

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département de Biologie Animale

N° d'ordre : 238/N09/2009

N° de série : 012/SN/2009

MÉMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME :

Magistère en Biologie et Physiologie Animale

Option : Biologie Cellulaire et Moléculaire

THÈME

Etude de l'effet de la toxicité du *Datura stramonium L.* sur le rein du rat blanc
(*Albinos Wistars*)

Soutenu le : 01/07/2009

Présentée par : Benouadah Zohra

Devant la commission d'examen

Pr. D. SATTÀ	Université de Constantine	Président
Dr. A. ROUABAH	Université de Constantine	Encadreur
Dr. A. BOUZID	Université de Sétif	Co- Encadreur
Dr. L.ROUABAH	Université de Constantine	Examineur
Dr. K. LALAOUÏ	Université de Constantine	Examineur

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2008-2009

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

A mes chers parents, de votre affection de votre sacrifice et de tous les efforts que vous avez déployé durant toute ma vie j'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.

A mes sœurs et mes frères, veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma pleine gratitude de ma reconnaissance infinie.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur Monsieur, Rouabah Abdelkader, Maître de conférences de l'université de Constantine pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines. Pour tout cela, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude.

Pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'elle a manifestée, je me trouve incapable de formuler mes remerciements à madame Rouabah Leila, Maître de conférences de l'université de Constantine. Aujourd'hui je témoigne que je vous suis redevable et je vous remercie par l'occasion, pour avoir bien voulu examiner mon travail

Le grand merci à Monsieur Bouzidi abdelouaheb, Maître de conférences de l'université de Sétif de m'avoir proposé le sujet de ce mémoire et d'avoir porté une attention constante à mon travail et ses aboutissements. Il a assuré la direction de ce travail et je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour la confiance qu'il m'a accordée. Sa grande expérience en recherche et en enseignement, sa rigueur scientifique, ses conseils et ses encouragements m'ont été et me seront profitables.

Je remercie les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail, je vous en suis très reconnaissante et en espérant être à l' hauteur de votre confiance.

Que Pr. Satta. Dalila , trouve ici l'expression de mes respectueuses gratitudee et le témoignage de nos profonds remerciements pour avoir accepté de présider cette thèse.

Je remercie également les examinateurs de ce travail, Dr. Lalaoui Korichi , Dr. ROUABAH. Leila, je vous adresse mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Je remercie Dr ABDELOUCHE , maitre assistant au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Sétif, Dr Souria Ouhida, Dr Oussaleh, Dr Taibi, Dr. Touabti ainsi que tous les techniciens et stagiaires du laboratoire pour leur aide précieuse dans la réalisation des coupes histologiques

Je remercie également Zahira, Imene, Nabila et Hassina pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de ce travail

Je voudrais exprimer un infini merci à mon frère Abdelkrim pour sa présence à mes côtés et son soutien.

A tous mes amis, en leur souhaitant une bonne continuation dans leurs travaux

Liste d'abréviations

(*): Différence Significative ($p < 0,05$).

Ca⁺ : Calcium

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

DL₅₀: Dose Létale 50

EC₅₀ : Concentration Effective à 50%

gr : gramme.

HCT: Hématocrite.

HGB: Hémoglobine.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

IP3: *Inositol* 1,4,5-triphosphate

K⁺ potassium

Kg: Kilogramme.

MCH : Teneur Corpusculaire en Hémoglobine.

MCHC (CCMH): Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

MCV (VGM): Volume Globulaire Moyen

min: Minute

mM: millimolaire

mm³: Millimètre cube.

NA⁺ : sodium

nm: Nanomètre.

NO : Nitrite Oxyde

PBS: Phosphate Buffered Saline

PLT : Plaquettes.

RBC : Red Blood Cells.

RDW : Mesure de l'homogénéité de la taille de globule rouge (indice d'anisocytose).

SD: Standard Deviation

SEM: Standard Error of Mean

WBC: Wight Blood Cells.

χ²: Khi-deux

ملخص

نبتة حولية، عشبية من بين النباتات السامة في منطقة سطيف و كل العالم. تكمن سميتها في وجود قلويدات هي الأتروبين , الهيوسيامين و السكوبولامين تنمو هذه النبتة خاصة على حواف الحقول . كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة و كروموتوغرافيا الفصل بالسائل عالي الضغط أثبتت وجود كل من الأتروبين و السكوبولامين بالتراكيز التالية و على الترتيب 4مغ و 2 مع لكل 100 غ من بذور نبتة الداتورة سترامونيوم.. دراسة السمية الحادة على فئران ذكرية و أنثوية سمحت بحساب قيم المقدرة ب 303.38 مع/كغ عند فئران ذكور و 294, 44 مع/كغ عند فئران إناث .

الدراسة التجريبية على جردان ذكور بيضاء معالجة في الضر وف الحادة بمستخلص القلويدات الكلية لبذور الداتورة سترامونيوم بالحقن تحت الصفاق مرة واحدة مستعملين الجرعة 100 ملغ/كغ لمدة 24 ساعة و 5 أيام على التوالي أظهرت فروق معنوية في الوزن المطلق للكلى لليوم الأول و الخامس و الخصيتين في اليوم الخامس.

. العوامل الدموية (MCV, RDW, PLT, HGB, MCH, MCHC) سجلت اختلافات معنوية في اليوم الأول أما العوامل الدموية (MCV, RDW, WBC, MPV) سجلت اختلافات معنوية في اليوم الخامس. التحاليل البيوكيميائية بينت ارتفاعا معنويا في نسبة السكر, ليوريا لليوم الأول و الخامس و الصوديوم في اليوم الخامس.

الدراسة التجريبية على جردان ذكور بيضاء معالجة في الظروف شبه الحادة بجرعة 5.19ملغ/كغ أترابين و 2.61ملغ/كغ سكوبولامين بالحقن تحت الصفاق و لمدة شهر مع معدل ستة مرات في الأسبوع بينت ارتفاعا معنويا في الوزن المطلق للكلتين, الكبد و الرئتين مع انخفاض معنوي في عدد الكريات الحمراء , الهيمغلوبين, الهيماتوكريت و كذلك ارتفاعا معنويا في عدد الكريات البيضاء و عدد الصفائح الدموية.

حضان الكريات الحمراء *in vitro* في تراكيز مختلفة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة الداتورة سترامونيوم بينت ارتفاعا في نسبة التحلل الدموي مقارنة بالكريات الحمراء الشاهدة $EC_{50} = 1.756 \text{ mg/ml}$.

الهشاشة الأسموزية للكريات الحمراء بينت بأن الكريات الحمراء لفئران المجموعة الشاهدة أكثر مقاومة مقارنة بالكريات الحمراء للفئران المعالجة بجرعة 100مع/كغ بمستخلص القلويدات الكلية لبذور الداتورة سترامونيوم التحاليل البيوكيميائية بينت ارتفاعا في نسبة السكر, اليوريا و الصوديوم مع انخفاض في نسبة البوتاسيوم.

المقاطع النسيجية أكتت تذبذب العوامل البيوكيميائية حيث سجلنا احتقان دموي مع توسع في حجم أنابيب النفورون الكلوي مع حدوث نكر ز في بعض المناطق النسيجية للكلى.

الكلمات المفاتيح : $\tilde{u} \tilde{K} \tilde{u}$ ، السمية ، القلويدات ، جرد ، فئران

Résumé

Le *Datura stramonium* L., est une plante toxique, poussant généralement près des cultures maraîchères, mais on la trouve un peu partout dans l'environnement. Sa toxicité est due aux alcaloïdes tropaniques qui sont l'atropine, l'hyoscyamine et la scopolamine.

L'extraction liquide-liquide des alcaloïdes tropaniques totaux à partir des graines a permis d'obtenir un rendement d'extraction de 0.07g/100g des graines.

L'analyse qualitative et quantitative des alcaloïdes totaux des graines par CCM et HPLC a montré l'existence des alcaloïdes majoritaires l'atropine et la scopolamine respectivement avec des 4mg et 2mg pour 100g de graines.

L'étude de la toxicité aigüe chez les souris mâles et femelles a permis de calculer les valeurs de la DL₅₀ chez les souris mâles et femelle de 303.38mg/kg et de 294,44mg/kg.

L'étude de la toxicité aigüe chez des rats mâles traité par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* par voie intrapéritonéale par simple application avec la dose 100mg/kg après 24h et 5 jours, a montré une augmentation significative de la masse relative des reins (1^{er} jour et 5^{eme} jours), et des testicules (5^{eme} jours).

Les paramètres hématologiques ont connus des changements significatifs pendant le 1^{er} jours (MCV, RDW, PLT, HGB, MCH, MCHC), et le 5^{eme} jours (MCV, RDW, WBC, MPV).

Les analyses biochimiques ont révélé une augmentation significative du glucose, l'urée (1^{er} jour et 5^{eme} jours) et du Na⁺ (5^{eme} jours).

L'étude de la toxicité subchronique chez des rats mâles traités par les alcaloïdes commerciaux avec les doses 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine par voie intrapéritonéale pendant 30 jours a montré une augmentation significative de la masse relative des reins, du foie et du poumon, aussi une diminution significative des globules rouges, d'hémoglobine, d'hématocrite et une augmentation significative des leucocytes et des plaquettes.

L'incubation *in vitro* des globules rouges à des concentrations variables de l'extrait d'alcaloïdes totaux des graines du *Datura stramonium* a montré une augmentation de taux d'hémolyse (EC₅₀ = 1.756mg/ml).

La détermination de la fragilité osmotique des globules rouges (*in vivo*), a révélé que les érythrocytes du groupe témoins sont plus résistants que ceux du groupe traité avec les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* (100mg/kg).

Les analyses biochimiques ont révélé une augmentation significative du glucose, l'urée et du sodium, avec une diminution de potassium.

L'observation histologique confirme la perturbation des paramètres biochimiques, puisque on a enregistré une congestion de parenchyme rénal, une distension des tubules, avec des foyers de nécrose.

Mots-clés : *Datura stramonium*, toxicité, alcaloïdes, rat, souris.

Abstract

The *Datura stramonium L.*, is a toxic plant, usually growing near the vegetable crops, but can be found everywhere in the environment. Its toxicity due to tropane alkaloids which are atropine, hyoscyamine and scopolamine.

The liquid-liquid extraction of total tropane alkaloids from the seeds has allowed a yield of extraction 0.07g/100g seeds.

The qualitative and quantitative analysis of total seed alkaloids by CCM and HPLC showed that existence of the majority of alkaloids atropine and scopolamine, with 4mg and 2mg per 100g of seeds.

The study of acute toxicity in mice males and females allowed to calculate the values of LD₅₀ in male mice and female 303.38mg/kg and 294.44 mg / kg.

The study of acute toxicity in male rats treated by total alkaloids of seeds of *Datura stramonium* with intraperitoneal pathway with simple application with the 100mg/kg dose after 24h and 5 days showed a significant increase in relative kidney mass (1 day and 5th day), and testes (5th days).

Haematological parameters have experienced significant changes during the 1st days (MCV, RDW, PLT, HGB, MCH, MCHC), and 5th days (MCV, RDW, WBC, MPV).

Biochemical analysis revealed a significant increase in glucose, urea (Day 1 and Day 5) and Na⁺ (5th days).

The study of subchronic toxicity in male rats treated with commercial alkaloids with 5.19mg/kg dose of atropine and 2.61 mg / kg of scopolamine with intraperitoneal pathway for 30 days showed a significant increase in relative kidney mass, liver and lung, also a significant decrease in red blood cells, hemoglobin, hematocrit and leukocytes, and platelets increased.

In vitro incubation of red blood cells in varying concentrations of total alkaloids extracted from seeds of *Datura stramonium* has showed an increased in the rate of hemolysis (EC₅₀ = 1.756mg/ml).

Determining the osmotic fragility of red blood cells (*in vivo*), revealed that erythrocytes in the control group are more resistant than the group treated with total alkaloids of seeds of *Datura stramonium* (100mg/kg).

Biochemical analysis revealed a significant increase in glucose, urea and sodium, with a decrease in potassium.

The histological observation confirms the disruption of biochemical parameters, since we have registered there was a renal parenchyma congestion, an distension of tubules with foci of necrosis.

Key words: *Datura stramonium*, toxicity, alkaloids, rat, mice.

Liste des figures

Figure 1. Chaîne de biosynthèse des alcaloïdes tropaniques du <i>Datura stramonium</i>	7
Figure 2. Structure de l'atropine.....	10
Figure 3. Structure de scopolamine.....	14
Figure 4. Schéma d'un glomérule.....	21
Figure 5. Segmentation fonctionnelle du tubule rénal.....	22
Figure 6. <i>Datura stramonium</i> L. en période de floraison et de fructification.....	29
Figure 7. Fruit et graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	30
Figure 8. Extraction des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	32
Figure 9. Séparation par chromatographie sur couche mince des alcaloïdes tropaniques majoritaires (atropine et scopolamine) des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	41
Figure 10 Chromatogramme en HPLC de scopolamine.....	42
Figure 11. Chromatogramme en HPLC de l'atropine.....	42
Figure 12. Chromatogramme en HPLC des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	43.
Figure 13. Position particulière des souris lors de l'intoxication aiguë par les alcaloïdes totaux du <i>Datura stramonium</i> L.....	44
Figure 14. Estimation de la DL ₅₀ chez les souris mâles traitées par voie intra péritonéale par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	46
Figure 15. Estimation de la DL ₅₀ chez les souris femelles traitées par voie intra péritonéale par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	48
Figure 16. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (urée, glucose) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	51
Figure 17. Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Na ⁺ , K ⁺) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	52
Figure 18. Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (créatinine) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	52
Figure 19. Evolution de poids des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique.....	53
Figure 20. paramètres sériques d'évaluation de la fonction rénale (urée, glucose) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.....	55
Figure 21. paramètres sériques d'évaluation de la fonction rénale (Na ⁺ , K ⁺) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.....	56
Figure 22. paramètre sérique d'évaluation de la fonction rénale (créatinine) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.....	56

Figure 23. Coupe histologique du tissu rénal des rats témoins.....	58
Figure 24. Coupe histologique du tissu rénal des rats traités dans les conditions de la toxicité aiguë (5ème jour).....	58
Figure 25. Coupe histologique du tissu rénal des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique.....	58
Figure 26. Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats après traitement par des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	60
Figure 27. Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats traités et témoins dans les conditions subchroniques Pendant 25 jours.....	61
Figure 28. Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats traités et témoins dans les conditions aiguë (5 jours).....	62

Liste des tableaux

- Tableau 1.** Le contenu de *Datura stramonium* en atropine et scopolamine.....9
- Tableau 2.** Les récepteurs muscariniques.....11
- Tableau 3.** dose-effet des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* chez les souris mâles traitées par voie intrapéritonéale.....45
- Tableau 4.** dose-effet des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* chez les souris femelles traitées par voie intrapéritonéale.....47
- Tableau 5.** Masse relative des organes des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux de graine de *Datura stramonium* L.....49
- Tableau 6.** Paramètres hématologiques des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux de graine de *Datura stramonium* L.....50
- Tableau 7.** Masse relative des organes des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.....53
- Tableau 8.** Paramètres hématologiques des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19 mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.....54

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. La plante : <i>Datura stramonium</i> L.....	4
1-1 Généralités	4
1-2 Position dans la systématique.....	4
1-3 Description botanique.....	5
1-4 Origine et Habitat.....	5
II- Les alcaloïde tropaniques.....	6
2 -1 Origine biosynthétique.....	6
2-2 Distribution des alcaloïdes.....	8
2-3 Atropine.....	9
2-3-1 Propriétés physicochimique.....	9
2-3-2 Pharmacocinétique de l'atropine.....	10
2-3-3 Mécanisme d'action.....	10
2-3-4 Effets pharmacologique.....	12
2-4 L'hyoscyamine.....	14
2-5 La scopolamine.....	14
2-5-1 Propriétés physico-chimiques.....	14
2-5-2 Pharmacocinétique de la scopolamine.....	15
2-5-3 Mécanisme d'action.....	15
2-5-4 Effets pharmacologique.....	15
2-5-5 Effets indésirables.....	16
III - L'étiologie de l'intoxication par <i>Datura stramonium</i> L.....	16
3-1 Traitement de l'intoxication.....	17
IV- Le rein.....	18
4 -1 Morphologie générale.....	18
4 -2 Anatomie des reins.....	19

4 -2-1 Aspect macroscopique d'un rein.....	19
4 -2-2 Aspect microscopique.....	19
4 -2-2-1 le néphron.....	20
4 -2-2-1-1 Le glomérule.....	20
4 -2-2-1-2 Un tubule.....	22
4-3 Fonctions rénales.....	23
4-3-1 Filtration glomérulaire.....	24
4-3- 2 Réabsorption et sécrétion tubulaire.....	24
4-3 -3 Autre fonctions du rein.....	25
4-4 Marqueurs biochimique de la fonction rénale.....	26
4-4-1 Analyse sanguine.....	26
4-4-2 Analyses des urines.....	27
4-4-3 Examens morphologique.....	27

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériels.....	29
2-1-1 Matériel biologique.....	29
2 -1-1-1 Matériel végétal.....	29
2-1-1-1-1 Analyse phytochimique des alcaloïdes totaux des graines.....	31
2-1-1-1-1-1 Extraction des alcaloïdes tropaniques totaux	31
2-1-1-1-1-2 Analyse qualitative.....	33
2-1-1-1-1-2-1 Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	33
2-1-1-1-1-3 Analyse qualitative et quantitative par HPLC.....	33
2-1-1-2 Matériel animale.....	34
2-1-1-2-1 Evaluation de la toxicité aigue chez les souris.....	34
2-1-1-2-2 Détermination de la DL ₅₀	34
2-1-1-2-3 Toxicité aiguë chez les rats.....	35
2-1-1-2-4 Toxicité sub-chronique	36
2-1-1-2-5 Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques sériques.....	37
2-1-1-2-5-1 Prélèvement sanguin.....	37
2-1-1-2-5-2 Dosage de quelques paramètres hématologiques et biochimique.....	37
2-1-1-2-6 Technique histologique.....	37

2-1-1-2-7 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L (<i>in vitro</i>).....	38
2-1-1-2-8 Etude de la résistance osmotique des érythrocytes.....	38
2-1-1-2-8-1 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine).....	38
2-1-1-2-8-2 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	39
2-1-2 Analyses statistiques.....	39

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

3-1 Extraction.....	41
3-2 Analyse qualitative.....	41
3-3 Résultats de l'analyse par HPLC.....	42
3-4 Détermination de la DL ₅₀ chez les souris mâles.....	44
3-4 -1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux	44
3-4-2 Calcul de la DL ₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON.....	45
3-4 -3 Estimation de la DL ₅₀ par la méthode de Karber.....	47
3-5 Détermination de la DL ₅₀ chez les souris femelles.....	47
3-5-1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux.....	47
3-5-1 Calcul de la DL ₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON.....	47
3-6 Toxicité aiguë chez les rats mâles.....	49
3-7 Toxicité subchronique.....	53
3-8 Effet des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L sur les érythrocytes des rats mâles (<i>in vitro</i>).....	60
3-9 Effet des alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine) sur les érythrocytes des rats mâles (<i>in vivo</i>).....	61
3-10 Effet des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L sur les érythrocytes des rats mâles (<i>in vivo</i>).....	62
4- Discussion.....	63
Conclusion.....	67
Références bibliographiques.....	68

Introduction

Au cours des temps l'homme a dû faire face à une impérieuse nécessité de distinguer les plantes utiles de celles qui tuent.

L'usage des plantes à des fins thérapeutique ou narcotique et leur ingestion accidentelle ou par confusion avec d'autres plantes comestibles, déterminent des accidents fréquents dans le monde.

La famille des solanacées présente environ 2000 espèces comprenant de nombreuses plantes toxiques et renferment des drogues importantes (Bruneton, 2001).

Un très grand nombre de genres de la famille des solanacées sont des sources riches en alcaloïdes, substances aux propriétés sédatives ou au contraire provoquent des hallucinations et des délires. Les circonstances de l'accident sont diverses: confusion de baies toxiques avec les baies comestibles, utilisation peu raisonnée des plantes à des fins hallucinatoires ou médicales.

Le *Datura stramonium* L. est parmi les solanacées qui poussent à l'état sauvage, et qu'on peut rencontrer dans les jardins publics. Plus connus en Algérie sous le nom de SIKRANE, cette espèce est la cause de plusieurs intoxications survenant surtout en période estivale et touchant principalement les enfants de bas âge (Bouzidi *et al.*, 2002).

L'effet toxique de *Datura stramonium* est attribué à 3 alcaloïdes tropaniques : l'atropine et son isomère optique l'hyoscyamine, et la scopolamine, ces esters organiques ont des propriétés parasympatholytiques (Desachy *et al.*, 1996).

Ces propriétés atropiniques ont été utilisées dans différentes spécialités notamment pour le traitement de l'asthme. Actuellement la plante est utilisée à des fins de toxicomanie (Roblot *et al.*, 1994). D'une façon générale, on ne dispose que peu de données toxicologiques sur l'expérimentation du *Datura stramonium*.

L'ensemble des données sur le *Datura* concerne beaucoup plus les cas cliniques des personnes qui se sont intoxiquées accidentellement ou volontairement par cette plante.

L'objectif de ce travail a été d'une part d'étudier la toxicité aiguë de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines du *Datura stramonium* L. chez les souris, et d'évaluer les effets des alcaloïdes totaux des graines du *Datura stramonium* L. et les alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine) sur certains paramètres biochimiques de la fonction rénale et hématologiques dans les conditions de la toxicité aiguë et subchronique chez les

rats mâles, d'autre part d'étudier l'effet des alcaloïdes totaux des graines du *Datura stramonium L.* et les alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine) sur l'hémolyse des érythrocytes des rats mâles (*in vitro, in vivo*).

CHAPITRE. I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I- La plante *Datura stramonium* L

1-1 Généralités

En 1666, près de la ville de Jamestown en Virginie, des soldats furent intoxiqués en masse, après avoir consommés plusieurs plantes de *Datura stramonium* en guise de repas, cet événement est à l'origine du nom «jimson weed » utilisé pour désigner le *Datura* et qui vient de contraction des mots « Jamestown » et « weed » (Henri *et al.*, 2003).

