et Roux, 2007).

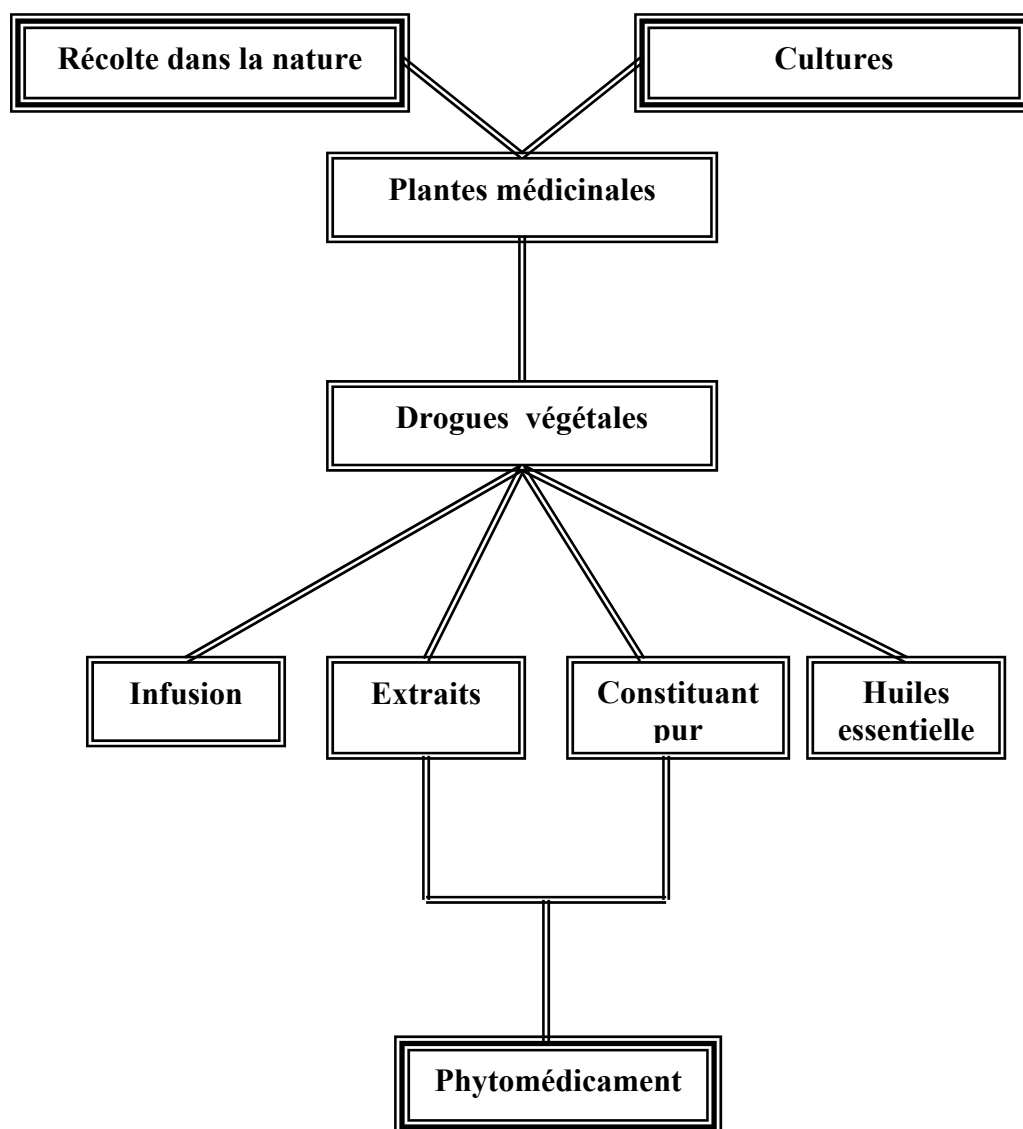


Figure 1 : Diverses formes d'utilisation des plantes médicinales (Hosttmann, 1997)

3-2- Historique

Lorsqu' il s'agit de l'histoire des plantes, il est fait souvent référence à la médecine grecque, habituellement à Hippocrate (300 ans av. J.C) à Dioscorides (1^{er} siècle de notre ère) ou à Galien (2^{ème} siècle de notre ère). Bien que l'histoire des plantes soit beaucoup plus ancienne, elle est liée à celle de l'homme. Apparemment, dès que l'homme est apparu comme espèce , il a dû chercher à subvenir à ses besoins nutritionnels, en sélectionnant des fruits sauvage, des feuilles à saveur agréable et des tubercules comestibles. Puis sa vie sociale et son aptitude à communiquer, l'amènèrent à échanger avec ses semblables de nombreuses informations sur la qualité des végétaux qu'il a rencontrés ou expérimentés.

Ce qui lui a permis d'enrichir ses connaissances des plantes (les bonnes, les désagréables, les toxiques) et même de se spécialiser dans le traitement par les herbes , au sein des groupes structurés.

- Des tablettes d'argiles gravées de signes cunéiformes, datant de l'époque sumérienne (vers le 4 millénaire) représentent des recueils de formule de plantes médicinales ; près de 250 herbes y sont indiqués, sous forme d'onguents, de tisanes, de décoctions .

- En Inde, les plantes curatives sont mentionnées dans le véda (ensemble de quatre recueils antiques). Le véda contenait déjà des noms de maladies et de remèdes, qui se retrouvent en partie dans l'Ayurveda (nom sanskrit de la science de la vie). Les traitements ayurvédique sont essentiellement à base de végétaux (jusqu'à 1500 plantes sont décrites dans les traités), et éventuellement chirurgicaux.

- Dans la médecine chinoise traditionnelle, l'acte thérapeutique s'applique avant tout, à rétablir l'harmonie entre le corps et l'esprit. Dans le 1^{er} traité de « Nei Jong su Wen », il est indiqué les différentes manières de soigner un malade.

Les remèdes sont indiqués dans le 1^{er} livre de matière médicale : le « Shennong Bencao Jing », qui est rédigé vraisemblablement vers 2000 ans av. J.C.) ; Ce livre mentionne 365 remèdes d'origine végétale.

- En Afrique, les anciens textes égyptiens font état de l'emploi de plantes médicinales, en Afrique du Nord, depuis des millénaires et le papyrus égyptien Ebers (env. 1500 ans av. J.C.) mentionne environ 700 herbes et nombreuses formules et indications . Les herbes font partie intégrante de la vie des habitants de l'Afrique, dans certaines cultures on croyant que la plante avait une âme (**Quillet, 1978 ; Haan et al., 1984 ; Baba Aissa, 1999**).

3-3- Les principes actifs des plantes médicinales

La capacité d'un remède (à base des plantes) à influencer les fonctions du corps humain est due à ses différents composants. Il s'agit pour la plupart du temps des produits du métabolisme de la plante qui d'un point de vue chimique peuvent appartenir aux groupes de substances les plus variés (Kothe, 2007).

3-3-1- Composés du métabolisme primaire

3-3-1-1- Les polysaccharides

Les polysaccharides les plus importants sont les polysaccharides des algues (mucilage) et les polysaccharides hétérogènes (gommes) présents dans les racines, les feuilles et les grains. Utilisés pour calmer et protéger les tissus enflammés.

Certains polysaccharides, comme les glucomannanes et les pectines sont utilisés en cosmétologie (Iserin, 2001).

3-3-1-2 Les glucosides cyanogéniques

Bien que ces substances soient à base de cyanure, un poison très violent, prises à petites doses, elles ont un effet sédatif et relaxant sur le cœur et les muscles, l'écorce du cerisier sauvage (*Prunus serotina*), comme elles permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes (Iserin, 2001).

3-3-1-3- Les glucosinolates

Sont des composés hétérosidiques anionique responsables des odeurs fortes, présent uniquement dans les espèces de la famille des moutards et des choux. Appliqués comme cataplasme sur les articulations douloureuses, ils augmentent le flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines. Le radis et cresson de fontaine sont des plantes glucosinolates typiques (Bruneton, 1993).

3-3-2- Composés phénolique, shikimates, acétates

3-3-2-1-Les phénols

IL existe une très grande variétés de phénols, de composés simple comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse ; l'aspirine, à des substances plus complexes comme composés phénoliques aux quels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont des anti-inflammatoires et des antiseptiques.

La gaulthérie (*Gaultheria procumbens*) et le saule blanc (*Salix alba*) contiennent des acides glucosides phénoliques qui donnent, par distillation, des dérivés de salicylique et salicylate de méthyle (Iserin, 2007).

3-3-2-3 Les tanins

Substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant , par voie interne, ils ont un effet anti-diarrhéique . En usage externe, ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau .Les écorces du chêne (*Quercus robur*) et de l'acacia (*Acacia catechu*) sont riches en tanins (Iserin ,1997 ; Bruneton, 1999 ; Gilly, 2005).

3-3-2-4- Les anthocyanes

Sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux.

La mure sauvage (*Rubus fruticosus*) et la vigne rouge (*Vitis vinifera*) en contiennent beaucoup (Iserin, 2007).

3-3-2-5- Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses pièces et possèdent des propriétés très diverses. Certaines coumarines contribuent à fluidifier le sang (*Melilotus officinalis*) alors que d'autre, soignent les affections cutanées (*Apium graveolens*). Rapidement métabolisées au niveau du foie en 7 hydroxy- coumarine, elles peuvent rarement induire une hépato nécrose sévère (Bruneton, 1999 ; Iserin, 2001).

3-3-2-6- Les anthraquinones

Ce sont des principaux constituants de plante comme le Séné (*Cassia senna*) et la rhubarbe de chine (*Rheun palmatum*), toutes deux agissent sur la constipation en stimulant les évacuations et rendent les sels plus liquides facilitent ainsi le transit intestinal (Koth , 2007).

3-3-3- Terpènes et stéroïdes

3-3-3-1- Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux. Généralement on trouve de nombreux constituants dans une huile essentielle appartenant principalement à deux grands groupes chimiques. Les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phényl-propane. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés, antiseptique (*Melaleuca alternifolia*) antispasmodique et une action irritante.

Les sesquiterpènes, tels que l'azulène, présent dans la camomille allemande ou matricaire (*Chamomilla recutita*).

Les huiles essentielles ont une toxicité importante à connaître lorsqu'elles sont utilisées comme médicament dans le cadre de l'aromathérapie (Iserin, 1997 ; Catier et Roux, 2007).

3-3-3-2- Les saponines

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales (*Saponaire officinale*), les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes, ils ont un effet sur l'activité hormonale (Iserin, 2001 ; Catier et Roux, 2007 ; Hensel, 2008).

3-3-3-3- Les substances amères

L'amertume de leur goût stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion, des nombreuses plantes ont des constituants amers, notamment l'absinthe (*Artemisia absinthium*), la chirette (*Swertia chirata*) et le houblon (*Humulus lupulus*). (Delille, 2007).

3-3-3-4-Les glucosides cardiaques

Comme la digitoxine, la digoxine et la convallotoxine, ont une action sur le coeur en l'aidant à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement (**Hensel ,2008**).

3-3-4-Les alcaloïdes

On les rencontre chez de nombreux végétaux, ils peuvent être présent dans tous les organes (**Catier et Roux, 2007**).

Présentent tous une molécule d'azote (N-) qui les rend pharmaceutiquement très actifs d'où la diversité de leurs propriétés thérapeutiques et pharmacologiques, et occupent de ce fait une place importante dans l'industrie pharmaceutique (**Jerraya et al., 1993**).

Sont utilisées pour traiter certains types de cancer, activité sédative, effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (**Iserin, 2001**), mais peuvent posséder, même à très faible dose, une très forte toxicité (**Catier et Roux, 2007**).

3-3- 5- Les vitamines

De très nombreuses propriétés des plantes sont dues à leurs constituants, parmi ces constituants, une place très importante est prise par les vitamines. (**Weisz., 1976**).

Les vitamines sont des substances organiques , que l'organisme n'est pas capable de synthétiser, qui sont nécessaires à sa croissance et à son fonctionnement, et qui doivent donc lui être apportées de façon régulière et harmonieuse par le régime alimentaire.

On les classe selon leur solubilité dans l'eau (vitamines hydrosolubles) Dont la vitamine C ou dans les lipides (vitamines liposolubles) dont la vitamine A et la vitamine E (**Auffray et al., 1998 ; Alais et al., 2003 ; Monsigny et al., 2004**).

La teneur en vitamines varie toutefois fortement d'une plante à l'autre. Ainsi le citron (*Citrus limon*) est très riche en vitamine C. Le cresson de fontaine (*Nasturtium officinale*) contient beaucoup de vitamine E, tandis que la carotte (*Daucus carota*) contient de la provitamine A (**Koth, 2007**).

3-3-5-1. Vitamine C (Acide ascorbique)

La vitamine C existe sous deux formes, oxydés et réduite, qui lui confèrent des propriétés réductrices (Masson, 2007).

Elle exerce son rôle protecteur en réduisant les ions métalliques qui ne peuvent plus déclencher des réactions de fenton et elle sert également à régénérer la vitamine E oxydée (Borg et Reeber, 2008).

3-3-5-2. Vitamine E (Acétate de Tocophérol)

La vitamine E est un puissant antioxydant, capable de neutraliser les radicaux libres, donc de stabiliser les membranes cellulaires comme protecteur vis à vis de l'oxydation des lipides. Elle agit de concert avec la vitamine A et un oligoélément le sélénium, son action a lieu en synergie avec la vitamine C (Dawn, 2005 ; Masson, 2007 ; Berg et Reeber, 2008).

3-3-5-3. Vitamine A (Palmityl-rétinol)

La vitamine A est présente sous la forme estérifiée, le plus souvent avec l'acide palmitique, on parle de Palmityl-rétinol.

Elle a une action physiologique sous la forme d'acide rétinoïque. Cette molécule est impliquée dans le processus de croissance et de différenciation cellulaire ainsi que dans le processus de cicatrisation.

La provitamine A possède des propriétés antioxydantes, elle contribue à la neutralisation des radicaux libres (Lequeu, 1990 ; Dawn, 2005 ; Masson, 2007).

3-3-6- Les minéraux

Environ 4% de la masse corporelle est représentée par 22 éléments appelés minéraux, qui sont distribués dans tous les tissus et les liquides de l'organisme. Les minéraux sont présents dans les plantes qui les tirent du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme.

Les minéraux exercent des fonctions importantes dans les métabolismes, en entrant dans la composition des enzymes, dans la structure des os, des dents et interviennent dans la synthèse des macromolécules biologiques telle que le glycogène, les graisses et les protéines (Ardle et al., 2004 ; Alais et al., 2003).

3-3-6-1- Magnésium

Environ 300 enzymes impliquées dans les régulations métaboliques contiennent du magnésium, qui joue un rôle vital dans le métabolisme du glucose hépatique et musculaire à partir du glucose sanguin, il joue aussi le rôle d'électrolyte, en participant avec le potassium et le sodium, au maintien de la pression sanguine. Les fruits oléagineux secs et le cacao sont des sources importantes de magnésium (Alais et al., 2003 ; Ardle et al., 2004).

3-3-6-2-Potassium et Sodium

Le sodium et le potassium, appelés électrolytes, se trouvent sous formes d'ions en solution dans l'organisme. Le sodium représente le principal minéral présent dans le plasma sanguin et les liquides extracellulaires et le potassium représente le principal minéral intracellulaire. (Weisz, 1976).

Le sodium et le potassium jouent un rôle crucial dans la création d'un gradient électrique de part et d'autre des membranes cellulaires. Cette différence d'équilibre électrique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule permet la transmission de l'influx nerveux, la stimulation et l'activité musculaire, ainsi que le fonctionnement correcte des glandes, les aliments végétaux naturels sont pauvres en sodium, en dehors de quelque espèces de légumes (céleri, pissenlit, épinard) par contre il n'y a que très peu d'aliments naturels pauvres en potassium, les pommes de terre, bananes et tomate sont très riches en potassium (Alais et al., 2003 ; Ardle et al., 2004).

3-4- Les principales plantes médicinales

Il y a environ 500000 plantes sur terre, 10000 d'entre elles, environ, possédant des propriétés médicinales. La plupart de ces plantes sont bien connues et traditionnellement utilisées dans le monde entier, comme la camomille allemande (*Chamomilla recutita*), Aloès (*Aloé vera*), Yam sauvage (*Dioscorea sillosa*), Astragale (*Astragalus membranaceus*), Ananas (*Ananas comosus*) et ainsi que leur principes actifs comme les vitamines et les minéraux.

Ces plantes ont fait l'objet de recherche et agissent efficacement sur la santé (Iserin, 2007).

3-4-1- Chamonille allemande, Matricaire (*Chamonilla recutita*)

La matricaire est une herbacées, famille des astéracées.

Appellation locale : بابونج baboundj. Elle est très abondante en Europe, mais on la trouve aussi en Afrique du nord.

La Camomille allemande est l'une des plantes médicinales les plus importantes pour l'usage domestique. On utilise les capitules floraux séchés, sous forme d'infusion onguent ou de teintures.) . (Bezanger et al, 1990 ; Baba aissa, 1999, Couplon, 2007).



Image1 :fleur de *Chamonilla recutita*

3-4-1-1- Principaux constituants

A coté des coumarines, des tanins, la drogue renferme des flavonoïdes (anthémédine, lutéoléine, rutine), des glucides amers (acide asthénique) ainsi qu'une huile essentielle (proazulènes, famésine, alpha- bisabolol, spiroèthe, chamazuline) (Hensel, 2008).

3-4-1-2- Principaux effets

La matricaire est réputée anti- inflammatoire, anti- allergique, antispasmodique, relaxant, favorise l'expulsion des gaz et légèrement apéritif (Bezanger, 1990 ; Baba aissa, 1999).

3-4-1-3- Usages traditionnels

La matricaire est l'une des plantes médicinales les plus importantes pour l'usage domestique, utilisé en cas de troubles digestifs chez les enfants, car son action est douce.

- Tension nerveuse : Elle contient du spiroéther un puissant antispasmodique qui la rend efficace contre les contractions et les douleurs musculaires, elle réduit l'irritabilité et favorise le sommeil.
- Allergie : Efficace en cas de rhume de foins ou d'asthme. (Iserin, 1997)

Remarque :

Quelques cas, particulièrement rares, de réaction anaphylactiques majeure, consécutive à la prise d'infusion ou à l'exposition aux poussières de plante pulvérisée : urticaire généralisé, œdème de la face et des paupières, œdème pharyngé et obstruction des voies respiratoires (Bruneton, 1999).

3-4-2-Aloés, Aloe vera (Aloe barbadensis)

Originare, de l'Afrique du nord. L'Aloé est une plante vivace, famille des Liliacées.

