



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة باجي مختار – عنابة

University Badji Mokhtar
Annaba

Université Badji Mokhtar
Annaba

FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister

Option : BIOCHIMIE APPLIQUEE

THÈME

**Evaluation de la toxicité de *Datura innoxia M.*
chez des rats femelles Wistar**

Présenté par :

M^{me} Bouchahdene Souheila

Directeur du mémoire : Dr. BERREBBAH H.

Pr. Univ. Annaba

Président : Dr. DJEBAR .M. R.

Pr. Univ. Annaba

Examineurs : Dr. HENCHIRI CH.

M.C. Univ. Annaba

Dr. BOUZERNA N.

Pr. Univ. Annaba

-2009-

Remerciement

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de Toxicologie Cellulaire de l'Université de Annaba dirigé par le Professeur DJEBAR Med-Réda . je tiens à le remercier , non seulement pour l'accueil chaleureux qu'il m'a réservé et la mise à disposition du matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail , mais aussi pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Avec beaucoup de gratitude et de reconnaissance , j'adresse mes remerciements les plus sincères à M^{me} le Professeur BERREBBAH Houria pour m'avoir dirigée et suivie durant toute la période de réalisation de ce travail . Ses critiques et ses conseils m'ont été d'un apport précieux et considérable pour l'aboutissement de ce travail.

Je suis très reconnaissante à Madame le Dr. HENCHIRI Cherifa, maitre de conférence à l'université de Annaba d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à ce jury.

Je remercie également Monsieur le Dr. BOUZERNA Nourdine. professeur à l'université de Annaba, de bien vouloir accepter de faire partie de ce jury , je lui exprime toute ma gratitude.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur HADEF N. Maitre assistant à l'INSEM de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire de chimie analytique , à M^{er} BAIRI A. et M^{er} FRIH H.

Je tiens à exprimer aussi mes vifs et sincères remerciements à mes amis et collègues de la post de graduation et ceux du laboratoire de Toxicologie cellulaire.

Résumé

Datura innoxia est une plante annuelle et vénéneuse du bassin méditerranéen, responsable d'intoxications accidentelles mortelles, touchant essentiellement les enfants .

Notre travail a porté sur l'extraction et l'identification des alcaloïdes tropaniques à partir des graines de *Datura innoxia* ainsi que l'évaluation de la toxicité à court terme de cette plante sur le comportement , la physiologie et la biochimie des rats femelles Wistar.

Les résultats obtenus montrent que les graines renferment deux types majoritaires d'alcaloïdes : l'Atropine et la Scopolamine, responsables d'une neurotoxicité traduite par une inhibition réversible de l'acétylcholinestérase au niveau de l'hippocampe et du cortex cérébral , ces perturbations expliquent la baisse de la capacité d'exploration des animaux soumis au test de reconnaissance d'objets . Par ailleurs le traitement par *Datura innoxia* induit un déficit pondéral et une diminution de la consommation alimentaire , ainsi qu'une perturbation des paramètres biochimiques caractérisée par une hypoglycémie et une hypotriglycéridémie ainsi qu'une augmentation de la concentration sérique du cholestérol et une perturbation de la concentration de l'acide urique . D'autre part , nous avons mis en évidence une augmentation des transaminase (TGO, TGP) et de la phosphatase alcaline dès le 1^{er} jour, et une diminution de l'activité des LDH et γ GT et GSH.

Mots clés : *Datura innoxia* M. , neurotoxicité , comportement , métabolisme.

Abstract

Datura innoxia is an annual plant poisonous and the Mediterranean, responsible for fatal accidental poisonings, mainly affecting children.

Our work focused on the extraction and identification of tropane alkaloids from the seeds of *Datura innoxia*. This work also involved the assessment of short-term toxicity of this plant on the behavioral aspect, physiological and biochemical in female Wistar rats.

The results obtained show that the seeds contain two major alkaloids: atropine and scopolamine, which are responsible for neurotoxicity resulted in a reversible inhibition of AChE in the hippocampus and cerebral cortex, these disturbances explain declining capacity exploration of animals under test object recognition. Moreover, the treatment induces a *Datura innoxia* weight and decreased food consumption, and disturbance of biochemical parameters characterized by hypoglycemia and hypotriglycémie and an increase in serum cholesterol and disruption of the concentration of uric acid. The transaminase (TGO, TGP) and alkaline phosphatase were increased from 1 day. On the contrary, the activity of LDH and γ GT and the rate of glutathione were reduced.

Keywords: *Datura innoxia*, neurotoxicity, behavior, metabolism.

المخلص

تعتبر الداتورة *Datura innoxia* من النباتات السامة ، المتواجدة طوال السنة على مستوى حوض البحر المتوسط و التي أدى إستهلاكها إلى عدة حالات تسمم ، قاتلة في بعض الأحيان ، خاصة عند فئة الأطفال .

يهدف هذا البحث إلى إستخلاص أهم المواد السامة ،المتتمثلة في القلويدات التروبانية من بذور *Datura innoxia* كما يهدف بحثنا إلى دراسة التأثيرات السمية قصيرة المدى لنبات الداتورة وهذا من الناحية السلوكية الفيزيولوجية و البيوكيميائية عند الجرذان الإيئات البالغة.

نتائج هذه الدراسة , أظهرت أن البذور تحتوي على نوعين بارزين من القلويدات : الأتروبين و السكوبولامين ,التي لها تأثير سمي على الجهاز العصبي المركزي و الذي يتمثل في التثبيط العكسي لإنزيم الأستيل كولين إستيراز على مستوى قرن آمون و القشرة الدماغية و هذا ما يفسر تدني القدرة الإستيعابية للحيوانات الخاضعة لتجربة التعرف على الشيء . علاوة على ذلك فإن المعالجة بالداتورة أدى إلى إنخفاض في الوزن الكلي و في الإستهلاك الغذائي و الماء و تغيرات في المكونات البيوكيميائية المتمثلة في إنخفاض تركيز الغلوكوز و الغليسيريدات و إرتفاع في تركيز الكولسترول و اضطراب في تركيز الحمض اليوريك في مصل الدم . أما نازعات المجموعة الأمينية و الفوسفناز القاعدي فهي ترتفع منذ اليوم الأول على عكس نشاط إنزيم LDH و γ GT ومعدل GSH فهي تنخفض.

الكلمات المفتاحية : *Datura innoxia* -السمية العصبية – السلوك – الإستقلاب.