Le *Datura stramonium* est une plante herbacée de la famille des solanacées (Roblot *et al.*, 1994). Cette famille caractérisée par une grande homogénéité de caractères notamment anatomiques et biochimiques ; elle comporte plus de 2000 espèces dont un grand nombre produisent des alcaloïdes. Certaines espèces sont utilisées dans l'alimentation humaine : pomme de terre et aubergines (*Solanum*), tomate (*Lycopersicum*), poivrons et piments (*Capsicum*), tandis que d'autres ont été utilisées depuis des siècles pour des propriétés psychotropes.

Le genre *datura* comprend une vingtaine d'espèces dont la plus répandue est le *Datura stramonium* L., également connue sous les noms des stramoines, herbe du diable, pomme épineuse, pomme aux sorciers, herbe aux taupes, pomme de démoniaque, pomme du poison et jimson weed (Flesch, 2005; Roblot, 1994; Donald, 1976).

1-2 Position dans la systématique

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermatophyta*

Sous-embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Mangliophida*

Sous-classe : *Asteridae* (Alexander *et al.*, 2004)

Ordre : *Solanales* (Alexander *et al.*, 2004, Andrea *et al.*, 2005)

Famille : *Solanacées* (Alexander V *et al.*, 2004)

Genre : *Datura* (Andrea *et al.*, 2005)

Espèce : *Datura stramonium* L (Alexander *et al.*, 2004)

1-3 Description botanique

Le *Datura stramonium* est une plante herbacée, annuelle, pouvant atteindre plus de 2m (dans certaines régions), elle possède deux parties :

- **une partie aérienne** possédant une tige dressée, ronde, lisse et des ramifications dichotomiques (William et *al.*, 2007; Philip et *al.*, 2002; William, 2002). Les feuilles sont lancéolées ou bien ovales, pointues, grandes (de 10 à 20 cm de long et de 7 à 12 cm de large), et de couleur verte foncée ; elles sont alternes pétiolées, profondément découpées en lobes inégaux pointues et marquées par des nervures saillantes à la face inférieure (Steenkamp et *al.*, 2004; Henri et *al.*, 2003).

Les fleurs hermaphrodites isolées axillaires à corolle blanche ou violacée, en forme d'entonnoir plissé terminé par cinq lobes, le calice lui aussi a cinq sépales plissés longitudinalement. La floraison a lieu de juillet à octobre (Flesch, 2005 ; William, 2002).

Le fruit est une capsule épineuse, s'ouvrant par 4 valves épaisses et divisé intérieurement en quatre loges, contenant plus de 100 graines chacune (Bruneton, 1999). Les graines sont noires, réniformes et à surface réticulée de 2 à 3mm de large (Henri et *al.*, 2003).

- Une Partie souterraine

La partie souterraine est moins développée que la partie aérienne, représentée par une racine principale à partir de laquelle partent des racines qui s'enfilent de plus en plus vers l'extrémité (Mendel, 2004).

1-4 Origine et Habitat

Certains auteurs ont signalés que l'origine de *Datura stramonium* est incertaine, mais la plupart ont convenu que cette plante est originaire de la zone tropicale de l'Amérique centrale et du sud (Steenkamp et *al.*, 2004). Elle a colonisé l'Europe à travers l'Espagne, elle s'est propagé ensuite en Afrique du nord et le long de la méditerranée. Aujourd'hui, on la trouve naturalisée dans toutes les régions du monde, excepté les régions à climat dur.

Elle est communément trouvée le long des rives, aux bords des chemins et des routes, dans les décombres. Mais généralement, elle suit les cultures maraîchères, car elles sont pratiquées sur des terres riches en matières organiques et en sels minéraux et sont souvent irriguées (Harbouche, 2004).

Elle est réputée préjudiciable pour les cultures (Oudhia et tripathi, 1999).

II- Les alcaloïdes tropaniques

Les alcaloïdes tropaniques ont en commun un élément structural bicyclique azoté, l'azobicyclo [3, 2,1] aliphatiques ou aromatique (Grzegorz et *al.*, 2008; Bruneton, 1999).

On connaît environ 200 alcaloïdes dans ce groupe. On les trouve surtout chez les Solanacées (Alexander et *al.*, 2008), mais aussi chez les Brassicacées, Convolvulaceae, Euphorbiacées, Proteaceae, Cruciferae, et les Rhizophoraceae (William et Lin, 1999; Birgit, 2002).

Les plus importants sont les alcaloïdes de tropane naturel (-)-hyoscyamine et (-)-scopolamine, des concentrations élevées de ces alcaloïdes ont été trouvées en particulier dans les *Datura stramonium*, *Datura ferox* et *Datura innoxia* (Alexander et *al.*, 2008).

2 -1 Origine biosynthétique

Plusieurs précurseurs interviennent au cours de l'élaboration des alcaloïdes tropaniques.

La phénylalanine est à l'origine des acides aromatiques, ainsi d'ailleurs que l'acide tropique.

L'ornithine, précurseur du noyau tropane, est rapidement dicarboxylée en putresine, celle-ci est ensuite méthylée. La désamination oxydative de la N-méthyle-putrescine conduit au 4-méthyl-aminobutanol qui est ensuite cyclisé en cation N-méthyle- Δ -pyrolium. Chez le datura, la condensation N-méthyle- Δ -pyrolium avec acide acetoacétique donne hygrine (Jörg Ziegler et Peter, 2008; Brain, 1982), la cyclisation de cette dernière conduit au tropinone qui donne le tropanol sous l'action de l'enzyme tropinone réductase (Fan Deng, 2005).

La voie de la biosynthèse de scopolamine est complexe et fait intervenir plusieurs précurseurs différents, mais cet alcaloïde est directement issu de l'hyoscyamine (Sous l'action de l'hyoscyamine 6- β -hydroxylase, la 6- β -hydroxy-hyoscyamine va être converti en scopolamine) (Fig. 1) (Nabil el Jaber et *al.*, 2008; Takashi et *al.*, 1993).

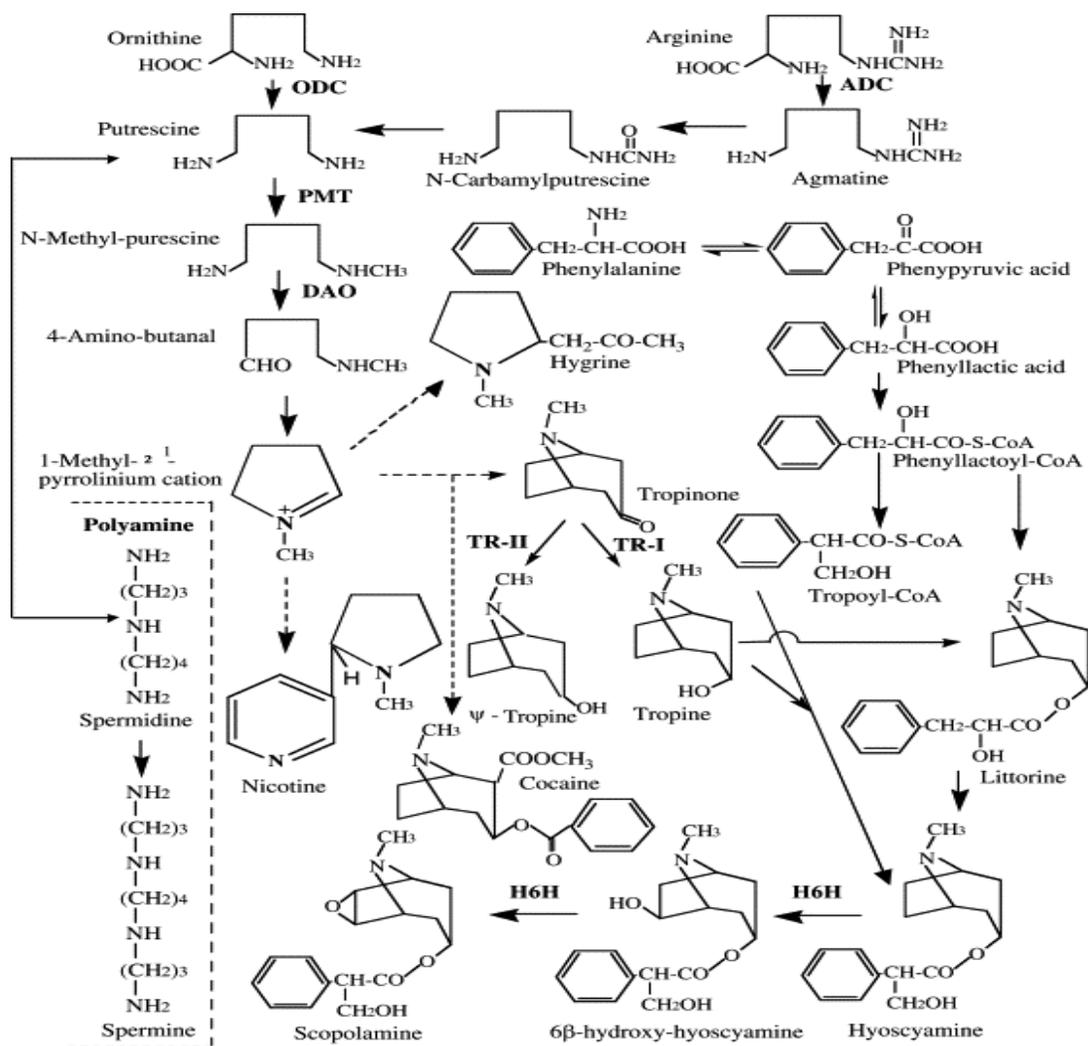


Figure. 1 : Chaîne de biosynthèse des alcaloïdes tropaniques du *Datura stramonium* (Fan Deng, 2005).

ADC: Arginine Décarboxylase,

PMT: Putrescine N-Méthyle Transférase

DAO: Di Amine Oxydase,

TR : Tropinine Réductase

ODC: Ornithine Décarboxylase,

2-2 Distribution des alcaloïdes

Toutes les parties de la plante du *Datura* renferment des alcaloïdes. Les alcaloïdes sont situés au niveau de l'épiderme inférieur de la feuille, dans les couches sous-tégumentaires de la graine ou les cellules des poils tecteurs.

L'hyoscyamine est reconnue comme le principal alcaloïde du *datura* (Elisabetta *et al.*, 2001).

La hyoscyamine est synthétisée au niveau des racines et époxydée en scopolamine dans les feuilles jeunes (Oliver *et al.*, 1982) ce qui explique la forte teneur de celles-ci en scopolamine, alors que les feuilles adultes sont plus riches en hyoscyamine.

La teneur en alcaloïdes totaux est comprise entre 0.2 et 0.5 %, l'hyoscyamine et la scopolamine représentent respectivement 2/3 et 1/3 des alcaloïdes totaux (Brunton, 1999).

Les concentrations varient selon l'organe et le stade de développement de la plante ainsi que la nature du sol : **Feuille** : 0.25 - 0.342 % d'alcaloïdes totaux par rapport à la matière sèche dont 66% d'atropine/hyoscyamine et 33% de scopolamine (Sarfaraz *et al.*, 2005).

Graine : 0.3 à 0.6 %

Calice de la fleur : 0.3%

Racine : 0.3%

Corolle de la fleur : 0,02% (Henri *et al.*, 2003).

Le contenu en alcaloïdes tropaniques dans les jeunes *Datura stramonium* est plus élevé que chez les plantes adultes (tab.1) (Elisabetta *et al.*, 2001).

Tableau. 1: Le contenu de *Datura stramonium* en atropine et scopolamine (Elisabetta *et al.*, 2001).

Echantillon	Plante jeune		Plante adulte	
	Atropine	Scopolamine	Atropine	Scopolamine
Petites feuilles	0.0156± 0.008	0.073± 0.001	0.0165± 0.006	0.016± 0.007
Feuilles moyennes	0.0831± 0.008	0.047± 0.008	0.0150± 0.002	0.022± 0.005
Grandes feuilles	0.228± 0.004	0.035± 0.009	0.0134± 0.004	0.044± 0.006
Tiges	0.915± 0.0015	0.0129± 0.014	0.001± 0.001	-
Racines	0.121± 0.015	0.014± 0.004	-	-
Fleurs	Bourgeons des fleurs 0.299±0.021	0.0106± 0.031	0.270± 0.026	Fleurs ouvertes 0.066± 0.004
Fruits	Fruits		Fruits	
Péricarpe	immatures	-	matures	-
Graines	0001± 0001		0001± 0001	
	0.170 ±0003	0.012± 0001	0.387± 0015	0.089 ±0010

2-3 Atropine

2-3-1 Propriétés physico-chimiques

L'atropine est l'ester du tropanol et l'acide tropique. La fonction ester comportant un carbone asymétrique, l'atropine est un racémique. C'est une poudre blanche peu soluble dans l'eau, à caractère basique, dont les sels sont hydrosolubles (Jacques, 2006). Son point de fusion est de 114-116°C° (Alexander *et al.*, 2008).

L'atropine est un composé dont la formule moléculaire est de C₁₇H₂₃NO₃, et sa masse molaire est de 289,37 (Fig. 2) (Tanczos *et al.*, 2004 ; Steenkamp *et al.*, 2004).

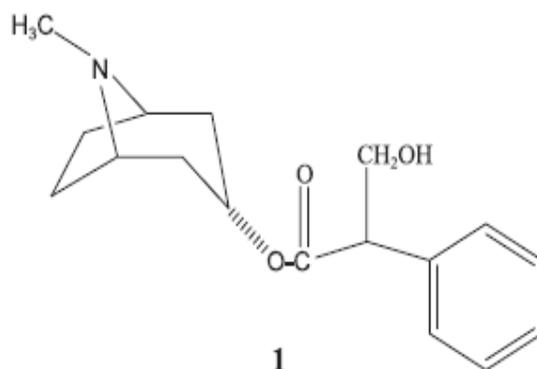


Figure. 2: Structure de l'atropine (Suchitra *et al.*, 2007).

2-3-2 Pharmacocinétique de l'atropine

L'atropine est absorbée très rapidement par les muqueuses, sa diffusion se fait dans tout l'organisme, y compris le SNC, le placenta et des traces d'atropines sont trouvées dans différentes sécrétions, dont le lait maternel (Pretorius et Max, 2006).

Il n'y pas d'hydrolyse sérique chez l'homme. L'atropine est métabolisée partiellement dans le foie. L'élimination se fait principalement par voie rénale. Une quantité allant jusqu'à 60% est excrétée sous forme inchangée dans les urines et le reste sous forme d'une fraction métabolisée (Alexander *et al.*, 2008).

2-3-3 Mécanisme d'action de l'atropine

L'atropine exerce des effets parasympatholytiques (Javier *et al.*, 2008; Tomasz *et al.*, 2005).

L'atropine est un inhibiteur des récepteurs muscariniques localisés dans les organes périphériques innervés par les fibres post-ganglionnaires du parasympathique, ainsi que dans le système nerveux central (Edgar *et al.*, 2008; Seddigeh *et al.*, 2007; Joshua *et al.*, 2003). Elle inhibe de façon compétitive et réversible la fixation de l'acétylcholine sur ses récepteurs et cet antagonisme entraîne, au niveau des organes concernés, des effets d'apparence sympathomimitique (Bruneton, 1999).

Les récepteurs muscariniques sont de type 2 et mettent donc en jeu diverses sortes de protéines G, excitatrices (Gq), ou inhibitrices (Gi) (Christopher *et al.*, 2008). On décrit cinq sous-types de récepteurs muscariniques, seuls trois parmi eux ont été identifiés (Ann *et al.*, 2001).

Les récepteurs M1 et M3 stimulent le système phospholipase - IP3. Ils sont postsynaptiques et provoquent la mise en jeu de l'effecteur.

Les récepteurs M2 inhibent l'adénylcyclase (Sharath *et al.*, 1999) et la formation d'AMP cyclique. Ils sont présynaptiques et diminuent le fonctionnement de l'effecteur (muscle cardiaque) (Tab. 2).

Tableau. 2 : Les récepteurs muscariniques (Jacques, 2006).

Type	M ₁	M ₂	M ₃
	G _q	G _i	G _q
couplage	Phospholipase	Adénylcyclase	Phospholipase
	IP₃	AMP_c	IP₃
Mécanisme	Postsynaptique Canaux K⁺	pré synaptique Canaux K⁺ ca⁺	Postsynaptique ca⁺
	Dépolarisation Excitation	Hyperpolarisation Inhibition	Excitation
Localisation	SNC Sécrétion gastrique	Cœur	Sécrétion glandulaire muscles lisses viscéraux
	ganglions végétatifs		muscles lisses vasculaires : libération du NO (inhibiteur)

2-3-4 Effets pharmacologiques

Du point de vue pharmacologique, la (-) hyoscyamine et son racémique (\pm atropine) sont des substances d'intérêt majeur dotées de propriétés parasympatholytiques, elles sont aussi le point de départ à partir duquel la chimie de synthèse a conçu, entre autre la majeure partie des anticholinergiques (Chung *et al.*, 2008 ; Alexander *et al.*, 2008 ; Bruneton, 1999).

- **Effets cardiovasculaires**

Au niveau cardiaque et après une bradycardie temporaire l'atropine élève le rythme par blocage de l'activité des nerfs vagues (Kenneth et David, 2001).

- **Effets ophtalmologiques**

En ophtalmologie l'atropine provoque une mydriase par paralysie du sphincter irien et une paralysie de l'accommodation (cycloplégie). La mydriase, obstruant le canal de Schlemm, gêne le drainage de l'humeur aqueuse et provoque une augmentation de la pression intraoculaire (Javier *et al.*, 2008; Alexander *et al.*, 2008 ; Grzegorz *et al.*, 2008 ; Chih-K *et al.*, 2008; Xian-Wen Li, 2005; Christine, 2003 ; Kenneth et David, 2001; Bruneton, 1999; Oliver -Bever, 1982; Friess *et al.*, 1961).

- **Effets broncho-pulmonaires**

L'atropine exerce un effet bronchodilatateur (Preorius et Max, 2006 ; Gustavo *et* Carlos, 2002; Tattersfield, 1982) en se fixant sur les récepteurs muscariniques de la fibre lisse bronchique et en antagonisant ainsi à l'acétylcholine libérée par les nerfs parasympathiques. Elle est utilisée dans le traitement de l'asthme (Vincenzo *et al.*, 2005; Alabaster, 1997).

L'atropine est un antispasmodique, il bloque la transmission nerveuse au niveau des terminaisons nerveuses du système parasympathique et inhibe les contractions musculaires (Ameenah, 2006).

- **Effets gastro- intestinaux**

- comme antidiarrhéique.
- comme antisécrétoire (Oliver, 1982).
- Inhibition de la motilité gastro-intestinale, conduit à son utilisation comme antispasmodique dans le traitement des troubles intestinaux associés à l'hypermotilité (Kenneth et David, 2001 ; Mateus *et al.*, 1999).

- **Effets au niveau du système nerveux central**

Diminution du syndrome parkinsonien (Steenkamp *et al.*, 2004).

- **Autres effets**

L'atropine est un antidote des gaz de combat organophosphorés (John *et Andrew*, 2005 ; Bruneton, 1999 ; John, 2004).

C'est un antidote spécifique dans les intoxications aiguës par les anticholinestérasiques comme les pesticides organophosphorés ou par les médicaments parasympathomimétiques (Bruneton, 1999).

- **Effets indésirables**

Les effets pharmacologiques autres que ceux souhaités, deviennent des effets indésirés en raison de l'absence de spécificité d'organe de l'atropine et de la distribution fonctionnelle du système parasympathique (Chung *et al.*, 2008).

- **Les symptômes anticholinergiques périphériques comprennent**

- Sécheresse de la bouche par arrêt de salivation (Jochen *et al.*, 2008; Sheng-Hong *et al.*, 2002).
- Sécheresse de la peau par arrêt de sudation (Jochen *et al.*, 2008).
- Diminution de la motilité intestinale (Sever *et Cekin*, 2007)
- Rétention d'urine chez les personnes prédisposées (hypertrophie de la prostate) (Vincenzo *et al.*, 2005)
- Les sécrétions gastriques, pancréatiques, bronchiques et lacrymales sont freinées (Bruneton, 1999).
- Tachycardie (Blake *et al.*, 2007).
- Mydriase par paralysie des muscles (Blake *et al.*, 2007 ; Al-Shaikh et Sablay, 2005)

- **Les signes et symptômes anticholinergiques centraux comprennent**

- Convulsions.
- Délire (Sever *et Cekin*, 2007 ; Christine et Patricia, 2003).
- Somnolence.

- Hallucination visuelles et auditives (Chung *et al.*, 2008; Blake *et al.*, 2007; Thøger et Anders, 1999).
- Déficit de la mémoire (Patrizio *et al.*, 2004).
- Agitation (Forrester, 2006; Dugan, 1989).
- Confusion (Dugan, 1989).
- Coma (Sever *et* Cekin, 2007, Alberto *et al.*, 2001).

2-4 L'hyoscyamine

L'hyoscyamine est l'ester de l'acide tropique gauche et du tropanol. C'est l'isomère lévogyre de l'atropine.

L'atropine résulte de racémisation de (-) hyoscyamine au cours de l'extraction (Djilani et Legseir, 2004 ; Bhushan *et al.*, 2001).

L'hyoscyamine est très facilement racémisé : un simple reflux dans le chloroforme suffit à la transformer en atropine (Bruneton, 1999).

La hyoscyamine et l'atropine ont la même formule chimique et la même activité pharmacologique, mais la première est plus active que la deuxième, et c'est cette dernière qui est utilisée en médecine, car elle est stable et moins sensible aux enzymes hydrolytiques (Grzegorz *et al.*, 2008).

2-5 La scopolamine

2-5-1 Propriétés physico-chimiques

La scopolamine (également connu sous le nom de hyoscine= scopine tropate) est l'ester du scopanol et l'acide tropique, de formule brute $C_{17}H_{21}O_4$. Sa masse molaire est de 303.36 (Fig. 3) (Steenkamp *et al.*, 2004). Son point de fusion est de $59^{\circ}C$. C'est une poudre blanche, basique, dont les sels sont hydrosolubles (Alexander *et al.*, 2008; Jacques, 2006).

La scopolamine est optiquement active, elle est lévogyre, c'est-à-dire qu'elle fait tourner le plan d'une lumière polarisée vers la gauche.