Appellation locale : marou'sbar مرصبر

Il existe dans le monde plus de 150 espèces d'aloés. L'*Aloe barbadensis* et *Aloe ferox* sont considérés comme les espèces les plus intéressantes. On utilise la feuille contenant un suc très apprécié sous forme de teinture (site2). (Baba aissa, 1999).



Image2. feuille et gel d'Aloé vera

3-4-2-1- Principaux constituants

Aloe vera est riche en substances nutritives dont la synergie explique les vertus polyvalentes. Anatomiquement, sous l'épiderme de la feuille, on trouve un parenchyme palissadique chlorophyllien, puis un double rangé de cellule péri cycliques, et enfin un autre parenchyme cellulósique mucilagineux. Dans les cellules péri cycliques se trouve le suc qui contient des dérivés anthracéniques, résines (alorésines, aloénines) ; tannins et aloétine. Par contre dans le parenchymes cellulósique existe un mucilage qui fournit un gel qui ne semble pas renfermer de composés très spécifique : amino - acides, lipides, stérols, enzymes et surtout polysaccharides (pectines, hémicelluloses)(Pousset, 2004 ; Bruneton, 1993).

3-4-2-2- Principaux effets

Le gel qui s'écoule des feuilles peut servir à soigner les écorchures et les brûlures (y compris le coup de soleil).

Aussi bien dans les dermatites obtenues après irradiation par les rayons que dans les brûlures accidentelles, le gel accélère la guérison plus ou moins selon leur gravité. De

même il permet une réparation plus rapide des cicatrices chirurgicales. Il semble que le gel d'Aloès empêche dans les deux cas la formation du thromboxane B₂ et de prostaglandine PGF₂ qui sont vasoconstricteurs agrégeant plaquettaires. Ainsi la circulation du sang serait conservée et cela permet une meilleure cicatrisation. D'autre part le gel d'Aloès est un très bon anti- inflammatoires, antibactérienne et une activité immunostimulante (**Pousset, 2004; Mason, 2004**).

3-4-2-3- Usages traditionnels

L'Aloès est une plante d'intérieur très appréciée qui s'utilise depuis des siècles comme lotion pour la peau. On dit que Cléopâtre devait sa beauté à cette plante (**Koth, 2007 ; Pousset, 2004**).

3-4-3-Astragale (*Astragalus membranaceus*)

Plante vivace, famille *Fabaceae/ Leguminosae* (légumineuse), espèce méditerranéenne, assez commune dans les pâturages et les forêts de l'Algérie.

Appellation locale : بوسنارة: boussenara.

L'astragale est caractérisé par un goût sucré. Produisant de la gomme adragante qui se présente sous forme de rubans minces, blanc- jaunâtre, translucide à consistance cornée (**Couplon, 2007 ; Baba aissa, 1999**).

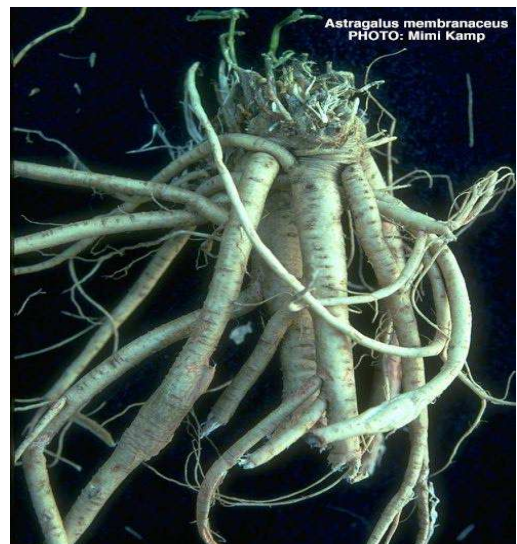


Image3 : racines d' *Astragalus membranaceus*

3-4-3-1- Principaux constituants

Astragale est riche en saponines tri-terpéniques (astragalosides), isoflavonoïdes (formononétine), polysaccharides et les polystéroles (**Iserin, 1997**).

3-4-3-2- Principaux effets

L'Astragale est, dans ses contrées d'origine, un tonique très populaire censé en particulier augmenter l'endurance et les défenses immunitaires de l'organisme. Les racines séchées de

cette plante sont de plus en plus prescrites pour prévenir les rhumes et les infections virales et pour soulager les douleurs menstruelles (Koth , 2007 ; Iserin, 2001)

3-4-3-3- Usages traditionnels

La racine est un tonique traditionnel en chine, augmentant le taux d'énergie et permettant au corps de résister au froid. Elle augmente la résistance immunitaire. Etant un vasodilatateur, l'astragale diminue les sueurs excessives (Iserin, 2001)

3-4-4- Igname sauvage (*Discorea villosa*)

Cette plante appartient à la famille des *Dioscoreaceae* (Discoréacées), appelée aussi Wild Yam ou l'Yam sauvage est une plante vivace sauvage à tubercule originaire d'Amérique du nord (Site 3).



Image 4 : racines de *Discorea villosa*

3-4-4-1- Principaux constituants

Le Yam sauvage, tubercule de haute altitude, contient de la diosgénine qui 'est un précurseur de la progestérone naturelle dont la D.H.E.A (Déhydroépiandrostérone), fabriquée par les glandes surrénales.

La diosgénine a servi de base à la fabrication de la première pilule contraceptive (Koth, 2007 ; Site 4).

3-4-4-2-Principaux effets

Plus récemment, les études réalisées sur la racine de l' Igname ou Yam ont permis de constater qu'elle est particulièrement riche en diosgénine un précurseur hormone qui augmentent le nombre de récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone. Cette phytohormone est une substance naturelle très proche des hormones produites par l'organisme de la femme (le foie, au fur et à mesure des besoins, transformant lui-même ce précurseur végétal en hormones) (Site 5)

L'Yam a des vertus apaisantes, soulage les douleurs, aide à équilibrer le cholestérol et a des effets antifatigue, améliorant le tonus et l'humeur (Site 6).

3-4-4-3- Usages traditionnels

Depuis des siècles, les paysans utilisent l'igname sauvage ou Wild Yam (*Discorea villosa*) pour des multiples usages (douleurs, sciatique, rhumatisme, infection de la peau). Cependant la tradition lui accorde une place très importante dans la résolution des troubles liés à l'approche de la ménopause chez la femme (Site 7).

3-4-5- Ananas (*Ananas comosus*)

L'ananas est une plante appartient à la famille des *Bromeliaceae* (Broméliacées) en hommage à Brunel, médecin suédois du XVII^e siècle, originaire d'Amérique du sud (Pousset, 2004).



Image5 : fruit d'*Ananas comosus*

3-4-5-1- Principaux constituants

Cette plante est aujourd'hui cultivée à grande échelle car les fruits mûrs contiennent des acides organiques, des vitamines A, B et C en petite quantité. Mais l'essentiel est la présence de plusieurs enzymes protéolytiques appelées bromélines ou bromélaïnes que l'on trouve aussi dans les tiges.

3-4-5-2- Principaux effets

Centaines de spécialités contenant les bromélaïnes sont utilisées pour remédier à l'insuffisance des enzymes digestifs, pour diminuer la viscosité et favoriser la pénétration de certains médicaments (antibiotiques). De même l'ingestion de bromélaïnes permet de réduire les œdèmes, les hématomes produits par un traumatisme ou par une opération chirurgicale. En cas d'inflammation, le gonflement et la douleur sont atténués.

Dans le traitement des brûlures profondes, les bromélaïnes attaquent les parties nécrosées et favorisent la cicatrisation. De nombreuses autres indications sont susceptibles d'être soignées.

par les bromélaïnes : cystites, furoncles, abcès à staphylocoques, ulcères, œdème pulmonaire, bronchite chronique. Toutes ces possibilités ne peuvent s'expliquer que par la présence de plusieurs cystéines protéinases constituant les bromélaïnes.

Dans une publication récente, des auteurs thaïlandais rapportent d'une décoction des racines de l'ananas données par voie orale à des rats provoque une augmentation de 79% de la diurèse, ce qui confirme l'utilisation traditionnelle (**Koth, 2007 ; Pousset, 2004**).

3-4-5-3-Usages traditionnels

Le fruit de même que les racines sont connus traditionnellement comme fortifiants de l'estomac, donnant de l'appétit et aussi comme diurétiques (**Pousset, 2004**).

3-6-Plantes à lipides

3-6-1- Carthame (*Carthamus tinctorius*)

Carthame : faux safran, safran mexicain, Carthame des teinturiers.

Appellation locale : asfour عصفور, ihridh احريض. L'espèce cultivée était bien connue en Algérie où elle a servi à la fabrication de fards. En médecine naturelle, le carthame sert à stimuler la menstruation et à soulager les douleurs dans les bas ventres (**Koth, 2007 ; Baba aïssa, 1999**).

L'huile obtenue à partir de ses graines est utilisée en cosmétique. Riche en acides poly-insaturés, elle abaisse le taux de cholestérol.

Cette plante est utilisée pour faire de l'huile alimentaire et pour régler les problèmes de peaux (sèches et très sèches). (**Bezanger, 1990 ; Hensel, 2008 ; Site5**).

3-6-2- L'amandier (*Prinus dulcis*)

L'amandier, Famille des rosacées, très largement cultivé dans toutes les régions méditerranéennes. En Algérie où il paraît pourtant indigène, il est peu répandu.

Appellation locale : Louz لوز

Par pressage ou raffinage des graines mures de l'amandier est obtenue l'huile d'amande douce (amygdalus), qui a une saveur douce huileuse, légèrement sucrée.

La graine contient environ 50 % de lipides particulièrement riche en acides oléique, linoléique ; linoléique, palmitique et acide stéarique.

L'huile d'amande douce est principalement utilisée en cosmétologie et en dermatologie car elle aide à conserver une peau douce et souple, empêche le dessèchement et offre une protection contre les agressions extérieures (**Donadieun et Saury, 1979 ; Baba aissa, 1999 ; Lubinic, 2003**).

3-6-3-Le jojoba (*Simmondsia sinensis*)

Le jojoba, famille des *Buscaceae*, est un arbuste buissonnant dioïque répandu dans les régions désertiques à faible pluviosité. La graine de jojoba renferme jusqu'à 60% d'une huile (*Cera Simmondsiae liquida*) qui est obtenue par pressage ou raffinage. Il s'agit en fait d'une cire, n'est exploitable qu'industriellement. Les constituants de cette huile sont des esters impliquant les eicosénoïque et docasénoïque d'une part et des alcools en C₂₀ (eicosénol), en C₂₂ (docosénol) d'autre part, l'huile de jojoba, parfois appelée « or liquide » est un excellent produit de soins, elle protège la peau contre les agressions extérieures, lui apporte souplesse et l'élasticité et régularise les fonctions cutanées.

En raison de ses propriétés astringentes, elle combat les vergetures et la cellulite. Elle entre dans la formulation de crème, c'est un bon lubrifiant qui ne graisse pas même après des applications répétées (**Bruneton, 1993 ; Le Perchec et Malik, 1994 ; Lubinic, 2003**).

4- TOXICITE

4-1- Introduction

On qualifie le toxique un composé qui peut nuire à la santé des organismes vivants, en particulier à celle des êtres humains (**Glomot, 1986 ; Reichel et al ., 2004**).

L'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose, selon leur origine, on distingue les toxiques synthétiques et les toxiques naturels (toxine) provenant des microorganismes, des animaux ou des plantes (**Reichel et al ., 2004**)

Les tests « in vivo » ne sont pas les seuls qui doivent être réalisés pour l'évaluation des effets toxiques d'une substance. De nombreux autres aspects pharmaco toxicologiques doivent être abordés pour déceler un impact éventuel :

- Effet sur le foie
- Effet sur les reins
- Effet sur la peau
- Effet sur l'œil (**Glomot, 1986**).

4-2-Hépatotoxicité

4-2-1-Physiologie et anatomie du foie

Le foie est l'organe le plus volumineux et le plus complexe du corps, il est impliqué dans le métabolisme des nutriments et de la plupart des xénobiotique, ces derniers sont généralement détoxifiés, mais certains sont bioactives et deviennent plus toxiques (**Frank, 1996**).

Ses principales fonctions peuvent se résumer ainsi :

- Métabolisme des graisses :
 - Oxydation des triglycérides pour produire de l'énergie
 - Synthèse de lipoprotéines plasmatiques
 - Synthèse du cholestérol et de phospholipides
- Métabolisme des hydrates de carbone :
 - Conversion des hydrates de carbone et des protéines en acides gras en triglycérides.
 - Régulation de la glycémie par les processus de glycogénèse, glycogénolyse et néoglucogénèse.
- Métabolisme protéique

- Synthèse de protéines plasmatique, incluant l'albumine et les facteurs de coagulation.
- Synthèse d'acides aminés non essentiels.
- Détoxification des déchets métaboliques.
 - Stockage de glycogène, de vitamine et de fer
 - Métabolisme intermédiaire :
- Détoxification de médicaments et toxiques variés, comme l'alcool
 - Sécrétion
- Synthèse et sécrétion de la bile, cette dernière contient de nombreuses produits, résultant des processus précédents (**Horn et al., 2005 ; Young et al., 2008**).

La principale cellule fonctionnelle du foie est une forme de cellule épithéliale appelée hépatocyte. Les hépatocytes sont séparées par des fines sinusoides vasculaires à travers lesquels circule le sang.

Le foie présente donc la particularité d'être irrigué à la fois par du sang artériel et veineux et d'être drainé par un système veineux distinct .

Après son passage dans les sinusoides, le sang gagne la veine cave inférieure par l'intermédiaire de la veine sus-hépatique

Les vaisseaux sanguins et canaux les plus volumineux cheminent dans le foie à l'intérieur d'un réseau ramifié de nature collagène formant les espaces portes. Ces espaces contiennent également les canaux biliaires qui transportent les biles vers l'intestin grêle où elle est sécrétée (**Horn et al., 2005 ; Young et al., 2008**).

4-2-2-Principales lésions hépatiques

Le foie est le site principal des biotransformations des xénobiotiques ; toute affection hépatique (stéatose, cirrhose, nécrose), en modifie le métabolisme et par voie de conséquence, la toxicité (**Viala, 2007**).

4-2-2-1. Stéatose

Il s'agit d'une accumulation excessive de graisse dans le foie, qui contient plus de 5% de lipides (en poids). La présence d'un excès de lipides qui peut être visualisée histochimiquement. L'accumulation de lipides dans la foie est la phase finale commune à tous les toxiques, le plus fréquent étant probablement le blocage de la libération des triglycérides hépatiques dans le plasma.

Les triglycérides hépatiques étant sécrétées seulement après combinaison avec des lipoprotéines (formation de lipoprotéines à basse densité Very Low Density Lipoprotein ; VLDL), l'accumulation des lipides hépatiques peut être la conséquence de plusieurs mécanismes :

- Inhibition de la synthèse de la moitié protéique des lipoprotéines
 - Perte de Potassium par les hépatocytes, interférence avec le transport des VLDL à travers la membrane cellulaire.
 - Diminution de l'oxydation des lipides par les mitochondries.
 - Inhibition de la synthèse des phospholipides, constituants essentielle des VLDL
- (Frank, 1992).

4-2-2-2- Nécrose hépatique

La nécrose hépatique implique la mort des hépatocytes qui se produit par la rupture de la membrane plasmique. Les modifications morphologiques précoces sont caractérisées par des œdèmes cytoplasmiques, le gonflement du réticulum endoplasmiques et la désagrégation des polysomes, puis l'accumulation de triglycérides sous forme des gouttelettes lipidiques dans les cellules.

Les changements biochimiques sont complexes, le toxique se lie de façon covalente avec des protéines et des lipides insaturés et induit une peroxydation lipidique, les membranes cellulaires, riches en lipides insaturés sont très sensibles à ces altérations qui peuvent être la cause de leur rupture (Frank, 1992).

4-2-2-3- Cirrhose

La cirrhose caractérisée par une destruction répétée des hépatocytes, et donc par la présence d'infiltration de collagène dans la masse hépatique, séparées par les couches fibreuses, les amas d'hépatocytes apparaissent sous forme de nodules.

Dans la cirrhose, les hépatocytes séparées d'un courant sanguin sinusoidal normal, ont une fonction réduite, par exemple synthétisent moins d'albumine et sécrètent moins de bile. Le sang provenant de la veine porte n'est plus drainé hors du foie et une hypertension portale se développe (Frank, 1992 ; Young, 2008).

4-2-3- Procédures d'évaluation

Le produit à tester devrait être administré à l'animal par la même voie que l'exposition humaine prévisible.

4-2-3-1- Examens

- **Examens macroscopiques**

La couleur et l'aspect peuvent souvent indiquer la nature de la toxicité, ainsi que le poids du foie et dans certains cas l'indice le plus sensible de la toxicité. **(Frank, 1992)**.

- **Examens microscopiques**

La microscopie optique peut détecter de nombreuses anomalies histologiques, comme des changements de teneur lipidique, des nécroses, des cirrhoses, des nodules hyperplasiques et des néoplasmes.

La microscopie électronique peut détecter les modifications de diverses structures subcellulaires, souvent utiles pour déterminer le mode d'action des toxiques **(Frank, 1992)**.

- **Tests biochimiques**

La présence dans le sérum de nombreuses enzymes libérées à partir du cytosol et des organites subcellulaire (mitochondries, lysosomes, noyaux) après atteinte hépatique , à été utilisée comme indicateur d'hépto toxicité, comme l'aspartate-amino-transférase (TGP) et le glutamate oxalo-acétate transaminase (TGO) qui sont utilisées comme indicateurs et qui augmentent en cas d'atteintes hépatique **(Frank, 1992)**.

La TGO (ASAT) est de 14-113 UI/l alors que la TGP (ALAT) est de 48-80UI/l chez le lapin **(Quinton, 2003)**.

4-3- Néphrotoxicité

4-3-1- Physiologie du rein

Le rein joue un rôle capital dans le maintien de l'équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique. Il assure aussi l'excrétion des déchets métaboliques et des produits exogènes, tout en conservant les éléments essentiels à l'organisme **(Newman et al., 1999)**.

Il possède également des fonctions endocriniennes primaires, en tant que le site de synthèse d'hormones (érythro-poietine, rénine, prostaglandine, calcitriol) et secondaire en étant le site

d'action d'hormones synthétisées ou activées ailleurs (Aldostérone, angiotensine II, vasopressine) (Newman et al., 1999).

Le rein est particulièrement vulnérable à plusieurs substances toxiques qui sont susceptibles de lui causer des dommages à différents sites et de perturber ainsi certains des ses fonctions (Cronin et Henrich, 2000).