TABLE DES MATIERES

I. INRODUCTION.....	1
II. MATERIEL ET METHODES	
1. Matériel.....	16
2.1. Matériel biologique	16
2.2. Matériel végétal.....	16
2. Méthodes	17
2.1. Etude phytochimique	17
2.1.1. Composition chimique de <i>Datura innoxia</i>	17
2.1.1.1. Test des alcaloïdes.....	17
2.1.1.2. Test des flavonoïdes.....	17
2.1.1.3. Test des saponosides.....	17
2.1.1.4. Test des tanins.....	17
2.1.1.5. Test des cardénolides.....	17
2.1.1.6. Test de stérols et terpènes	17
2.1.1.7. Test des cardénolides.....	18
2.1.2. Extraction des alcaloïdes totaux de <i>Datura innoxia</i>	18
2.1.3. Identification des alcaloïdes totaux de <i>Datura innoxia</i> par CCM.....	18
2.2. Préparation du matériel végétal.....	20
2.3. Traitement des rats	20
2.4. Etude du comportement " Test de reconnaissance d'objets"	21
2.5. Préparation des prélèvements	22
2.6. Dosage de paramètres Biochimiques	22
2.6.1. Dosage du glucose.....	22
2.6.2. Dosage du cholestérol.....	24
2.6.3. Dosage des Triglycérides.....	25
2.6.4. Dosage de l'urée.....	26

2.6.5. Dosage de la créatinine.....	27
2.6.6. Dosage de l'acide urique.....	28
2.6.7. Dosage de l'Aspartate aminotransaminase (ASAT/TGO).....	29
2.6.8. Dosage de l'Alanine aminotransaminase (ALAT/TGP).....	30
2.6.9. Dosage de l'alcaline phosphatase (ALP).....	31
2.6.10. Dosage des Lactate déshydrogénase (LDH).....	32
2.6.11. Dosage du gamma glutamyltransférase (GGT).....	33
2.6.12. Dosage des protéines totales	34
2.6.13. Dosage du glutathion hépatique (GSH)	34
2.6.14. Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE).....	36
3. Analyse statistique.....	37
 III . RESULTATS	
1. Etude phytochimique.....	38
1.1. Composition chimique des graines de <i>Datura innoxia</i>	38
1.2. Extraction des alcaloïdes totaux au niveau des graines de <i>Datura innoxia</i>	38
1.3. Identification des alcaloïdes totaux de <i>Datura innoxia</i> par CCM	38
2. Résultats du test de reconnaissance d'objets.....	39
3. Croissance pondérale des animaux et consommation alimentaire	41
4. Effets de <i>Datura innoxia</i> sur le poids des différents organes.....	43
5. Etude biochimique.....	45
5.1. Concentration sérique en glucose , cholestérol et Triglycérides.....	45
5.2. Concentration sérique en urée , créatinine et d'acide urique.....	47
5.3. Résultats du bilan enzymatique.....	49
5.3.1. Variation de l'activité enzymatique des TGO, TGP et ALP.....	49
5.3.2. Variation de l'activité enzymatique des LDH et γ GT.....	51
5.4. Teneur en glutathion hépatique (GSH).....	52
5.5. Effet de <i>Datura innoxia</i> sur l'activité enzymatique de l'Acétylcholinestérase (AChE). .	53
IV. DISCUSSION.....	55

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....62

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXES .

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	page
1	Composition de l'alimentation des rats (Southon et al ,1984).	16
2	Protocole utilisé pour le dosage du glucose.	22
3	Protocole utilisé pour le dosage de cholestérol .	25
4	Protocole utilisé pour le dosage de Triglycérides .	26
5	Protocole utilisé pour le dosage de l'urée .	27
6	Protocole utilisé pour le dosage de créatinine.	28
7	Protocole utilisé pour le dosage de l'Acide Urique .	29
8	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité des TGO.	30
9	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité des TGP.	31
10	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de l' ALP.	32
11	Protocole utilisé pour du dosage de l'activité des LDH.	33
12	Protocole utilisé pour le dosage du GSH	35
13	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité AChE.	36
14	Screening des principes actifs dans les graines de <i>Datura innoxia</i> (+) : test positif ; (-) test négatif.	38
15	Variation de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (μ mol/ min /mg de protéine) au niveau du cortex cérébral et l'hippocampe chez les rats femelles témoins et traités par <i>Datura</i> <i>innoxia</i> à 1 g/kg de poids corporel pendant 1, 3, 5,7 et 10 jours. ($\bar{x} \pm$ s.e.m ; n=4).	54

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
01	Structure chimique des alcaloïdes .	04
02	Les récepteurs muscariniques M ₁ , M ₂ et M ₃ couplés aux protéines G.(Donald , 2002).	07
03	Structure chimique de l'atropine (<i>Steenkamp , 2004</i>)	08
04	Structure chimique du scopolamine (<i>Steenkamp , 2004</i>)	10
05	Fixation du scopolamine sur les récepteurs muscarinique de l'acétylcholine et blocage de la transmission cholinergique (Muller- Esterl , 2007).	11
06	Feuilles et fleurs de <i>Datura Innoxia</i> M.(w.w.w.erowid. org)	13
07	Les fruits et les graines de <i>Datura innoxia</i> M.(w.w.w.uwojb.edu)	13
08	Extraction des alcaloïdes par des solvants organiques non polaires (Bruneton, 1999)	19
09	Le dispositif expérimental du Test de reconnaissance d'objets. A : Chambre de 45 cm x 45 cm de plexiglas. B : Rat explorant les 2 objets identiques durant la séance d'apprentissage.	21
10	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	23
11	La plaque de C.C.M. des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura innoxia</i> . AT : Alcaloïdes Totaux des graines . S : Scopolamine (témoin). A :Atropine (témoin)	39
12	Comparaison entre le temps à explorer un ancien objet et un nouvel objet par les rats femelles témoins et traités par 1 g/kg de <i>Datura innoxia</i> pendant 1,3,5,7 et 10 jours durant le test de reconnaissance d'objet ($x \pm s.e.m$; n=4)	40
13	le temps total passé par les rats femelles témoins et traités par 1 g/kg de <i>Datura innoxia</i> pendant 1,3,5,7 et 10 jours durant le test de reconnaissance d'objets (T2). ($x \pm s.e.m$; n=4).	40