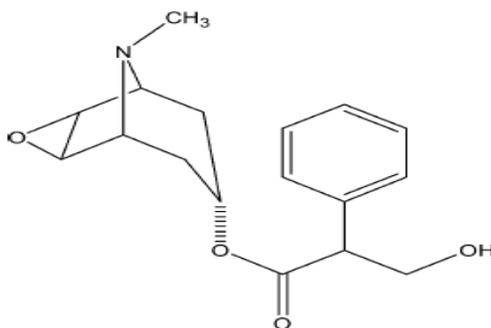


Figure. 3: Structure de scopolamine (Steenkamp *et al.*, 2004)

2-5-2 Pharmacocinétique de la scopolamine

La scopolamine administrée par voie orale est rapidement absorbée. Elle est presque entièrement métabolisée par le foie, seule une proportion se retrouve inchangée (<5%) (Alexander *et al.*, 2008).

La demi-vie de la scopolamine est d'environ huit heures; la scopolamine et ses métabolites sont excrétés par le rein (Desachy *et al.*, 1996).

2-5-3 Mécanisme d'action

La scopolamine est un antagoniste muscarinique (Wei-Wei Zhang *et al.*, 2008; Nurhan *et al.*, 2005; Patricia *et al.*, 2004) structurellement similaire à l'acétylcholine, elle abaisse les concentrations d'acétylcholine cérébrale, l'inhibition des récepteurs qu'elle provoque, est responsable d'une libération exagérée d'acétylcholine, rapidement détruite par les cholinestérases (Henri *et al.*, 2003).

Les organes qui dépendent du système parasymphatique présentent cependant une sensibilité variable aux effets bloquant de la scopolamine.

2-5-4 Effets pharmacologiques

Les propriétés pharmacologiques de scopolamine sont très voisines avec celles de l'atropine, mais des effets centraux plus marqués en raison d'une meilleure affinité avec les récepteurs muscariniques (Grzegorz *et al.*, 2008). La scopolamine a une action sédative, hypnotique dans l'agitation psychomotrice, elle majore en intensité et en durée les effets dépresseurs des autres alcaloïdes sur le système nerveux central (Montcrio *et al.*, 2007; Oliver-Bever, 1982). Elle accélère aussi l'excrétion de la morphine (Xiao-Hui Xiang *et al.*, 2006).

La scopolamine est utilisée pour prévenir les nausées et les vomissements par inhibition des stimulations vestibulaires qui sont transmises au SNC (Paul *et al.*, 2007; Repéssé *et al.*, 2007; Norbert *et al.*, 2001). Elle est utilisée aussi comme un anti-rythmique (prévention des battements cardiaques irréguliers) au cours de l'anesthésie. Elle a aussi été préconisée dans l'analyse psychiatrique grâce à l'état crépusculaire qu'elle provoque

« Sérum de vérité » (Jacques, 2006).

La scopolamine est utilisée dans la prévention du mal des transports, un système adhésif à appliquer sur la peau derrière l'oreille, le système contient 1.5mg de scopolamine qui est libérée progressivement à travers la membrane (Bruneton , 1999).

2-5-5 Effets indésirables

Les effets indésirés de la scopolamine sont similaires à ceux de l'atropine et comprennent agitation, désorientation, confusion, sécheresse de la bouche, mydriase, tachycardie, rétention urinaire.

A doses plus : la scopolamine provoque des délires, des hallucinations, des convulsions et un coma (Centre de toxicologie/ Centre anti-poison, 2005).

III - L'étiologie de l'intoxication par *Datura stramonium* L.

Les intoxications par le *Datura stramonium* se déroulent généralement en période estivale et au début de l'automne (Bouzidi *et al.*, 2002), sa facilité d'accès et ses propriétés anticholinergiques en font un toxique pour les adolescents (à la recherche de sensation) ou les toxicomanes.

L'étiologie de l'intoxication par le stramoine est variée, elle peut être accidentelle ou volontaire (Rates, 2000).

- **Intoxication accidentelle**

Les intoxications accidentelles concernent les enfants (Desachy *et al.*, 1996). Les enfants sont attirés par les grandes fleurs et s'empoisonnent en suçant le nectar à la base de celles-ci, ou en mangeant les graines.

Des cas d'intoxications signalés dus à une contamination de farine par des graines, à du miel des abeilles butinant des daturas, et à une confusion de la racine avec du raifort. Des cas de confusion des feuilles avec des légumes sauvages ont été rapportés (Henri *et al.*, 2003).

Les intoxications des animaux par cette plante sont beaucoup moins fréquentes, en raison de la forte odeur de la plante et le goût désagréable (Knight et Walter, 2003). Elles surviennent surtout pendant la saison sèche, quand les animaux sous alimentés recherchent un fourrage vert ou consommant du foin ou d'ensilage contaminé par la plante de *Datura*.

- **Intoxication volontaire**

Toutes les parties de la plante peuvent être utilisées, et son ingestion entraîne l'apparition d'un syndrome anticholinergique. L'intoxication touche l'adolescent ou l'adulte jeune avec une nette prédominance masculine (Desachy *et al.*, 1996). Ce sont très souvent les graines qui sont ingérées (Bruneton, 2001). Les graines du datura sont consommées directement, ou préparées; la plus commune de ces préparations est l'infusion des graines seules ou avec d'autres parties de la plante tel que les feuilles, les autres parties de la plante (feuilles, tiges, racines et fleurs) peuvent être mâchées ou ingérées par des toxicomanes. Le papier de cigarettes peut être imbibé d'une décoction de feuilles (Henri *et al.*, 2003).

- **Dose toxique de *Datura stramonium***

Dose toxique chez l'enfant : 2 à 5g de graines

Dose létale chez l'adulte : 10 à 12g de graines (Henri *et al.*, 2003).

- **symptômes observés**

Le délai d'apparition des symptômes varie en fonction du type d'intoxication, de 15 minutes (infusion) à 6 heures (ingestion de graines) (Henri *et al.*, 2003).

L'intoxication se traduit par un syndrome anticholinergique à symptomatologie essentiellement neuropsychique avec excitation psychomotrice, propos incohérents, hallucinations visuelles, angoisse, désorientation, agressivité. La présence d'une mydriase bilatérale est constante, alors que les autres signes anticholinergiques sont inconstants : sécheresse buccale, tachycardie, hyperthermie, rétention urinaire, vomissements. Dans les cas graves, on peut observer : convulsions, détresse respiratoire et coma (Lapostolle et flesch, 2006).

- **Identification du toxique**

Si la préparation utilisée est une infusion ou une autre préparation liquide, de nombreuses méthodes d'identification et de dosage sont possibles, notamment à la CLHP ou la CPG éventuellement couplée à la spectrométrie de masse.

En cas de décès, une analyse en spectrométrie de masse après extraction des tissus autopsiés permet l'identification des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

3-1 Traitement de l'intoxication

Le traitement est avant tout symptomatique et comporte une surveillance clinique et l'administration de benzodiazépines (Lapostolle et flesch, 2006), et de la décontamination gastro-intestinale avec du charbon activé (Sean *et al.*, 2007). La rétention urinaire nécessite la pose d'une sonde. Dans les intoxications sévères certains auteurs ont préconisé l'administration de physostigmine (Lapostolle et flesch, 2006).

- **Physostigmine**

La physostigmine est un inhibiteur réversible des cholinestérases (Blake *et al.*, 2007; Nina *et al.*, 2007 ; Sever *et* Cekin, 2007; Jason, 2005). Grâce à sa structure amine tertiaire (Ruprecht *et* Dworacekj, 1990), la physostigmine passe librement dans le système nerveux central, ce qui a pour effet d'augmenter la concentration de l'acétylcholine, et inverser les symptômes anticholinergiques centraux et périphériques (Daniel, 2007 ; Diker *et al.*, 2006 ; Steven et Neil, 2005 Michael *et al.*, 1999; Donald, 1976).

La physostigmine est théoriquement l'antidote de choix pour l'intoxication pure au Datura. Néanmoins, sa demi-vie courte 30 a 120 minutes (Roblot *et al.*, 1994) impose des réinjections répétées qui exposent le patient au risque d'une crise cholinergique associant hypersudation, diarrhée, vomissements, bradycardie (Montcriol *et al.*, 2007), elle ne devrait être donc administrée qu'à faibles doses, dans les cas typiques les plus graves (Henri *et al.*, 2003).

Les doses de physostigmine sont de 2µg par voie intraveineuse lente, à renouveler si nécessaire toutes les 20 minutes chez l'adulte (Desachy *et al.*, 1996).

- **Néostigmine**

Grâce à sa structure amine quaternaire, la néostigmine ne passe pas la barrière hématoencéphalique. Elle n'agit que sur les symptômes anticholinergiques périphériques (Daniel, 2007).

IV- Le rein

4 -1 Morphologie générale

Les reins sont des organes de couleur rougeâtre en forme d'haricot, pairs, situés de part et d'autre de la colonne vertébrale dans le tissu rétropéritonéal, depuis le niveau de la 11^e

vertèbre dorsale jusqu' à celui de la 2^e vertèbre lombaire. Ils sont vascularisés par l'artère rénale qui naît de l'aorte, et par la veine rénale qui se jette dans la veine cave.

Morphologiquement, topographiquement, les reins ne sont pas exactement symétriques. Le rein droit est situé plus bas, le rein gauche souvent un peu plus volumineux et un peu moins large et plus allongé (Pellet, 1977). La face latérale du rein est convexe, tandis que sa face médiale est concave et porte une échancrure appelée : le hile rénal.

Le hile est une structure située au niveau du bord interne de chaque rein, correspond à la zone d'entrée et de sortie des artères et des veines rénales, des uretères et des nerfs. Une couche transparente et fibreuse appelée capsule fibreuse du rein entoure chaque rein et lui donne un aspect brillant.

4 -2 Anatomie des reins

4 -2-1 Aspect macroscopique d'un rein

Sur une coupe frontale du rein passant par le hile, on distingue :

- **Une zone périphérique**, foncée, granuleuse, c'est la zone corticale, ou cortex du rein qui prolonge en direction du hile par des travées convergentes : les colonnes de Bertin.
- **Une zone centrale**, plus claire, striée longitudinalement, occupe les espaces compris entre les colonnes de Bertin : c'est la zone médullaire, cette zone possède 8 à 12 pyramides striées appelées **pyramides de Malpighi**, le nombre de ces pyramides varie, chez l'homme, d'un individu à un autre; il varie surtout d'une espèce à une autre : chez le rat comme chez beaucoup de rongeurs, il n'y a qu'une seule pyramide, La base de ces pyramides est recouverte par le cortex alors que le sommet de chaque pyramide, aussi appelé **papille rénale**, chaque papille se projette vers le centre du rein dans une sorte d'entonnoir: **le calice mineur**. Chaque calice mineur collecte l'urine d'une papille. Les calices mineurs convergent pour former les **calices majeurs** qui à leur tour forment le **bassinnet** : tube en forme d'entonnoir qui se jette dans **l'uretère**. Les deux uretères droite et gauche se prolongent ensuite jusqu'à la vessie dans laquelle s'accumule l'urine qui est ensuite évacuée par l'urètre (Chanton et Paniel, 1966).

4 -2-2 Aspect microscopique

Le parenchyme rénal est essentiellement constitué par un très grand nombre d'unités anatomiques, environ un million par rein qui porte le nom d'un néphron ou tube urinifère (Qais Al-Awqati et Michael, 1998; Herzlinger, 1994) fortement vascularisés.

4 -2-2-1 Le néphron

Le néphron comporte deux parties physiologiquement et anatomiquement distincts: une partie filtrante, portant le nom de glomérule, unité de filtration, une partie tubulaire conduit l'ultrafiltrat vers un uretère collecteur (Raymond *et al.*, 2004).

4 -2-2-1-1 Le glomérule

Un glomérule est un réseau de petits vaisseaux sanguins, les capillaires qui naissent d'une artériole afférente et se résolvent en une artériole efférente, entourée par une enveloppe épithéliale, la capsule de Bowman forme une sorte de coiffe qui recouvre le peloton vasculaire, sauf au niveau du point de passage des vaisseaux afférents et efférents (Fredrik et Carlsson, 2005 ; Ichai et Giunti, 2005 ; Pellet, 1977), cette capsule délimite l'espace urinaire, siège de l'ultrafiltration glomérulaire où est produite l'urine primitive.

Dans le glomérule, la membrane basale du capillaire délimite deux espaces : l'un situé en dedans, appelé espace endocapillaire ou endomembraneux ; l'autre situé en dehors, appelé espace extracapillaire ou extramembraneux. Le premier correspond au compartiment sanguin et le second au compartiment urinaire du glomérule (Magali *et al.*, 2008) (Fig. 4).

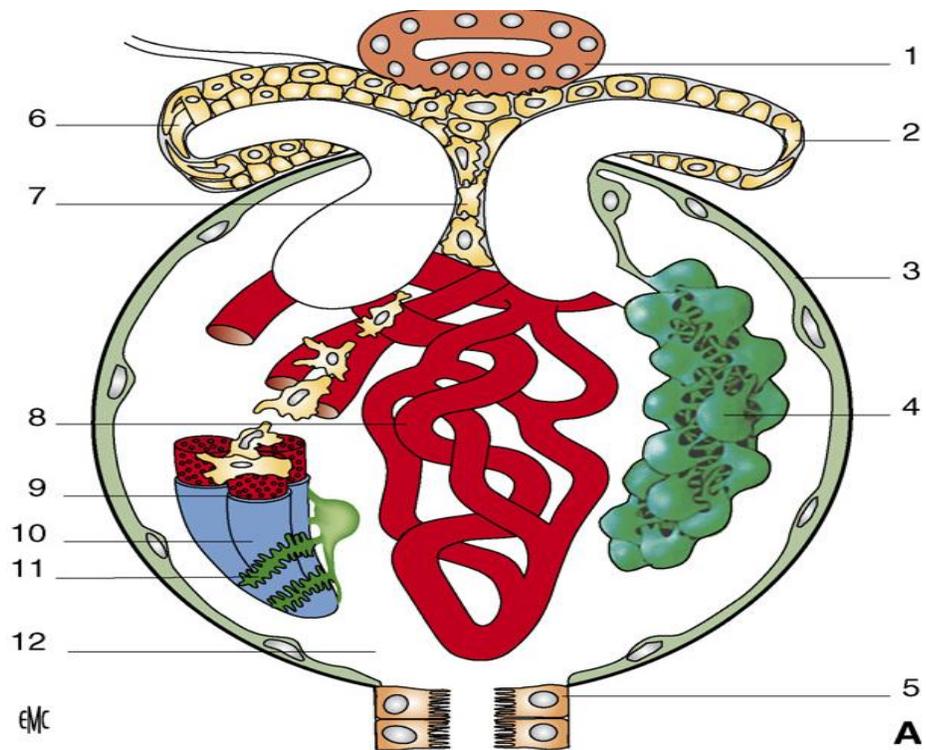


Figure. 4: Schéma d'un glomérule montrant l'espace urinaire et sanguin séparés par la membrane basale glomérulaire (MBG) (Magali et *al.*, 2008). 1: macula densa ; 2 : artériole efférente ; 3 : capsule de Bowman ; 4 : podocytes ; 5 : tube contourné proximal ; 6 : artériole afférente ; 7 : mésangium ; 8 : capillaires glomérulaires ; 9 : cellules endothéliales ; 10 : MBG ; 11 : pédicelles ; 12 : chambre urinaire.

4 -2-2-1-2 Un tubule

Le tubule se subdivise en trois parties fonctionnelles : le tubule proximal, l'anse de Henlé et le néphron distal, qui s'étend du tubule contourné distal au canal collecteur, inclus (Blanchard et *al.*, 2008) (Fig. 5).

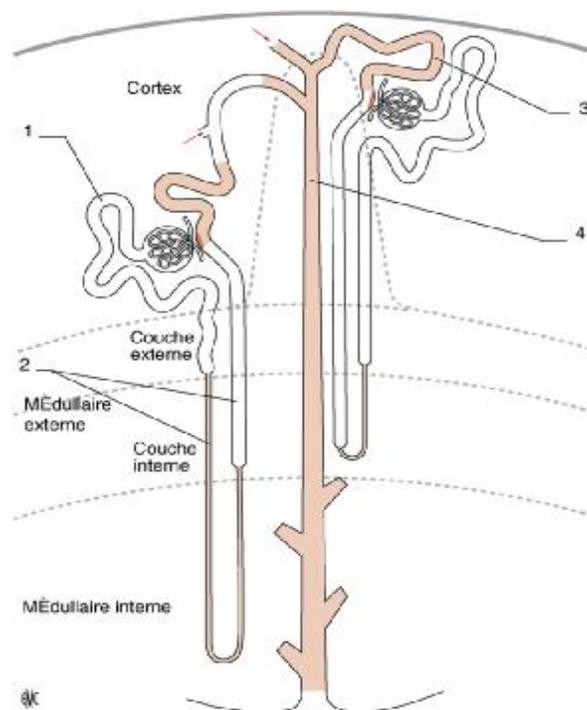


Figure. 5: Segmentation fonctionnelle du tubule rénal (Blanchard et *al.*, 2008). 1: tubule proximal ; 2: anse de Henlé ; 3: tube contourné distal ; 4: canal collecteur.

-Tubule proximal

Le tubule proximal fait suite à la capsule de Bowman. C'est le plus long segment du néphron, Il est situé uniquement dans la corticale rénale.

-L'anse de Henlé

L'anse de Henle fait suite au tube contourné proximal. Elle est formée d'une branche descendante qui s'enfonce dans la médullaire et d'une branche ascendante qui remonte dans le cortex (Helardot et *al.*, 2006), les segments grêles de l'anse de Henle plongent dans la médullaire où ils forment une boucle «épingle à cheveu».

-Tubule distal

Le tubule distal est le prolongement de la branche large de l'anse de Henlé après son retour de la médullaire, plus court et moins pelotonné, son épithélium est moins épais que celui du tubule contourné proximal.

-Tubule collecteur

Le tubule collecteur est la portion droite terminale du tubule contourné distal, plusieurs tubules collecteurs convergeant pour former un canal collecteur. les canaux collecteurs descendent à travers le cortex dans des faisceaux parallèles appelés rayons médullaires ou pyramides de ferrein, en fusionnant progressivement les uns avec les autres pour former les volumineux canaux de Bellini qui s'ouvrent au sommet des papilles rénales pour décharger l'urine des système pyélocaliciel.

4-3 Fonctions rénales

Le rôle vital des reins est intimement lié à leur fonction dans l'homéostasie du milieu intérieur, permettant de protéger les cellules vis-à-vis des conséquences des variations environnementales de l'organisme.

Les reins éliminent les produits métaboliques terminaux (urée, protons, acide urique, créatinine, bilirubine, etc.), un grand nombre de substances exogènes comme certains médicaments et additifs alimentaires et une quantité ajustée d'eau et d'électrolytes (Blanchard et *al.*, 2008).

Chaque substance du plasma est traitée de façon spécifique par le rein. Leur devenir est la résultante d'une combinaison entre la filtration, la réabsorption, et la sécrétion. On distingue ainsi :

Des substances filtrées et en partie réabsorbées, comme l'eau ou les ions Na^+

Des substances filtrées et totalement réabsorbées, comme le glucose.

Des substances filtrées, sécrétées mais non réabsorbées, comme les ions H^+ et K^+ (Périlleux et *al.*, 1999).

4-3-1 Filtration glomérulaire

La filtration glomérulaire est la première étape dans la formation de l'urine.

Le plasma filtre au travers du glomérule vers l'espace de Bowman selon un débit de filtration dans les capillaires glomérulaires. La pression de filtration dépend du rapport entre les résistances afférentes et efférentes (Duvaldestin et Magostini, 1999).

La composition du filtrat glomérulaire rassemble beaucoup à celle des liquides tissulaires, il ne contient aucune cellule sanguine et pratiquement pas de protéines.

4-3-2 Réabsorption et sécrétion tubulaire

Les glomérules filtrent par jour 180 litres de fluides dépourvus de protéines mais contenant de nombreux électrolytes et produits de déchets. Les tubules situés dans la médullaire ont comme fonction principale la réabsorption de l'eau et des électrolytes.

- Le tubule proximal est le site de très nombreuses réabsorptions (Périlleux et *al.*, 1999), il réabsorbe la quasi-totalité des acides aminés et du glucose, du sodium, du phosphate et 80 % du bicarbonate filtré par les glomérules. Un canal hydrique, l'aquaporine1 est exprimée de façon constitutive dans les cellules épithéliales du tubule proximal, à la partie apicale des bordures en brosse, ainsi qu'au niveau basolatéral, conférant à cette partie du néphron une très grande perméabilité hydrique, responsable de 80 % de la réabsorption de l'eau filtrée au niveau glomérulaire (Christine et Patricia, 2003). Il est également le site principal de réabsorption du calcium, de réabsorption/sécrétion des anions et cations organiques et participe à la réabsorption du magnésium 20–30 %. Il réabsorbe ainsi 30 à 50 % du potassium filtré (Houillier et *al.*, 2004). Cette importante réabsorption est possible grâce aux dispositifs membranaires augmentant considérablement la surface d'échange (bordure en brosse et labyrinthe basal) caractéristiques du tubule proximal, les mitochondries fournissant l'ATP nécessaire aux processus de transport actif. Finalement, le tube proximal est le siège d'une activité d'endocytose et de dégradation lysosomale intense. Généralement, une altération proximale partielle ou totale (syndrome de Fanconi) des fonctions tubulaires altère de manière importante la capacité maximale de réabsorption d'un

ou plusieurs électrolytes et s'accompagne d'une protéinurie tubulaire (Blanchard et *al.*, 2008).

- L'anse de Henle produit un gradient osmotique croissant depuis le cortex jusqu'à l'extrémité de la papille rénale; la branche grêle descendante (ou descendante puis ascendante) est perméable à l'eau et aux ions Na⁺ alors que la branche large est imperméable à l'eau mais possède une pompe à sodium qui réabsorbe Na⁺ pour le restituer de façon active (importance des mitochondries du labyrinthe basal) dans le milieu interstitiel donc dans les capillaires sanguins; au niveau de la branche large de l'anse de Henle, l'urine devient hypotonique, il se crée ainsi un gradient très important entre l'urine de la partie inférieure de l'anse dont l'osmolarité est celle du milieu interstitiel (1200 mOsm/l) et l'urine arrivant dans le tube contourné distal (100 mOsm/l) du fait de la perte en Na⁺ sans élimination concomitante d'eau.
- Le tubule distal réabsorbe moins de 10 % de la charge filtrée en eau et électrolytes (Blanchard et *al.*, 2008).