Les facteurs de vulnérabilité du rein sont : le haut niveau de livraison de la toxine au rein dû à sa perfusion importante, la grande surface de l'épithélium tubulaire rénal qui procure des sites d'interaction et de capture de la toxine, la disponibilité de transporteurs spécifiques qui prennent en charge l'internalisation, les mécanismes normaux de concentration du rein qui agissent pour augmenter la concentration urinaire et interstitielles des substances non réabsorbées, les processus métaboliques dans les cellules tubulaires qui peuvent conduire à des métabolites toxiques, et finalement le niveau métabolique élevé des cellules rénales requis par leurs fonctions normales (Weinberg, 1993)

4-3-2-Structure rénale

Une molécule néphrotoxique est susceptible de perturber le fonctionnement des reins ou d'altérer leur structure. Ainsi la connaissance de la structure et de la physiologie rénale est-elle indispensable à la compréhension de la pathogénie et de la physiopathologie des différentes néphropathies induites par certaines xénobiotiques.

- Les reins occupent une position rétro péritonéale dans la région lombaire supérieure. Chaque rein porte une échancrure médiale (hile rénal) où l'on peut voir l'artère rénale, la veine rénale et l'uretère. Chaque rein est contenu dans une capsule fibreuse résistante. Une capsule de tissu adipeux fixe les reins à la paroi abdominale postérieure

- Sur une coupe frontale d'un rein, on distingue trois parties qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, le cortex rénal, la médulla rénale et le pelvis rénal. Des prolongements du pelvis rénal (Calices rénaux) entourent les sommets des pyramides rénales et recueillent l'urine qui s'en écoule.

- L'artère rénale, qui entre dans le rein, se divise en artère segmentaire puis en artères inter lobaires qui parcourent la médulla rénale et sont orientées vers l'extérieur. Les artères inter lobaires donnent ensuite naissance aux artères arquées qui se divisent en artères inter lobaires, les quelles alimentent le cortex rénal. Les veines qui transportent le sang hors du rein suivent le trajet des artères en direction opposée et ont des noms semblables à ceux des ces artères.

- Les néphrons sont les unités structurales et fonctionnelles des reins. Chaque néphron comprend glomérule du rein et tubule rénal. Les subdivisions du tubule rénal sont (à partir du glomérule) la capsule glomérulaire rénale, le tubule contourné proximale, l'anse du néphron et le tubule contourné distal (**Marieb, 2008**).

4-3-3-Principales lésions rénales

Toutes les zones du néphron sont potentiellement sujettes aux effets néfastes des toxiques allant de légères altérations biochimiques responsables de dysfonctionnements mineurs de la fonction rénale jusqu'à la mort cellulaire conduisant à l'insuffisance rénale (**Frank, 1992**)

- **Nécrose des cellules épithéliales :**

Dans la nécrose des cellules épithéliales peuvent être atteintes tout au long du système tubulaire, ou avec une prédominance au niveau de la partie distale du tube contourné.

- **Vacuolisation épithéliale :**

Les cellules épithéliales tubulaires peuvent apparaître gonflées, comblant plus ou moins complètement la lumière du tube. Leur cytoplasme clarifié contient de nombreuses petites vacuoles, notamment au niveau des tubes proximaux (**Richet, 1988**).

4-3-4-Procédures d'évaluation

Les examens morphologiques et fonctionnels du rein font partie des études de toxicité à court ou à long terme.

4-3-4-1- Analyses des urines

- **Protéinurie**

En raison de leur taille, seulement une faible partie des protéines de faible poids moléculaire passe le filtre glomérulaire. Ces protéines sont facilement réabsorbées par les tubules proximaux et leur présence en grande quantité dans l'urine est une indication de la perte de la fonction de réabsorption (**Frank, 1992**).

La valeur des protéines totales chez le lapin est 54-80g/l (**Quinton, 2003**).

- **Glycosurie**

Le glucose présent dans le filtrat glomérulaire est totalement réabsorbé dans les tubules. La glycosurie et l'absence d'hyperglycémie indiquent une déficience tubulaire (**Frank, 1992**).

4-3-4-2-Analyse sanguine

- **Urée sanguine**

L'azote sanguin, dérivé du métabolisme normal des protéines, est excrété dans l'urine. Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire.

L'urée chez le lapin varie entre 0.31-0.29 g/l (**Quinton, 2003**).

- **Créatinine**

La créatinine est un métabolite de la créatine, excrété complétement dans l'urine par filtration glomérulaire. Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal (**Frank, 1992**).

Ce paramètre biochimique est de 5-25mg/l chez le lapin (**Quinton, 2003**).

4-4-Toxicologie de l'œil

Les mécanismes de la vision ont suscité la curiosité de nombreux chercheurs. La vision est le sens qui a fait l'objet du plus grand nombre de publications scientifiques (**Marieb, 2008**).

4-4-1-Anatomie d l'œil

L'œil est constitué de trois couches principales

- Couche scléro-cornéenne qui forme une capsule fibro-élastique résistante autour de l'œil, dont la partie postérieure constituant la sclère ou sclérotique et la partie antérieure appelée cornée qui est le principal milieu de réfraction de l'œil et focalise grossièrement les images sur la rétine. La jonction scléro-cornéenne, est appelée limbe alors que la face externe de l'œil est recouverte par la conjonctive qui s'étend au dessus de la jonction entre la cornée et le limbe avant de se réfléchir à l'intérieur des paupières.

- Couche uvéale qui est très vascularisée comprenant trois parties : la choroïde, le corps ciliaire et l'iris. L'iris, très pigmenté fonctionne comme un diaphragme variable qui règle la quantité de la lumière atteignant la rétine. L'ouverture de l'iris est appelée la pupille.

- Couche rétinienne :

La rétine photosensible forme la couche de revêtement la plus interne du compartiment postérieur de l'œil (**Young et al., 2008**).

4-4-2-Sites d'action des toxiques

La cornée est une structure fragile, la plus externe de l'œil, donc la plus exposée aux effets toxiques

4-4-3-Procédure d'évaluation

Les effets oculaires peuvent être constatés après application topique des toxiques, sans négliger la possibilité d'effets systémiques. Il existe de nombreuses procédures d'examen.

4-4-3-1-Examen macroscopique

Le lapin albinos est l'espèce de choix pour déterminer le pouvoir irritant des médicaments oculaires et des produits chimiques qui peuvent entrer en contact avec l'œil.

Les résultats sont évalués d'après une échelle de notation (Méthode de DRAIZE, guide de l'étiquetage, journal officiel de la république française). En notant les états inflammatoires respectivement au niveau de la cornée, de l'iris et de conjonctive de l'œil (**Glomot, 1986**).

4-4-3-2- Examen histologiques et biochimiques

La microscopie optique peut préciser le site d'action des toxiques (épaississement de l'épithélium pigmentaire), la microscopie électronique (peut montrer les changements ultrastructuraux (le gonflement mitochondrial) et les études biochimiques révèlent le mécanisme des effets toxiques (inhibition de nombreuses réactions enzymatiques) (**Frank, 1992**).

4-5- Toxicologie de la peau

La peau est l'organe le plus gros de l'organisme, elle est constituée du derme, de l'épiderme et de l'hypoderme (**Schoffler et Menche, 2004**). (**Fig 2**)

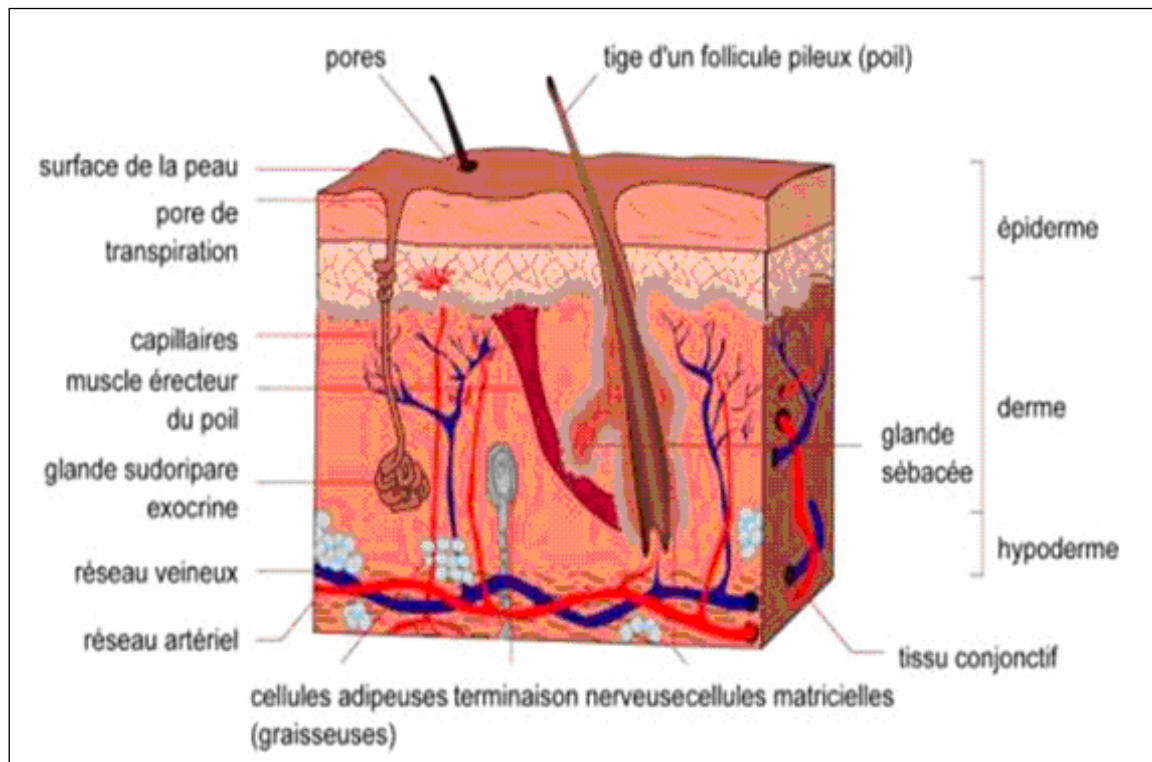


Figure 2 : structure de la peau

4-5-1- L'épiderme

C'est la couche la plus externe de la peau, elle ne possède pas de vaisseaux sanguins, et est formée d'un épithélium plat corné et multicouche qui est principalement composé de Kératinocytes. Il s'agit de cellules qui fabriquent la substance appelée : Kératine, celui-ci est hydrofuge et permet la peau d'être ferme et protégée (Schoffler et Menche, 2004).

Il existe d'autres cellules d'origine et de fonction diverses qui représentent 5 à 10 % des cellules épidermiques : les mélanocytes, cellules immunitaires, (cellules de Langherans, cellules dendritique, cellules de Grandstein), cellules de Merkel, l'épaisseur de l'épiderme varie de 0.07 à 0.12 mm au niveau de la peau fine et de 0.8 à 1.4 mm au niveau de la peau épaisse (Schoffler et Menche, 2004).

4-5-1-1-Stratification de l'épiderme

L'épiderme comporte 5 couches de cellules :

- **Couche basale (stratum germinativum)**

Dont les cellules produisent les constituants de la membrane basale.

- **Couches des cellules à épines (stratum spinosum)**

La couche basale du stratum spinosum constitue le corps unique de Malpighi

- **Couche granuleuse (stratum granulosum)**

Dont les cellules ne se divisent plus

- **Couche claire (stratum lucideum)**

Se retrouve au niveau de l'épiderme épais (palmaire et plantaire)

- **Couche cornée (stratum cornéum)**

Dont les cellules sont kératinisées et anucléées (**Dadoune et al., 2000**).

- **Kératinocytes et kératinisation**

La plupart des cellules épidermiques sont Kératinocytes qui produisent en abondance des protéines filamenteuses du cytosquelette et évoluent au cours de la kératinisation en cellules cornées superficielles de l'épiderme.

On distingue deux grandes variétés de Kératine : la kératine molle épidermique riche en lipide et la kératine dure pauvre en lipides (**Dadoune et al., 2000**).

4-5-2-Le derme

Il est formé par le tissu conjonctif contenant un réseau de fibres conjonctives et de fibres élastiques auxquelles la peau doit sa résistance et son élasticité (**Fawcett et Jensch,2002**).

4-5-3-Fonction de la peau

La peau assure quatre grandes fonctions :

- **La protection**

Contre les rayons Ultra Violet, les agressions mécaniques, chimiques et thermiques, cette surface empêche la déshydratation

- **La sensation**

La peau est l'organe sensoriel le plus étendu de l'organisme et renferme de nombreux récepteurs pour le toucher, la pression, la chaleur et la température.

- **La thermorégulation**

Le corps est protégé de la déperdition calorifique par la présence de poils et de tissu adipeux sous cutané.

- **Fonction métabolique**

Le tissu adipeux sous cutané constitue une réserve importante d'énergie (**Wheater et al., 2004**).

En plus de ces quatre fonctions ; la peau intervient dans la défense immunitaire et la sécrétion de divers facteurs actifs et la production sébum et de vitamine D (**Dadoune et al., 2000**).

4-5-4-Principes thérapeutiques dans les maladies de la peau

Les maladies dermatologiques sont traitées selon deux voies traitement systémique et le traitement local.

4-5-4-1- Traitement systémique

Les médicaments sont administrés sous forme de comprimés ou d'injection et ceci pour obtenir des taux efficace dans le sang , les médicaments atteignent la peau par voie sanguine mais d'autre parties de l'organisme peuvent être également atteintes, ce qui pourrait entraîner des effets secondaires majeurs, pour cette raison , le traitement local est privilégié.

4-5-4-2- Traitement local

L'administration d'un médicament par voie local permet d'obtenir des concentrations de principes actifs plus importantes au niveau de la zone atteinte (**Scoffler et Menche, 2004**).

4-5-5- L'hypoderme

Cette couche apparaît comme une extension du derme, la densité et l'organisation de la couche sous cutanée déterminent la mobilité de la peau, cette couche est dépourvue de graisse.

La zone superficielle de l'hypoderme contient certaines parties des follicules pileux et des glandes sudoripares (**Leeson et Leeson, 1980**).

4-5-6-Les annexes cutanées

Ces annexes dérivent de l'épiderme et ce sont : les poils et les follicules, les angles, les glandes sudoripares et les glandes sébacées (**Marieb, 2005**).

- **Les glandes sudoripares**

Sont deux types

1. Ecrines : et sont réparties sur la presque totalité du corps
2. Apocrines

- **Les angles**

Sont des plaques de cellules cornées épidermiques assemblées de manière compacte et dure (**Schoffler et Menche, 2004**).

- **Les poils :**

Existent sur la presque totalité de la surface cutanée, ils ont pour mission la protection contre le froid et les forces de pression mécaniques (**Schoffler et Menche, 2004**).

- **Les glandes sébacées :**

Sont en général annexées aux follicules pileux, la partie sécrétrice de la glande siège dans la peau (**Schoffler et Menche, 2004**).

4-5-7-Principaux effets toxiques

4-5-7-1-Irritation

L'irritation est la réaction de la peau aux différents toxiques, la réaction varie de l'œdème et de la vésiculation jusqu'à l'ulcération (corrosion). Les irritations principales se produisent au site de contact en général, au premier contact, différant en cela de la sensibilisation (**Viala, 2002 ; Frank, 1991**).

4-5-7-2- Sensibilisation et photo toxicité

Les réactions allergiques, plus fréquentes, nécessitent une sensibilisation préalable à une substance et ne se développent, après une période d'induction, que lors d'une exposition ultérieure à cette substance.

D'autres réaction sont déclenchées par la lumière (solaire en particulier, on l'UV artificiels), chez des personnes soumises à divers traitement médicamenteux par voie générale ou à certaines applications locales (Viala, 2007)

4-5-8- Procédures d'évaluation

Les essais de détermination de la toxicité pour la peau peuvent comprendre

- La recherche de photo-allergie sur le cobaye albinos ;
- La recherche de photo-toxicité sur la souris ou le lapin albinos ;
- La recherche de l'urticaire de contact sur le cobaye ;
- L'indice d'irritation cutanée primaire sur le lapin albinos, comportant une seule application sur la peau rasée, parfois après scarification de l'épiderme ;
- Le test de tolérance cutanée aux applications itératives sur le lapin albinos, en procédant à des applications sur la peau intacte 5 jours par semaine pendant 6 semaines
- La recherche de la cancérisation de la peau chez la souris, par des applications sur la peau rasée au moins une fois par semaine langue période.

4-6-Muqueuse rectale

4-6-1- Introduction

Le rectum est la partie terminale du tube digestif qui fait suite au côlon sigmoïde, là où se termine le méso-sigmoïde, en regard de la troisième vertèbre sacrée. Il est situé dans l'espace sous-péritonéal. Le rectum est un segment fixe, doué de propriétés contractiles.

Il descend dans l'excavation pelvienne pour venir traverser les parties molles du périnée postérieur et se terminer à l'orifice anal (Figure 11) (Dadoune et al, 2007).

4-6-2- Anatomie descriptive du rectum

D'après Stevens A. et Lowe J. (2006), le rectum présente plusieurs parties importantes sur le plan anatomique, et il permet de distinguer deux portions : le rectum pelvien et le rectum périnéal ou canal anal.

4-6-2-1- Le rectum pelvien

Le rectum pelvien est un conduit cylindrique compris entre la charnière rectosigmoïdienne et la jonction ano-rectale. Il épouse la concavité sacro-coccygienne, jusqu'à sa traversée du diaphragme pelvien, où il se coude brusquement en arrière pour devenir le canal anal.

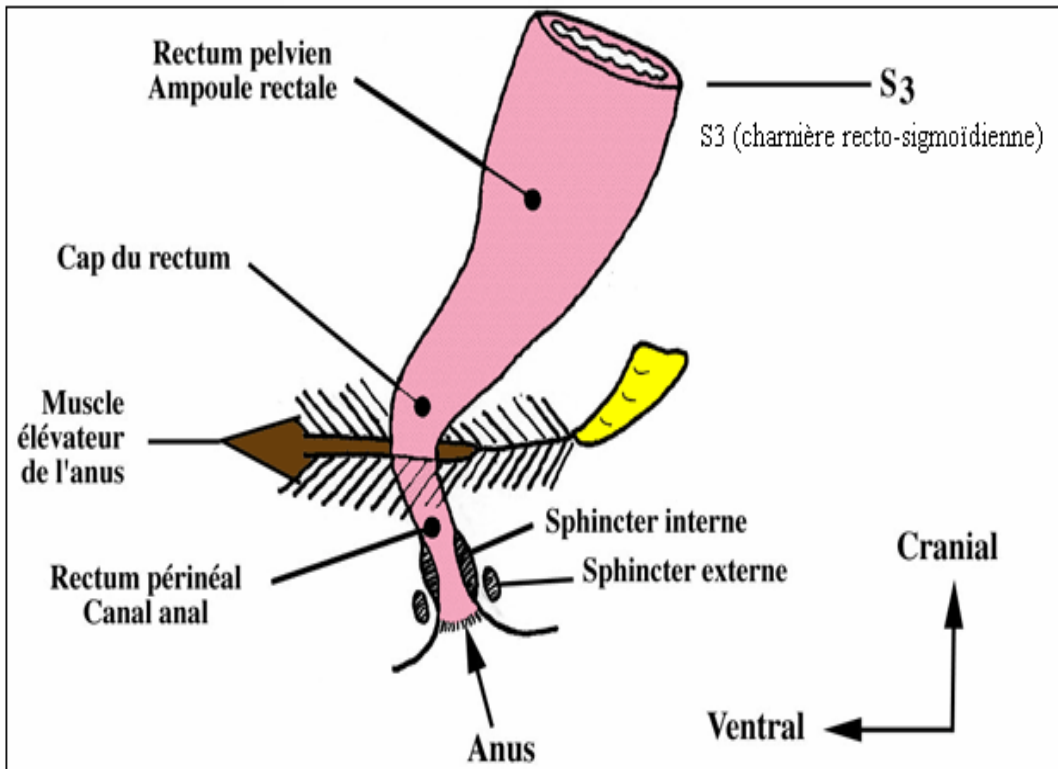
Aplati à l'état de vacuité, le rectum peut être atteindre des dimensions importantes, surtout dans sa portion distale.