14	Effet de <i>Datura innoxia</i> sur l'évolution pondérale des rats femelles. traités par <i>Datura innoxia</i> à raison de 1g/kg de poids corporel pendant 1,3,5,7et 10 jours.	41
15	Evaluation de la consommation alimentaire (g /jour /rat) durant le traitement des rats femelles par <i>Datura innoxia</i> à raison de 1g/kg de poids corporel durant 1,3,5,7et 10 jours.	42
16	Evolution du volume d'eau consommé (ml / jour/rat) durant le traitement des rats femelles par <i>Datura innoxia</i> à raison de 1g/kg de poids corporel durant 1,3,5,7et 10 jours.	42
17	Variation des poids absolus et relatifs du cerveau (A) , foie (B) et des reins (C) après administration de <i>Datura innoxia</i> (1g/kg) durant 1,3,5,7et 10 jours chez les rats femelles Wistar . ($x \pm s.e.m$; n=4). (Tr vs T : * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$)	44
18	Variation de la concentration sérique en glucose , cholesterol et en triglyceride cher les rats femelles témoins et traités par <i>Datura innoxia</i> à 1g/kg durant 1,3,5,7et 10 jours ($x \pm s.e.m$; n=4).	46
19	Variation de la concentration sérique en créatinine (A), urée (B)et en acide urique (C) chez les rats femelles témoins et traités par <i>Datura innoxia</i> à 1g/kg durant 1,3,5,7et 10 jours ($x \pm s.e.m$; n=4). (Tr vs T : * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$).	48
20	Variation de l'activité enzymatique des TGO(A), TGP(B) et en ALP (C) chez les rats femelles témoins et traités par <i>Datura innoxia</i> à 1g/kg durant 1,3,5,7et 10 jours ($x \pm s.e.m$; n=4).	50
21	Variation de l'activité enzymatique des LDH (A) et γ GT (B) chez les rats femelles témoins et traités par <i>Datura innoxia</i> à 1g/kg durant 1,3,5,7et 10 jours ($x \pm s.e.m$; n=4). (Tr vs T : * $p \leq 0.05$).	51
22	Variation de la teneur en glutathion hépatique (nmol /mg de proteines) chez les rats femelles témoins (T) et traités (Tr) par <i>Datura innoxia</i> à 1g/kg de poids corporel pendant 1, 3, 5,7 et 10 jours.($x \pm s.e.m$; n=4).	52
23	Variation du pourcentage d'inhibition de l'AChE au niveau du cortex cérébral et l'hippocampe chez les rats femelles témoins (T) et traités (Tr) par <i>Datura innoxia</i> à 1g/kg de poids corporel pendant 1, 3, 5,7 et 10 jours.	54

LISTE DES ABREVIATIONS

AC : Adénylate cyclase.

AChE: Acétylcholinestérase.

ALP: Phosphatase alcaline.

ATP : Adinosine triphosphate.

BBC : bleu brillant de Coomassie.

DAG : Diacylglycérol.

DO: Densité optique .

DTNB: 5,5' –dithio-bis-2-nitrobenzoïque.

EDTA : Acide Ethylène Diamine.

EGTA : Ethylène glycol bis (aminoethylèther)- N,N,N',N' acide tétracétique.

GSH : Gluthation.

I.V.: Intra veineuse.

Kg :Killogramme.

IP3 : Inositol triphosphate.

mg : milligramme

min : minute

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

PA : Poids absolu.

PR: Poids relatif.

SNC : Système nerveux cenrtal.

SSA: Acide sulfosalysilique.

Rf : Rapport frontale.

T :Témoins.

Tr : Traités.

Tris : Tris (hydroxyméthyl) aminométhane.

I. INTRODUCTION

Les végétaux sont en cause dans 5% des intoxications recensées par les centres antipoison. Parmi l'ensemble des plantes réputées toxiques, certaines présentent un danger réel en cas d'ingestion, certaines peuvent occasionner des troubles neurologiques et/ou cardiovasculaires, alors que, d'autres ne provoquent que des troubles mineurs, principalement digestifs, mais aussi par simple contact cutané d'où les dermatoses, l'érythème et des urticaires. Ces intoxications accidentelles sont plus fréquentes chez les enfants, tandis que chez l'adulte, les intoxications par les plantes sont rares, et souvent dues à une confusion avec d'autres plantes comestibles au moment de la cueillette, ou encore lors d'automédications par les plantes médicinales (*Zetlaoui, 2004*).

1. Les plantes toxiques :

Depuis l'existence de l'humanité, certaines plantes vénéneuses ont pu être employées comme poisons de flèches, soit pour la chasse, soit pour la guerre. C'est d'ailleurs là l'origine du mot toxique qui est dérivé du grec " taxon" qui signifie « arc » (*Debelmas, 1978*).

Les plantes toxiques peuvent contenir des substances nuisibles pour l'Homme ou pour les animaux, leur ingestion ou le simple contact, provoque des troubles variés plus ou moins graves, parfois mortelles (*Delaveau et Debelmas, 1978*).

En dehors des champignons, les espèces toxiques sont géographiquement dispersées et réparties dans des familles de plantes très diverses, mais la toxicité peut n'être présente que ponctuellement chez quelques espèces; par exemple, les Graminées, dont l'ivraie enivrante possède des semences qui polluent les récoltes de céréales, provoquant des troubles nerveux. Chez les Liliacées par exemple, à côté de nombreuses espèces comestibles (ail, asperges,) on rencontrera quelques espèces dangereuses (muguet, vétrate, colchique). Il existe également des familles dont on devra se méfier. Chez les Renonculacées, on trouve des espèces simplement irritantes (anémones, renoncules, clématites) provoquant des dermatites.

Les Sonalacées par contre plus généralement dangereuses, savent fabriquer une grande quantité d'alcaloïdes, poisons violents à actions variées sur le psychisme, le rythme cardiaque, ou paralysantes, pourtant, cette même famille comporte des espèces comestibles de première importance, comme les pommes de terre, les tomates et les aubergines (*Lemoine, 2004*).

Plusieurs principes toxiques ont été identifiés chez une même plante (*Delaveau et Debelmas*, 1978). Leur répartition au sein de la plante diffère beaucoup d'une espèce à une autre, les substances nocives peuvent être concentrées dans toute la plante ou préférentiellement dans un organe : la racine, les baies, les feuilles ou les fruits. Souvent, la racine ou les organes souterrains sont les plus riches en substances toxiques (bryone) ; Chez le laurier-palme, les feuilles sont toxiques, le fruit est comestible; alors que toutes les parties de *Datura* sont toxiques. La concentration totale du poison peut varier d'une plante à une autre, parfois en fonction des saisons comme chez la ciguë, les feuilles jeunes sont beaucoup plus toxiques que les feuilles adultes, en fonction de l'habitat, par exemple les races de digitales de montagnes produisent une digitaline plus efficace que celles de plaine, ainsi qu'en fonction des conditions climatiques et du type de sol (*Lemoine*, 2004).

Toute plante toxique est potentiellement d'intérêt pharmaceutique, en effet le poison peut devenir un remède précieux, le médicament pour sa part peut s'avérer fatalement toxique, tout est question de dose absorbée, d'âge et de résistance individuelle (*Fritz-Martin*, 1984).