4-3 -3 Autres fonctions du rein

◆ Régulation de la pression artérielle

Le rein sécrète la rénine qui a un rôle dans le maintien de la pression artérielle.

◆ Fonction hématopoïétiques

Le rein est le principal effecteur du contrôle de l'érythropoïèse. Un état d'hypoxie, consécutif par exemple à une baisse du nombre des hématies, entraîne la sécrétion par le rein de l'érythrogénine. Cette enzyme active immédiatement un facteur plasmatique : l'érythropoïétine. L'érythropoïétine stimule la production d'hématies par la moelle osseuse (Périlleux et *al.*, 1999).

◆ Synthèse de la vitamine D

Les reins assurent la transformation de la vitamine D, de sa forme inactive à sa forme active.

◆ Sécrétion des prostaglandines

Les reins produisent aussi des prostaglandines E et des prostacycline, des substances ont un effet vasodilatateur et contribuent au maintien du débit sanguin dans les reins (Brunner et *al.*, 1982).

◆ **Rôle dans l'équilibre acido-basique**

Les reins jouent un rôle important dans le maintien du pH du liquide extracellulaire. Ils remplissent cette fonction grâce à une réabsorption de HCO_3^- et une élimination active de protons (Koolman et Röhm, 2002).

4-4 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

4-4-1 Analyse sanguine

-Créatinine

La créatinine est une molécule azotée produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire. La créatinine est une molécule inerte physiologiquement (Andrew et *al.*, 1988). Cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme. La créatinine est strictement éliminée par les reins. Une faible partie de la créatinine produite par l'organisme est éliminée grâce au phénomène de sécrétion au niveau des tubules proximaux des reins. Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire (Charriere et *al.*, 2008). Cette estimation s'obtient, en pratique, par le calcul de la clearance de la créatinine.

Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal ; des données sur sa concentration sanguine et urinaire peuvent être utilisées pour estimer le taux de filtration glomérulaire (Frank, 1992).

-L'urée

L'urée est une molécule de 60 daltons, Elle représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, c'est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire.

L'urée passe dans les néphrons quelle que soit sa concentration dans le sang : c'est une substance sans seuil (Chanton et Paniel, 1966). Cette molécule est filtrée librement dans le glomérule mais est réabsorbée au niveau des tubes proximaux et distaux.

Un taux élevé indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou une hépatotoxicité, fréquente avec de nombreux toxique (Frank, 1992).

4-4-2 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 tubulaire. Par contre, l'excrétion de protéines de poids moléculaire élevée indique une perte de l'intégrité des glomérules.

-glycosurie

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

4-4-3 Examens macroscopique et microscopique

Les modifications pondérales de l'organe, suggèrent souvent des lésions rénales. De nombreuses autres lésions pathologiques peuvent être détectées à l'examen macroscopique (Frank, 1992). Les examens histopathologiques peuvent révéler le site, l'étendu et l'apparence morphologique des lésions rénales.

CHAPITRE II

MATERIAL ET METHODES

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

II.1 Matériels

2-1-1 Matériel biologique

2 -1-1-1 Matériel végétal

La plante *Datura stramonium* est récoltée au mois de septembre, période de floraison et fructification, près des cultures maraîchères dans la région de Hammam Ouled Yelles, située à 20 km au sud-ouest de la ville de Sétif et au sud-est de la wilaya de B.B.A (Fig. 6).

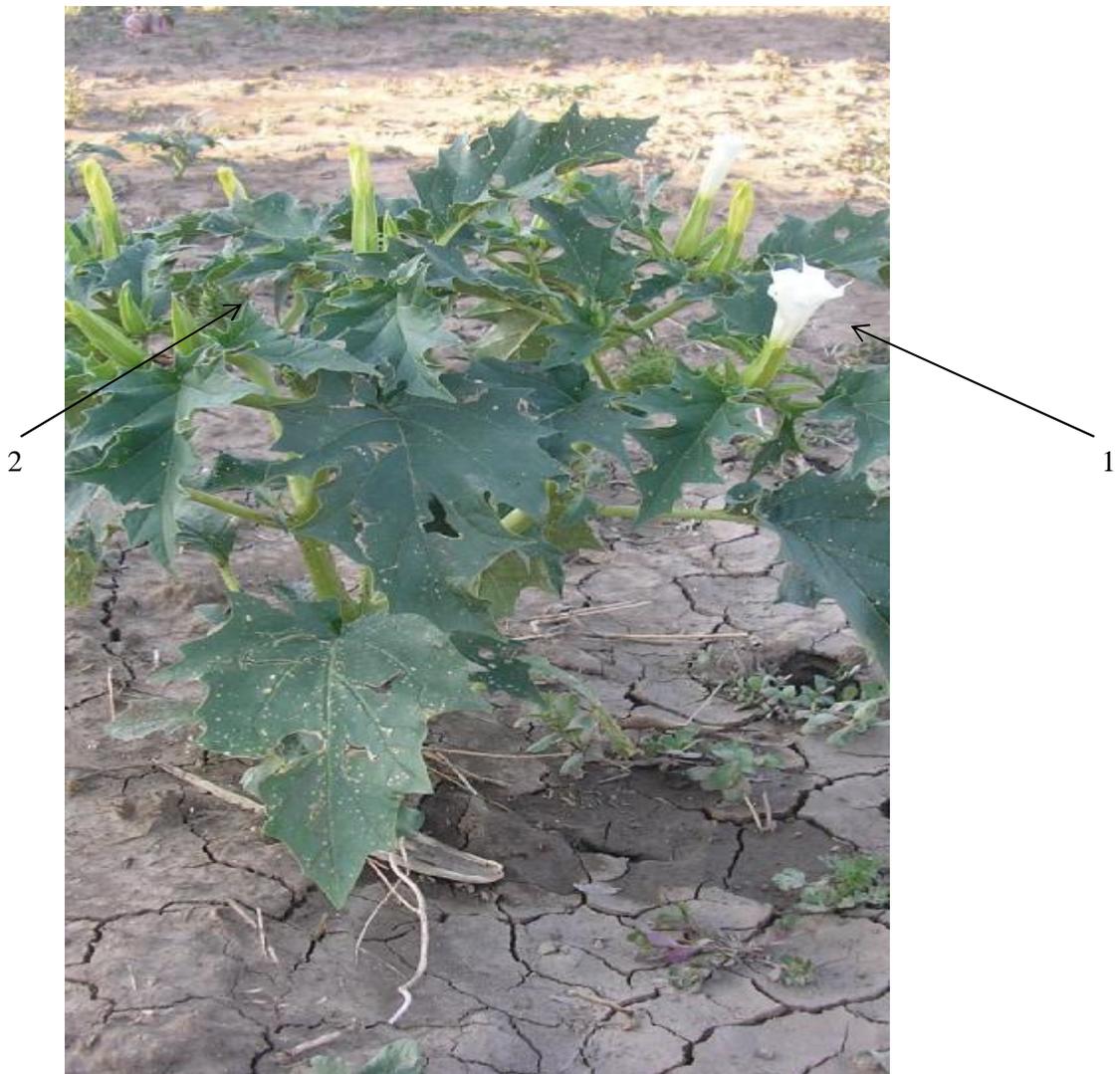


Figure. 6 : *Datura stramonium* L. en période de floraison et de fructification.
1 : La fleur; 2 : Le fruit.

Les graines sont utilisées comme support pour les essais biologiques à cause de leur forte concentration en alcaloïdes.

Les graines récupérées des fruits récoltés après maturation, sont débarrassées de toutes les impuretés ; elles sont ensuite lavées à l'eau du robinet, séchées au laboratoire à la température ambiante entre 25°C et 27°C, à l'abri du soleil et de la lumière pendant dix jours (Fig. 7). Un spécimen de la plante est conservé au laboratoire au département de biologie Université de Sétif.



Figure. 7 : Fruit et graines de *Datura stramonium* L.

2-1-1-1-1 Analyse phytochimique des alcaloïdes totaux des graines

2-1-1-1-1-1 Extraction des alcaloïdes tropaniques totaux

L'extraction et isolation des alcaloïdes totaux à partir des graines sont obtenues par une extraction liquide-liquide, basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin selon Bruneton (Bruneton, 1999).

100 g de graines de la plante, sont finement broyées par un broyeur électrique. La poudre obtenue est délipidée par 250 ml d'éther de pétrole par macération et sous agitation mécanique, à température ambiante pendant 3 heures.

Après filtration, la marc (graines moulues débarrassées de la matière grasse) est alcalinisée par une solution 40 ml d'ammoniaque (0.5N) pendant au moins 8 heures à température ambiante, permettant ainsi aux alcaloïdes, de passer de la forme sel en forme organique.

La poudre alcalinisée est placée dans une cartouche en cellulose, celle-ci est placée à son tour dans l'appareil de Soxhlet. Ce dernier est monté sur un ballon contenant 250 ml de dichlorométhane. Les alcaloïdes en première étape sont extraits à chaud sous reflux par 250 ml de dichlorométhane pendant 3 à 4 heures (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines). A l'issue de cette opération, l'extrait brut est passé à la purification par une extraction trois successives par une solution de 150ml d'acide sulfurique (0.5N), les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, alcalinisées jusqu'à pH 9 par ajout de quelques ml d'ammoniaque (0.5N).

Nous épuisons ensuite trois fois la solution par 150ml de chloroforme, en agitant doucement l'ampoule à chaque fois.

Nous récupérons les trois fractions organiques dans un erlen Mayer, qui seront déshydratées par filtration sur papier filtre soutenant du sulfate de sodium anhydre. L'extrait recueilli dans un bêcher taré est évaporé à sec sur plaque chauffante. Après refroidissement, nous pesons à nouveau le bêcher. Le résidu sec représente les alcaloïdes totaux (Fig. 8)

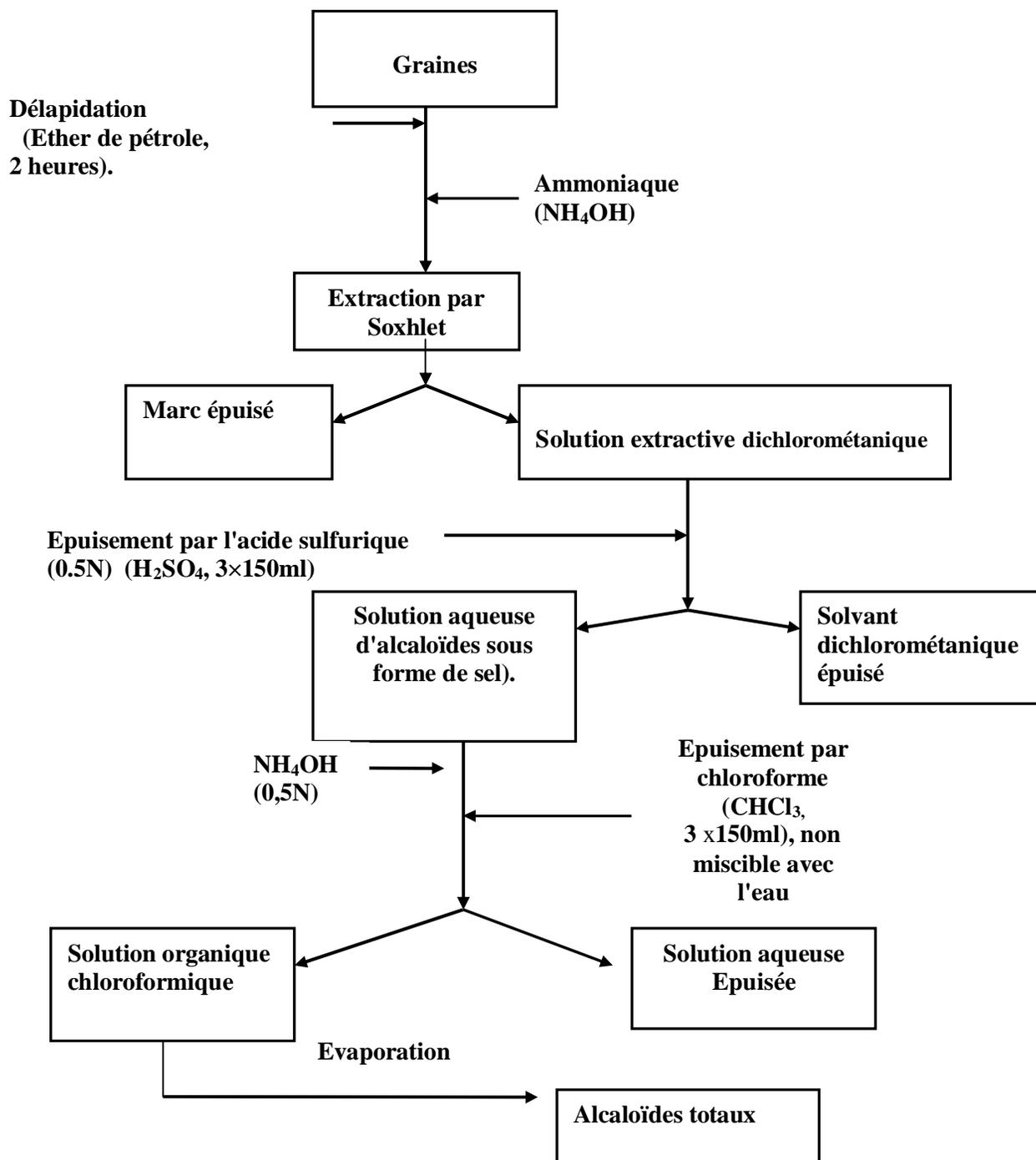


Figure. 8: Extraction des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. (Bruneton, 1999)

2-1-1-1-2 Analyse qualitative

2-1-1-1-2-1 Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

Avant l'expérimentation sur les animaux, La chromatographie analytique a été utilisée pour vérifier la présence des alcaloïdes au moins majoritaires atropine et scopolamine dans l'extrait. Des plaques de CCM prêtes à l'emploi, de gel silice 60F – Merck sur support d'aluminium de marque Macherey-Nagel avec des dimensions 20 x 20 cm ont été utilisées. La phase mobile utilisée est méthanol/chloroforme/ammoniaque: 79/20/1 (V/V/V).

Nous avons fait dissoudre l'extrait dans 1 ml de méthanol.

Les témoins utilisés (sulfate d'atropine monohydrate et scopolamine hydrochloride), se présentent sous forme de poudre blanche provenant de la firme «FLUKA - USA».

Après dissolution des témoins et de l'extrait dans du méthanol, nous déposons 10 µl de chaque solution (témoins et extrait) à l'aide d'une micropipette sur la plaque, préalablement activée dans une étuve à 110°C pendant 3 à 5 min, à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base. Chaque dépôt est séché à l'aide d'un sèche cheveux. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant arrive à 4 cm du bord supérieur de la plaque, les chromatogrammes sont retirés séchés et pulvérisés avec le réactif de Dragendorff jusqu'à l'apparition des spots colorés (la migration d'une quinzaine de cm prend plus ou moins 45mn).

2-1-1-1-3 Analyse qualitative et quantitative par HPLC

La chaîne HPLC utilisée pour le contrôle analytique est munie d'un détecteur UV. Elle est constituée des éléments suivants:

Une pompe Perkin-Elmer - USA - isocratique, la Chrom7100, à gradient quaternaire, une Vanne d'injection, vanne Rhéodyne, munie d'une boucle de 20µl, une colonne de silice C-18 de marque Perkin Elmer -USA-, (taille des particules : 5µm; longueur 125mm; diamètre interne 4mm), un intégrateur informatique, Perkin-Elmer-USA-.

La phase mobile est une solution 85% de tampon phosphate, 15% d'acétonitrile. Après filtration sur membrane (0,45 mm) et dégazage, cette phase est employée à un débit de 1ml/min. la longueur d'onde de détection est de 210 nm.

Les standards utilisés sont : 106mg/l de scopolamine et 102 mg /l d'atropine.

La concentration de l'extrait à tester est : 0.0125 g/ ml.

La concentration en alcaloïdes tropaniques (atropine, scopolamine) est calculée à l'aide d'une courbe étalon préalablement établie avec des solutions d'alcaloïdes commerciaux de concentrations connues.

2-1-1-2 Matériel animale

Nous avons travaillé sur des souris blanches femelles et mâles pesant entre 20 et 30 g (*Mus musculus*), et des rats mâles albinos *Wistar* ayant un poids variant entre 180 et 200 g et provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ils sont hébergés dans des cages en plastique transparent d'une longueur de 55 cm, d'une largeur de 33 cm et d'une hauteur de 19 cm. Les animaux ont disposé d'eau du robinet et de nourriture standard (croquettes, Ets ONAB El Kseur, Béjaia) *ad libitum*, la litière est renouvelée trois fois par semaine.

Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie de département de Biologie-Sétif pendant une quinzaine de jours avant l'expérimentation.

2-1-1-2-1 Evaluation de la toxicité aigue chez les souris

Les essais de la toxicité aigue permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 14 jours) après l'administration d'une substance (ici les alcaloïdes totaux des graines de *Datura*), soit à dose unique, soit à doses répétées sur une période maximale de 24 heures.

Les principaux effets recherchés sont :

- les signes cliniques,
- les modifications pathologiques visibles à l'œil nu,
- et la létalité (mortalité).

2-1-1-2-2 Détermination de la DL₅₀

L'extrait des graines de *Datura stramonium* à tester est solubilisé dans quelques gouttes d'éthanol et dilué dans de l'eau physiologique et est administré à différentes doses, par voie intrapéritonéale, à raison d'une dose par groupe.

Les animaux utilisés dans cet essai sont des souris blanches mâles et femelles. Après une période d'habituation, les souris sont pesées, identifiées par un marque avec une solution aqueuse d'acide picrique et réparties en groupes de 10 animaux.

a- Chez les souris males

Les animaux, repartis en 6 groupes de dix animaux chacun, dont un, est un groupe témoins, sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'essai.

L'extrait de graine de *Datura stramonium* L est administré par simple application par voie intra péritonéale.

Les 5 lots ont reçu successivement les doses suivantes : 297.5, 300, 302.5, 305 et 307.5 mg/kg. Le groupe témoins a reçu de l'eau physiologique avec quelques gouttes d'alcool.

b- Chez les souris femelles

Les 5 lots de souris femelles sont traités par simple application et successivement avec les doses suivantes : 280, 285, 290, 295 ,300mg/kg. Le groupe témoins a reçu de l'eau physiologique avec quelques gouttes d'alcool.

c- Observation clinique

Après l'administration de l'extrait de graines, les animaux sont observés individuellement chaque heure pendant le premier jour et chaque jour pendant 14 jours. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience.

La DL_{50} et son intervalle de confiance sont calculés par la méthode graphique de Litchfield et Wilcoxon et la méthode arithmétique de Behrens et Karber.

2-1-1-2-3 Toxicité aiguë chez les rats

Les animaux utilisés dans cette expérience sont des rats mâles *albinos Wistar* adultes, pesant entre 180 et 250 g, et sont identifiés par marquage par un numéro sur la queue, et sont répartis en 4 groupes expérimentaux renfermant chacun 10 rats :

- Deux groupes d'animaux témoins.
- Deux groupes d'animaux intoxiqués.

-Toxicité aiguë premier jour : un groupe témoins et un groupe traité (lot 1).

-Toxicité aiguë cinquième jour : un groupe témoins et un groupe traité (lot 2).

Les animaux sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'application de l'extrait des graines.

Les alcaloïdes totaux expérimentés de couleur jaunâtre sont solubilisés dans un 600 µl de méthanol, diluée dans de l'eau distillée.

Les animaux des deux groupes traités ont reçu par voie intra péritonéale et par simple application la dose de 100mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L.* et les groupes témoins ont reçu de l'eau distillée avec quelques gouttes d'alcool. Après le traitement, les animaux sont observés pour noter le comportement et la carte clinique.

-le groupe (traité 1) et le groupe témoins sont pesés et sacrifiés, après 24 heures de l'application.

-le groupe (traité 2) et le groupe témoins sont pesés et sacrifiés, après 5 jours de l'application.

Après dissection, les organes (rein, rate et foie, testicules, pommont, cœur) sont observés macroscopiquement *in situ*, prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés.

Les reins sont conservés dans une solution de formol à 10% pour des études anatomopathologiques.

Des prélèvements de sang ont été faits et ont servi pour différentes analyses (hématologiques et biochimiques).

2-1-1-2-4 Toxicité sub-chronique

Les rats ont été repartis en deux lots, un lot témoin de dix rats et un lot traité de vingt rats (dix par cage).

Les rats sont traités par voie intrapéritonéale, avec les alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine) qui se présentent sous forme de poudre blanche procurée de la firme «FLUKA». Les alcaloïdes commerciaux (atropine et scopolamine) sont dissouts dans l'eau distillée. les animaux sont traités chaque jour et six jours sur sept pendant un mois avec la dose 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine

Les rats sont pesés chaque semaine. Après 30 jours les rats sont sacrifiés et les organes sont observés macroscopiquement (rein, rate et foie, testicules, pommont, cœur), prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés.

.

Les reins sont conservés dans le formol à 10% pour des études anatomopathologiques.

2-1-1-2-5 Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques sériques

2-1-1-2-5-1 Prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang est effectué à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale des rats anesthésiés au départ par l'uréthane (800mg/kg par voie intrapéritonéale). Le recueil de sang a été effectué respectivement sur tube EDTA (pour la FNS), et sur tube hépariné (pour le bilan rénal) au cours de chaque prélèvement.

Les tubes héparinés sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 5min, et dans le sérum obtenu, sont dosées les paramètres biochimiques suivants : Glucose, Créatinine, Urée, Na⁺ et K⁺.

2-1-1-2-5-2 Dosage de quelques paramètres hématologiques et biochimique

Les dosages (hématologique, biochimique) sont effectués au laboratoire central du CHU de Sétif.

L'analyse des paramètres hématologiques (RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV, MPV, RDW, MCH, MCHC) a été effectuée à l'aide d'un Beckman coulter Médonic

Le dosage des paramètres sériques (Glucose, Créatinine, Urée, sodium, potassium) a été fait l'aide d'un Beckman coulter Synchron CX-9 clinical system ALX.