Le rectum pelvien dans sa portion sous péritonéale, ou extra péritonéale, est entouré par une gaine fibreuse, dont il est séparé par un espace cellulo-graisseux. Cette gaine fibreuse s'étend depuis la réflexion péritonéale jusqu'au niveau du fascia pariétal pelvien.

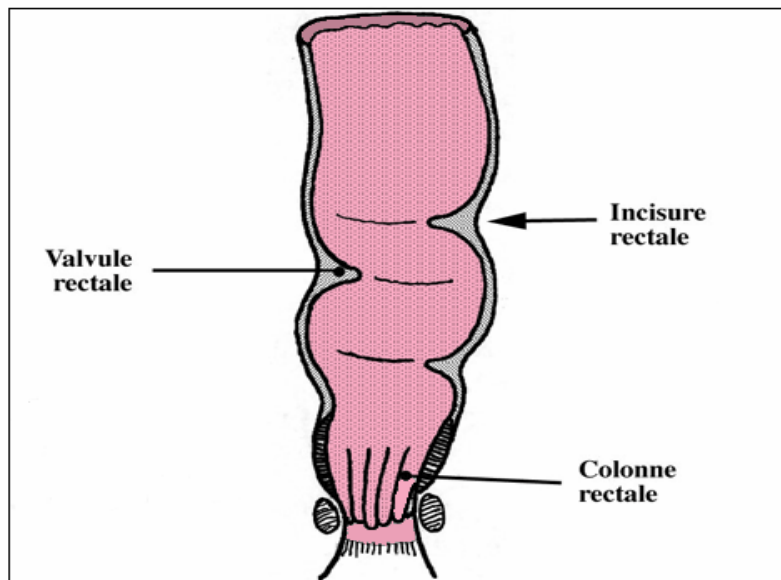
4-6-2-2- Le rectum périnéal ou canal anal

- **Le rectum périnéal** ou canal anal, portion rétrécie qui se termine à l'anus. Il est orienté en caudal et dorsal. Cette portion est munie d'un double système sphinctérien.

L'un est un simple renforcement de la paroi musculaire lisse du rectum, c'est le sphincter interne. L'autre est un anneau musculaire fait de muscles striés, c'est le sphincter externe de l'anus. Il reçoit des fibres musculaires du muscle élévateur de l'anus. Le cap du rectum, situé entre ces deux zones correspond au muscle élévateur de l'anus qui participe de façon importante à la continence anale. Il forme un angle obtus en dorsal. (Fig2).



a- coupe sagittale



b- coupe frontale

Figure 2 : Coupes sagittale (a) et frontale (b) du rectum

4-6-3-Vascularisation du rectum

4-6-3-1- Artères

La vascularisation du rectum est de type pédiculaire. Les artères hémorroïdaires sont appelées artères rectales.

L'artère sacrale médiane est la branche terminale de l'aorte, descend jusqu'à la face postérieure du canal anal qu'elle vascularise.

L'artère rectale supérieure est la branche de terminaison de l'artère mésentérique inférieure. Elle se divise rapidement en deux branches collatérales.

L'artère rectale moyenne est une branche de l'artère iliaque interne (artère hypogastrique) d'importance variable mais d'autant plus développée que l'artère rectale inférieure est grêle.

L'artère rectale inférieure est une branche de l'artère basse interne ; elle traverse le sphincter externe pour atteindre l'espace sous muqueux du canal anal au niveau duquel elle chemine. **(Vigué M., 2004).**

4-6-3-2- Veines rectales

Elles sont satellites des artères et se drainent essentiellement par la veine rectale supérieure, donc :

- par les veines rectales moyennes et inférieures, dans la veine iliaque interne qui rejoint la veine cave caudale.
- par l'intermédiaire des veines rectales craniales, dans la veine mésentérique inférieure qui va contribuer à former la veine porte.

Mais il existe, comme pour le système artériel de nombreuses anastomoses vers le bas et à travers le sphincter anal. **(Vigué M., 2004)**

MATERIEL ET MEDHODES

Objectifs

- 1 -Evaluation de l'innocuité cutanée de la préparation pharmaceutique (ZAY3).
- 2 -Appréciation de l'effet toxicologique du produit utilisé comme médicament
 - sur le métabolisme sanguin
 - sur le foie
 - sur le rein

1- Protocole

Pour répondre au premier objectif, nous avons fait quatre tests pour chaque animal de l'étude comme suit

- 1- Test d'irritation oculaire : l'œil du lapin est instillé avec le produit ZAY3.
- 2- Test d'indice d'irritation primaire cutané : le produit est appliqué sur la peau (zone scarifiée et zone non scarifiée).
- 3- Test:d'agressivité superficielle cutanée par application itérative : le produit ZAY3 est appliqué sur la partie lombaire des lapins pendant six semaines.
Après six semaines d'expérience, des prélèvements sanguins ont été effectués afin de réaliser une étude biochimique (TGO, TGP, urée, créatinine, protides totaux, albumine, glycémie)
Les animaux sont sacrifiés disséqués à fin de réaliser des prélèvements des différents organes (foie, reins, peau et muqueuse rectale) et des coupes histologiques.
- 4- Test d'agressivité superficielle de la muqueuse rectale : le produit ZAY3 est injecté au niveau du rectum.

2- Produit ZAY3 :

Le produit ZAY3 est une crème livrée par une firme pharmaceutique qui est conçue pour maintenir des niveaux de sécrétion de cortisol, de DHEA (déhydroépiandrostérone) et de mélatonine afin d'améliorer la qualité du sommeil et de réduire la tension musculaire et le stress.

Le produit est composé de plantes, de minéraux et de vitamines (annexe1).

3- Mode d'extraction

C'est l'extraction biooptimisée B.E.E (Bio Enhanced Extraction), qui n'utilise pas de solvant ni aucun procédé susceptible de modifier ou de diminuer les molécules ciblées.

MATERIEL ET METHODES

3-1- Processus B.E.E

Les plantes du produit « La camomille allemande (*Chamomilla recutita*), Aloes (*Aloe vera*), Astragalus (*Astragalus membranaceus*, Yam sauvage (*Dioscoria villosa*), Ananas (*Ananas comosus*), » ont bénéficié de conditions optimales de culture (sol, climat), de récolte et de stockage (séchage, conservation).

La pureté du matériel végétal est confirmée par plusieurs méthodes chromatographiques et spectroscopiques tels que la HPLC (High Pressure Liquid Chromatography ou chromatographie liquide à haute pression), la GC (Gas Chromatography), la chromatographie liquide, la spectroscopie de masse et la SAA (Spectroscopie d'Absorption Atomique).

Le choix de la méthode dépend du type des molécules cibles, chose qui n'est pas connu, puisque cette partie est réalisée par la firme.

3-2- Extraction

Le matériel végétal est séché à basse pression ou sous vide (lyophilisation), les paramètres (temps, température, taux d'humidité), utilisés dépendent de la nature du support végétal utilisé.

- Broyage à température ambiante

Trois étapes : d'un broyage relativement grossier à une poudre très fine de 100 μ , à son tour affinée jusqu'à obtention de particules d'un diamètre allant de 60 à 80 μ .

- Cette poudre est introduite dans un champ électrostatique fort, les particules contenues issues du broyage sont chargées, elles vont migrer vers les deux pôles (positif ou négatif) en fonction de leur charge.

- Les microparticules sont soumises aux ultrasons.

Les microparticules se partagent en fonction de la masse et de la structure. Elles sont recueillies dans des récipients collecteurs.

Les fractions obtenues font l'objet d'une série de tests supplémentaires, ces essais qualitatifs et quantitatifs permettent de déterminer leur efficacité par rapport à leur teneur en principes actifs qui présentent le maximum d'avantages (pénétration rapide et longévité d'action) avec le minimum d'effets secondaires sont retenus.

MATERIEL ET METHODES

3- 3- Optimisation

L'efficacité du principe actif est optimisée en enlevant toutes les molécules qui lui sont liées et qui sont susceptibles de diminuer son potentiel.

-ajout d'extrait d'agrumes pour améliorer la préservation, faciliter l'absorption et augmenter la biodisponibilité.

-des préparations uniques sont réalisées à partir de la combinaison de plusieurs ingrédients issus de la B.E.E afin d'obtenir l'effet de synergie nécessaire pour une bonne efficacité optimale.

4- Animaux de l'étude

Notre étude a été réalisée sur 06 lapins de race néo-zélandaises (albinos) ayant un poids moyen de 2 à 2,5kg et sont issus d'une animalerie à Hamma Bouziane.

Les lapins sont marqués deux fois par semaine afin de préserver leur identité dans chaque lot.

Le choix de ce model animal est fait pour les raisons suivantes

- La facilité de manipulation et d'entretien des animaux
- La résistance vis-à-vis de diverses contaminations

Les animaux ont été répartis en deux groupes de trois lapins dans des cages munies d'un mangeoire, d'une bouteille d'eau et d'une porte étiquette où sera mentionné le nom du lot, le traitement subi, ainsi que les dates d'expérimentation. La litière utilisée est la sciure de bois, qui est renouvelée tous les deux jours. Les cages étaient rangées dans une batterie au niveau du laboratoire de botanique (Faculté des Sciences et de la Vie), où la température variait entre 20° et 25°C, l'hygrométrie était à peu près de 55%, sous un éclairage et une ventilation optimisés. Toutes les manipulations sont faites à la même heure pour éviter de stresser les lapins.

L'aliment standard est composé comme suit : luzerne, orge, maïs, soja, CCV (Complément Complexe Vitaminique), provenant de Bouzaréa, Alger.

5- Etude de l'innocuité cutanée du ZAY3

Le matériel utilisé de chacun des quatre tests d'innocuité sont détaillés en annexe2.

5-1-Test d'irritation oculaire:

Chaque lapins de l'études est testé comme suit :

- S'assurer que le lapin a les deux yeux sains et sans défaut.
- Placer le lapin dans la boîte de contention et l'immobiliser.

MATERIEL ET METHODES

- Instiller 1ml de ZAY3 dans la paupière inférieure gauche du lapin.
- Maintenir les deux paupières ensemble pendant quelques secondes.
- Observer l'œil à 1 heure, un, deux, trois, quatre et sept jours après l'opération

utilisant l'œil droit non instillé comme témoin pour évaluer la présence d'une irritation dans l'œil traité.

Nous avons examiné les différentes parties de l'œil et observer les lésions:

- Conjonctive (Chémosis, larmolement, rougissement),
- Iris,
- Cornée (degré et surface d'application).

L'observation de la cornée sera complétée par un autre examen après instillation de la solution de fluorescéine et rinçage à l'aide de solution de Chlorure de Sodium, elle pourra être poursuivie en utilisant la lampe U.V.

5-1-1-Evaluation numérique des lésions oculaires

Selon la gravité de la lésion observée, une note est attribuée, afin de calculer l'indice d'irritation oculaire (IOI).

La Conjonctive : Evaluer le Chémosis et le larmolement avant l'ouverture des paupières.

A. Chémosis

Pas de gonflement	0
Gonflement léger, y compris la membrane nyctéméral	1
Gonflement avec éversion de paupière	2
Gonflement avec paupière à demi fermée	3
Gonflement avec paupière fermée plus qu'à moitié ou complètement	4

B. Larmolement

Absence de larmolement	0
Larmolement léger	1
Larmolement avec humidification des paupières et des poils avoisinant les paupières	2
Larmolement avec humidification des paupières et des poils sur de larges surfaces autour de l'œil	3

C. Rougissement de la conjonctive palpébrale

Vaisseaux normaux	0
-------------------	----------

MATERIEL ET METHODES

Vaisseaux nettement plus injectés que la normale	1
Vaisseaux difficiles à distinguer individuellement	
Couleur rouge vive, diffuse	2
Couleur rouge foncée, diffuse	3
Additionner les trois notes et multiplier le totale par deux	
(A+ B+ C) x2 Maximum = 20	

D. Iris

Normal	0
Nettement plus plissé que le normale, congestion, gonflement, iris réagissant encore à la lumière, même lentement	1
Pas de réaction à la lumière, hémorragie, destruction importante	2
Multiplier la note obtenue D par 5 (Dx 5) Maximum =10	

E. Cornée (degré d'opacification)

Aucune modification visible ni perte de brillant ou de poil	0
Présence de zone translucide (diffuse ou disséminée), détails de l'iris visible	1
Présence d'une zone translucide facilement identifiable, détails de l'iris légèrement masqués	2
Présence d'une zone opalescente, aucun détail de l'iris visible, contour de la pupille à peine discernable	3
Présence d'une opacité rendant l'iris et la pupille invisible	4

F. Surface d'opacité

Un quart au moins mais non nulle	1
Entre le quart et la moitié	2
Entre la moitié et les trois quart	3
Des trois quarts à toute la surface	4
Faire le produit des deux notes et le multiplier par 5 :	
ExFx5 Maximum =80	

5-1-2- Détermination des indices d'irritation oculaire

Pour calculer l'indice, nous avons fait les équations suivantes :

- Additionner les notes obtenues pour chacun des six lapins à chaque temps d'observation ce qui nous donne l'indice d'Irritation Oculaire Individuel : I.O.I.
- Faire à chaque temps la moyenne des I.O.I des 6 lapins ce qui nous donne l'Indice d'Irritation Oculaire moyen.

MATERIEL ET METHODES

- Noter parmi les 6 I.O celui qui a la valeur la plus élevée. (l'Indice d'Irritation Oculaire Maximum). Le temps d'apparition de celui-ci sera précisé (**J.O.du 24.10.84, Hamdi Pacha Y, 1993**).

5-2-Test d'indice d'irritation Primaire cutanée:

Afin de réaliser ce deuxième test, chaque lapin a subis les étapes ci-dessous

- La veille de l'application du produit, tondre le dos et les flancs de l'animal pour dégager une surface d'environ 14 cm x 14 cm (éviter toute irritation).
- Le lendemain, effectuer à la droite de l'axe vertébral à l'aide d'un vaccinostyle, trois scarifications parallèles sur une longueur d'environ 2.5 cm espacées de 0.5 cm environ. Les scarifications de l'épiderme sont réalisées sans atteindre le derme, (sans saignement).
- Ensuite, appliquer le produit sur la peau (zone scarifiée et non scarifiée) après l'avoir déposé à l'aide de la seringue sur les pièces de gaze à raison de 0.5 ml (éviter toute perte).
- Maintenir en contact avec la peau le produit et la pièce de gaze sur chacune des deux zones avec la bande de fixation.
- Placer la compresse de protection.
- Maintenir l'ensemble par un pansement (Sparadrap).
- Enlever le pansement et les pièces de gaze 24 heures après l'application du produit.
- L'irritation primaire cutanée doit être évaluée 30 minutes environ après enlèvement du pansement et de nouveau 48 heures plus tard, c'est-à-dire 72 heures après l'application du produit.
- Les observations sont faites sur les deux zones scarifiées et non scarifiées, selon l'échelle numérique suivante :

Erythème et formation d'escarres

Pas d'érythème	0
Léger érythème (à peine visible)	1
Erythème bien visible	2
Erythème important	3
Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (Lésions profondes)	4

MATERIEL ET METHODES

Formation d'œdème

Pas d'œdème	0
Très léger œdème (à peine visible)	1
Léger œdème (contour bien défini, gonflement apparent)	2
Œdème moyen (épaisseur environ 1 mm)	3
Œdème grave (épaisseur supérieur à 1 mm, surface supérieur à celle de la zone d'application)	4

Après l'observation et la notification des lésions, nous avons :

Additionné les chiffres obtenus pour l'érythème et pour l'œdème après 24 heures et 72 heures sur les six zones non scarifiées d'une part et d'autre part sur les six zones scarifiées.

Ensuite, additionné les chiffres ainsi obtenus et calculer la moyenne en divisant le total par 24, cette moyenne représente l'indice d'Irritation Primaire cutanée (I.P) qui est exprimé selon ce graduel.(**J.O.du 21.04.82, Hamdi Pacha Y, 1993**).

Expression des résultats :

Non irritant	$IP \leq 0.5$
Légèrement irritant	$0.5 \leq IP \leq 2$
Irritant	$2 \leq IP \leq 5$
Très irritant	$5 \leq IP \leq 8$

5-3-Test d'agressivité superficielle cutanée par application itérative pendant 6 semaines du ZAY3

Nous avons respecté le mode opératoire ci-dessous :

- Tondre la région dorsale rétroscapulaire des 6 lapins dans le sens cardocrânien de part et d'autre de la colonne vertébrale sur 8 cm de largeur et 15 cm de longueur.
- 6 lapins constituent le lot 1 recevant le produit à expérimenter.
- 6 lapins constituent le lot 2 ou lot témoin.
- Sur les 6 lapins du lot 1, appliquer le produit de manière bien uniforme sur la plage rosée de droite. Masser légèrement le coté gauche (ne reçoit pas le produit mais subit un message identique).
- Appliquer 1ml de ZAY3 par animal et par jour.
- Veiller à ce que l'animal ne se lèche pas après l'application.
- Effectuer les applications cinq jours consécutifs par semaine pendant six semaines au même moment de la journée.

MATERIEL ET METHODES

- Tondre les animaux au début de chaque semaine au minimum quatre heures avant l'application.
- Procéder à un examen histologique de la peau des lapins du lot 1, à l'issue des 6 semaines d'expérimentation.
- Effectuer un examen de la peau sur les zones traitées et non traitées, avant chaque application de produit et 24 heures après la dernière. Cet examen porte sur l'aspect général de l'animal, la souplesse de la peau, son état, notamment la présence de desquamation, plicature, macules, papules, vésicules, ulcération et la repousse du poil.
- Compléter les observations macroscopiques par les résultats des examens histologiques des zones traitées et non traitées.
- Rechercher et noter la formation d'érythème et d'œdème (échelle numérique idem que I.P.C.), avant chaque application et 24 heures après la dernière (**J.O.21.04.74, Hamdi Pacha Y, 1993**).