Toutes les plantes doivent donc être, à priori, considérées comme dangereuses et même celles qui semblent être particulièrement apprivoisées par l'homme doivent encore être regardées avec méfiance. Il faudrait cependant distinguer les plantes toxiques mortelles même à des doses faibles, des autres dangereuses et pouvant provoquer des intoxications très graves, souvent bénignes (*Lesly*, 1996).

Plusieurs principes peuvent être actifs responsables de la toxicité, on peut citer ainsi :

- **Les hétérosides** : Qui résultent de la combinaison des groupes réducteurs d'un ose avec une substance non glucidique, l'aglycone ou génine, qui, sous l'influence de l'eau et de ferment se séparent les uns des autres (*Somon*, 1987). Beaucoup d'hétérosides sont très actifs, ils sont classés parmi les toxiques les plus énergétiques et des poisons redoutables comme les cardiotoxiques ou les hétérosides cyanogénétiques. Ces derniers, présents chez les Rosacées, renferment des substances qui, sous l'action d'un ferment interne, libèrent de l'acide cyanhydrique sont fortement toxiques (*Lemoine*, 2004).

- **Les saponosides** : Sont de composition analogue à celle des hétérosides, ils ont la propriété de former dans l'eau une écume et en contact avec le sang elles provoquent même à

petites doses une hémolyse , à forte dose l'hémolyse est souvent fatale. Certaines sont de résorption faible telle que la soinaire d'autres sont bien résorbées telle que la parisetta (*Somom ;1987*).

- **Les protéines** : Indispensables pour l'alimentations de l'Homme et des animaux, certaines présentent un intérêt toxicologique, leur effet toxique est particulièrement évident lorsqu'elles diffusent rapidement dans la circulation sanguine, telle que la « toxilbumine » des graines de ricin (*Fritz- Martin ; 1984*).

- **Les huiles essentielles** : Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent de façon quasi- exclusive à deux séries caractérisées par des origines biosynthétiques distinctes.

Ce sont des produits du métabolisme végétal, pouvant provoquer des réactions inflammatoires, certaines plantes dont la teneur en huiles essentielles est relativement haute peuvent provoquer des hémorragies utérines (essence de Sabine), des convulsions (essence de l'asanethol), une spasme de la glotte chez un jeune enfant (menthol).

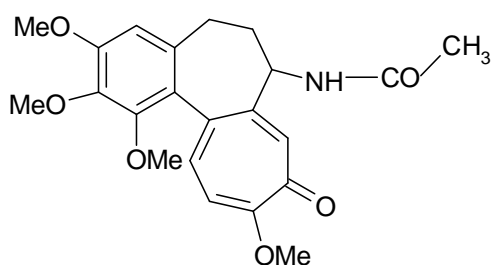
- **Les alcaloïdes** : Ils constituent la majorité des principes actifs des plantes médicinales , leur extrême importance est due à leur toxicité , c'est un groupe hétérogène de substances organiques complexes à réaction alcaline (*Lemoine , 2004*), ils se rencontrent chez de nombreux végétaux , ils peuvent être présents dans toutes les parties de la plante (racines , feuilles , fruits , écorces , graines) (*Fritz- Martin ; 1984*).

2. Les plantes hallucinogènes :

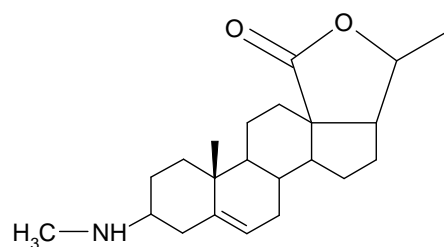
Les hallucinogènes tirent leur nom de leur capacité à provoquer des hallucinations dans lesquelles les sensations et les perceptions se manifestent en l'absence de toute stimulation externe (*Westen , 2000*) . Les hallucinogènes sont donc des composés chimiques qui , à des doses non toxiques entraînent de la confusion mentale, des troubles de la mémoire , ou une désorientation à l'égard des personnes , de l'espace et du temps (*Hoffer , 1967*).

Les plantes hallucinogènes sont connues par les êtres humains depuis les temps les plus reculés. Il s'agit autant des substances sédatives ou euphorisantes , que des psychostimulants " des drogues de performance" , que des substances psychédéliques ,dites "hallucinogènes" (Valla , 1983).

Les hallucinogènes , comme la plupart des drogues , proviennent de la famille de substances chimiques connues sous le nom d'alcaloïdes . Ce sont des bases azotées organiques provenant du règne végétal qui représente un étonnant ensemble du point de vue de la variété de leurs structures . Dans la plupart des alcaloïdes on retrouve un atome d'azote séparé d'un système aromatique par deux atomes de carbone. (figure 01).



Colchicine

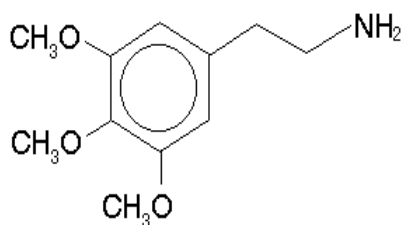


Paravallarine

Figure 01: Structure chimique des alcaloïdes .

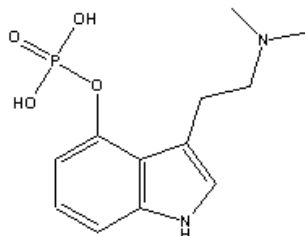
Du point de vue chimique, il existe classiquement quatre grandes familles d'hallucinogènes, que l'on différencie en fonction de leur système aromatique (Valla , 1983):

1- Les substances comprenant un noyau benzénique : Les phenyléthylamines « mescaline, amphétamines naturelles et synthétiques».



Mescaline

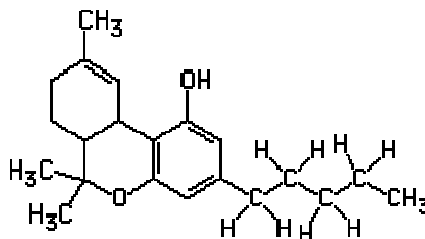
2- Les substances comprenant un noyau indolique : il s'agit là des tryptamines «psilocybine, ibogaïne », des carbolines « harmane, harmaline », et des dérivés de l'acide lysergique.



Psilocybine

3- Les esters « anticholinergiques naturels et synthétiques ».

4- Les terpènes : les cannabinoïdes.