2-1-1-2-6 Technique histologique

Les reins fixés dans du formol 10 %, sont déposés dans des cassettes en plastique, puis sont déshydratés (par immersion dans des bains successifs d'alcools, l'alcool est éliminé par des solvants (xylène)) avant d'être coulé dans des moules contenant de la paraffine fondue par chauffage (paraffine liquide).

Après refroidissement le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé à l'aide d'un microtome permettant de réaliser des coupes de 5 μ m d'épaisseur. Les coupes obtenues sont étalées et collées sur des lames, puis séchées dans une étuve pendant une nuit. Elles sont ensuite colorées par une solution d'hématoxyline-éosine.

Après la coloration, le montage se fait à l'aide de l'eukitt placé entre lame et lamelle. La préparation est séchée à l'air.

Ces coupes histologiques sont réalisées au laboratoire d'anatomopathologie de CHU de Sétif.

2-1-1-2-7 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L (in vitro)

Ce test est évalué selon la méthode Chwalek (2004) avec quelques modifications.

Le sang est récupéré par la veine orbitale dans des tubes héparinés. Après centrifugation à 1500 g/min pendant 5 min, le surnageant est éliminé et le culot est lavé trois fois par une solution tampon phosphate salin PBS (125mM Na Cl, 10mM de phosphate de Na⁺, pH 7.4) fois (la dernière centrifugation dure 10 min) (João et al., 2008). Le culot cellulaire obtenu est dilué avec la solution PBS pour obtenir un hématocrite de 2%.

L'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L est solubilisé dans 80 µl de méthanol, dilué dans du tampon phosphate salin pour obtenir une concentration de 7.4 mg/ml (solution mère), à partir de cette solution mère une série de tubes à essai à différentes concentrations est préparée par dilutions avec du tampon phosphate salin (La gamme de concentration en extrait est comprise entre 0.2 et 7.4 mg/ml)

L'analyse est réalisée dans des microplaques de 96 puits. Dans chaque puits 180µl de la suspension érythrocytaire préparée précédemment sont ajoutés, dans 6 puits on ajoute 100µl de tampon phosphate salin (témoin), les autres puits reçoivent 100 µl de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* de concentration allant de 0.2 à 7.4mg/ml. On laisse la plaque pendant 5 minutes à une température ambiante.

Le nombre des cellules restantes est déterminé en mesurant l'absorbance à 630 nm, en utilisant le lecteur de plaque à 96 puits (ELx 800, Universal Microsofte Reader, Bio. Tek instriment, INC.) (Aurélié et al, 2006).

2-1-1-2-8 Etude de la résistance osmotique des érythrocytes

2-1-1-2-8-1 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine)

Un groupe de 6 rats mâles traités journalièrement par voie intrapéritonéale, pendant 25 jours avec 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine (alcaloïdes commerciaux). Après prélèvement de sang à partir de la veine orbitale des rats mâles, la suspension érythrocytaire est préparée de la même manière que celle décrite ci-dessus.

A partir de la solution mère de tampon phosphate salin préparée précédemment, une série de tubes à essai à différentes concentrations est préparée par dilution avec du tampon phosphate.

20 μ l de la suspension érythrocytaire préparée précédemment sont ajoutés dans chaque puit contenant 260 μ l de PBS dont la concentration de NaCl varie entre 7.3125 g/l et 0 g/l. On laisse la plaque pendant 5 minutes à une température ambiante.

Le nombre des cellules restantes est déterminé en mesurant l'absorbance à 630 nm, en utilisant le lecteur de plaques.

2-1-1-2-8-2 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L:

Un groupe de 5 rats mâles ont reçu par voie intrapéritonéale, par simple application une seule dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. Après le 5^{ème} jour, le sang est prélevé de la veine orbitale des animaux, le teste de la fragilité osmotique est réalisé de la même manière que celui qui a été décrit ci-dessus (alcaloïdes commerciaux).

2-1-2 Analyses statistiques

Les données obtenues ont été analysées statistiquement par le test de Student au moyen du logiciel sigma stat version 3.5 et sont exprimés en moyenne \pm SEM (ou \pm SD) pour la toxicité aigue et subchronique.

La détermination d'EC₅₀ (test d'hémolyse) est effectuée avec le logiciel GraphPad Prism 5 La DL₅₀ est calculée à partir des droites de régression log dose-probit (Litchfield et Wilcoxon, 1949).

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

3- RESULTATS

3-1 Extraction

L'extraction liquide- liquide des alcaloïdes tropaniques totaux à partir des graines a permis d'obtenir un extrait de couleur brun jaunâtre avec un rendement d'extraction de $0.07 \pm 0,0245$ g/100g des graines.

3-2 Analyse qualitative

La chromatographie sur couche mince de l'extrait a permis de séparer deux substances qui sont apparues sous formes de tâches colorées après révélation, 1 spot en bas de la plaque situé au même niveau que celui sulfate d'atropine monohydrate (témoin), et un autre spot dans la partie supérieure situé au même niveau que celui de la scopolamine hydrochloride, le spot de la partie inférieure est plus important. Les 2 spots correspondent donc à l'atropine et la scopolamine (Fig. 9).



Figure. 9: Séparation par chromatographie sur couche mince des alcaloïdes tropaniques majoritaires (atropine et scopolamine) des graines de *Datura stramonium* L.

Phase mobile : méthanol/chloroforme/ammoniaque: 80/20/1,5 (V/V/V). Révélateur : réactif de Dragendorff.

3-3 Résultats de l'analyse par HPLC

Les figures (10, 11) montrent les chromatogrammes standards.

Les temps de rétention pour l'atropine et la scopolamine (standard) sont respectivement 13.37min, 7.64 min.

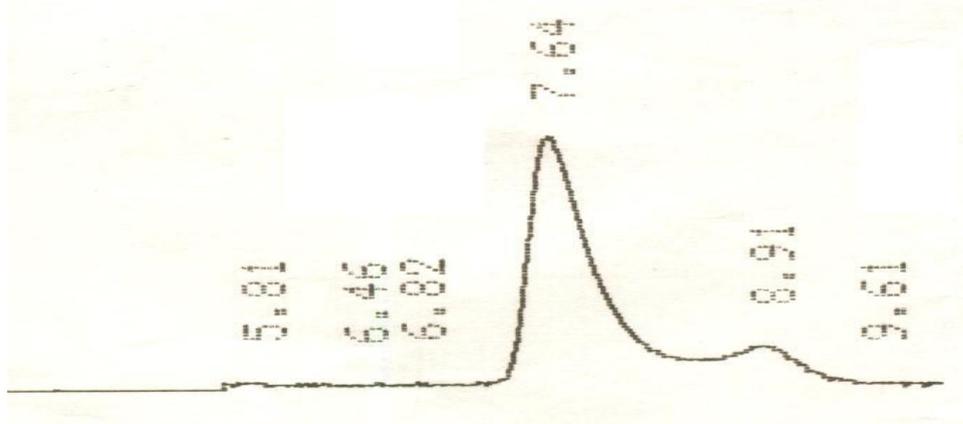


Figure .10: Chromatogramme en HPLC de scopolamine

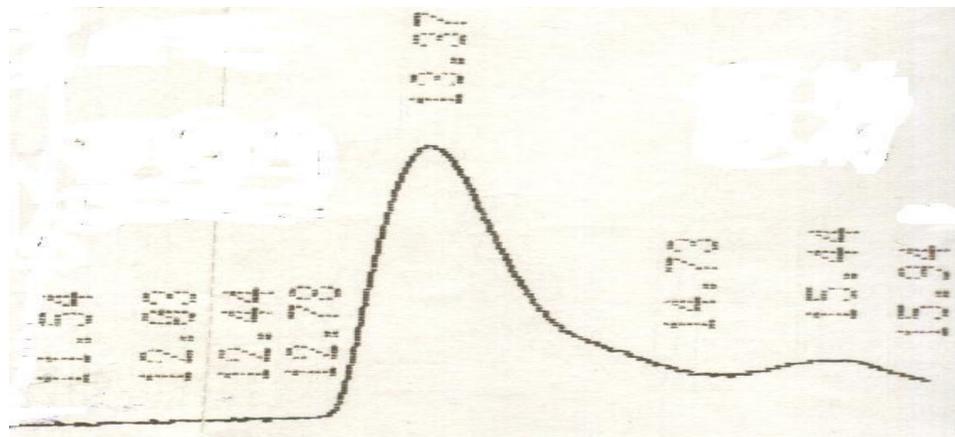


Figure .11: Chromatogramme en HPLC de l'atropine

L'identification des composés de l'extrait des alcaloïdes totaux majoritaires des graines de *Datura stramonium* L se fait par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux obtenus pour les mêmes composés standard. Cette comparaison, nous a permis de confirmer la présence de deux alcaloïdes, scopolamine avec un temps de rétention 7,41min, et l'atropine avec un temps de rétention 13,75min (Fig. 12).

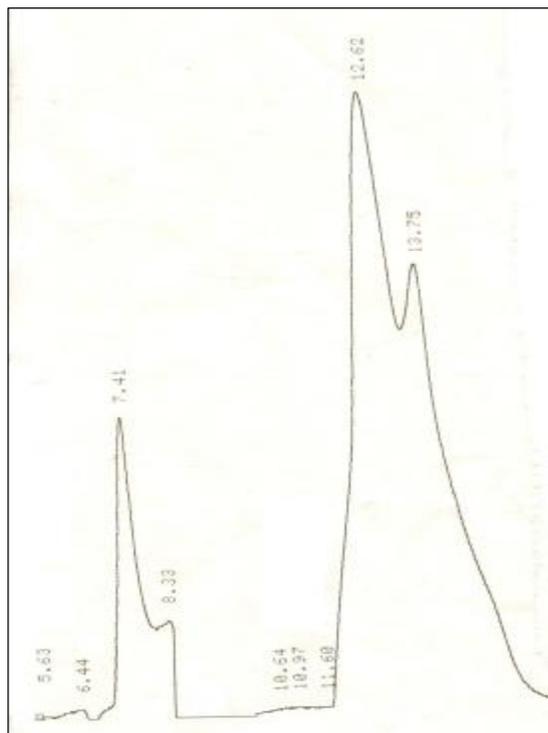


Figure. 12 : Chromatogramme en HPLC des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

Les taux de l'atropine et la scopolamine respectivement 4mg/100g de graines et 2mg/100g de graines, sont déterminés dans l'extrait selon la courbe d'étalonnage (la surface des pics en fonction de la concentration des standards).

3-4 Détermination de la DL₅₀ chez les souris mâles

3-4 -1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux

Dés le début du traitement et ceci même pour les doses faibles, on a constaté chez les animaux une carte clinique caractérisée par des symptômes graves :

- de fortes convulsions et agitation,
- Accélération de rythme cardiaque et une difficulté de respiration.

Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente, puis peu à peu ils se couchent sur le ventre avec pattes postérieures écartées et cyanosées, et enfin ils se rangent les uns à côté des autres (Fig. 13).

- La mort survient à partir de la 15^{ème} min jusqu'à 24^{ème} heures. Après 72 heures, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.



Figure . 13: Position particulière des souris lors de l'intoxication aigüe par les alcaloïdes totaux du *Datura stramonium* L.

3-4-2 Calcul de la DL₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON (1985)

Après administration des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*, par voie intrapéritonéale, aux différents lots de dix souris, et avec les doses comprises entre 297.5 mg/kg et 307.5 mg/kg, la mortalité des souris en pourcentage et en unités probits en fonction de la dose sont présentées dans le tableau 3.

Tableau. 3 : Dose-effet des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* chez les souris mâles traitées par voie intrapéritonéale.

Dose mg/kg	Mortalité	effet observé		Effet attendu		Différence de %	χ^2
		probit	%	Probit	%		
297.5	0/10	2.25	0.3	2.3	0.35	0.05	0.001
300	1/10	3.72	10	6.6	6.6	3.4	0.02
302.5	2/10	4.16	27.4	4.3	27.4	7.4	0.026
305	8/10	5.84	72.6	5.3	72.6	7.4	0.03
307.5	10/10	6.73	91.9	6.1	91.9	5.1	0.04

La somme des diverses contributions au χ^2 : $\Sigma \chi^2$ expérimental = 0.117

χ^2 de la droite : $\chi^2 = \Sigma \text{con}\chi^2 \cdot N/K = 0.117 \cdot 50/5$ (N : nombre total d'animaux, K : le nombre total de doses).

On lit la valeur de χ^2 pour le seuil de probabilité $p = 0.05$ pour un degré de liberté $n = 5-2$ (les nombres de doses-2) : χ^2 tabulé = 7.82.

A partir des données présentées au tableau, on trace la courbe probit = f (log dose) (Fig.14).

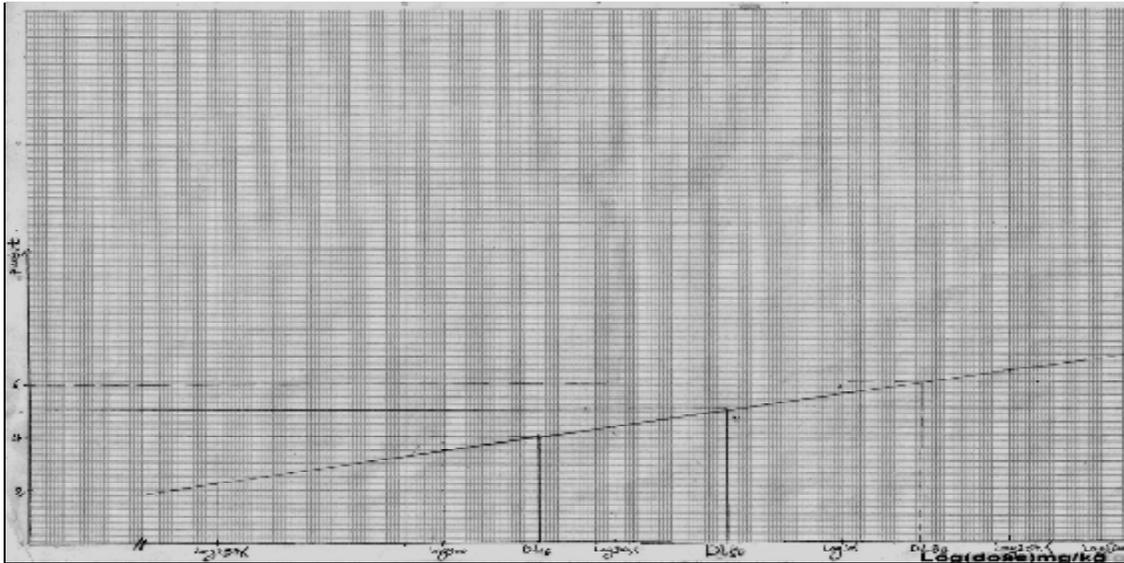


Figure. 14: Estimation de la DL₅₀ chez les souris mâles traitées par voie intra péritonéale par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

La DL₅₀ calculée à partir de la droite tracée est égale à 303.38 mg/kg.

La DL₁₆=301.06 mg/kg

La DL₈₄=305.77 mg/kg

La pente(S)

$$S = (DL_{84}/DL_{50} + DL_{50}/DL_{16})/2 = 1.007$$

L'intervalle de confiance

Pour le seuil de probabilité P= 0.05 L'intervalle de confiance de La DL₅₀ est le suivant :

302.47 mg/kg <DL₅₀ < 304.45 mg/kg. (La limite supérieure : DL₅₀.f_{DL50}, la limite inférieure:

DL₅₀ /f_{DL50} avec $f_{DL50} = S^{2.77/\sqrt{N}}$, N: le nombre d'animaux situés entre DL₁₆ et DL₈₄

Coefficient de toxicité

$$\text{Coef} = 1/ DL_{50}.S = 0.0013.$$

3-4 -5 Estimation de la DL₅₀ par la méthode de Karber

$$DL_{50} = DL_{100} - S (a-b)/n = 303.62 \text{ mg/kg}$$

a : la moyenne de la somme des animaux morts de 2 doses consécutives, **b** : la différence entre 2 doses successives, **n** : le nombre d'animaux utilisés par groupe.

3-5 Détermination de la DL₅₀ chez les souris femelles**3-5-1 Observation du comportement et tableau clinique des animaux**

Le tableau clinique des souris femelle traitées est comparable à celui des souris mâles.

Dès le début du traitement et ceci même pour les doses faibles, on a constaté chez les animaux une carte clinique caractérisée par des symptômes graves :

- de fortes convulsions et agitation,
- Accélération de rythme cardiaque et une difficulté de respiration.

Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente, puis peu à peu ils se couchent sur le ventre avec pattes postérieures écartées et cyanosées, et enfin ils rangent les uns à côté des autres.

- La mort survient à partir de la 15^{ème} min jusqu'à 24^{ème} heures. Après 72 heures, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.

3-5-1 Calcul de la DL₅₀ par la méthode de LITCHFIELD et WILCOXON

Après administration des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*, par voie intrapéritonéale, aux différents lots de dix souris, et avec les doses comprises entre 280 mg/kg et 300 mg/kg d, la mortalité des souris en pourcentage et en unités probits en fonction de la dose ont été relevés dans le tableau 4.

Tableau. 4: Dose-effet des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* chez les souris femelles traitées par voie intrapéritonéale.

Dose mg/kg	Mortalité	Effet observé		Effet attendu		Différence de %	χ^2
		Probit	%	Probit	%		
280	0/10	2.74	1.2	3.2	3.6	2.4	0.0075
285	3/10	4.48	30	3.7	9.7	20.3	0.5
290	3/10	4.48	30	4.4	27.4	2.6	0.0035
295	4/10	4.75	40	4.9	46.2	6.2	0.0175
300	7/10	5.52	70	5.51	69.4	0.6	0.0015

La somme des diverses contributions au χ^2 : $\sum \text{con}\chi^2 \text{ expérimental} = 0.53$

χ^2 de la droite : $\chi^2 = \sum \chi^2 \cdot N/K =$ (N : nombre total d'animaux, K: le nombre total de doses)

On lit la valeur de χ^2 pour le seuil de probabilité $p=0.05$ (à partir de la table) pour un degré de liberté $n = 5-2$ (les nombres de doses-2): $\chi^2 \text{ tabulé} = 7.82$.

A partir des données présentées au tableau, on trace la courbe probit = f (log dose) (Fig.15).

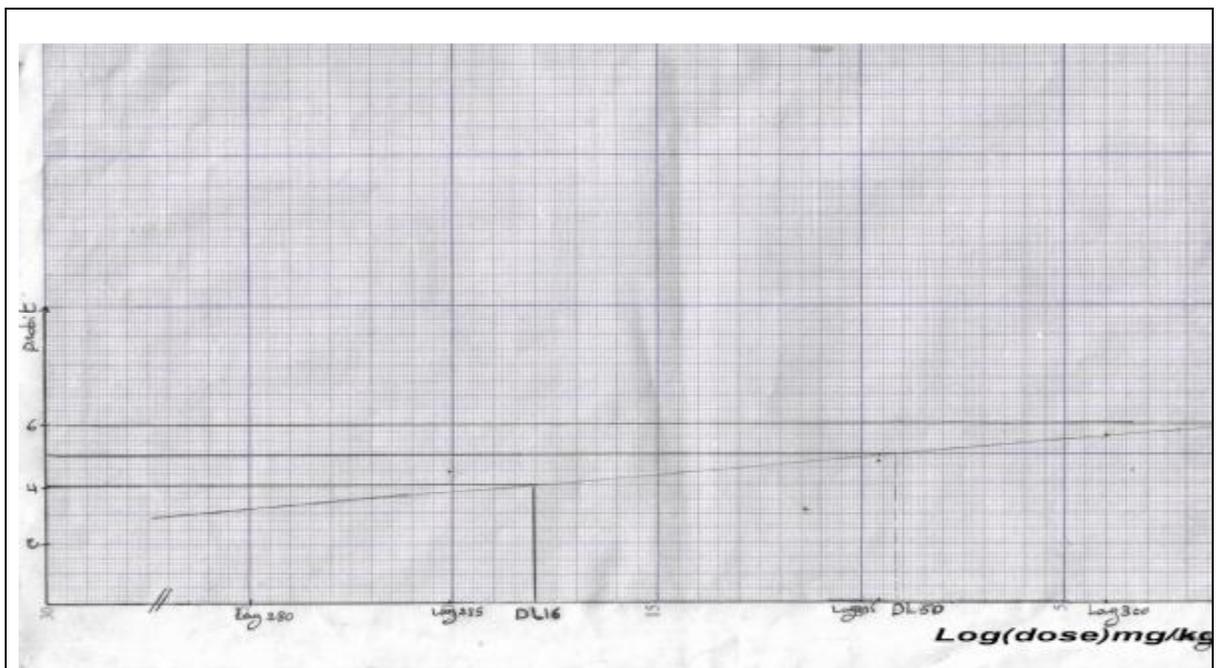


Figure. 15: Estimation de la DL_{50} chez les souris femelles traitées par voie intra péritonéale par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

La DL_{50} calculée à partir de la droite tracée est égale à 294.44 mg/kg.

La $DL_{16} = 286.41$ mg/kg.

La $DL_{84} = 303.38$ mg/kg.

La pente(S)

$S = 1.029$

L'intervalle de confiance

Pour le seuil de probabilité $P = 0.05$ L'intervalle de confiance de La DL_{50} est le suivant :

290.37 mg/kg < DL_{50} < 298.56 mg/kg (la limite supérieure : $DL_{50} \cdot f_{DL50}$, la limite inférieure:

DL_{50} / f_{DL50} avec $f_{DL50} = S^{2.77/\sqrt{N}}$, N' : le nombre d'animaux situés entre DL_{16} et DL_{84} .

Coefficient de toxicité

$$\text{Coef} = 1/ DL_{50} \cdot S = 0.0034$$

3-6 Toxicité aigue chez les rats mâles**- Masse relative des différents organes des rats mâles dans les conditions de la toxicité aiguë**

Après l'examen macroscopique des organes des rats, aucun changement morphologique n'a été constaté dans les organes des rats traités en comparaison avec ceux des rats témoins.

La variation de la masse relative des différents organes chez les rats mâles témoins et traités avec la dose 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L, montre une augmentation significative de la masse relative des reins pendant le 1^{er} jour et le 5^{ème} jour de 12.04 % et 12.34 % respectivement. On a enregistré aussi une augmentation significative de la masse relative des testicules pendant le 5^{ème} jour 46.42%.