5-4- Test d'évaluation de l'agressivité superficielle du ZAY3 sur la muqueuse rectale du lapin

Les produits destinés à être appliqués sur les muqueuses sont essayés sur la muqueuse rectale du lapin sous forme de crème (1 ml). Chaque animale a reçu un 1 ml quotidiennement, pendant 15 jours, le test a été conduit sur les 6 lapins de poids compris entre 2 et 2.5 Kg.

A l'issue de cette période, les animaux ont été sacrifiés, on a examiné macroscopiquement le rectum (région périanale interne), observant l'éventualité de rougeurs (diffuses ou nettement circonscrites), de soulèvement de la muqueuse (œdème), de taches pétéchiales (**J.O. du 08.08.72, Hamdi Pacha Y, 1993**).

Trois prélèvements ont été effectués pour examen histologique.

6- Etude biochimique

La fin du traitement était suivie d'un prélèvement sanguin au niveau de la veine marginale de l'oreille du lapin après avoir frotté celle-ci avec un tampon imbibé d'alcool pour favoriser la vasodilatation.

L'aiguille d'une seringue est introduite dans la veine et un volume de 2,5 à 3ml de sang est collecté dans des tubes héparinés afin d'éviter sa coagulation.

MATERIEL ET METHODES

Suite au prélèvement, les tubes héparinés ont été centrifugés pendant dix minutes à 4000 tours/mn centrifugeuse « HETTICH, EBA 20 », puis le sérum collecté de chaque lapin était distribué dans deux tubes secs portant des étiquettes et gardés au congélateur, jusqu'à son utilisation, pour le dosage de certains paramètres biochimiques (TGO, TGP, créatinine, urée, glycémie, protides totaux et albumine).

L'étude biochimique a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie au CHU de Constantine grâce à l'appareil « ARCHITECT Ci 8200 » (Qui permet une analyse automatique du sang selon le but recherché et les paramètres à étudier).(annexe3)

7-Etude histologique

L'étude histologique a été réalisée à la fin des expérimentations, après sacrifice des animaux et prélèvement d'organes utilisés dans cette étude : foie, reins, peau et muqueuse rectale.

7.1. Fixation des pièces

Les éléments histologiques sont fixés dans le formol à 10% qui agit par coagulation ménagée du protoplasme cellulaire, du noyau de leurs constituants et de leur enclave. Les pièces prélevées et lavées ont été mises dans des piluliers et recouvertes de formol à 10%, hermétiquement fermés et étiquetés selon les lots.

Les étapes suivantes ont toutes été réalisées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique à la clinique rénale de DAKSI (Constantine).

7-2-Déshydratation

Au niveau du laboratoire, les pièces du pilulier ont été tirées, mises dans des cassettes à inclusion, et lavées sous l'eau courante pour les débarrasser de l'excès du fixateur.

Avant de les inclure dans de la paraffine, les pièces doivent être soigneusement déshydratées.

La déshydratation est réalisée automatiquement via un appareil « le Technicon ». Cet appareil comporte plusieurs flacons déposés en série et remplis d'alcool à concentration croissante (70%, 80%, 90%, 100%) et de xylène pur selon un ordre bien déterminé où les cassettes contenant les pièces vont séjourner successivement pendant des durées variables.

Le temps total de passage des pièces dans le technicon est de 16h, après cette période les pièces sont récupérées pour passer à l'inclusion.

MATERIEL ET METHODES

7-3- Inclusion

Le paraffinage a lieu grâce à un appareil muni d'un compartiment alimenté en chaleur pour faire couler la paraffine (56°C-58°C), et d'une plaque refroidissant sur laquelle est mis un moule métallique contenant les cassettes où les pièces sont mises à nu. Une fois les pièces couvertes de paraffine liquide sont laissées refroidir sur une plaque à froid, ainsi, on obtient les blocs qui seront utilisés pour donner de fines coupes. Les blocs sont conservés au froid jusqu'à la coupe des pièces.

7-4- Coupe des pièces

Cette étape permet d'obtenir des coupes destinées à l'examen au microscope. Ces coupes doivent être minces pour que la lumière les traverse aisément et avoir une solidité suffisante pour être manipulées.

Pour cela un microtome à avance mécanique et couteau d'acier est utilisé. C'est un instrument assez complexe permettant de faire passer les pièces à couper devant le rasoir, à chaque passage celui-ci enlève une tranche d'épaisseur variable (4 à 6µm).

Mettre en place la cassette sur le microtome, convenablement orientée, pour présenter correctement la face à couper devant le rasoir. Celui-ci est à son tour placé et orienté de façon à attaquer la pièce après quelques passages.

Pour enlever l'excès de paraffine, lorsque la pièce est affranchie et qu'elle paraît complète dans la coupe sur toute son étendue, on règle l'épaisseur avec un dispositif spécial. Le mouvement remis en marche, à chaque passage de la pièce, il se fait une coupe qui se colle automatiquement au bord de la coupe précédente. Ce qui nous permet d'obtenir un ruban de coupe.

Le ruban fractionné est porté sur une lame de verre par des aiguilles sur lesquelles on a mis une goutte de gélatine, dans la position où il se présente à la sortie du rasoir, pour y adhérer solidement en vue des manipulations ultérieures.

La lame est mise sur une plaque chauffante pour permettre un bon étalement et éviter la formation des plis. Ensuite elle est mise dans un plateau, prête pour la coloration.

Les lames ont été toutes marquées sur leur bord pour porter le numéro et la nature du tissu considéré, par un stylo à diamant.

7-5-Coloration

La coloration est obtenue en plongeant la coupe dans des bains colorants comme suit :

1- Déparaffiner la coupe : Plonger la lame dans le premier bain de xylène pendant 20mn, puis dans le second pendant 20mn, pour dissoudre la paraffine.

MATERIEL ET METHODES

2- Hydrater la coupe : Pour faire disparaître le xylène faire passer la lame dans trois bains d'alcool absolu pendant des durées respectives de 10mn, 10mn et 5mn. Faire passer la lame dans l'eau courante, puis dans l'eau distillée.

3- Coloration à l'hématoxyline : Plonger la coupe bien hydratée dans un bain d'hématoxyline pendant 20mn, faire un lavage à l'eau courante puis la faire passer dans l'eau distillée.

4-Coloration à l'éosine : Plonger la lame dans le bain d'éosine pendant 25mn, puis effectuer un lavage à l'eau courante.

5- Déshydratation : Faire passer la lame dans l'alcool absolu, puis dans le xylène, ensuite la plonger dans un bain de xylène pendant 15mn, égoutter les lames et les faire sécher à l'aide d'une gaze.

6- Montage : Déposer une goutte d'une solution permettant l'adhésion (Enthelan) sur la lame, et présente une lame couvre- objet propre et sèche en l'inclinant progressivement de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'air. La solution ne doit pas déborder, la lamelle est adhérente et la préparation prête pour l'observation microscopique.

7-Observation au microscope et prise de photos : les lames passent ensuite à l'observation au microscope optique à différents grossissements. Un tri judicieux a été réalisé puis les lames sont prises en photo numérique.

8- Analyse statistique

Pour l'analyse statistique de nos résultats, le test de Student est utilisé afin de comparer deux moyennes observées .La comparaison de deux moyennes observées dans le cas de petits échantillons (≤ 30) est basée sur un logiciel informatique (**Microcal Origin version 6.0**).

Pour cela, l'effet du produit ZAY3 est déterminé en comparant les moyennes du lot traité et du lot témoin.

Les résultats statistiques sont exprimés en moyenne \pm l'écart type ($m \pm sd$) comme suit :

NS = la différence est non significative.

S = la différence est significative.

Les seuils de signification sont désignés par :

$P < 0,05$ pour 5% ; $P < 0,01$ pour 1% ; $P < 0,001$ pour 0,1 %

RESULTATS

RESULTATS

1- Résultats dermatologique *in vivo* du ZAY3

1-1-L'innocuité cutanée du Produit

1-1-1- Irritation oculaire

Les résultats de l'indice d'irritation oculaire sous l'effet du ZAY3 à différents temps sont consignés dans le tableau ci dessous.

Tableau 4 : Résultats de l'irritation oculaire du ZAY3

Lapins	Temps	Conjonctive (A+B+C) x 2	Iris Dx5	Cornée ExFx5	IOI
Lp1	1h	(1+1+1) x2=6	(0x5)=0	0x1x5=0	6
	24h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
	48h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
Lp2	1h	(0+1+1) x2=4	(0x5)=0	0x1x5=0	4
	24h	(0+1+0) x2=2	(0x5)=0	0x0x5=0	0
	48h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
Lp3	1h	(0+1+0) x2=2	(0x5)=0	0x1x5=0	2
	24h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
	48h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
Lp4	1h	(0+1+0) x2=2	(0x5)=0	0x1x5=0	2
	24h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
	48h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
Lp5	1h	(0+1+0) x2=2	(0x5)=0	0x1x5=0	2
	24h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
	48h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
Lp6	1h	(0+2+1) x2=6	(0x5)=0	0x1x5=0	6
	24h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0
	48h	(0+0+0) x2=0	(0x5)=0	0x0x5=0	0

A :chemosis

B : larmoiement

C :rougissement

D : iris

E : cornée

F : surface d'opacité

Aucun comportement particulier n'a été observé chez les lapins.

Ces résultats montrent que ZAY3 s'est comporté comme substance non irritante vis-à-vis de la muqueuse oculaire, ce qui nous laisse à supposer que la muqueuse oculaire de l'humain ne réagirait pas au contact du ZAY3.

Dans le tableau ci-dessous, l'indice d'irritation oculaire moyen sous l'effet du ZAY3 est noté.

RESULTATS

Tableau 5 : Détermination des indices d'irritation oculaire

Temps	1h			24h			48h		
Somme des IOI	22			0			0		
IO moyen	3.66			0			0		
Evaluation moyenne par zone	Conj	Iris	Cornée	Conj	Iris	Cornée	Conj	Iris	Cornée
	3.66	0	0	0.33	0	0	0	0	0

Conj : conjonctive

L'indice d'irritation oculaire maximum est de 3.66 en 1 heure mesuré au niveau de la conjonctive est décrite comme faible par la littérature (**journal officiel de la république française du 24.10.1984, Hamdi pacha Y .1993**).

Nous pouvons donc conclure que ZAY3 est non irritant ; quand il est en contact avec l'œil.

1-1-2- L'indice d'irritation primaire cutanée

L'action du produit ZAY3 sur la peau scarifiée et non scarifiée des lapins, nous donne les résultats de l'indice d'irritation primaire cutanée comme suit

Tableau 6 : Résultats de l'indice d'irritation primaire cutanée du ZAY3

	Peau scarifiée				Peau non scarifiée			
	24h		72h		24h		72h	
	Eryt	Oed	Eryt	Oed	Eryt	Oed	Eryt	Oed
Lp1	1	0	1	0	0	0	1	0
Lp2	1	0	1	0	0	0	1	0
Lp3	1	0	1	0	1	0	1	0
Lp4	1	0	0	0	1	0	0	0
Lp5	2	0	1	0	2	0	0	0
Lp6	1	0	1	0	1	0	1	0

Eryt : érythème

Oed : oedème

Tableau 7 : Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée

	Peau scarifiée		Peau non scarifiée	
	24h	72h	24h	72h
Erythème	7	5	5	4
≤Edème	0	0	0	0
Total	12		9	
Total général	21			
IP	0.875			

IP : indice primaire

RESULTATS

	Non irritant	$IP \leq 0.5$
X	Légèrement irritant	$0.5 \leq IP \leq 2$
	Irritant	$2 \leq IP \leq 5$
	Très irritant	$5 \leq IP \leq 8$

Totale général	21
Indice d'irritation primaire cutanée I.I.P.C	$21 : 24 = 0.875$

Les résultats obtenus, montrent que le ZAY3 est un produit légèrement irritant vis à vis de la peau de lapin albinos puisque $0.5 \leq IP \leq 2$.

1-1-3-Agressivité superficielle cutanée par application itérative

Avant chaque application et 24 heures après la dernière, nous avons apprécié et noté de 0 à 4, les états des érythèmes et des œdèmes de la peau.

Tableau 8: Données quantitatives relatives à l'étude de l'irritation cutanée par application itérative du ZAY3

semaine ↓ Animaux traités		S1	S2	S3	S4	S5	S6	Moyenne ± SD
Lp1	oed	0	0	0	0	0	0	0
	ery	2	1	1	0.8	1	0	0.966 ± 0.637
Lp2	oed	0	0	0	0	0	0	0
	ery	1	1	1	0.8	1	1	0.966 ± 0.081
Lp3	oed	0	0	0.2	0	0	0	0.033 ± 0.081
	ery	1	0.8	1	0.8	1	0	0.600 ± 0.388
Lp4	oed	0	0	0	0	0	0	0
	ery	1	0.8	1	0	0	0	0.666 ± 0.516
Lp5	oed	0	0	0	0	0	0	0
	ery	1	1	1	0.8	1	1	0.966 ± 0.081
LP6	oed	0	0	0	0	0	0	0
	ery	1	1	1	1	1	1	1

D'après les résultats de la moyenne de l'agressivité superficielle de la semaine pour chaque animal, nous n'avons pas observé d'œdèmes, mais un léger érythème de 1 sur 4.

RESULTATS

Résultats relatifs à l'état général des animaux :

- Evolution du poids

L'application itérative pendant six semaines du produit n'a entamé aucune perturbation dans le développement corporel des lapins.

- Etat général des animaux

Aucun changement visible n'a été constaté chez les lapins traités par rapport au lot témoin, appétit et comportement sont restés identiques au lot témoin .

Résultats dermatologiques :

- Repousse du poil et état général de la peau

La repousse du poil est normale et a exigé une tonte par semaine comme chez lot témoin.

Le produit ZAY3 n'a en aucune influence négative sur la repousse des poils.

Nous avons constaté aucune pathologie particulière sur la peau des lapins pendant les six semaines de traitement au produit ZAY3.

- Epaisseur de la peau

Cliniquement, la peau n'a présenté aucune anomalie.

1-1-4- Agressivité superficielle de la muqueuse rectale par application itérative

Après application du ZAY3 dans la muqueuse rectale pendant 15 jours, afin de déterminer, son innocuité, une observation microscopique du rectum après abattage des lapins a révélé une absence de toute hémorragie ou ulcération, avec la présence d'une légère irritation due à l'application itérative pendant 15 jours .cette irritation n'a pas été constatée chez le lot témoin.

2-.Résultats biochimiques

Après application rectale du ZAY3 pendant 15 jours notre produit va se retrouver dans la circulation générale, où il va subir une biotransformation dans le foie pour être facilement éliminé par les reins.

Il nous a paru donc utile de voir l'effet de notre produit sur les deux organes nobles concernes par les fonctions citées, à savoir le foie et le rein .pour se faire, nous avons dosé :

RESULTATS

- l'urée
 - la créatinine
 - la glycémie
 - les transaminases
 - les protides totaux
- Et l'albumine

2-1- Effet du ZAY3 sur les paramètres biochimiques

Les moyennes observées de divers paramètres sont rapportés dans le tableau 9.les variations dans ce cas, concernent la TGP (ALAT) et la créatinine.

En effet, une diminution du taux de TGP est révélée après le traitement des lapins par le ZAY3 .La moyenne passe de 60 ,20 à 44,33, cela représente une diminution de 15,87

La moyenne de la créatinine augmente de manière significative ($P<0,05$).Elle varie de 9,50 à 10,33, cela représente une augmentation de 83 %.

La glycémie et les autres paramètres (TGO, l'urée, l'albumine et les protides totaux), ne varient pas significativement suite au traitement .En effet, les moyennes sont pratiquement identiques entre le lot traité et le lot témoin pour tous les autres paramètres.

Il apparaît, selon les résultats observés, que le traitement par le ZAY3 n'a pas d'effet sur la majorité des paramètres étudiés chez le lapin albinos.

Tableau 9 : Comparaison des moyennes entre lot témoin et le lot traité chez les lapins

Paramètres biochimiques	Lot témoin (n=6) m±sd	Lot traité (n=6) m±sd	Degré de significatif
Urée (g /l)	0,27±0,069	0,31±0,039	NS
Créa (mg/l)	9,5±1,048	10,333±0,516 *	S
TGP (ALAT) (UI /l)	60,2±26,013	44,33±13,706 *	S
TGO (ASAT) (UI /l)	52,833±38,540	51,666±18,489	NS
Prot (g/l)	67,5±6,94982	69,166±7,521	NS
Alb (g/l)	16,666±1,0328	16,166±2,041	NS
Gly (g /l)	0,843±0,239	0,953±0,163	NS

RESULTATS

2-1-1-Effet du ZAY3 sur l'urée

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml, chez les lapins, le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre urée, avec $0,27 \pm 0,069$ pour le groupe control et $0,31 \pm 0,031$ pour le groupe de lapins traités (tableau 10).

Tableau 10 : résultats de l'analyse de l'Urée (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoins	traités
moyenne±SD	0,27±0,069	0,31±0,039
Min	0,21	0,28
max	0,36	0,37

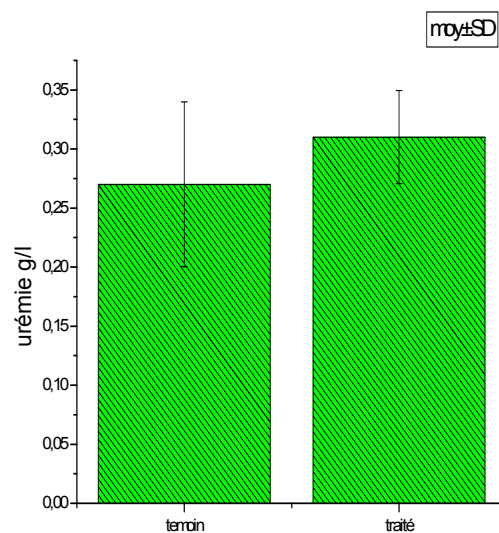


Figure.4 : Variation de l'urée chez les lapins traités et les non traités

2-1-2-Effet du ZAY3 sur la créatinine

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml, chez les lapins, le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence significative ($P < 0.05$) du paramètre créatinine, avec $9,5 \pm 1,048$ pour le groupe control et $10,33 \pm 0,516$ pour le groupe de lapins traités (tableau 11).