Tétrahydrocannabinol

Comme tout psychotrope, les hallucinogènes altèrent l'homéostasie du système nerveux central en agissant sur les concentrations en neuromédiateurs, dont l'acétylcholine, la dopamine, la noradrénaline et la sérotonine. Beaucoup d'hallucinogènes ont d'ailleurs une structure chimique qui évoque celles des neuromédiateurs tels que la sérotonine et l'acétylcholine. D'une façon schématique, les hallucinogènes peuvent agir comme des agonistes des récepteurs sérotoninergiques, un groupe de récepteurs abondant dans le cortex cérébral et des antagonistes des récepteurs cholinergiques et dopaminergiques (Bastianelli, 1999). Dans cette étude nous nous intéresserons aux antagonistes des récepteurs cholinergiques.

3. Les récepteurs muscariniques et leurs antagonistes :

Il existe deux récepteurs à l'acétylcholine (ACh): le récepteur nicotinique et le récepteur muscarinique. Dans le cadre de cette étude nous nous intéresserons plus particulièrement au deuxième type de récepteur à ACh: le récepteur muscarinique (Chamayou, 2002).

Cinq sous-types de récepteurs muscariniques existent, mais seuls trois ont été bien caractérisés: le M_1 , le M_2 et le M_3 . Les récepteurs M_1 sont présents dans le cerveau (*Durves , 2005*) il est le plus présents des trois sur les neurones cholinergiques de l'hippocampe, on les trouve également dans l'ensemble du cortex cérébral, dans le striatum , dans les ganglions de la base (*Chamayou , 2002*) et dans les cellules pariétales gastriques. L'activation de ces récepteurs a généralement des effets excitateurs , comme la sécrétion d'acide gastrique qui suit la stimulation du nerf vague et qui facilitée par les récepteurs M_2 (*Durves , 2005*).

Les récepteurs M_2 se trouvent dans le myocarde et les muscles lisses et au niveau des terminaisons nerveuses du SNC des neurones périphériques. Le ralentissement du cœur qui suit la stimulation des nerfs vagues est facilité par cette classe de récepteurs (*Brust , 2007*).

Les récepteurs M_3 sont localisés au niveau des glandes sécrétoires et du muscle lisse. Leur activation a généralement un effet excitateur (figure 02). Au niveau du muscle lisse viscéral par exemple l'activation des récepteurs M_3 par l'acétylcholine conduit à la contraction (*Pocock ; 2004*).

Les récepteurs muscariniques de l'acétylcholine des neurones ganglionnaires font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (*Durves ; 2005*). Les récepteurs M_1 et M_3 activent la protéine G_q , qui stimule la phospholipase C (PLC) , qui dégrade des phospholipides de la membrane plasmique pour synthétiser 2 seconds messagers : L'IP3 et le diacylglycérol (DAG) . L'IP3 est un messager soluble qui diffuse vers la membrane du réticulum endoplasmique où il se lie à des canaux Ca^{2+} sensibles à l'IP3 provoquant leur ouverture , ce qui entraîne une brusque élévation de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} (*Muller – Esterl, 2007*) . Cette augmentation entraîne plusieurs réponses cellulaires telles que la contraction du muscle lisse , l'augmentation de la force de contraction du myocarde , les sécrétions des glandes exocrines et les transmetteurs libérés par les neurones et la libération hormonale (*Bourin , 1999*) Le DAG est un messager qui reste dans la membrane plasmique où il active des enzymes de la famille des protéines kinase C (*Muller – Esterl , 2007*), molécules qui pourraient migrer du cytosol à la membrane cellulaire en présence de DAG (*Bourin , 1999*) qui phosphorylent alors des résidus sérine ou thréonine de leurs protéines effectrices (*Muller – Esterl , 2007*). Chaque type de kinase phosphoryle des protéines cibles liées aux réponses cellulaires particulières telles

que : la libération d'hormones , l'augmentation ou la diminution de la libération de neurotransmetteurs et de l'excitabilité neuronale , la réponse inflammatoire , le maintien de la contraction , la relaxation du muscle lisse et la stimulation des transports ioniques par l'épithélium (Bourin , 1999).

Les récepteurs M_2 activent les protéines G_i et G_o , qui inhibent , respectivement l'effecteur adénylate cyclase (AC) qui produit , à partir de l'ATP , le second messenger AMPc . (Caulfield , 1993; Brown , 2001) . Les récepteurs muscariniques produisent des réponses plus lentes qui peuvent être excitatrices ou inhibitrices. Ces récepteurs ont comme agonistes la muscarine. Ils ont comme antagoniste la scopolamine, alcaloïde de la plante *Scopolia carniolica*. (Chamayou , 2002).(figure 02).

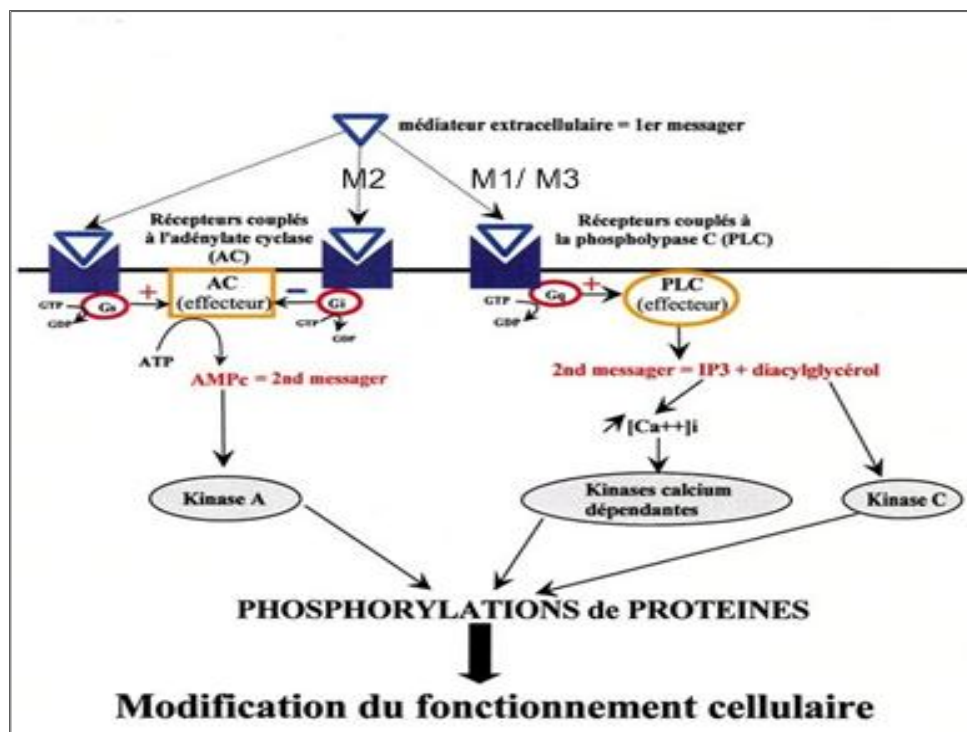


Figure 02: Les récepteurs muscariniques M_1 , M_2 et M_3 couplés aux protéines G.
(Donald , 2002).