Cependant, aucun changement significatif au niveau des autres organes n'a été constaté (tab. 5).

Tableau. 5 : Masse relative des organes des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux de graine de *Datura stramonium* L.

Masse Relative	Poumons	Cœur	Reins	Rate	Foie	Testicules
Rats témoins	0.00651± 0.000631	0.00343± 0.000212	0,00656± 0,000453	0.00332± 0.000390	0.0347± 0.000641	0,00840± 0,00500
Rats traités 1 ^{er} Jour	0,00713± 0,000770	0.00360± 0.000517	0,00735 *± 0,000603	0.00299± 0.000584	0.0360± 0.00294	0,0119± 0,00121
Rats traités 5 ^{ème} Jour	0.00704± 0.000729	0,00335± 0,000376	0,00737 *± 0,000718	0,00311± 0,000250	0,0353± 0,000725	0,0123 *± 0,00101

* Significativement différent par rapport au témoin.

- Etude hématologique

Les résultats hématologiques obtenus sont illustrés dans le tableau 6 et révèlent une augmentation significative de pourcentage de MCV pendant le 1^{er} jour et le 5^{ème} jour respectivement de 7.9 % et 6.39 %. on a enregistré aussi une diminution significative de pourcentage de RDW pendant le 1^{er} jour et le 5^{ème} jour égale à 8.27 % et 11.24 % respectivement, et une diminution significative du taux des plaquettes et du hémoglobine pendant le 1^{er} jour (20.24%, 8.13), et MPV et les globules blancs pendant le 5^{ème} jour (9.3 %, 41,53%). Une augmentation significative de MCH et MCHC est observée pendant le 1^{er} jour (7.65%, 4.24 %).

Tableau. 6 : Paramètres hématologiques des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux de graine de *Datura stramonium* L.

Paramètres hématologiques	RBC 10 ⁶ /mm ³	MCV µm ³	RDW% %	HCT %	PLT 10 ³ /mm ³	MPV µm ³	WBC 10 ³ /mm ³	HGB gr/dl	MCH pg	MCHC g/dl
Rats Témoins	9.241 ±0.818	48.9 ±0.874	16.190 ±0.262	41.100 ±2.719	775.857 ±58.505	7.450 ±0.317	8.438 ±1.733	17,129± 0,988	17.711 ±0.698	34.710 ±0.594
Rats traités		*	*		*			*	*	*
1er Jour	8.592 ±0.833	52.767± 1.381	14.850 ±0.397	45.450 ±2.443	618.750 ±43.931	7.083 ±0.164	7.160 ±0.779	15,375± 1,436	19.067 ±0.493	36.183 ±0.630
Rats traités		*	*		*		*			*
5emeJour	8.554 ±0.25	52.029 ±0.651	14.386 ±0.274	44.543 ±1.492	731.571 ±35.744	6.757 ±0.0948	4.933 ±0.209	15,783± 1,245	18.129 ±0.217	34.843 ±0.221

* Significativement différent par rapport au témoin.

- Etude biochimique

Les résultats indiquent une augmentation significative des concentrations du glucose et de l'urée pendant le 1^{er} jour de 41.26%, 39.56 % respectivement et pendant le 5^{ème} jour de 26.47%, 57.75% respectivement (Figure. 16), ainsi qu'une augmentation significative de la concentration de sodium pendant le 5^{ème} jour de 4.27% (Figure. 17). Cependant la concentration de la créatinine ne montre pas une différence significative par rapport aux témoins (Fig. 18).

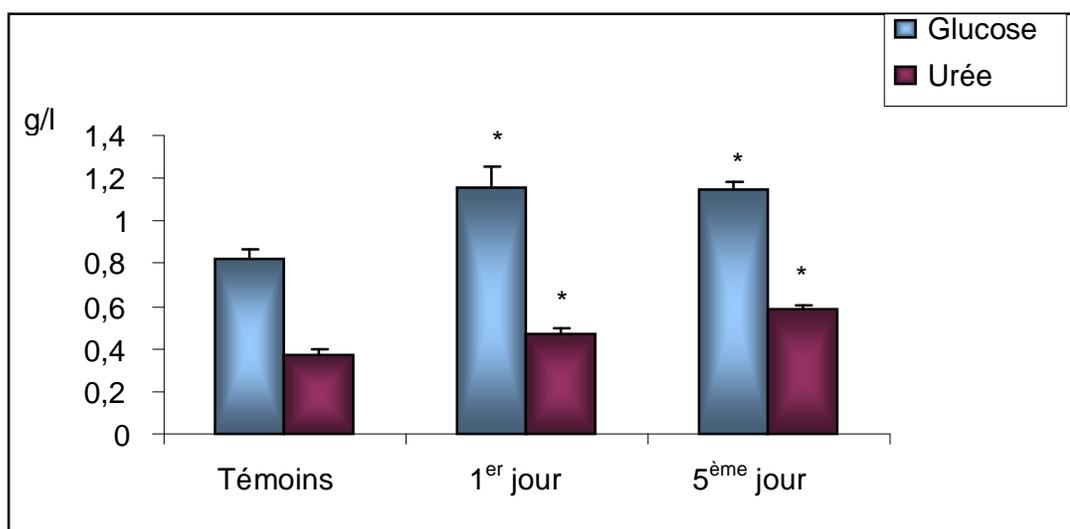


Figure. 16: Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (urée, glucose) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

* Significativement différent par rapport aux témoins.

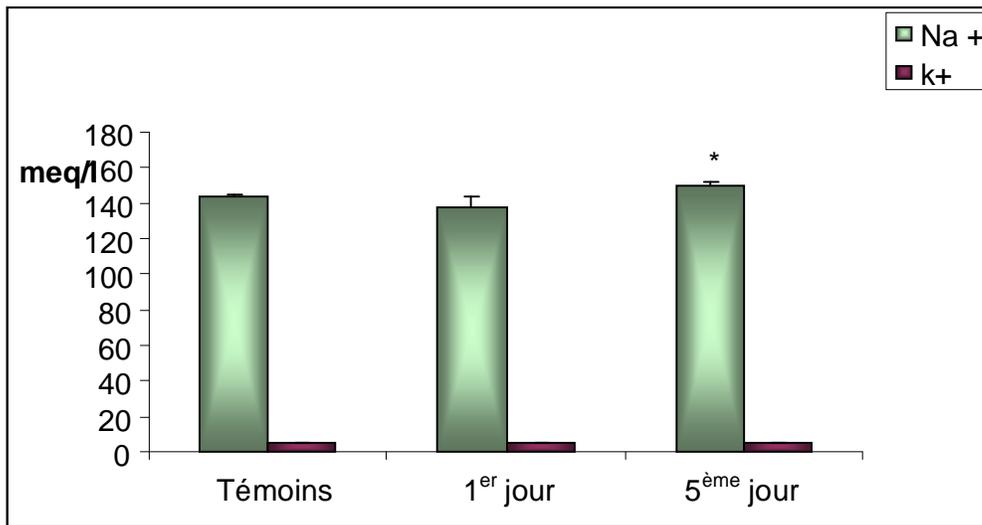


Figure. 17: Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Na⁺, K⁺) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

* Significativement différent par rapport aux témoins

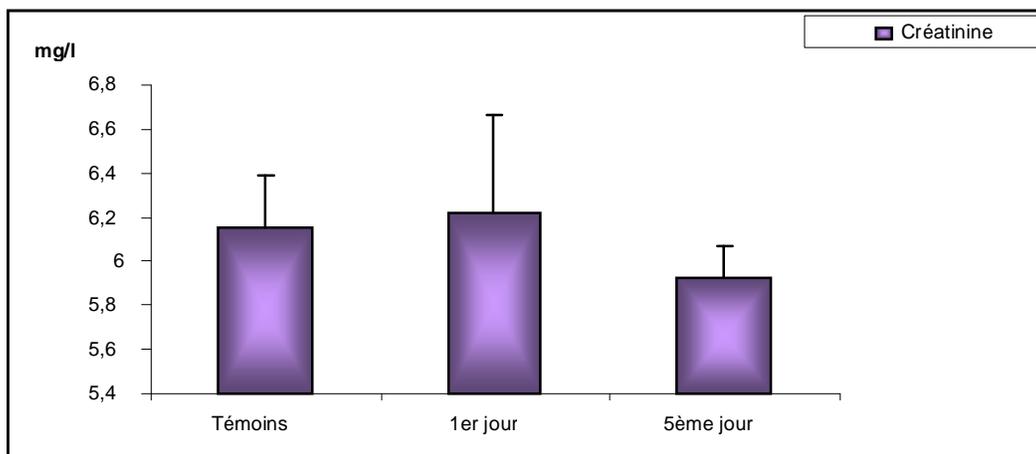


Figure. 18: Paramètre sérique de l'évaluation de la fonction rénale (créatinine) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité aiguë par la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

* Significativement différent par rapport aux témoins.

3-7 Toxicité subchronique

L'étude de la toxicité subchronique par les alcaloïdes commerciaux sur les rats mâles traités avec les doses de 5.19 mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine, a montré une légère diminution du poids corporel du groupe traité pendant la 4^{ème} semaine, on a également observé de la diarrhée chez quelques rats traités pendant la 4^{ème} semaine. Les témoins ont présenté une évolution normale de leurs poids, évaluée à 23,62% par rapport à la première semaine, alors que chez les traités cette évolution n'était que de 18,40% (Fig.19).

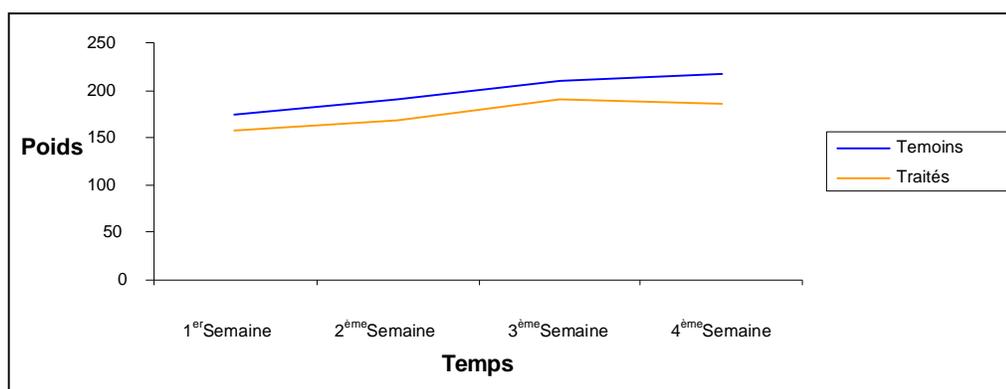


Figure. 19: Evolution de poids des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique.

On a également noté des changements au niveau des masses relatives des organes : une augmentation de la masse relative des reins, du foie et des poumons égale à 18.82 % et 24.03 % et 23.09 % respectivement. Cependant, il n'y avait pas eu de changements significatifs pour les autres organes (tab. 7).

Tableau. 7 : Masse relative des organes des rats blancs mâles traités dans les conditions de la Toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine

Masse Relative	Poumons	Cœur	Reins	Rate	Foie	Testicules	cerveau
Rats témoins	* 0,00472± 0,000435	0,00299± 0,000242	* 0,00611± 0,000542	0,00383± 0,000399	* 0,0258± 0,00308	0,0102± 0,00242	0,00788± 0,00119
Rats traités	* 0,00581± 0,00110	0,00301± 0,000370	* 0,00726± 0,000576	0,00397± 0,000467	* 0,0320± 0,00451	0,0116± 0,00285	0,00879± 0,00153

* Significativement différent par rapport aux témoins.

- Etude hématologique

Les résultats obtenus illustrés dans le tableau ci-dessous, révèlent une diminution significative du nombre des érythrocytes (17.16%), de l'hématocrite (14.87%), de l'hémoglobine (17.19%), et une augmentation significative de taux des plaquettes (29.58%), et de leucocytes (53.30%) (Tab. 8).

Tableau. 8 : Paramètres hématologiques des rats blancs mâles traités dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19 mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine

Paramètres Hématologiques	RBC 10 ⁶ /m ³	MCV μm ³	RDW% %	HCT %	PLT 10 ³ /mm	MPV μm ³	WBC 10 ³ /mm ³	HGB gr/dl	MCH pg	MCHC g/dl
Rats Témoins	* 8,728 ± 0,894	52,21 ± 2,976	17,350 ± 1,313	* 44,950 ± 4,587	* 661,11 ± 96,294	7,226 ± 0,546	* 7,071 ± 1,793	* 15,600 ± 1,544	18,111 ± 1,197	34,700 ± 0,941
Rats traités	* 7,230 ± 1,428	51,036 ± 3,148	18,690 ± 2,638	* 38,263 ± 5,334	* 856,70 ± 149,009	7,173 ± 0,814	* 10,84 ± 2,396	* 12,918 ± 2,891	17,24 ± 1,323	33,84 ± 1,009

* Significativement différent par rapport aux témoins.

-Etude biochimique et histologique

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures ci-dessous et révèlent une augmentation significative des concentrations du glucose, l'urée et du sodium de 32.97 %, 16.79 % et 2.21 % respectivement (Fig. 20), ainsi qu'une diminution significative de la concentration de potassium 32.5 % (Fig. 21). Cependant la concentration de la créatinine ne montre pas une différence significative par rapport aux témoins (Fig. 22).

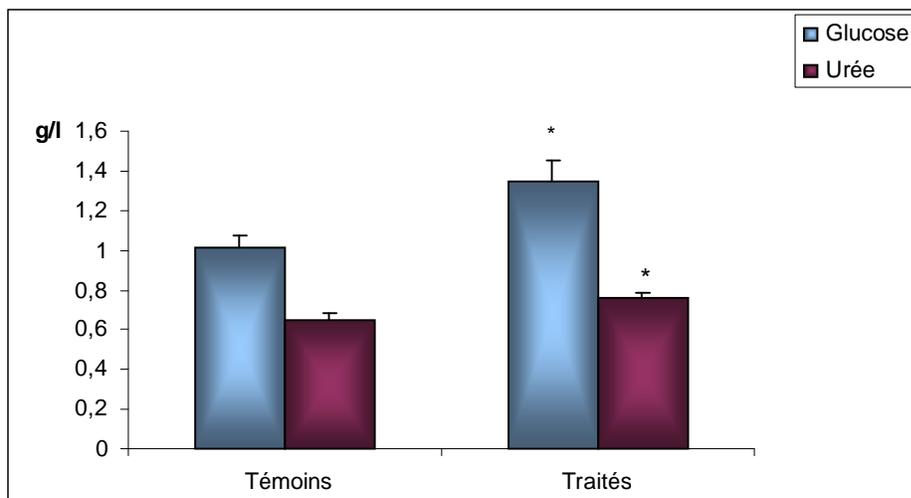


Figure. 20: paramètres sériques d'évaluation de la fonction rénale (urée, glucose) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.

* Significativement différent par rapport aux témoins.

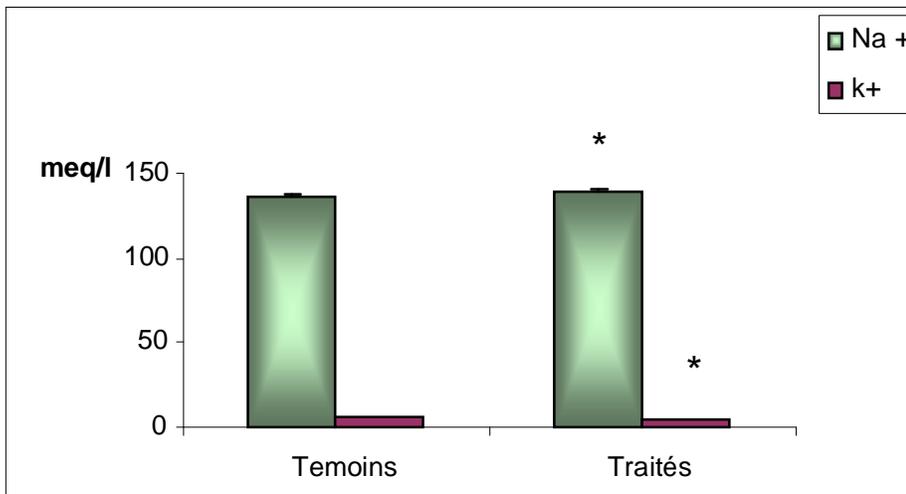


Figure. 21: Paramètres sériques d'évaluation de la fonction rénale (Na⁺, K⁺) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19 mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.

* Significativement différent par rapport aux témoins.

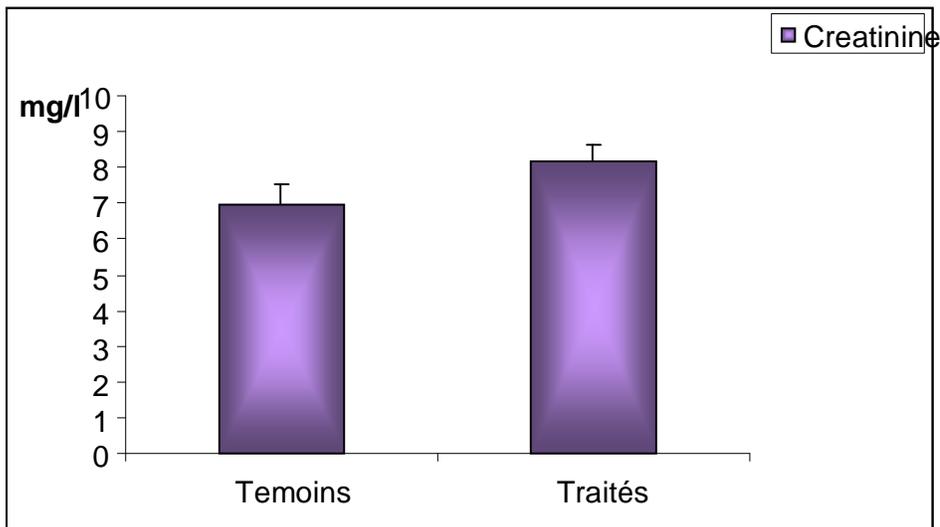
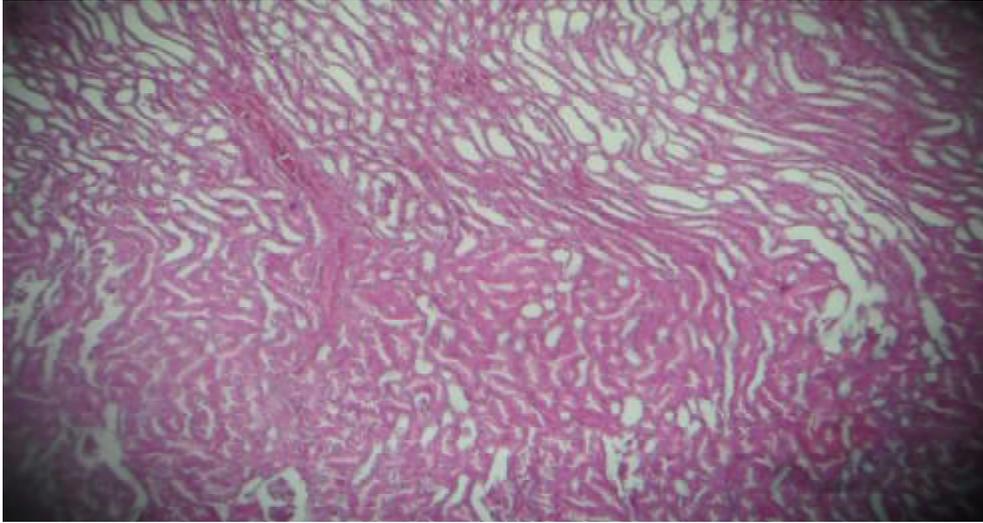


Figure. 22: Paramètre sérique d'évaluation de la fonction rénale (créatinine) des rats traités et témoins dans les conditions de la toxicité subchronique par les doses de 5.19mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine.

* Significativement différent par rapport aux témoins.

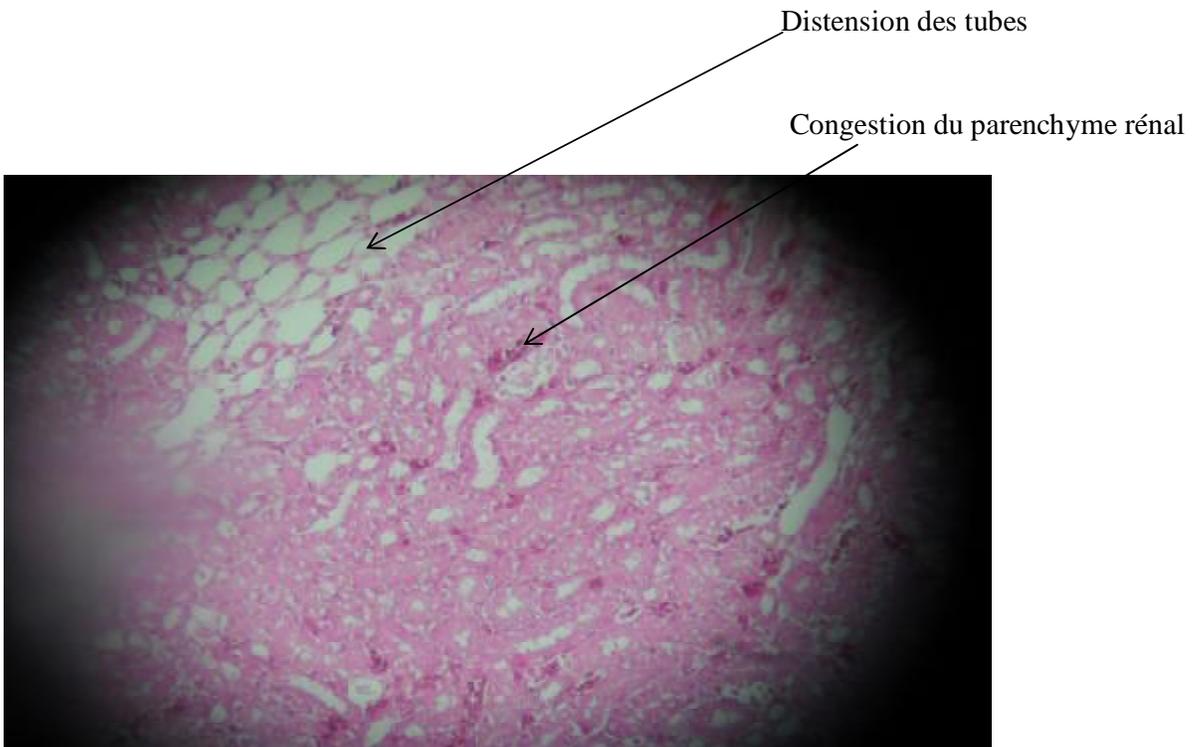
L'observation des coupes histologiques des reins des rats traités par rapport aux témoins (Fig. 23) a permis d'observer des distensions des tubes rénaux et une congestion du parenchyme rénal dans les conditions de la toxicité aiguë (5^{ème} jour) (Fig. 24). On a observé aussi une légère congestion sanguine des reins des rats traités dans les conditions de la toxicité aiguë (1^{er} jour).