RESULTATS

Tableau 11: résultats de l'analyse de la créatinine (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoin	traité
moyenne±SD	9,5±1,048	10,33±0,516 *
Min	8	10
max	11	11

Significative à $p < 0.05$ *

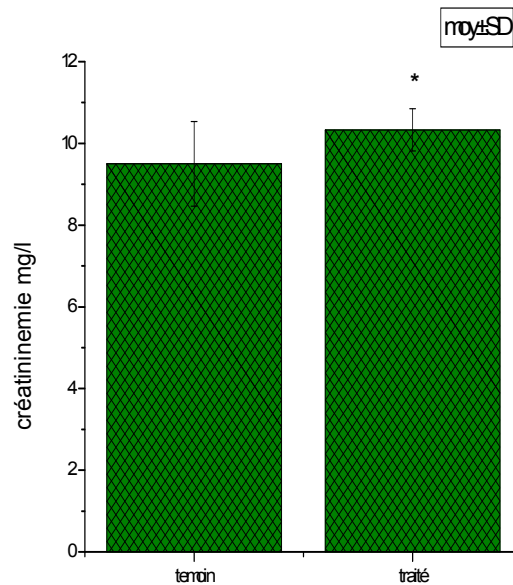


Figure 5 : Variation de la (Créa) chez les lapins traités et les témoins

2-1-3-Effet du ZAY3 sur la glycémie

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml, chez les lapins, le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre glycémie, avec $0,843 \pm 0,239$ pour le groupe control et $0,953 \pm 0,163$ pour le groupe de lapins traités (tableau 12)

Tableau 12 : résultats de l'analyse de la glycémie (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoins	traités
moyenne±SD	0,843±0,239	0,953±0,163
Min	0,55	0,71
max	1,26	1,11

RESULTATS

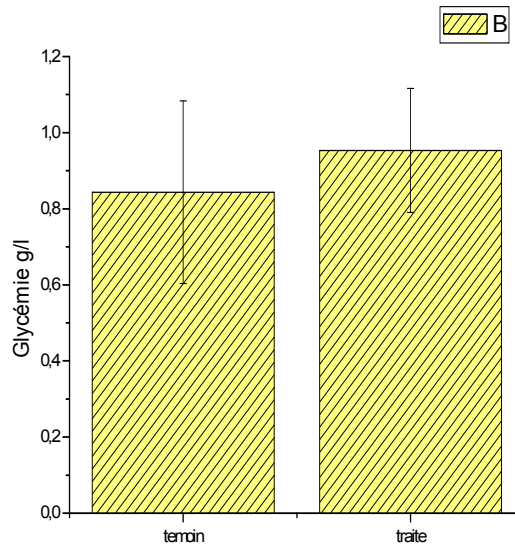


Figure 6 : Variation de la (Gly), chez les traités et les témoins.

2-1-4-Effet du ZAY3 sur les transaminases

2-1-4-1- la TGP (ALAT)

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml ,chez les lapins ,le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe),a révélé une significative($P<0.05$) du paramètreTGP, avec $60,2\pm 26,013$ pour le groupe control et $44,33\pm 13,706$ *pour le groupe de lapins traités(tableau 13).

Tableau 13 : résultats de l'analyse de la TGP (ALAT) (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoins	traités
moyenne \pm SD	60,2 \pm 26,013	44,33 \pm 13,706 *
Min	17	20
max	80	58

Significative à $p<0.05$ *

RESULTATS

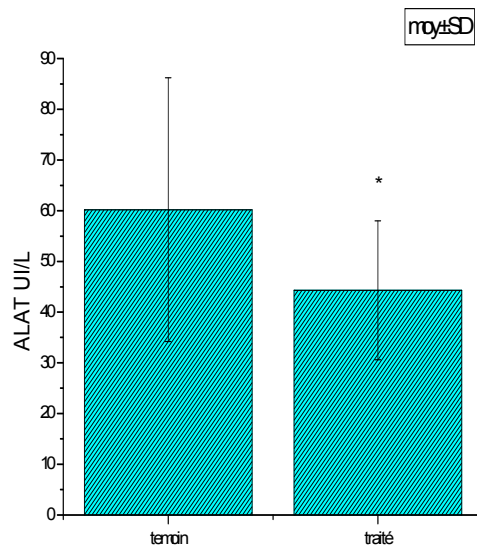


Figure 7 : Variation de la TGP chez les traités et les témoins

2-1-4-2-La TGO (ASAT)

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml, chez les lapins, le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre TGO, avec $52,833 \pm 38,540$ pour le groupe control et $51,666 \pm 18,489$ pour le groupe de lapins traités (tableau 14).

Tableau 14 : résultats de l'analyse de la TGO (ASAT) (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoin	traité
moyenne±SD	52,833±38,540	51,666±18,489
Min	11	35
max	100	76

RESULTATS

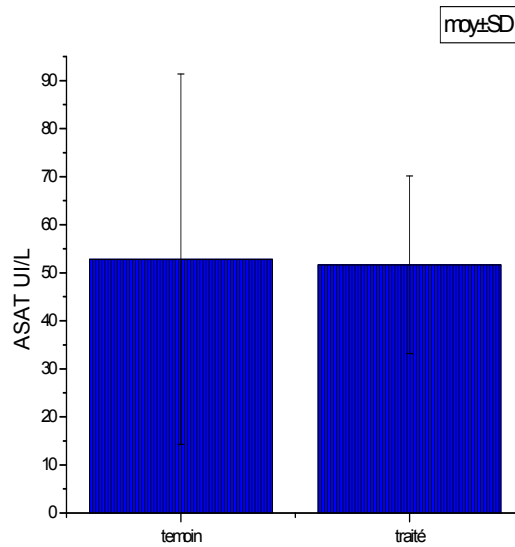


Figure.8 : Variation de la TGO chez les lapins traités et les témoins

2-1-5-effet du ZAY3 sur les protides totaux

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml, chez les lapins, le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre protides totaux, avec $67,5\pm 6,949$ pour le groupe control et $69,166\pm 7,521$ pour le groupe de lapins traités (tableau 15).

Tableau 15 : résultats de l'analyse des protides totaux (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoin	traité
moyenne±SD	67,5±6,949	69,166±7,521
Min	56	58
max	74	77

RESULTATS

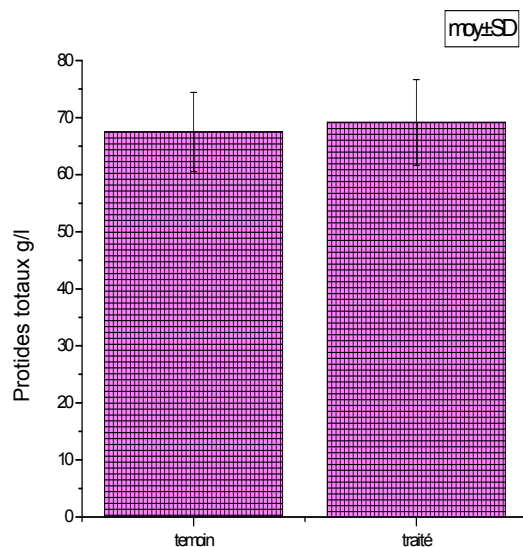


Figure 9: Variation des (Prot) chez les lapins traités et les témoins

2-1-6- Effet du ZAY3 sur l'albumine

Après six semaines d'injection rectale du ZAY3 à raison de 1ml, chez les lapins, le dosage biochimique effectué sur les populations de lapin (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre albumine, avec $16,666 \pm 1,0328$ pour le groupe control et $16,166 \pm 2,0412$ pour le groupe de lapins traités (tableau 16).

Tableau 16 : résultats de l'analyse de l'albumine (n =6), chez les populations de lapins traités par ZAY3 et non traités

	témoin	traité
moyenne±SD	$16,666 \pm 1,0328$	$16,166 \pm 2,0412$
Min	15	14
max	18	19

Photo 1: Micrographie du foie en coupe transversale (G:40X10) (original)

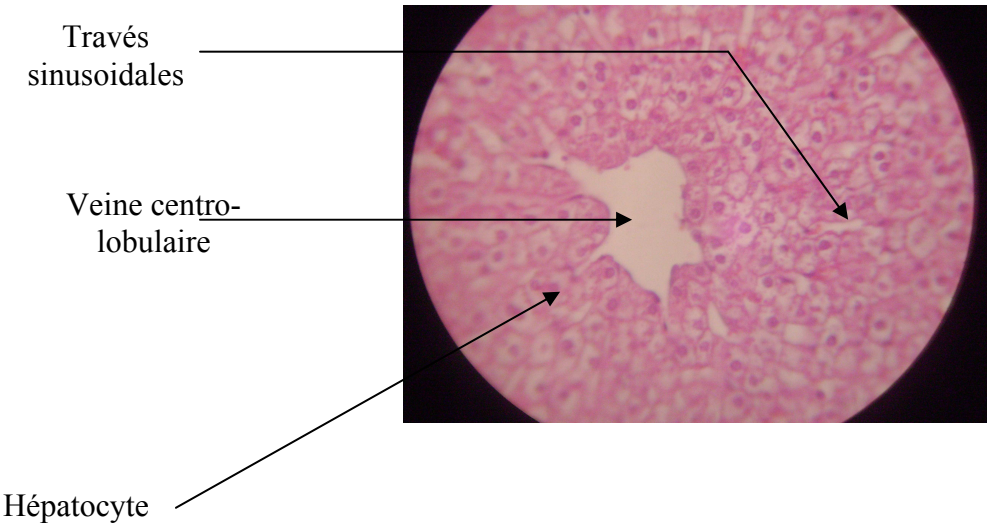
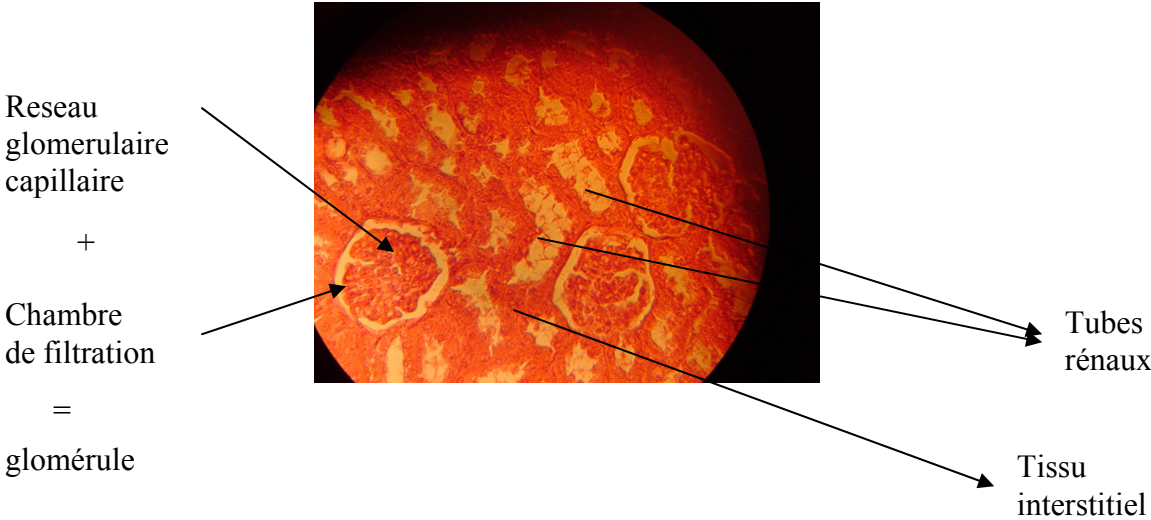
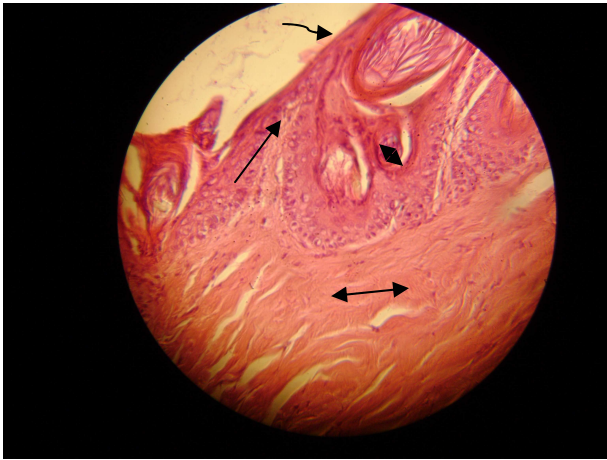


Photo 2: Micrographie du rein en coupe transversale (G:40X10) (original)









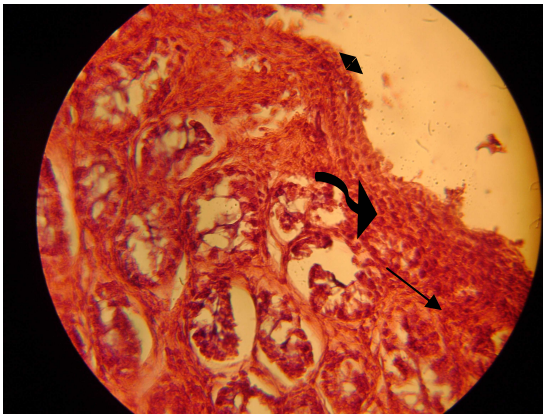
kératine 
 / Epiderme 
 ◆ Granulum
 inflammatoire 
 ⇔ derme 

Photo 3 : Micrographie de la peau en coupe transversale (G:40X10)






 muqueuse de type  pidermoide
 ◆ les colonnes de morgagni 
 / Sous muqueuse 

Photo 4 : Micrographie de la muqueuse rectale en coupe transversale (G:40X10)

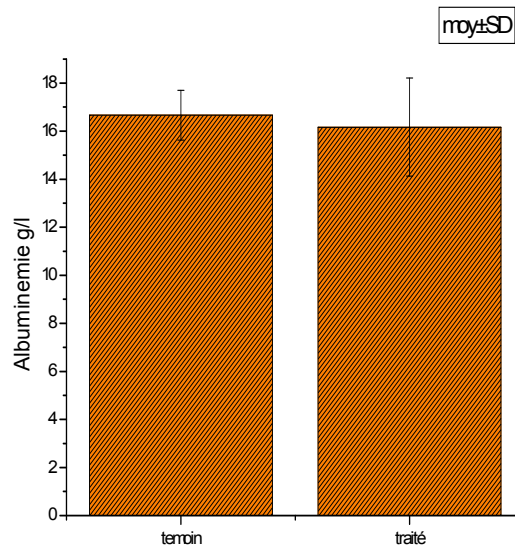


Figure10 : Variation de (Alb) chez les lapins traités et les témoins

3- Investigations histologiques

On a procédé à l'étude microscopique du foie, rein, peau et muqueuse anale.

3-1- Histologie du foie

L'étude microscopique du lot traité, présente des travées hépatocytaires qui logent les sinusoides hépatiques, tapissées de cellules endothéliales. Ces travées sont composées d'une ou deux rangées d'hépatocytes mal conservées, des travées dissociées, pas de nécroses, parenchyme avec des sinusoides dilatés, pas d'altérations cellulaires. Photos :

3-2-Histologie du rein

Le prélèvement rénal est d'aspect général conservé, légèrement congestif. Avec un léger œdème interstitiel, sans retentissement sur la fonction rénale.

3-3- Histologie de la peau

Cette coupe représente une importante réaction granulomateuse, un large granulome inflammatoire, polymorphe, composé de lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires.

3-4 -Histologie de la muqueuse anale

L'aspect microscopique montre une peau avec des replis d'aspect normal faisant suite à une muqueuse rectale bordée par un épithélium cylindrique conservé. Les glandes du chorion sont de type mucosécrétant sans lésions particulières (marge anale sans particularité).

INTERPRETATION
ET
DISCUSSION

4-Interprétation et discussion

4-1 Effet dermatologique

4-1-1 Indice d'irritation oculaire

Sur la base des données obtenues dans le tableau 4, le calcul des indices d'irritation oculaires maximale pour les différentes zones de l'œil (Conjonctive, Iris, Cornée) pour les périodes allant de 1h à 48h dans le tableau 5.

L'indice d'irritation oculaire au niveau de l'iris et de la cornée est égal à 0, ceci quelque soit la période mais il est de 3.66 au niveau de la conjonctive à 1 heure, puis il régresse à 0.33 à 24 heures en s'annulant à 48 heures.

Sur la base de ces résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'application de notre produit par instillation sur l'œil n'a engendré aucune irritation visible macroscopiquement au niveau soit de l'iris ou de la cornée, la valeur de 3.66 de I.O.M mesurée au niveau de la conjonctive est décrite comme faible par la littérature (journal officiel de la république française du 24/10/84, Hamdi Pacha Y, 1993).

4-1-2 Irritation primaire cutanée

Quant au test d'irritation primaire cutanée sur la peau du lapin a montré que ce produit est légèrement irritant. ($IP=0.875$), en se référant à la littérature (journal officiel de la république française du 24/10/84, Hamdi Pacha Y, 1993).

Ce qui est probablement dû à une interaction entre les différents composants de notre produit.

Mc Kay D et Blumberg JB (2006) ont montré que la **camomille allemande** (*Chamomilla recutita*) utilisée en application topique n'a aucun effet secondaire.

Niederhofer H (2009) rapporte que 60,25% des patients utilisent des produits naturels d'actualité, principalement **l'Aloe et la Camomille**.

Dal Belo et al (2005) ont montré que l'extrait lyophilisé d'Aloe vera est un ingrédient efficace pour améliorer l'hydratation de la peau.

Catherine D (2007) a prouvé que l'*Ananas comosus* contient deux vitamines antioxydantes (vitamine C et vitamine E).

4-1-3 Agressivité superficielle cutanée par application itérative

Pour l'irritation cutanée par application itérative du ZAY3, nous pouvons dire que la peau des animaux traités n'est jamais apparue oedémateuse, elle est certes devenue très légèrement érythémateuse (1 sur 4) à la deuxième semaine (tableau 8), mais de façon transitoire est pleinement réversible. En conséquence nous concluons pour notre part à une bonne tolérance cutanée à long terme pour le produit ZAY 3 dans le cadre du modèle animal utilisé.

4-1-4 Agressivité superficielle de la muqueuse rectale par application itérative

Après application du produit dans la muqueuse rectale pendant 15 jours, afin de déterminer son innocuité, une observation macroscopique du rectum après abattage des lapins a révélé une absence de toute hémorragie ou ulcération, avec la présence d'une légère irritation, ce qui n'a pas été constaté chez le lot témoin.

4-2 Effet sur les paramètres biochimiques :

Après application rectale du produit pendant 6 semaines, ce dernier va se retrouver dans la circulation sanguine où il va subir une biotransformation dans le foie pour être finalement éliminé par les reins.

4-2-1 L'urée

Après six semaines d'injection rectale de notre produit ZAY3 à raison de 1ml/Kg, chez les lapins, le dosage biochimique sur les deux populations (n=6 pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre urée, avec 0.27 ± 0.069 pour le groupe contrôle et 0.31 ± 0.039 pour le groupe de lapins traités. **tableau 7**

Sur la base de ces résultats, il apparaît que le produit ZAY3 appliqué chez les lapins à raison de 1ml/Kg ne produit pas d'effet sur l'urémie qui est un des paramètres de l'exploitation fonctionnel du rein mais insuffisant.