Les antagonistes muscariniques bloquent les effets de l'acétylcholine libérée des terminaisons nerveuses parasympathiques postganglionnaires . Les organes qui dépendent du système parasympathique présentent cependant une sensibilité variable aux effets bloquants des antagonistes . Les sécrétions salivaires , bronchiques et sudoripares sont les plus sensibles à l'inhibition . De fortes doses d'antagonistes induisent une dilatation des pupilles , une paralysie d'accommodation et une tachycardie par blocage du tonus vagal du cœur .

Des doses encore plus élevées inhibent le contrôle parasympathique du tractus gastro-intestinal et de la vessie . Les sécrétions gastriques acides sont les plus résistantes au blocage. L'atropine , la scopolamine (hyoscine) ou d'autres antagonistes sont utilisés en anesthésie pour bloquer le ralentissement vagal du cœur et inhiber les sécrétions bronchique et pour diminuer le spasme intestinal par exemple dans le syndrome de " l'intestin irritable", ainsi que dans la maladie de Parkinson (Neal ;2003).

3.1. L'Atropine :

L'atropine est le principe actif de la belladone (*Atropa belladonna*) , elle a été isolée pour la première fois en 1820 par Runge (figure 03), elle est très soluble dans l'eau et forme une série de sels bien cristallisés , parmi lesquels le sulfate d'atropine très utilisé en médecine (Bayle , 1984)

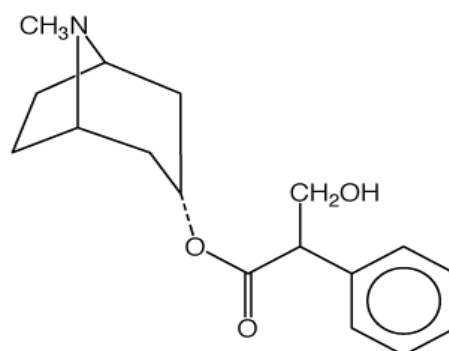


Figure 03 : Structure chimique de l'atropine. (Steenkamp , 2004)

3.1.1. Toxicocinétique de l'atropine :

La fixation de l'atropine sur le récepteur muscarinique se fait lentement mais de manière prolongée. L'atropine présente une excellente et rapide résorption digestive quelque soit la voie d'administration : buccale , I.V., sous cutanée ; son diffusion se fait dans tout l'organisme , y compris le SNC, à travers le placenta et dans le lait ; son élimination intervient pour 50 % après dégradation hépatique , et pour 50 % sous forme inchangée , dans les urines . la demie vie de l'atropine est de 2 à 4 heures.

3.1.2. Les effets de l'atropine :

Les effets spécifiques de l'atropine , qui résultent de son action périphérique , comprennent: l'arrêt de certaines sécrétions (sueur , mucus , salive) , l'inhibition du nerf vague (d'où tachycardie , dilatation de la pupille et paralysie de l'accommodation du cristallin) et enfin le relachement de fibres musculaires lisses (bronchiques , intestinales ou autres) (Yves , 2008) .

En plus et toujours à fortes doses ou selon la sensibilité des sujets on peut observer des effets centraux comme une légère stimulation respiratoire , avec une agitation , une désorientation et des hallucinations (délire atropinique) .

En fin à doses toxiques , l'atropine induit une dépression du SNC provoquant une défaillance cardio – respiratoire voire un coma , ainsi qu'une vasodilatation de la face et du cou dont le mécanisme est inexpliqué (Moulin, 2002).

3.2. La scopolamine :

La scopolamine dont la formule est $C_{17}H_{21}NO_4$ (figure 04) a été isolée pour la première fois en 1892 par Schmid à partir des racines de *Scopolia artropoïde* . Elle se présente sous forme de cristaux incolores . Elle est particulièrement abondante chez *Datura* , notamment dans les graines (Leete , 1979 ; Waller , 1981 ; Samuelsson , 1992 ; Shukla , 1992). La scopolamine est peu soluble dans l'eau et très soluble dans l'éther , l'alcool et le chloroforme (Paris , 1971 ; Cassagnes, 1982).

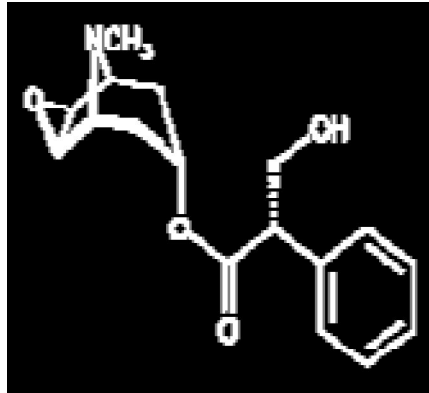


Figure 04 : Structure chimique du scopolamine (Steenkamp , 2004).

3.2.1. Les effets de la scopolamine :

La scopolamine potentialise l'action des anesthésiques et de la morphine en association avec la morphine et la spartéine pour la préparation à l'anesthésie générale des grandes interventions chirurgicales . Elle est également utilisée en injection intramusculaire ou intraveineuse pour calmer les douleurs de l'entore qu'elle soulage souvent d'une façon spectaculaire (*Verdrager , 1978*). La scopolamine est susceptible de provoquer des troubles de la locomotion par inhibition des centres de coordination et diminution de l'excitabilité et des extenseurs et des fléchisseurs des membres (*Mechler , 1978 ; Gay , 1986*).

La scopolamine est un parasympholytique , comme l'atropine , mais en revanche c'est un sédatif central , elle provoque en outre d'intenses hallucinations délirantes , de l'amnésie et des pertes de conscience . Elle est active à des doses de l'ordre du dixième de milligramme , on observe souvent des séquelles psychiatriques plusieurs mois après l'intoxication et à fortes doses l'intoxication peut être mortelle (*Mechler , 1978*).