L'examen histologique révèle aussi la présence des foyers de nécrose et des distensions des tubules rénaux dans les conditions de la toxicité subchronique (Fig. 25).



Grossissement 350X

Figure.23: Coupe histologique du tissu rénal des rats témoins. Coloration éosine hématoxyline.



Grossissement 350X

Figure. 24: Coupe histologique du tissu rénal des rats traités dans les conditions de la toxicité aiguë (5ème jour). Congestion du parenchyme rénal, distension des tubes rénaux . Coloration éosine hématoxyline.

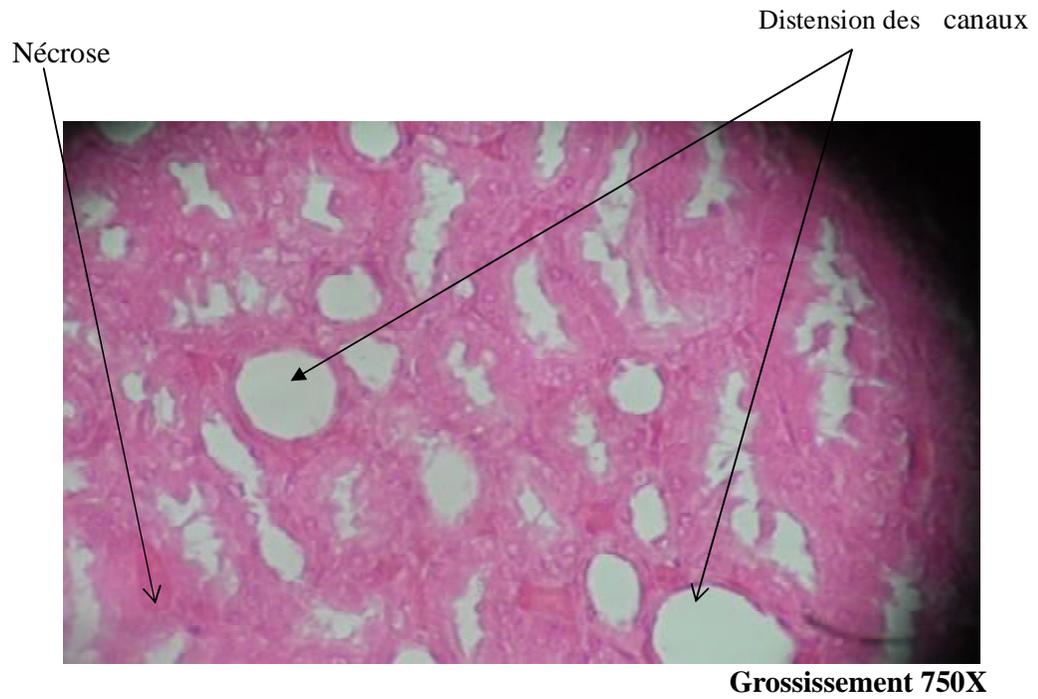


Figure. 25: Coupe histologique du tissu rénal des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique. Distension des tubes rénaux, des foyers nécrosés. Coloration éosine hématoxyline.

3-8 Effet des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L sur les érythrocytes des rats mâles (*in vitro*)

L'incubation *in vitro* des globules rouges à des concentrations variables de l'extrait d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* a montré une augmentation du taux d'hémolyse en fonction de la concentration de l'extrait. La concentration de l'extrait provoquant 50% d'hémolyse érythrocytaires est de 1.756 mg/ml.

Les résultats sont déterminés par une courbe représentant le pourcentage des cellules restantes en fonction de la concentration des alcaloïdes totaux (Fig. 26).

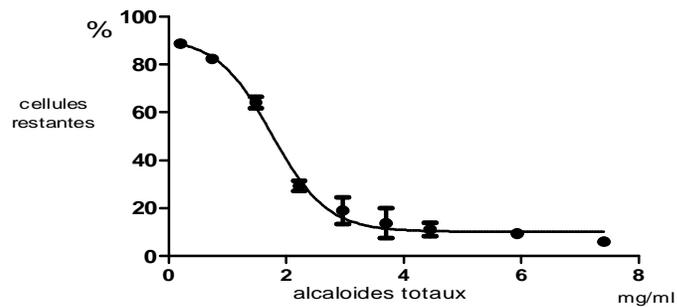


Figure. 26: Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats après traitement par des graines de *Datura stramonium* L. Les valeurs sont exprimées par les moyennes \pm SEM.

3-9 Effet des alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine) sur les érythrocytes des rats mâles (*in vivo*)

La détermination de la fragilité osmotique des globules rouges dans une gamme des concentrations hypotoniques de NaCl, a révélé que les érythrocytes du groupe témoins sont plus résistants que ceux du groupe traité avec les alcaloïdes commerciaux (5.19 mg/kg d'atropine et 2.61 mg/kg de scopolamine). Cependant l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative dans la fragilité osmotique entre les deux groupes témoins et traité.

Les résultats sont déterminés par une courbe représentant le pourcentage des cellules restantes en fonction de la concentration NaCl (Fig. 27).

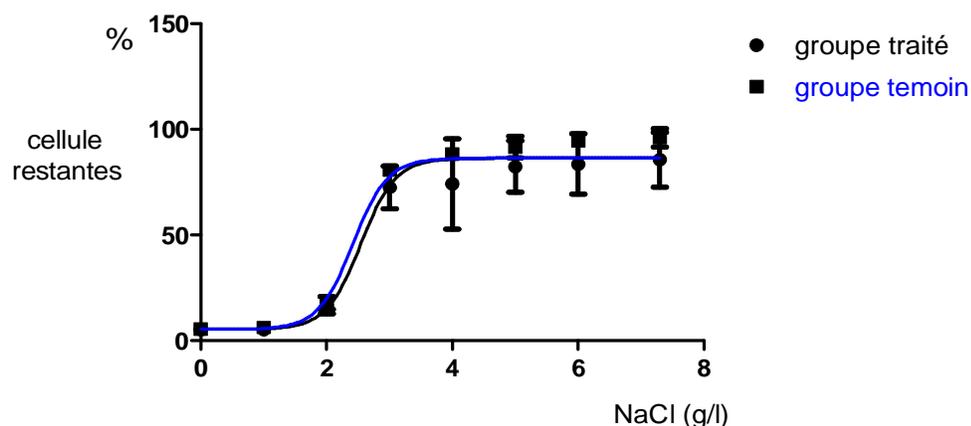


Figure. 27: Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats traités et témoins dans les conditions subchroniques pendant 25 jours. Les valeurs sont exprimées par les moyennes \pm SEM.

3-10 Effet des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L* sur les érythrocytes des rats mâles (*in vivo*)

La détermination de la fragilité osmotique des globules rouges dans une gamme des concentrations hypotoniques de NaCl, a révélé que les érythrocytes du groupe témoins sont plus résistants que ceux du groupe traité avec les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* (100 mg/kg).

Les résultats sont déterminés par une courbe représentant le pourcentage des cellules restantes en fonction de la concentration NaCl (Fig. 28).

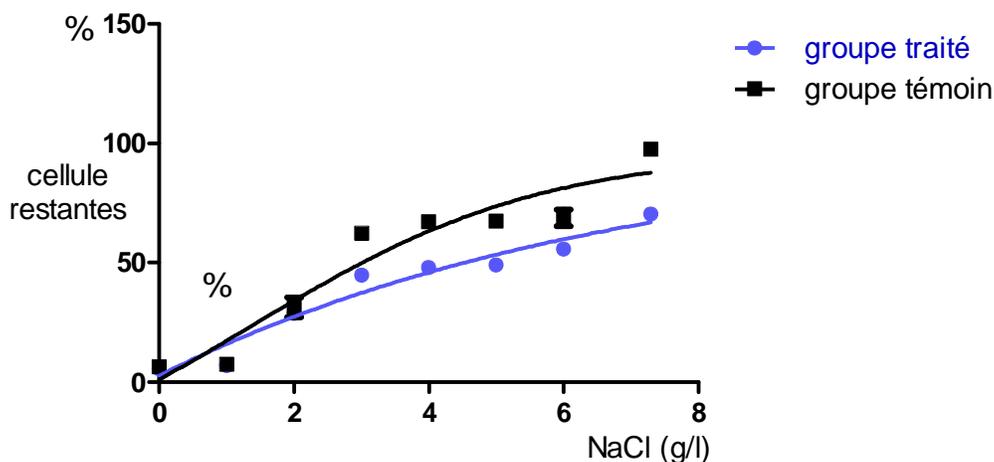


Figure. 28: Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats traités et témoins dans les conditions aiguës (5 jours). Les valeurs sont exprimées par les moyennes \pm SEM.

4- Discussion

La plante (*Datura stramonium L*) utilisée dans notre étude est identifiée sur la base de la description des caractéristiques morphologiques de la plante (Bruneton, 1999; Quazel et Santa, 1963).

L'analyse de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L.* par CCM sur gel de silice a permis de mettre en évidence la présence de deux spots, dont un est nettement plus important que l'autre, et correspondant à l'atropine (spot proche de dépôt de l'extrait) et le deuxième correspond à la scopolamine. L'analyse qualitative et quantitative par HPLC confirme la présence de ces deux alcaloïdes, atropine et scopolamine avec un taux respectivement 4 mg/100g de graines et 2 mg/100mg de graines, soit 2/3 d'atropine et 1/3 de scopolamine; ces résultats concordent avec ceux rapportés par Henri et al (2004) et Elisabetta et al., (2001). Cependant, l'examen de l'extrait des alcaloïdes totaux par HPLC révèle la présence d'un autre pic majeur avec un temps de rétention 12.26min attaché à celui de l'atropine, probablement un pseudo-alcaloïde (pseudo-atropine), et un pic mineur avec un temps de retentions 8,33 min attaché à celui de scopolamine probablement un pseudo-scopolamine ; des résultats semblables sont rapportés par d'autres auteurs (Mendel et Levin, 1989, Strahil et al., 2005, Philipov et Berkov, 2002).

La carte clinique des souris mâles et femelles traitées par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L.* s'est caractérisée par une accélération de rythme cardiaque due probablement à un blocage de récepteurs muscariniques M2 conduisant à une suppression du tonus vagal (Kenneth, 2001), une difficulté respiratoire, et des fortes agitations et des convulsions par l'atteinte de système nerveux central (blocage de la production de l'acétylcholine dans les synapses du système nerveux central) (Gouille et al., 2004). Les animaux meurent généralement par arrêt respiratoire associé à des convulsions, alors que les animaux survivants retrouvent une apparence normale, ceci est dû probablement à la grande capacité des souris de métaboliser (éliminer) les alcaloïdes.

La symptomatologie observée (tachycardie, agitation, difficulté respiratoire) chez les souris traitées par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L.* est similaire à celle observée par Deachy (1997) et Tannis (2008) chez des personnes hospitalisées après ingestion des graines de *Datura*, et Djibo et al. (2000) chez des patients hospitalisées après avoir fumé des

cigarettes à base de fleurs séchées de datura, et consommés une infusion de thé associée à des graines de la plante. Les mêmes constatations ont été rapportées par Binev *et al.* (2006) dans une étude réalisée sur des chevaux mâles soumis à un régime alimentaire d'ensilage de maïs contaminé par la plante fraîche pendant 7 jours.

L'étude de la toxicité aiguë (détermination de la DL₅₀) par les alcaloïdes totaux des graines des graines de *Datura stramonium L.* a permis de calculer les valeurs de la DL₅₀ chez les souris mâles de 303.38 mg/kg et de 303.62 mg/kg respectivement par la méthode graphique de LITCHFIELD et WILCOXON et la méthode (méthode de calcul) de Karber. Ces deux valeurs sont assez proches, ce qui démontre la fiabilité des méthodes de détermination.

La DL₅₀ chez les souris femelle est de 294,44 mg/kg (LITCHFIELD et WILCOXON). D'après les valeurs expérimentales des DL₅₀ (303.38 mg/kg, 294,44 mg/kg), les souris femelles paraissent plus sensibles aux effets indésirables des anticholinergiques (alcaloïdes totaux du datura) que les souris mâles, cette sensibilité liée au sexe pourrait être due aux différences physiologiques. L'étude de Dugan *et al.* (1989) effectuée sur des rats mâles et femelles ayant un régime alimentaire associé à des graines de *Datura stramonium L.* montre que les rat femelles sont plus sensibles que les rats mâles.

Au regard des résultats des DL₅₀ (50 mg/kg <DL₅₀<500 mg/kg), l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L.* est classé dans la catégorie des produits très toxiques selon la classification des produits chimiques de Frank (1992).

Dans les conditions de la toxicité aiguë (100 mg/kg), et après 24 h et 5 jours de l'application, aucun signe physique de toxicité, et aucune mortalité n'ont été observés chez les rats traités. Tandis que la masse relative des reins indique une augmentation significative pendant le 1^{er} jour et le 5^{ème} jours, ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par Mahdeb (2002), étude de toxicité sur des rats mâles traités par l'extrait du feuilles du *Datura stramonium L.* (lyophilisat des feuilles), ainsi qu'une augmentation significative des testicules (5^{ème} jour), ce résultat est en accord avec celui de Dugan *et al.*, (1989) sur des rats mâles ayant un régime alimentaire associé à des graines de *Datura stramonium L.* pendant 90 jours. Cependant, aucun changement significatif au niveau des autres organes (foie, rate, cœur) n'a été enregistré, nos résultats sont en accord avec

ceux de Piva *et al.*, (1997) chez les porcs ayant un régime alimentaires contaminé par les alcaloïdes commerciaux (scopolamine et d'atropine).

Cette étude montre également une perturbation de quelques paramètres hématologiques, une augmentation significative de la concentration globulaire moyenne en hémoglobine (MCHC), Ce résultat concorde avec celui de Dugan *et al.*, (1989), ainsi une augmentation de MCV (volume globulaire moyen) et MCH (teneur corpusculaire en hémoglobine). Cependant on a signalé une diminution de l'hémoglobine, les globules blancs et les plaquettes, des résultats similaires ont été signalés par Diker *et al.*, (2006) chez une personne hospitalisée après avoir consommé du thé à base de Datura.

Sur le plans biochimique et en concordance avec d'autres travaux de Dugan *et al.*, (1989), les résultats montrent clairement l'augmentation de l'urée au 1^{er} jour et au 5^{ème} jour, cette augmentation de l'urée pourrait être expliquée par une augmentation de catabolisme des composés protéiques, mais aussi par une atteinte de la fonction rénale. Des résultats similaires ont été rapportés par Piva *et al.*, (1997), qui ont noté aussi l'augmentation du glucose, ce résultat est compatible avec nos travaux. L'élévation du taux du glucose sanguin peut être expliquée par le manque de glucose à l'intérieur des cellules ce qui provoque l'utilisation des lipides pour compenser le manque d'énergie, ceci peut être confirmé par la mobilisation et l'augmentation de taux des lipides totaux selon Piva *et al.*, (1997).

Dans les conditions de la toxicité subchronique, les seuls signes cliniques observés chez les rats traités, sont des diarrhées et une faiblesse (manque de vivacité), ce résultat est en accord avec celui de Kara (2008), étude de toxicité sur des rats mâles traités par les alcaloïdes commerciaux (atropine et scopolamine).

On a noté une baisse du poids corporel des rats mâles traités au cours de la quatrième semaine, cette perte de poids a été aussi observée chez les rats soumis à un régime alimentaire contaminé par des graines de datura (Dugan *et al.*, 1989) et chez des porcs ayant consommés des aliments par des alcaloïdes commerciaux Piva *et al.*, (1997), cette diminution pourrait être expliquée par une réduction de la consommation des aliments, mais aussi à une diminution de la quantité de nourriture absorbée.

L'examen post-mortem des ces animaux révèlent une augmentation significative de la masse relative des organes poumons et reins dans les conditions de la toxicité subchronique, ce résultat est en accord avec celui de Mahdeb (2002), ainsi qu'une augmentation significative la masse relative du foie (Dugan *et al.*, 1989), cette augmentation peut être expliqué par une congestion sanguine des veines centro-lobulaires et des oedèmes au niveau du foie, observés dans les coupes histologiques du foie des rats traités par des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium L.* dans les travaux de Kara (2008).

L'examen hématologique (toxicité subchronique) indique une diminution significative des érythrocytes, l'hématocrite, et de l'hémoglobine, les mêmes résultats obtenus par Kara (2008).

Ces changements pourraient être dus à des effets sur l'érythropoïèse ou à des effets hémolytiques directs des alcaloïdes sur les hématies, ceci est confirmé par les tests de fragilité osmotique *in vivo* et d'hémolyse des hématies incubées en présence des alcaloïdes du datura.

Les résultats biochimiques obtenus après le traitement des rats dans les conditions de la toxicité subchronique confirment une augmentation significative de l'urée et glucose, Des résultats similaires ont été notés par Piva *et al.*, (1997). L'analyse biochimique révèle également une augmentation significative du taux du sodium et une diminution du taux de potassium. Ce ci pourrait être du à perturbation des échanges membranaires principalement au niveau du rein.

Ces résultats biochimiques (perturbation des paramètres biochimiques) et l'augmentation de la masse relative des reins traités par rapport aux témoins sont confirmés par une congestion du parenchyme rénal et une distension de certains canaux rénaux. L'examen histologique révèle aussi la présence des foyers de nécrose des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique.

Conclusions et perspectives

Les enseignements tirés à partir de l'ensemble des résultats présentés sont:

- *Datura stramonium* L. c'est une plante toxique chez l'homme et les animaux, sa toxicité est due aux alcaloïdes tropaniques majoritaires qui sont l'atropine et la scopolamine avec des taux respectivement 2/3 et 1/3 des alcaloïdes totaux des graines.
- Les données expérimentales de la toxicité aiguë chez les souris mâles ($DL_{50}=303.38\text{mg/kg}$) et femelles ($DL_{50}=294.44\text{mg/kg}$) montre une faible sensibilité de sexe et permettent de classer l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. dans la catégorie des produits très toxiques selon la classification de Frank.
- Les alcaloïdes tropaniques du *Datura stramonium* perturbent quelques paramètres hématologiques principalement les érythrocytes (diminution du nombre des érythrocytes, effet hémolytique), et quelques paramètres biochimiques sériques liés à la fonction rénale.
- L'observation histologique s'est caractérisée par quelques modifications structurales.

L'ensemble des données biochimiques et histologiques confirme l'effet néphrotoxique de la plante *Datura stramonium*.

En perspectives; on propose l'étude de la toxicocinetique, ainsi que la recherche des métabolites des alcaloïdes du datura dans les urines

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Alabaster V.A. (1997) Discovery & development of selective M3 antagonists for clinical use. *Life Sciences*, Vol. 60, Nos. 13/14, pp.1053-1060.

Alberto Kurzbaum., Claudia Simslo., Iadmilla Kvasha., Arnon Blum (2001). Toxic delirium due to *Datura Stramonium*. *IMAJ*. Vol 3. 3:538-539.

Alexander Jan., Diane Benford., Andrew Cockburn., Jean-Pierre Cravedi., Eugenia Dogliotti., Alessandro Di Domenico., Maria Luisa Fernández-Cruz., Peter Fürst., Johanna Fink-Gremmels., Corrado Lodovico Galli., Philippe Grandjean., Jadwiga Gzyl., Gerhard Heinemeyer., Niklas Johansson., Antonio Mutti., Josef Schlatter., Rolaf van Leeuwen., Carlos Van Peteghem and Philippe Verger. (2008) Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.

Alexander V Konarev., Jonathan Griffin., Galina Yu. Konechnay., Peter R. Shewry. (2004) The distribution of serine proteinase inhibitors in seeds of the Asteridae. *Phytochemistry* 65, 3003–3020.

Al-Shaikh AM., Sablay ZM. (2005) Hallucinogenic plant poisoning in children. *Saudi Med J* 26(1):118-21.

Ameenah Gurib-Fakim. (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1–93.

Andrea Brock., Stefan Bieri., Philippe Christen., Birgit Dräger. (2005) Calystegines in wild and cultivated *Erythroxylum* species. *Phytochemistry* 66, 1231–1240.

Andrew S. Levey., Ronald D. Perrone., Nicolaos E. Madias. (1988) Serum Creatinine and renal function. *Ann. Rev. Med.* 1988.39: 465-90.

Ann M Lee., David B Jacoby., Allison D Fryer. (2001) Selective muscarinic receptor antagonists for airway diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, 1:223–229.

Aurélie Girard., Sihem Madani., Farida Boukortt., Mustapha Cherkaoui-Malki., Jacques Belleville., Josiane Prost. (2006) Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* 22. 758–766.

Bhushan.R., Martens.j., Meenkshi Arora. (2001) Direct resolution of ephedrine and Atropine into their enantiomers by impregnated LTC. *Biomed. Chromatogr.* 15: 151–154.

Binev R. Valchev I., Niklov. J. (2006) Clinical and pathological studies of Jimsonweed (*Datura stramonium*) Poisoning in Horses. *Trakia Journal of Science*, Vol.4, N°.3, pp56-63.