4-2-2 La créatinine

Après six semaines d'injection rectale de notre produit ZAY3 à raison de 1ml/Kg, chez les lapins, le dosage biochimique sur les deux populations, a révélé une différence significative ($p < 0.05$) du paramètre créatinine, avec 9.5 ± 1.048 pour le groupe contrôle et 10.33 ± 0.516 pour le groupe de lapins traités. **tableau 7**

Sur la base de ces résultats, il apparaît que le produit ZAY3 provoque une augmentation, légère mais significative ($p < 0.05$) de la créatinine chez les populations de lapin traités par le produit ZAY3 comparés au contrôle (lapins non traités)

Cette augmentation est probablement due à l'extrait de *Discorea villosa* d'après l'étude de **Wojcikoowski et al (2008)**.

4-2-3- Glycémie

A la fin de cette étude statistique comparative, la mesure de différents paramètres sanguins a permis d'établir les constatations suivantes :

- Les paramètres urée, glycémie, TGO (ASAT) albumine et protides totaux n'ont pas subis de modification significatives chez les populations traités à ZAY3 par rapport au contrôle ;
- Les paramètres TGP (ASAT) et créatinine des lapins traités au ZAY3 ont subi une altération significative par rapport au contrôle : une augmentation de la créatinine ($p < 0.05$), une diminution de la TGP (ALAT) ($p < 0.05$).

Ce qui nous ne permet pas de confirmer l'intégralité fonctionnelle du foie et du rein. Mais confirme la non toxicité du produit d'une part, et d'autre part demande d'autres essais expérimentaux et avec un effectif échantillon beaucoup plus important.

4-2-4 Les transaminases

Après six semaines d'injection rectale de notre produit ZAY3 à raison de 1ml/Kg, chez les lapins, le dosage biochimique sur les deux populations ($n=6$ pour chaque groupe), a révélé une différence significative ($p < 0.05$) des TGP (ALAT), avec 60.2 ± 26.01 pour le groupe contrôle et 44.33 ± 13.706 pour le groupe de lapins traités mais une différence non significative des TGO (ASAT), avec 52.83 ± 38.54 pour le groupe contrôle et 51.66 ± 18.48 pour le groupe de lapins traités. tableau 7

En se basant sur ces résultats, il apparaît que le produit ZAY3 n'a pas d'effet sur la TGO (ASAT) mais il entraîne une diminution de la TGP (ALAT) qui est probablement dû à un stress au cours de la manipulation.

4-2-5 Protides totaux

Nos résultats révèlent une différence non significative des protides totaux, avec 67.5 ± 6.94 pour le groupe contrôle et 69.16 ± 7.52 pour le groupe de lapins traités. **Tableau 7**

4-2-6-Albumine

Après six semaines d'injection rectale de notre produit ZAY3 à raison de 1ml/Kg, chez les lapins, le dosage biochimique sur les deux population (n=6pour chaque groupe), a révélé une différence non significative du paramètre protides totaux, avec 16.66 ± 1.03 pour le groupe contrôle et 16.16 ± 2.04 pour le groupe de lapins traités .tableau 7

Sur la base de ces résultats, il apparaît que le produit ZAY3 appliqué chez les lapins à raison de 1ml/Kg ne produit pas d'effet sur l'albumine.

4-3-Ivistigation histologique

L'examen histologique, pratiqué sur trois animaux et 48 heures après la dernière application, a montré une morphologie macroscopique normale des différents organes, sauf la peau.

4-3-1- le foie

Le foie présente des hépatocytes mal conservées, travées dissociées, pas de nécrose, parenchyme avec es sinusoides dilatées donc pas d'altération cellulaire Et notre produit n'a pas d'effet néfaste ou toxique sur le foie.

4-3-2-Le rein

Au niveau du rein, il y a un léger œdème interstitiel, mais sans retentissement sur la fonction rénale. Ce qui démontre que l'élimination rénale du produit n'induit aucun effet.

4-3-3-La muqueuse rectale

L'histologie de la muqueuse rectale ne présente aucune particularité pathologique. Ce qui concorde avec les résultats du test d'agressivité superficielle.

4-3-4- la peau

Pour la peau, un granulome inflammatoire a été constaté c'est probablement du à des piqûres d'insectes comme étant quelque fois à l'origine de cette lésion, et probablement à une hypersensibilité (**site 8**), ou à une mauvaise fixation dans le formol à 10%, à une interaction entre les différents composants de notre produit (principe actif, excipient et matériaux de conditionnement.

CONCLUSION

Conclusion

Arrivé à son terme, notre travail a pu mettre en évidence les objectifs que nous nous étions proposés de confirmer, à savoir l'innocuité ou la toxicité de notre produit ZAY3.

Ce genre de données pourrait contribuer à valoriser ce produit qui est conçue pour maintenir des niveaux de cortisol, de DHEA et de mélatonine afin d'améliorer la qualité du sommeil et de réduire la tension musculaire et le stress.

L'étude d'innocuité cutanée a été effectuée chez le lapin et a concerné :

- l'irritation oculaire
- l'indice d'irritation primaire cutanée
- l'agressivité superficielle cutanée par application itérative
- et l'agressivité superficielle rectale.

Les résultats obtenus de ces quatre tests d'innocuité ont montré que ZAY3 n'a aucun effet sur les muqueuses saines (oculaires et rectales), alors qu'il est légèrement irritant pour la peau en application topique sur le modèle utilisé.

Ces tests ont été complétés par des examens biochimiques de l'urée, la créatinine, la glycémie les transaminases, les protides totaux et l'albumine. Seuls les paramètres créatinine et TGP (ALAT) ont montré des perturbations significatives par rapport au contrôle, une augmentation, légère mais significative ($p < 0,05$) de la créatinine et une diminution significative ($p < 0,05$) du paramètre TGP (ALAT), chez les populations de lapins traités par le ZAY3 comparés au contrôle (lapins non traités).

L'investigation des coupes histologiques a révélé que le produit (ZAY3) est sans effet sur les différents organes étudiés (foie, reins, muqueuse rectale). Par contre il est légèrement irritant pour la peau, ce qui est corroboré par la présence d'un granulome inflammatoire.

Notre produit qui est un cocktail de plantes médicinales sans aucun effet secondaire a gardé son innocuité et son intoxicité.

CONCLUSION

En somme, plusieurs interrogations se posent, notamment l'identité des molécules à l'origine de l'irritation cutanée observée chez les lapins, de même que la cause de la perturbation des paramètres biochimiques, en l'occurrence la créatinine et la TGP(ALAT).

Des recommandations peuvent être faites:

- étendre les essais d'innocuité à la mesure de la toxicité (aigüe, subaigüe et chronique) la tératogénèse, la mutagénèse et la carcinogénèse.
- doser les alphas globulines qui sont plus spécifiques au foie
- augmenter l'effectif des lapins pour une meilleure étude statistique.

Ces données d'efficacité et d'innocuité permettront de mieux juger le rapport bénéfice/risque de ce produit qui sera développé pour une éventuelle AMM allégée.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott laboratories.** 2006. Creatinine, Clinical Chemistry: 7D64-20 30-391/R7
- Alais C., Linden G., Mielo L.** 2003. Biochimie Alimentaires. 5^{ème} édition de l'agrégé. Dunod. Pp: 96-97, 111.
- Ardle W.D.Mc., Katch F.I., Katch V.L.** 2004. Nutrition et performances sportives. (ed.). DeBoeck. Pp : 72, 76, 78.
- Auffray C., Jaquard A.** 1998. Le petit trésor dictionnaire de la biologie. (ed.). Flammarion. Pp: 291.
- Ashak K., Mahesh.V. Ch.** 2006. Exipient development for pharmaceutical. Biotechnology and drug. Delivery systems. (ed.). Neuromolécular Pharmaceutical, Inc, Emeryville, California, USA. Pp: 1.
- Baba Aissa F.** 1999. Encyclopédie des plantes Utiles. (ed.). édas. Pp. VIII, 12, 27, 48, 56, 144.
- Balant L.** 1992. Pharmacocinétique : Principes de base et importance clinique dans Schorderet A. Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Volume:1. (ed.). OPU. Pp: 29.
- Bezanger- Beauguesne L., Pinkas M., Torck M., Trotin F.** 1990. Plantes médicinales des régions tempérées. 2^{ème} édition. Maloine. Pp : 344, 365.
- Borg J., Reeber A.** 2008. Biochimie métabolique. 2^{ème} édition. Ellipses. Pp : 265.
- Bourillon A., Dehan M.** 2008. Pédiatrie pour le praticien. 5^{ème} édition. Masson. Pp : 805.
- Bruneton J.** 1993. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition. TEC&DOC. Pp : 235, 363- 364.
- Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. TEC&DOC. Pp : 199, 310, 370.
- Catier O., Roux O.** 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3^{ème} édition. Wolthers Kluner. Pp : 81-82, 67, 89-90, 112.
- Corazza M., Borghi A., Lauriola MM, Virgili A.** 2009. Use of topical herbal remedies and cosmeticis: a questionnaire-based investigation in dermatology out –patients. J Eur Acad Dermatol Venereol.
- Couplon F.** 2007. Reconnaître facilement les plantes par l'odorat, le goût, le toucher. (ed.). Delachaux & Niestlé. Pp : 186.
- Cronin R.E., Henrich W.L,** Toxic Nephropathies, in Hillal G, Albert C, Vallée M. 2005. Mécanismes impliqués dans la néphrotoxicité, Ann Biol Clin Québec, 2005; 42 (3), Pp:29.
- Crruthers G. S., Hoffman B.B.** 2000. Melmon and Morrellis clinical pharmacology. 4^{ème} édition. Mcgraw Hill. Pp: 15-17.

Dadoune J.P., Siffroi J.P. 2000. Histologie 2^{ème} édition. Médecine Sciences Flammarion. Pp: 267-269.

Dadoune J.P., Hadjusky P., Siffroi J.P., Vendrely E. 1990. Histologie.(ed.). Médecine Sciences Flammarion. Pp: 386.

Dal Belo S E. , Rigo Gaspar L ., Berardo Gonçalves Maia Compos P M.2005.Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques.Skin Research Technology.

Daoud- Brikci M. 1990. Cours de pharmacologie n=° 1. (ed.). OPU. Pp: 8.

Dawn B. M. 2005. Biochimie. 2^e édition.Bradel. Pp : 114.

De Haan J.H., Sisten J.V.A., Van Buren C. 1984. Les médicaments et leur utilisation. . (ed.).Christophe Colomis. Pp : 07.

Dellil L. 2007. Plantes médicinales d'Algérie. (ed.).BERTI. .Pp : 6.

Derache R. 1986.Toxicologie et sécurité des aliments. (ed.). Lavoisier, Pp:08.

Dipin T .J., Spruill W.J.,Wade E.W.,Blouin R.A.,Pruemer J.M . 2005. Concepts in clinical pharmacokinetics. 4^{ème} édition. American Society Health System Pharmacists. INC. Pp: 111.

Dolhen C. 2007.L'annas, source de plaisir toute l'année." HEALTH& FOOD"numero81.

Dominique P. 2002. Pharmacologie. (ed.). Vuibert. Pp : 11, 21-22, 38, 40, 96-102.

Donadieu Y., Saury A. 1979. Les thérapeutiques naturelles, 12 fruits et légumes fondamentaux.(ed.). Maloine. Pp : 30-31.

Diquet B., Soubrie C. 1998. Pharmacocinétique et métabolisme des médicaments. Encyclopédie pratique de médecine. Encycl Med Chir .(ed.).Elsevier, Paris. 1-0120. Pp : 6.

Fawcett Don W., Jensch R. P. 2002. l'essentiel de l'Histologie. (ed.). MALOINE, Pp:268.

Fernandez M. 2003. De quelques plantes dites médicinales et leurs fonctions.(ed.). Aenigma. Pp: 09.

Franck C Lu. 1992. Toxicologie données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque.(ed.). Masson Pp: 177, 179, 181, 183, 184, 193, 195, 197, 222.

Françoise L. 2006. Hygiène et biologie humaine. (ed.).Delagase. Pp : 145, 204

Gaham L. P. 1995. **An introduction to medicinal chemistry.** (ed).Published in the US by Oxford University Press, INC. New York. Pp: 113-114.

- Gaham L. P., Depover P.** 2002. Chimie pharmaceutique. (ed.). Deboek. Pp: 179.
- Gilly G.** (2005). Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse. Botanique- Culture- Chimie- Production.(ed.). l' Harmattan.Pp : 22.
- Glomot R.** Etude toxicologique in vivo, dans Derache R, 1986, Toxicologie et sécurité des aliments. (ed.). Lavoisier. Pp:08.
- Haan J H .,Sitsen J.M.A.,Van Buren.** 1984. Les médicaments et leur utilisation. (ed.). Pp : 23-24.
- Hans W. Koth.** 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. (ed.). Terre. Pp : 6, 10, 12-13, 44, 79.
- Hensel W.** 2008. 350 plantes médicinales. (ed.). Délachaux et Niestelé. Pp : 12-13, 122, 187.
- Helali A.** 1994. Pharmacologie fondamentale et chimique à l'usage des étudiants en médecine. (ed.). Enag. Pp : 23,14
- Herlin B., Faure V.** 2007. Pharmacologie. (ed.).Masson. Pp: 17.
- Horn F., Lindenmeier G., Grillhosl C., Moc I., Berghold S., Schneider N., Munster B.** 2005.Biochimie humaine.(ed.). Médecine-sciences. Flammarion. Pp: 512.
- Hostettmann K.** 1997. Tout savoir sur le pouvoir des plantes source de médicaments. (ed.). Favre. Pp : 26.
- Iserin P.** 1997. Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soins. (ed.). Larousse. Pp : 15, 65, 76.
- Iserin P.** 2001. Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins. (ed.).Larousse. Pp : 15-16, 68.
- Iserin P.**2007. Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins. (ed.). Larousse. Pp : 14-15, 54.
- Jarraya R., Chaleb M., Damak M.** 1993. Plantes médicinales et phytothérapie. Tome XXVI, n° 3. Pp : 177-189.
- Journal Officiel de la République Française** du 21-04- 74.
- Journal Officiel de la République Française** du 21-01-82.
- Journal Officiel de la République Française** du 24-10-84.
- Quinton J.F.**2003.Nouveaux animaux de compagnie : petits mammifères .(ed.).Elsevier Masson.Pp :66.
- Kassa D ., Benouniche N.,Denine R .,Ouali A.** 1986. Cours de pharmacologie n° 1. (ed.). OPU. Pp : 4-39.

- Leeson TS., Leeson CR.** 1980. Histologie. 2^{ème} édition. Masson. Pp:277.
- LeHir A.** 1997. Pharmacie galénique. 7^{ème} édition. Masson. Pp : 3,5.
- LeHir A.** 2001. Pharmacie galénique. 8^{ème} édition. Masson. Pp : 2, 4, 6, 36,96.
- Le Percec P., Malik R.** 1994. Les molécules de la beauté, de l'hygiène et de la protection. (ed.). Nathan. Pp : 103.
- Lequeu B.** 1990. La vitamine A acquisitions récentes. (ed.). Médicales Internationales. Pp : 5.
- Louis Pousset J.** 2004. Plantes Médicinales d'Afrique. Comment les reconnaître et les utiliser ? . (ed.). EdiSud. Pp : 25-26, 33-34.
- Lubinic E.** 2003. Manuel pratique d'aromathérapie les huiles essentielles et leur utilisation. (ed.). Vigot. Pp : 210-214.
- Mann Foed A. H.** 2003. Introduction to pharmacology. 2^{ème} édition. Taylor & Francis .Pp: 46.
- Marieb N E.** 2005. Anatomie et Physiologie humaine. (ed.). Pearson Education. Pp: 161.
- Marieb NE.**2008, Biologie humaine principes d'anatomie et de physiologie. 8^{ème} édition. Pearson Education.Pp: 107,563, 306.
- Mason P .**2007.Dietary supplements .Third édition .pharmaceutical Press.Pp :01
- Masson O.** 2007. Biochimie. Bases biochimiques de la diététique. 2^{ème} édition. Lavoisier. Pp : 218, 104, 101-102.
- Mc Kay D., Blumberg JB.** 2006. Areview of the bioactivity and potential benefits of chamomile tea (Matricaria recutita L.).phytother Res.
- Merad- Boudia R.** 2000. Le médicament générique procédures scientifiques et techniques de développement. (ed). Esfeska, Alger. Pp : 46.
- Moulin M., Coquerel A.** 2002. Pharmacologie. 2^{ème} édition. Masson .Pp : 50.
- Monsigny M., Duverger E., Bourgerie S.** (2004). Dictionnaire de biochimie moderne. (ed.). Ellipses. Pp : 341.
- Moulin A ., Coquerel A.** 2002. Pharmacologie. (ed.). Maloine. Pp : 11-12.
- Newman DJ., Price CP., Renal Function and Nitrogen Metabolites dans Hilal G, Albert C, Vallée M.** 2005. Mécanismes impliqués dans la néphrotoxicité, Ann Biol, Clin Québec, 2005; 42 (3), Pp:29.
- Niederhofer H.**2009.Observational study: Matricaria chamomilla may improve some symptoms of attention – phytomedecine.16 (4):284-6.Epub

- Patrick L.** 2002. Chimie pharmaceutique. (ed). Deboek. Pp : 142.
- Pebret F.** 2003. Anatomie physiologie pharmacologie générale. 6^{ème} édition. Heures de France. Pp : 440-441.
- Quillet C.** 1978. Nos plantes médicinales, leurs vertus, leur description et leur mode de préparation. (ed.). Engelhard. Pp : 1.
- Reichl J., Benecke N., Eckert K G., Erber B., Golly I C., Kreppel H., Liebl B., Muckte H., Szinicz L., Zilker T.** 2004. Guide Pratique de Toxicologie. (ed.). DeBoeck. Pp: 04.
- Richet G.** 1988. Néphrologie.(ed.). Ellipses/ Aupelf, Pp: 361.
- Saint- Maurice C.** 2004. Pharmacologie. (ed.). Larmarre. Pp : 7, 9-10.
- Schäffler A., Menche N.** 2004. Anatomie Physiologie Biologie. 2ème édition. Maloine. Pp:153, 155, 158,160.
- Serrakta M.** 1999. Effets cicatrisants des huiles de genévrier oxycèdre, pin d'alep, cèdre d'atlas sur les brûlures expérimentales .Thèse de Magister, Université de Constantine.
- Sevenet T., Tortora C.** 1994. Plantes, molécules et médicaments.(ed.) .Nathan. Pp: 05.
- Shargel L., Wupong S.** 2004. Applied bio pharmaceutics an pharmacokinetic. 5th. (ed.). Access. Pharmacy. Chap. 11. Pp: 1.
- Stevens A., Low J.** (2006). Histologie humaine 3^{ème} edition. Elsevier
- Toutou Y.** 2007. Pharmacologie : Diplôme d'état d'infinie professionnelle. 11^{ème} édition. Masson. Pp : 21-23.
- Verdrager J.** 1978. Les médicaments qui nous viennent des plantes. (ed.). Maloine.SA. Pp: 12.
- Vigué M.** (2004). Atlas d'anatomie humaine.(ed.). Deslris. Pp :99.
- Viala A.** 2007. Définition, domaine de la toxicologie, notions sur la toxicité dans Viala A., Botta A. Toxicologie, éditions Tec et Doc et éditions Médicales Internationales. Pp: 06.
- Weinberg J M.** The Cellular Basis of Nephrotoxicity, dans Hillal G, Albert C, Vallée M. 2005. Mécansmes impliqués dans la néphrotoxicité, Ann Biol Clin Québec, 2005; 42 (3), Pp:29.
- Wheather PR., Young B., Heath JW.** 2004. Histologie fonctionnelle. (ed.). DeBoeck. Pp: 157.
- Wojcikowski K., Wohlmuth H., Johnson DW., Gobe G** .2008. Discorea villosa (WILD Yam) induces chronic kidney injury via pro-fibrotic pathways. Food chem. Toxicol. 46 (9):3122-31.