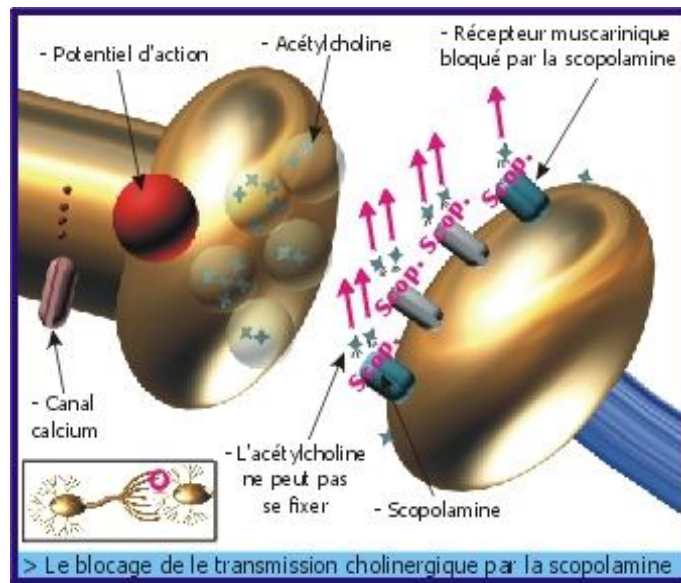


Figure 05 : Fixation du scopolamine sur les récepteurs muscarinique de l'acétylcholine et blocage de la transmission cholinergique (Muller- Esterl , 2007).

4. *Datura innoxia* Miller :

4.1. Généralités :

En Algérie , *Datura innoxia* présente plusieurs noms , suivant les régions du pays. Chez les Berbères elle prend les noms de Tabourzisgt ou Tidilla , par contre dans le reste du pays c'est plutôt : Schejret el jana , Tatura , Nefir , Datura, Semm el far, Djahanama ou Messekra, elle est plus connue sous le nom Habala. Le fruit prend le nom de Djouza matel et les graines de Habet el fouha (Boulos, 1983).

- ❖ **Nom latin:** *Datura innoxia* M, *Datura metaloïdes* L.
- ❖ **Nom français:** Datura.
- ❖ **Anglo-Saxon:** thorn-apple, stinkweed, jimsonweed.
- ❖ **Synonymes:**, pomme du diable, pomme épineuse à cause du fruit, endormie (Bianchini , 1975). Herbe à fou, pomme du Pérou, trompette des anges, , herbe aux sorciers, grand carapate (Sénécal, 1998).

La plante est originaire du Mexique .Elle existe en Europe et en Afrique du Nord . En la trouve presque dans tout l'Algérie , assez rare dans le désert à l'état spontané (*Bezanger , 1980*).

Datura innoxia se développe en été, avec une augmentation de la teneur en alcaloïdes dans les régions chaudes et tempérées, elle est assez faible dans les régions à basse température . Il semblerait que le climat et le lieu influent sur les alcaloïdes totaux de toutes les espèces de *Datura*, ainsi, les espèces qui poussent en altitude sont riches en alcaloïdes. Cette plante pousse sur tous les types de terres mais préférentiellement sur les terrains sablonneux bien aérés et très riches en matières organiques. Elle croit aux alentours des Habitations et des dépôts d'ordures , elle pousse aussi dans les terrains vagues , les ravins ; près des ruines et des terrains secs. Toute la plante est toxique , mais particulièrement les graines (*Chiej , 1982*).

4.2. Description botanique de *Datura innoxia* M.:

L'espèce *Datura innoxia* appartient à la famille des Solanaceae, à la classe des dicotylédones gamopétales et au sous embranchement des Angiospermes (*Guignard ., 1989*).

Datura innoxia est une plante annuelle glabre érigée , pouvant atteindre 1.5 m de haut que l'on trouve à l'état sauvage, mais que l'on cultive également à des fins ornementales avec les risques que cela comporte (*Rodzoko ,1999*). Ses feuilles sont simples, lancéolés, alternes, ovales, irrégulièrement dentées ou lobées, à extrémités pointues, courtement pétiolées, présentant des nervures saillantes sur la face inférieure blanchâtre et la face supérieure est d'un vert sombre. Les tiges sont cylindriques, ramifiées et dichotomes (*Baba Aissa , 1999*). Les fleurs sont solitaires naissant à l'aisselle des branches, facilement remarquables, grandes (Jusqu'à 10 cm de long), elles ont cinq lobes et cinq cotes saillantes, présentant une corolle blanche en entonnoir.(figure 06). Les fruits , très caractéristique , sont des capsules dressées couvertes de piquants courts et trapus , très volumineuses à deux coques , renferment de nombreuses graines réniformes brunes claires (figure 07) (*D'Andreta , 1969*).



Figure 06 : Feuilles et fleurs de *Datura innoxia* M.(w.w.w.erowid. org).



Figure 07 : Les fruits et les graines de *Datura innoxia* M.(w.w.w.uwojb.edu).

4.3. Composition chimique :

Datura innoxia renferme des substances banales, des bases volatiles et des principes actifs.

- **Les Substances banales** : Ce sont des matières minérales (12 à 15 %) constituées principalement d'oxalate de calcium , d'eau (8%), de scopolitol (traces) et des pigments flavoniques.
- **Les bases volatiles** : ce sont les bases monocycliques, comme le N-Metyl pyrrolidine et le N-metyl piriline.Ce sont des produits de dégradation (*Brunton ; 1987*).
- **Principes actifs** : toutes les parties de la plante contiennent des alcaloïdes tropaniques qui sont potentiellement dangereux. La fleur et le fruit de datura peuvent contenir plus de 0,6 % d'alcaloïdes, la plante entière contient en moyenne de 0,2 à 0,5% .

Les alcaloïdes retrouvés majoritairement sont l'hyosciamine, l'atropine (son isomère optique) et la scopolamine (Vincent ; 1999).

4.5. Utilisation de *Datura innoxia* M. :

Ce sont des plantes dont plusieurs espèces sont utilisées depuis des temps immémoriaux pour leur propriétés psychotropes .Elles étaient déjà connue aux temps des Babyloniens , des Egyptiens , des Grecs et des Romains . Dans l'ancien monde *Datura innoxia* et *Datura stamonium* constituaient des plantes sacrées associée aux rituels religieux de la Chine et de l'Inde où elles contribuent à la configuration de Dieu " Shiva" (Weaver, 1985 ; Gay,1986) . *Datura* était utilisée comme plante médicinale et comme hallucinogène en Afrique et en Amérique et son usage se poursuit aujourd'hui chez certaines tribus indiennes du Mexique (Poletti , 1987). Cette plante constituait également l'un des principaux ingrédients des potions et des baumes destinés à emmener au sabbat les sorcières du moyen âge dont plusieurs recettes sont parvenues jusqu'à ce jour . La poudre de *Datura innoxia* était également utilisée au XVII^e siècle par des bandits parisiens appelés les endormeurs ou ils offraient au victimes une prise de tabac mélangée à de la poudre de *Datura* profitant de l'inconscience et l'amnésie qui en résultent pour les détrousser (Pol , 2002) .Ce même scénario est mis en œuvre en Colombie depuis la années 1970 par des bandes de délinquants , ces derniers extrayaient les alcaloïdes de *Datura* et les administraient dans une boisson ou de la nourriture à des personnes dans le but de les dépouiller. La scopolamine contenue dans cette plante fait perdre la volonté et la mémoire des faits postérieurs à la prise (amnésie antérograde) (Weaver, 1985 ; Pol , 2002).