- Birgit Dräger.** (2002) Analysis of tropane and related alkaloids. *Journal of Chromatography A*, 978.1–35.
- Blake Froberg., Danyal Ibrahim., Brent Furbee.** (2007) Plant Poisoning. *Emerg Med Clin N Am* 25.375–433.
- Blanchard Anne., Rosa Poussou., Pascal Houillier** (2008). Exploration des fonctions tubulaires rénales. *Néphrologie & Thérapeutique* 5, 68—83.
- Bouzidi A., Mahdeb N., Allouche L., Houcher B. (2002)** Etudes épidémiologiques sur les plantes toxiques dans les régions de Sétif et Bordj Bou Arreridj. Algérie. *Bulletin d'Information Toxicologique*. Institut national de santé publique du Québec. Vol. 18. . N 2. pp 5-10
- Brian A., Mcgaw. Jack G. Woolley.** (1982) Biosynthesis of tropane ester alkaloids in *DATURA*. *Phytochemistry*, Vol. 21, No. 1 I, pp. 2653-265.
- Bruneton J. (2001)** Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2^{ème} édition. Tec et Doc. Paris, pp. 481-512.
- Bruneton, J. (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. Paris, pp. 647-673.
- Brunner, Suddarth, Brenda Bare, Suzanne Smeltzer.** (2006) Soins infirmiers en Médecine et en Chirurgie, Généralités. 4^{ème} édition
- Centre de toxicologie/ centre antipoison X.X.X. (2005)** Les dangers des systèmes Thérapeutiques transdermiques. *Bulletin d'information toxicologique*. Vol. 21. N 1.
- Chanton. R., Paniel. J.** (1966) Biologie animale; Anatomie et physiologie animaux II fonction de nutrition. Edition Doin Deren et C^{ie}. pp.127.
- Charriere S., Rognant N., Chiche F., Cremer A., Deray G., Priou M.** (2008) Insuffisance rénale chronique et maladie cardiovasculaire. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* Volume 58, Pages 40-52.
- Chih-Kai Liang., Tin-Yun Ho., Tsai-Chung Li ., Wen-Ming Hsu., Te-Mao Li ., Yu-Chen Leed., Wai-Jane Ho., Juei-Tang Cheng., Chung-Yuh Tzeng., I-Ting Liuc., Shih-Liang Chang.** (2008) A combined therapy using stimulating auricular acupoints enhances lower-level atropine eyedrops when used for myopia control in school-aged children evaluated by a pilot randomized controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*. 16, 305—310.
- Christine H. Attenhofer Jost., Patricia A. Pellikka.** (2003) Atropine for inconclusive exercise tests: a beautiful solution or just cosmetics. *American Heart Journal*

Volume 145, Issue 6, Pages 938-940

Christopher J Langmead., Jeannette Watson., Charlie Reavill. (2008) Muscarinic acetylcholine receptors as CNS drug targets. *Pharmacology & Therapeutics* 117. 232–243.

Chung L.Y., Yap K.F., Goh S.H., Mustafa M.R., Z. Imiyabir. (2008) Muscarinic receptor binding activity of polyoxygenated flavones from *Melicope subunifoliolata*. *Phytochemistry* 69- 1548–1554.

Chwalek, M. (2004) Hémisynthèse de saponosides à hédragenine. Etude de l'influence de la chaîne osidique sur l'activité hémolytique. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Reims Champagne-Ardennes. France.

Daniel D. (2007) Central Anticholinergic Syndrome: A Case Report. *Journal of PeriAnesthesia Nursing*, Vol 22, No 5 (October), pp 309-321 309.

Desachy A., François B., Vignon P., Roustan R., Gay. (1996) Une intoxication rare au *Datura stramonium* A propos deux cas. *Réan Urg.* 1996; 6(1): 51-53.

Diker D., D. Markovitz., M. Rothman., U. Sendovski. (2006) Coma as a presenting sign of *Datura stramonium* seed tea poisoning. *European Journal of Internal Medicine* 18, 336– 338.

Djibo.A., Brah Bouzou. S. (2000) Intoxication aiguë "Sobi-Lobi" (*Datura*). A propos de quatre cas au Niger.

Djilani B. A., Legseir . (2004) Extraction of atropine by ultrasounds in different solvent systems. *Fitoterapia* 76, 148–152.

Dogliotti., Alessandro Di Domenico., Maria Luisa Fernández-Cruz., Peter Fürst., Johanna Fink-Gremmels., Corrado Lodovico Galli., Philippe Grandjean., Jadwiga Gzyl., Gerhard Heinemeyer., Niklas Johansson., Antonio Mutti., Josef Schlatter., Rolaf van Leeuwen., Carlos Van Peteghem and Philippe Verger. (2008) Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.

Donald A. Mahler. (1976) Anticholinergic Poisoning from Jimson Weed. Annual ACEP/EDNA Scientific Assembly in Las Vegas, Nevada. Vol.5 Number 6.

Dugan G. M., M. R. Gumbmann., Mendel Friedman. (1989) Toxicological evaluation of Jimson weed (*Datura stramonium*) seed. *FD Chem.Toxic.* Vol.27, No.8, pp, 501-510.

Duvaldestin P., M -M Agostini. (1999) Anesthésie et insuffisance rénale (collection d'anesthésie de réanimation et d'urgences). ISBN 2225835144, 9782225835148.

Edgar Buhl., Klaus Schildberger., Paul A. Stevenson. (2008) A muscarinic cholinergic

mechanism underlies activation of the central pattern generator for locust flight *The Journal of Experimental Biology* 211, 2346-2357.

Elisabetta Miraldi., Alessandra Masti., Sara Ferri., Ida Barni Comparini. (2001) Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia* 72. 644-648.

Fan Deng. (2005) Effect of glyphosate, chlorsulfuron, and methyl Jasmonate on growth and alkaloid biosynthesis of Jimsonweed (*Datura Stramonium* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82.16-26.

Flesch F. (2005) Intoxications d'origine végétale. *EMC-Médecine* 2, 532-546.

Forrester MB. (2006) Jimsonweed (*Datura stramonium*) exposures in Texas, 1998-2004. *J Toxicol Environ Health A.* 69(19):1757-62.

Frank C.LU. (1992) Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris pp 73- 202.

Fredrik Palm., Per-Ola Carlsson. (2005) Thick ascending tubular cells in the loop of Henle: Regulation of electrolyte homeostasis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 37, 1554-1559.

Friess S. L, R., C. Durant., L. J. Reber., W. C. Thommesen. (1961) Further Toxicologic Properties of Aromatic Esters in the Tropine and Ψ Tropine Series. *Toxicology and applied PHARMACOLOG* 3, 224-235

Goulle Jean-Pierre., Pepin Gilbert., Lacroix Christia. (2004) Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de toxicologie analytique*. ISSN 0768-598X . vol. 16, n° 1.

Grzegorz Gryniewicz., Maria Gadzikowska. (2008) Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. *Pharmacological Reports.* 60, 439-463.

Gustavo J. Rodrigo., Carlos Rodrigo. (2002) The Role of Anticholinergics in Acute Asthma Treatment. *American College of Chest Physicians. Chest*; 121; 1977-1987.

Gzyl., Gerhard Heinemeyer., Niklas Johansson., Antonio Mutti., Josef Schlatter., Rolaf van Leeuwen., Carlos Van Peteghem and Philippe Verger. (2008) Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.

Harbouche H. (2004) Etudes Botaniques Et Physiologiques De L'espèce *Datura stramonium* L. Dans La Région De Sétif. Thèse de Magister, pp.11-85-94.

Hélardot Danielle., Berl Monique., Rébillon Marc., Roussely Bernadette. (2006) Guide concours infirmier(e) anesthésiste Spécialisation santé. 3^{ème} édition Masson. SBN 2294050371, 9782294050374. pp. 64.

Henri Arouko., Marie-Dominique Matray., Coralie Braganca., Jea-Pierre mpaka., Laure chinello., Françoise Castaing., Christine BARTOU., Daniel POISOT. (2003) L'intoxication volontaire par l'ingestion de *Datura stramonium*. *Ann. Med. Interne*, 2003.154, Hors- Série I, pp.1S 46-1S50.

Herzlinger D. (1994) Renal stem cells and the lineage of the nephron. *Annu. Rev. Physiol.* 56:671-89

Hossein Mirjalili. (2008) Application of Metabolic Engineering to the Production of Scopolamine. *Molecules*, 13, 1722-1742; DOI: 10.3390/molecules13081722

Houillier P., A. Blanchard., M. Paillard. (2004) Métabolisme du potassium. *EMC – Endocrinologie* Vol 1, Pages 138-157.

Ichai C., C. Giunti. (2005) Sur quels paramètres hémodynamiques rénaux ou de la fonction rénale doit-on agir pour protéger le rein. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* Vol 24, Pages 148-160.

Jacques Dangoumau. (2006) Pharmacologie Générale. Edition 2006, pp. 100-248.

Jason D. Clark (2005). Jimson Weed Toxicity. *Air Medical Journal* 24:6.

Javier Palazón., Arturo Navarro-Ocaña., Liliana Hernandez-Vazquez., Mohammad Hossein Mirjalili. (2008) Application of Metabolic Engineering to the Production of Scopolamine. *Molecules*, 13, 1722-1742; DOI: 10.3390/molecules13081722.

João C.M. Barreira., sabel C.F.R. Ferreira., Beatriz P.P. Oliveira., José Alberto Pereira. (2008) Antioxidant activity and bioactive compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2230–2235.

Jochen Beyer., Olaf H. Drummer., Hans H. Maurer. (2008) Analysis of toxic alkaloids in body samples. *Forensic Science International* xxx, xxx–xxx (in press).

Johanna Fink-Gremmels., Corrado Lodovico Galli., Philippe Grandjean., Jadwiga Gzyl., Gerhard Heinemeyer., Niklas Johansson., Antonio Mutti., Josef Schlatter., Rolaf van Leeuwen., Carlos Van Peteghem and Philippe Verger. (2008) Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.

John H. Halpern. (2004) Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United States. *Pharmacology & Therapeutics* 102, 131– 138.

John H. Halpern., R. Andrew Sewell. (2005) Hallucinogenic botanicals of America: A growing need for focused drug education and research. *Life Sciences* 78, 519 – 526.

Jörg Ziegler., Peter J. Facchini. (2008) Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 59: 735-769

Joshua S., Rotenberg et Jonathan Newmark. (2003) Nerve Agent Attacks on Children: Diagnosis and Management. *Pediatrics official journal of the American Academy of pediatrics*. Vol. 112 No. 3.

Kara Nabila. (2008) Toxicité du *Datura stramonium* chez les animaux d'élevage : Enquête et expérimentation sur les animaux de laboratoire. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. . pp. 63.

Kenneth J. Broadley., David R. Kelly. (2001) Muscatine Receptor Agonists and Antagonists. *Molecules* 6, 142-193.

Knight A. P., R. G. Walter. (2003) Plants Affecting the Digestive System. *International Veterinary Information Service* (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.

Koolman Jan., Klaus-Heinrich Röhm. (2002) Atlas de poche de biochimie. Au Edition Flammarion Médecine- Sciences. 3^{ème} édition. pp.326- 327.

Lapostolle F., F. Fleisch. (2006) Particularités des nouvelles drogues. *Réanimation* 15, 412–417.

Litchfield, J.J., F. Wilcoxon. A simplified method of evaluating dose effective experiment. In Kalayanova. (1985). Sofia.

Magali Colombat., Sébastien Deleuze., Patrice Callard. (2008) Lésions élémentaires des glomérules chez l'adulte. *Néphrologie & Thérapeutique* 4, 617—627.

Mahdeb N. (2002) Etudes toxiques du *Datura stramonium* L. Effet de l'extrait des feuilles sur le cerveau et le foie des rats. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. pp. 77-78.

Mateus Lidia., Samir Cherkaoui., Philippe Christen., Jean-Luc Veuthey (1999). Enantioseparation of atropine by capillary electrophoresis using sulfated b-cyclodextrin: application to a plant extract. *Journal of Chromatography A*, 868. 285–294.

Mendel Friedman. (2004) Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *Journal of Chromatography A*, 1054 (2004) 143-155.

- Michael J. Burns., Christopher H. Linde., Andis Graudins., Robert M. Brown., Kenneth E. Fletcher. (1999)** A Comparison of Physostigmine and Benzodiazepines for the Treatment of Anticholinergic Poisoning. *Annals of emergency medicine*. Volume 35, Pages 374-381.
- Moncriol.A ., N. Kenane., G. Delorth., Y. Asencio., B. Palmier. (2007)** Intoxication volontaire par *Datura stramonium*: une cause de mydriase mal connue. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 26, 810–813.
- Nabil el Jaber-Vazdekis., Celedonio Gonzalez., Angel G. Ravelo., Rafael Zarate. (2008)** Cloning, characterization and analysis of expression profiles of a cDNA encoding a hyoscyamine 6 β -hydroxylase (H6H) from *Atropa baetica* Willk. *Plant Physiology and Biochemistry* 47. 20–25.
- Nina Khosravani., Jörgen Ekström., Döwen Birkhed. (2007)** Intraoral stimulation of salivary secretion with the cholinesterase inhibitor physostigmine as a mouth spray: A pilot study in healthy volunteers. *Archives of oral biology* 52, 1097 – 1101.
- Norbert Klocker., Wolfgang Hanschk., Susanne Toussaint., Thomas Verse. (2001)** Scopolamine nasal spray in motion sickness: a randomised, controlled, and crossover study for the comparison of two scopolamine nasal sprays with oral dimenhydrinate and placebo. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 13.227–232.
- Nurhan Enginar., Asiye Nurten., Pinar Yamanturk Celik., Baris Acikmese. (2005)** Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: Effects of glucose intake, antimuscarinic activity and anticonvulsant drugs. *Neuropharmacology* 49.293-299.
- Oliver-Bever. B. (1982)** Medicinal plants in tropical west Africa II. Plants acting on the nervous system. *Journal of Ethnopharmacology*, 7- 1-93.
- Oudhia P., et Tripathi R.S. (1999)** Germination and seedling vigour of rice var. Mahamaya affected by allelopathy of *Datura stramonium* L. *Crop Res.* 18 (1): 46-45.
- Patricia Marques Pereira., Brigitte Cosquer., Sarah Schimchowitsch., Jean-Christophe Cassel. (2004)** Hebb-Williams performance and scopolamine challenge in rats with partial immunotoxic hippocampal cholinergic deafferentation. *Brain Research Bulletin* 64, 381–394.
- Patrizio Blandina., Marcel Efofudebe., Gabriele Cenni., Pierfrancesco Mannaioni., Maria Beatrice Passani. (2004)** Acetylcholine, Histamine, and Cognition: Two Sides of the Same Coin. Cold Spring Harbor Laboratory Press ISSN 1072-0502/04.
- Paul F. White., Jun Tang., Dajun Song., Jayne E. Coleman., Ronald H. Wender., Babatunde Ogunnaike., Alexander Sloninsky., Rajani Kapu., Mary Shah., Tom**

- Webb.** (2007) Transdermal Scopolamine: An Alternative to Ondansetron and Droperidol for the Prevention of Postoperative and Postdischarge Emetic Symptoms. *International Anesthesia*. Vol.104, No.1.
- Pellet.M.V.** (1977) Le milieu intérieur. Le rein. Physiologie humaine. 2^{ème} partie. Sime p. Editions Villeurbanne.
- Périlleux. E., Anselme. B., Richard. D.** (1999) Biologie humaine. Anatomie, physiologie, santé. 2^{ème} édition Nathan.
- Philip Salem., Richard Shih., Paul Sierzenski., Jame Reed.** (2002) Effect of physostigmine and gastric lavage in a Datura Stramonium –induced anticholinergic poisoning epidemic.
- Philipov S., Berkov S. (2002)** Investigation of Tropane Alkaloids in Datura stramonium. *Z. Naturforsch* 57c, 559-561.
- Piva G., Morlacchini M., Pietri A. Fusari, A., Corradi, A., Piva., A.** (1997) Toxicity of dietary scopolamine and hyoscyamine in pigs. *Livestock Production Science* 51(1997) 29-39.
- Pretorius E., Max J.** (2006) *Datura stramonium* in asthma treatment and possible effects on prenatal development. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 21. 331-337.
- Qais Al-Awqati., Michael R. Glodberg.** (1998) Architectural patterns in branching morphogenesis in the kidney. *Kidney International*, Vol. 54, pp 1832-1842.
- Quezel P., Santa S.** (1963) La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris, p.823.
- Rates S.M.K.** (2000) Plants as source of drugs. *Toxicon* 39, 603–613.
- Raymond Gilles., Michel Anctil., Fernand Baguet., Mirielle., Guy Charantier., André Péqueux., Jean-Christophe Plumier et Phillip Sébert.** (2004) *Physiologie animale*. ISBN-2-8041-4893-9.
- Repéssé. X., Geeraerts T., Pottecher J., B. Vigué., D. Benhamou., J.Duranteau.** (2007) Coma avec mydriase bilatérale au décours de l'utilisation d'un patch de scopolamine en réanimation. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 26, 1070–1072.
- Roblot F., Montaz L., Delcousta M., Gaboriaun E., Chvagnat J., Morichaud G., Pourrat O., Scepi M., Patte D.** (1994) *Rev Méd Interne* 16, 187-190.
- Ruprecht J., B. Dworacekj.** (1990) Syndrome anticholinergique central en période postopératoire Syndrome. *Ann Fr Anesth Réanim*, 9 : 295-304.

- Sarfaraz Khan Marwat., Fazal ur Rehmani., Saifullah Khan.** (2005) Germination of seeds of *Datura stramonium* L. Under differentiation (temperature & soil). *Gomal University Journal of Research*, 21: 45- 49.
- Sean P. Spina., Taddei.** (2007) Teenagers with Jimson weed (*Datura stramonium*) Poisoning. *Can J Emerg Med*;9 (6):467-9.
- Seddigheh Razani-Boroujerdi., Muskaan Behl., Fletcher F Hahn., Juan Carlos Pena-Philippides., Julie Hutt., Mohan L. Sopori.** (2007) Role of muscarinic receptors in the regulation of immune and inflammatory responses. *Journal of Neuroimmunology* 194. 83–88.
- Sever M., Cekin M.** (2007) Anticholinergic intoxication due to *Datura stramonium*: three Pediatric cases. *Acil tip aralik'07 sayi 4*.
- Sharath S. Hegde., Richard M. Eglen.** (1999) Muscarinic receptor subtypes modulating smooth muscle contractility in the urinary bladder. *Life Sciences*, Vol. 64, Nos. 6/1, pp. 419-428.
- Sheng-Hong Xu., Kentaro Ono., Eiko Honda., Kiyotoshi Inenaga.** (2002) Noncholinergic Actions of Atropine on GABAergic Synaptic Transmission in the Subfornical Organ of Rat Slice Preparations. *Toxicology and Applied Pharmacology* **178**, 180–185.
- Steenkamp P. A., N. M. Harding., F. R. van Heerden., B. -E. van Wyk.** (2004) Fatal *Datura* poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry. *Forensic Science International* 145, 3139.
- Steven N., Neil P.** (2005) Jimson Weed intoxication in five Adolescents. *Wisconsin Medical journal*. Vol 104, N°, 7.
- Strahil Berkov., Tsvetelina Donheva., Stefan Philipov., Kiril Alexandrov.** (2005) Ontogenetic Variation of the tropane alkaloids in *Datura stramonium*. *Biochemical Systematics and Ecology* 33,1017-1029.
- Suchitra Banerjee., K. P. Madhusudanan., Sunil K. Chattopadhyay., Laiq Ur Rahman., Suman P. S. Khanuja.** (2007) Expression of tropane alkaloids in the hairy root culture of *Atropa acuminata* substantiated by DART mass spectrometric technique. *Biomed. Chromatogr.* 22: 830–834.
- Takashi Hashimoto., Dae-Jin Yun., Yasuyuki Yamada.** (1993) Production of tropane alkaloids in genetically engineered root cultures. *Phytochemistry*, vol. 32, No. 3, pp. 713- 71.

Tanczos AC., Palmer RA., Potter BS., Saldanha JW., Howlin BJ. (2004) Antagonist binding in the rat muscarinic receptor a study by docking and X-ray crystallography. *Comput Biol Chem.* 28(5-6):375-85.

Tattersfield A. E. (1982) Bronchodilator drugs. *Pharmac. Ther.* Vol.17, pp. 299 -313.

Thøger Rasmussen., Anders Fink-Jensen.(2001) Intravenous Scopolamine Is Potently Self-Administered in Drug-Naive Mice. *Neuropsychopharmacology* 2000–VOL. 22, NO.1.

Tomasz Mroczek., Kazimierz Glowniak., Joanna Kowalska. (2005) Solid-Liquid extraction and cation-exchange solid-phase extraction using a mixed polymeric sorbent of Datura and related alkaloids. *Journal of Chromatography A*, 1107. 9–18.

Vincenzo Belliaa., Salvatore Battagliaa., Maria Gabriella Materab., Mario Cazzola. (2005) The use of bronchodilators in the treatment of airway obstruction in elderly patients. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 19, 311–319.

Wei-Wei Zhang., Ming-Ke Song., Yong-Yao Cui., HaoWang., Liang Zhu., Yin-Yao Niu., Li-Min Yang., Yang Lu., Hong-Zhuan Chen (2008). Differential neuropsychopharmacological influences of naturally occurring tropane alkaloids anisodamine versus scopolamine. *Neuroscience Letters* 443, 241–245.

William Charles Evans. (2002) Trease and Evans Pharmacognosy. Edition, 15th. ed. ISBN, 0702026174. pp. 338-344.

William H., Cheryl M., Jill E., Michels. (2007) Herbal Drugs of Abuse: An Emerging Problem. *Emergency Medicine Clinics of North America.* Vol. 25, pp, 435-457.

William J. Griffin., G. David Lin. (1999) Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloid. *Phytochemistry* 53. 623-637.

Xian-Wen Li., Bo-Lun Yang., Ying-Ying Wu., Hong-Ye Lin. (2005) Determination of Atropine in Injection with β -Cyclodextrin Modified Ion Sensitive Field Effect Transistor Sensor. *Sensors*, 5, 604-612.

Xiao-Hui Xiang., Hui-Ling Wang., Wei-Ran Wu., Yuan Guo., Dong-Yuan Cao., Hui Sheng Wang., Yan Zhao. (2006) Ethological analysis of scopolamine treatment or pretreatment in morphine dependent rats. *Physiology & Behavior.* Vol.88. pp183–190.

Yaser Bitar., Ulrike Holzgrabe. (2006) Impurity profiling of atropine sulfate by microemulsion electrokinetic chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44, 623–633.