Young B., Lowe J S.,Stevens A, Heath J W.2008. Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater.2^{ème} édition. DeBoeck. Pp: 288, 294, 402.

Zimmermann R.2006. La médecine nucléaire: la radioactivité au service du diagnostic et de la thérapie. (ed.). EDP sciences. Pp : 109.

Sites web consultés

Site 1 : Santé Maghreb.com (consulté le 23-12- 2008)

Site 2 : www. Naturemania.com. (consulté le 07/01/2009).

Site 3 : www.bio-forme.fr/yam.htm. (Consulté le 05/01/2009)

Site 4 : webmaster@accord-nature.com(Consulté le 17/01/2009)

Site 5 : www.passeport-santé.net (Consulté le 05/01/2009)

Site 6 : vitamines.sky.net.blogs.be/post/4197063/wild-yam. (Consulté le 17/01/2009).

Site 7 : www.babylon.com/définition/safflower-oil. (Consulté le 18/01/2009).

Site 8 : <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie> (Consulté le 10/04/2009).

Site 9 : <http://www.medix-dz.com/encyclopedie>(Consulté le 23 / 07/2009)

ANNEXES

ANNEXE 1

Composition du produit ZAY3

Ingredients	Dose (g) per100g	%by Weight
Aqua (purified water)	43.30	43.30%
Butylene Glycol	5.00	5.00%
Capryl/Capric Triglyceride	5.00	5.00%
Glycerin	5.00	5.00%
Safflower Oil	5.50	5.50%
Stearic Acid	5.50	5.50%
Dimethicone	4.00	4.00%
Tocopheryl Acetate (vitamine E)	3.00	3.00%
Sweet Almond Oil	3.00	3.00%
Jobba Seed Oil	2.50	2.50%
Reyinyl Palmitate (vitamine A)	2.50	2.50%
Ascorbic Acid (vitamine C)	2.50	2.00%
Aloe Barbadosis (Aloe vera) Leaf Gel	2.00	2.00%
Poatsium Cetyl Phosphate	2.00	2.00%
Potassium Carbomer	2.00	1.00%
Citric Acid	1.00	1.00%
Dissodium ADTA	1.00	1.00%
Sodium Benzoate	1.00	1.00%
Potassium Sorbate	1.00	1.00%
Phenoxyethanol	1.00	1.00%
Essential Oil fragrance	1.00	0.10%
Glycerol Monolaurate	0.10	0.10%
Lecithine	0.10	0.10%
Methyl Sulfonyl Methane (MSM)	0.10	0.10%
Chamomille Flower Extract	0.10	0.10%
Astragalus Root Extract	0.10	0.10%
Pineapple Fruit Extract	0.10	0.10%
Wild Yam Root Extract	0.10	0.10%
Magnesium Ascorbyl Phosphate	0.10	0.10%
Taurine	0.10	0.10%
Gamma Amino Butyric Acid	0.10	0.10%
Been Polen	0.10	0.10%
Silica	0.10	0.10%
Total	100.00	100.00%

ANNEXE 2

1-test d'irritation oculaire

Cette méthode est utilisée pour déterminer de manière objective le degré de l'irritation oculaire provoquée par une substance lorsqu'elle est introduite dans l'œil du lapin.

(Journal officiel de la république française du 24/10/84)(Hamdi Pacha Y ,1993)

- Matériel et réactifs utilisés :

- Seringue à insuline de 1 ml , graduée au 1/100 de ml.
- Lampe torche,
- Six lapins albinos (Néo-Zélandais) 2 Kg environ
- Lampe U.V. à fluorescence,
- Solution de fluorescence dans une solution aqueuse de Chlorure de Sodium à 1.2 %

2- Indice d'irritation Primaire cutanée

La méthode s'applique aux produits ne colorant pas la peau d'une manière indélébile. Elle consiste à l'observation des réactions cutanées provoquées par l'application unique d'un produit (Journal officiel de la république française du 21/01/82) (Hamdi Pacha Y ,1993).

- Matériel utilisés :

- Lapin albinos (Néo- Zélandais) de 2.5 Kg environ ;
- Tondeuse électrique ;
- Vaccinostyles stériles ;
- Pièces de gaze hydrophiles d'une surface de 6.2 cm² ;
- Bandes de fixation microporeuse ;
- Compresse de protection en gaze hydrophile Codex ;
- Dispositif de maintien souple et aéré des pansements ;
- Seringue stérile de 1 ml au dixième

3- Agressivité superficielle cutanée par application itérative pendant 6 semaines du ZAY3

La présente méthode est utilisée pour déterminer l'action sur la peau d'une application itérative pendant 6 semaines du ZAY3 (Journal officiel de la république française du 21/04/74) (Hamdi Pacha Y ,1993).

- Matériels utilisés :

- Douze lapins albinos (Néo- Zélandais) males de 2.5 kg.
- Balance
- Tondeuse
- Doigtier en latex à usage unique
- Seringue ou pipettes de 5 ml

ANNEXE 3

Analyses biochimiques

La biochimie médicale étudie les dysfonctionnements des réactions biochimiques chez l'organisme vivant, et vise ainsi à soigner les maladies d'origine biochimique.

Lorsqu'elle est appliquée au diagnostic, elle reçoit alors le nom de biochimie clinique.

Parmi les paramètres les plus courants à mesurer quant à l'analyse biochimique, on peut citer les plus importants :

- L'urée
- La créatinine
- La glycémie
- Les transaminases
- Les protides totaux
- Et l'albumine

1- L'urée

L'urée, appelée également diamide de l'acide carbonique, est le produit final de la dégradation ; ou plus exactement transformation ; par le foie, des acides aminés provenant des protéines d'origine alimentaire. Cette substance est éliminée dans les urines.

La quantité d'urée dans le sang est désignée par : l'urémie ou azotémie (à ne pas confondre avec l'uricémie qui est la quantité d'acide urique dans le sang). Quand la fonction rénale s'altère et le taux d'urée augmente dans le sang (**Site 8**).

Chez le lapin ; qui constitue l'animal de notre expérimentation ; les quantités normales d'urée dans le sang varient de 0,13 à 0,29 g/l (**Quinton J.F, 2003**).

Usage

Le test de l'urée nitrogène est utilisé pour la quantification de l'urée nitrogène dans le sang humain (sérum, plasma) ou dans les urines.

Dans notre cas, on a quantifié l'urée dans le sérum des lapins traités avec de le produit ZAY3, ainsi les lapins témoins.

Explication du test

Les mesures obtenues par ce test sont utilisées dans le diagnostic de certaines maladies rénales ou métaboliques.

Le test de la détermination de l'urée sérique est largement utilisé dans l'évaluation du fonctionnement rénal, il est aussi fréquemment demandé en conjugaison avec le test de la créatinine sérique pour le diagnostic différentiel de l'hyper-urémie pré-rénale, rénale ou post-rénale

Principe de dosage

Le test de l'urée nitrogène est une modification de la totalité de la procédure enzymatique premièrement décrite par TAIKE & SCHUBERT, le test est donné comme étant un test cinétique dont la première partie de la réaction est linéaire pour une courte période. L'urée de l'échantillon est hydrolysée en ammoniac et dioxyde de carbone par l'uréase.

La 2^{ème} réaction est catalysée par le glutamate déhydrogénase "GLD" qui transforme l'ammoniac et le α -cétoglutarate en glutamate et en eau, avec une oxydation concomitante de la forme réduite du nicotinamide adénine dinucléotide (NADN) en nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), 02 moles de NADH sont oxydés pour chaque mole d'urée.

La diminution du taux initial d'absorbance à 340nm est proportionnelle à la concentration de l'échantillon en urée.

2- La créatinine

La créatininémie est la présence de la créatinine dans le sang.

La créatinine, est une substance constituée d'azote qui provient de la dégradation de la créatine, un des constituants du tissu musculaire. Elle est éliminée par les reins dans les urines. Il s'agit d'un témoin intéressant du fonctionnement des reins.

Dès que son taux augmente anormalement dans le sang, cela signifie que la filtration rénale n'est plus suffisante(**Site 8**).

Chez le lapin, son taux dans le sang ne doit pas dépasser 5 à 25 mg/l. (**Quinton J.F, 2003**)

Usage

Le test de la créatinine est utilisé pour la quantification de la créatinine dans le sérum, plasma ou urines.

Explication du test

En 1886; Jaffe a développé un test pour la créatinine, basé sur la réaction entre la créatinine et le sodium picrate. En 1904; Folin a utilisé cette réaction pour la détermination quantitative de la créatinine dans les urines (**Abbott, 2006**) .

Une procédure cinétique basée sur les taux de réaction observés pour des substances variées, y compris la créatinine avec le picrate alcalin a été proposée par Fabiny α Soldin.

Ce qui a prouvé la chimie de Jaffe est une procédure cinétique dont elle ne nécessite pas une déprotéinisation de l'échantillon, et elle est conçue pour la réduction de l'interférence des protéines sériques.

Principe de la procédure

En pH alcalin, la créatinine réagit avec le picrate pour former un complexe créatinine-picrate. La diminution du taux d'absorbance à 500nm, due à la formation de ce dernier complexe, est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon en créatinine.

3-La glycémie

C'est le taux de glucose (sucre) dans le sang. Celui-ci varie en fonction de :

- L'activité de l'individu
- Son alimentation
- Ses capacités hormonales
- Des capacités de l'insuline, l'hormone fabriquée par le pancréas, et dont le rôle est la régulation de cette glycémie (**site 8**).

Le taux normal de la glycémie, chez le lapin, est de 0,7 à 1,6 g/l (**Quinton J.F, 2003**).

4- Les transaminases

Enzymes dont il existe 2 variétés :

- ALAT (S. G. P. T. ou Sérum Glutamopyruvate Transférase)
- ASAT (S. G. O. T. ou Sérum Glutamooxaloacetate Transférase)

On trouve essentiellement les ALAT dans le foie, les reins mais également en quantité plus faible dans les muscles striés, et dans les globules rouges (**Site8**).

Son taux ; chez le lapin ; est habituellement de :

- 48 à 80 unités internationales par litre (**Quinton J.F, 2003**).

Ces quantités augmentent dans le sang en cas de destruction des hépatocytes (cellules du foie) et plus particulièrement lors des hépatites virales (**Site8**).

Les ASAT que l'on trouve plus spécifiquement dans les muscles striés, dans les globules rouges et dans le foie, augmentent quand il existe une destruction de ces cellules (**Site8**).

Son taux ; chez le lapin ; est habituellement de :

- 14 à 113 unités internationales par litre (**Quinton J.F, 2003**).

5-Les protides totaux

Un protide est une substance constituée par un ou plusieurs acides aminés. Les protides contiennent de l'azote, des acides aminés, des peptides et des protéines.

Les peptides sont constitués par un nombre plutôt bas d'acides aminés et les protéines par un nombre important d'acides aminés que l'on appelle chaînes d'acides aminés.

Des protides sont des composés organiques azotés qui ont pour rôle d'élaborer les tissus qui sont eux-mêmes constitués d'un ensemble de cellules. Ces tissus vivants ont besoin, en dehors des protides, de glucides et de lipides.

Un acide aminé est l'unité de base constituant un protide(**Site 8**).

Chez le lapin, le taux sérique des protides totaux est de l'ordre de 54 à 80 g/l. (**Quinton J.F, 2003**)

- **Usage**

Le test des protides totaux est utilisé pour la quantification des protéines totales dans le sérum ou le plasma.

- **Explication du test**

Les protéines sériques dérivent généralement de la synthèse hépatique, de la synthèse au niveau du plasma cellulaire, les nodules lymphatiques et la moelle osseuse.

L'hyperprotéïnémie peut être causée par le syndrome néphrotique; l'hémorragie extensive, le déficit en absorption protéique et les brûlures sévères.

L'hyperprotéïnémie peut être observée dans le cas d'une déshydratation sévère.

Le changement dans les proportions des protéines sériques peut être dû à une cirrhose hépatique, syndrome néphrotique, hépatite aigue et dans certaines infections aigue et chronique.

- **Principe de la procédure**

Les polypeptides contiennent au moins deux liaisons peptidiques qui réagissent avec le réactif : biurée.

Dans les solutions alcalines; les ions Cu forment une coordination complexe avec les protéines, avec une petite différence entre l'albumine et la globuline sur une base protéique.

6- L'albumine

L'albumine est la principale protéine du sang, soluble dans l'eau et fabriquée par le foie.

Elle ne fait pas partie des globulines, elle constitue 50 à 65 % des protéines du plasma sanguin ; partie liquidienne du sang.

L'albumine maintient la pression osmotique du sang. De ce fait, elle contrôle sa tendance à diffuser à travers les parois des vaisseaux sanguins (**Site 8**).

Usage

Le test d'albumine est utilisé pour la quantification de l'albumine dans le sérum ou le plasma.

Explication du test

L'albumine est la protéine sérique majoritaire chez les individus normaux. L'élévation du taux sérique de l'albumine est le résultat général de la déshydratation, par contre la diminution est retrouvée dans des cas largement variés, y compris, les maladies : rénales et hépatiques, malabsorption, malnutrition, les brûlures sévères, les infections et le cancer.

Principe de la procédure

Elle est basée sur la liaison de bromocrésol pourpre pour produire un complexe coloré.

L'absorbance du complexe à 604nm est directement proportionnelle à la concentration de l'échantillon de l'albumine.

EFFET TOXICOLOGIQUE DE QUELQUES PLANTES ALGERIENNES

Résumé :

Notre étude a porté sur une préparation pharmaceutique à base de plantes (*Chamomilla recutita*, *Aloe vera*, *Astragalus membranaceus*, *Discorea villosa*, *Ananas comosus*), des vitamines et des minéraux, qui nous a été confié par une firme pharmaceutique algérienne sous forme d'une crème à usage topique, et à laquelle nous avons évoqué le vocal **ZAY3**, dont le but d'évaluer son innocuité par les tests conventionnels de toxicité in vivo soit:

- L'irritation oculaire;
- L'indice d'irritation primaire cutanée;
- L'agressivité superficielle cutanée par application itérative;
- L'agressivité superficielle sur la muqueuse rectale.

Apprécier son effet toxicologique

-Sur les différents organes (foie, rein, peau et muqueuse rectale)

-Sur les paramètres sanguins (urée, créatinine, glycémie, TGO, TGP chez un animal de laboratoire le lapin albinos.

Les résultats de cette étude, ont révélé que notre produit est légèrement irritant pour la peau, ceci est corroboré par les résultats des coupes histologiques, par l'observation d'un granulome inflammatoire. Aucun effet sur les muqueuses (oculaire et rectale), par contre des perturbations significatives de la TGP et de la créatinine ont été enregistrées chez les lapins traités par rapport au contrôle.

Mots clés: phytothérapie, toxicité, *Chamomilla reticuta*, *Aloe vera*, *Astragalus membranaceus*, *Discorea villosa*, *Ananas comosus*.

TOXICOLOGICAL EFFECT OF SOME ALGERIAN PLANTS

Abstract

Our study related to a pharmaceutical preparation containing plants (*Chamomilla reticulata*, *Aloe vera*, *Astragalus membrnaceus*, *Discorea villosa*, *Ananas comosus*) of vitamins and the minerals which was entrusted to us by an Algerian pharmaceutical firm in the form of a cream with topic use and to which we evoked the vocal ZAY3 of which the goal to evaluate its harmlessness by the conventional tests of toxicity in vivo is:

- The ocular irritation;
- The index of cutaneous primary irritation;
- The superficial cutaneous reaction by iterative application;
- The superficial reaction on the rectal mucous membrane.

And to appreciate its toxicological effect on the various bodies (liver, kidney, skin and rectal mucous membrane) and the parameters blood in albino rabbit .The results of this study, revealed that our product is slightly irritating for the skin, but no effect on the blood mucous membranes, parameters and the various studied bodies.

Key words: phytotherapy, toxicity, *Chamomilla recutita*, *Aloe vera*, *Astragalus membranaceus*, *Discorea villosa*, *Ananas comosus*.

التأثير السمي لبعض النباتات الجزائرية

ملخص

يتضمن بحثنا هذا دراسة حول تحضيره صيدلانية محتوية على نباتات (*Chamomilla recutita*, *Aloe vera*, *Astragalus membranaceus*, *Ananas comosus*, (*Discorea villosa*

فيتامينات و معادن. أوكلت إلينا من طرف شركة جزائري للأدوية في هيئة كريمة ذات استعمال خارجي و التياشرنا إليها ZAY3

تهدف الدراسة إلى تقييم سلامتها عن طريق اختبارات اصطلاحية للتسمم داخل الجسم الحي:

- الالتهاب العيني

- العلامات الأولية للالتهاب الجلدي

- عدوانية الجلد السطحية باستعمال تركيبة متكررة

- العدوانية على سطحي الغشاء المخاطي المستقيم و تقييم التأثيرات السمية على مختلف الأجهزة

(الكبد, الكلى, الجلد, الغشاء المخاطي المستقيم) و معال الدم للأرانب البيضاء.

نتائج هذه الدراسة كشفت أن منتجنا قليل الالتهاب على الجلد , لكنه لا يؤثر على الأغشية

المخاطبة و معال الدم و مختلف الأعضاء التي شملتها الدراسة.

الكلمات المفتاحية : الأدوية العشبية، سمية، *Aloe vera*, *Chamomilla recutita*,

Astragalus membranaceus, *Ananas comosus*, *Discorea villosa*