Datura est utilisée en pharmacologie humaine et vétérinaire (Weaver , 1984) et même en protection des végétaux (Clement , 1987) . Ce n'est que vers la moitié du 18^{ème} siècle que ses réelles propriétés thérapeutiques ont été reconnues et employées contre la convulsion , l'épilepsie , les troubles séniles , les douleurs rhumatismales, les névralgies , l'asthme et divers troubles du système nerveux , elle est encore utilisée dans l'ophtalmologie pour la dilatation de la pupille (Bezanger , 1986).

But du travail :

Dans notre travail , nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'extraction et l'identification de la composition alcaloïdiques des graines de *Datura innoxia* . Dans un second temps , nous nous sommes intéressés à l'étude des effets toxiques de cette plante sur des rats femelles adultes Wistar , tout en évaluant les aspects suivants :

- L'étude de la variation pondérale et la consommation alimentaire ainsi que le poids de certains organes.
- L'étude du comportement à travers le test de reconnaissance d'objets.
- La mesure de la concentration de quelques paramètres biochimiques sériques.
- L'appréciation de l'effet neurotoxique à travers la mesure du pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase.
- L'appréciation des capacités de détoxification à travers le dosage du glutathion réduit.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel :

1.1 . Matériel biologique :

Notre étude a été réalisée sur un échantillon de 40 rats femelles Wistar , ayant un poids moyen de $250 \text{ g} \pm 15$ provenant de l'institut Pasteur d'Alger .

Les animaux sont élevés dans des cages en polyéthylène, tapissées d'une litière composée de copeaux de bois, elle est renouvelée tous les deux jours , avec une température variant entre $20\text{-}25 \text{ }^\circ\text{C}$, une hygrométrie de 80% , l'éclairage et la ventilation sont contrôlés . L'alimentation et l'eau ont été fournis ad libitum. Pour éviter d'éventuels stress , les animaux sont manipulés toujours dans les mêmes intervalles de temps. L'alimentation nous a été fournie par l'ONAB

1.2. Matériel végétal :

Les fruits matures de *Datura innoxia* (présence de plus de trois fruits mûrs) ont été récoltés près du lac Tonga d'El-kala (wilaya d'EL Taref , Est Algérien) au mois du Janvier .

2 . Méthodes :

2.1. Etude phytochimique :

2.1.1. Composition chimiques de *Datura innoxia* :

2.1.1.1. Test des alcaloïdes :

5 g de la plante séchée et broyée sont mélangés avec 50 ml d'HCl à 1% dans un récipient. Après une demi heure de macération, on filtre le mélange, on additionne au filtrat quelques gouttes de réactifs de Mayer (49.9 g de KI dissous dans 20 ml d'eau distillée additionnée à 13.5 g de Hg Cl₂ dissous dans 20 ml d'eau distillée puis on complète avec de l'eau distillée jusqu'à 1l). L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

2.1.1.2. Test des flavonoïdes :

10 g de graines pulvérisées sont macérées dans 150 ml d'HCL à 1% pendant 24 heures . Après avoir filtré le mélange , on prend un aliquot de 10 ml du filtrat , auquel on rajoute quelques gouttes de NH_4OH (PH basique) , après trois heures , l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube à essai indique la présence des flavonoïdes.

2.1.1.3. Test des saponosides :

Dans un Erlen à col rodé renfermant 80 ml d'eau distillée on introduit 2g de graines pulvérisées . On maintient l'ébullition modérée pendant 30 min puis on filtre le mélange. Après refroidissement on met quelques millilitres du filtrat dans un tube à essai, on agite le tube dans le sens de la longueur.

La formation d'une mousse qui dure, quelques instants indique la présence des saponines.

2.1.1.4 Test des tanins :

10 g de graines pulvérisées, auxquelles on rajoute une solution hydro alcoolique $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ à 1% , on filtre , l'apparition d'une couleur :

- Bleu vert : indique la présence des tanins condensés.
- Bleu noir : indique la présence des tanins hydrolysables.

2.1.1.5. Test des cardénolides :

1 g de poudre sèche est macéré dans 20 ml d'eau distillée pendant 3 heures , après avoir filtré le mélange , on prélève 10 ml de filtrat, l'extraire avec un mélange de 10 ml de CHCl_3 et de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, évaporer la phase organique dans un bain de sable $T= 90^\circ$, dissoudre le précipité dans 3 ml de CH_3COOH glacial , ajouter quelques gouttes de FeCl_3 suivi de 1 ml de H_2SO_4 concentré, sur les parois du tube à essai , l'apparition d'une couleur vert- bleu dans la phase acide indique la présence des cardénolides.

2.1.1.6. Test de stérols et terpènes :

Prendre 5 g de la poudre séchée , la dissoudre dans 20 ml d'Ether de pétrole , filtrer évaporer, le résidu est dissout dans 0.5 ml d'acide acétique , dans un tube à essai on ajoute 1ml de H_2SO_4 concentré dans la zone de contact entre les deux liquides , l'apparition d'un cercle violé ou marron qui vire vers le gris , indique la présence des stérols et des terpènes .

2.1.2. Extraction des alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* :

Après séchage des graines de *Datura innoxia* , 100 g de ce matériel végétal pulvérisé est humecté par 10 ml d'ammoniaque (25% , PH = 8 – 9) pour permettre aux alcaloïdes de se déplacer des sels ; les alcaloïdes libérés sont ensuite extraits par 350 ml de chloroforme. L'épuisement se fait à l'aide d'un appareil à épuisement continu (Soxhlet) durant 4 Heures . L'extrait de chloroforme est ensuite évaporé à sec sous vide à 45C° par un rotavapeur .

Dans une ampoule à décompter la phase organique est acidifiée par 250 ml d'acide sulfurique (5%) avec une forte agitation , ensuite laisser reposer pendant 30 min à la température ambiante .

La phase aqueuse acide a été alcalinisée par l'ammoniaque à PH = 8-9 , l'additionné de chloroforme permettra de reprendre les alcaloïdes à la phase organique , le mélange est laissé en repos pendant 15 min à température ambiante .

Enfin la phase chloroformique est évaporée à sec sous vide , les résidus sont constitués d'alcaloïdes totaux qui seront pesés puis repris avec l'éthanol (figure 08).

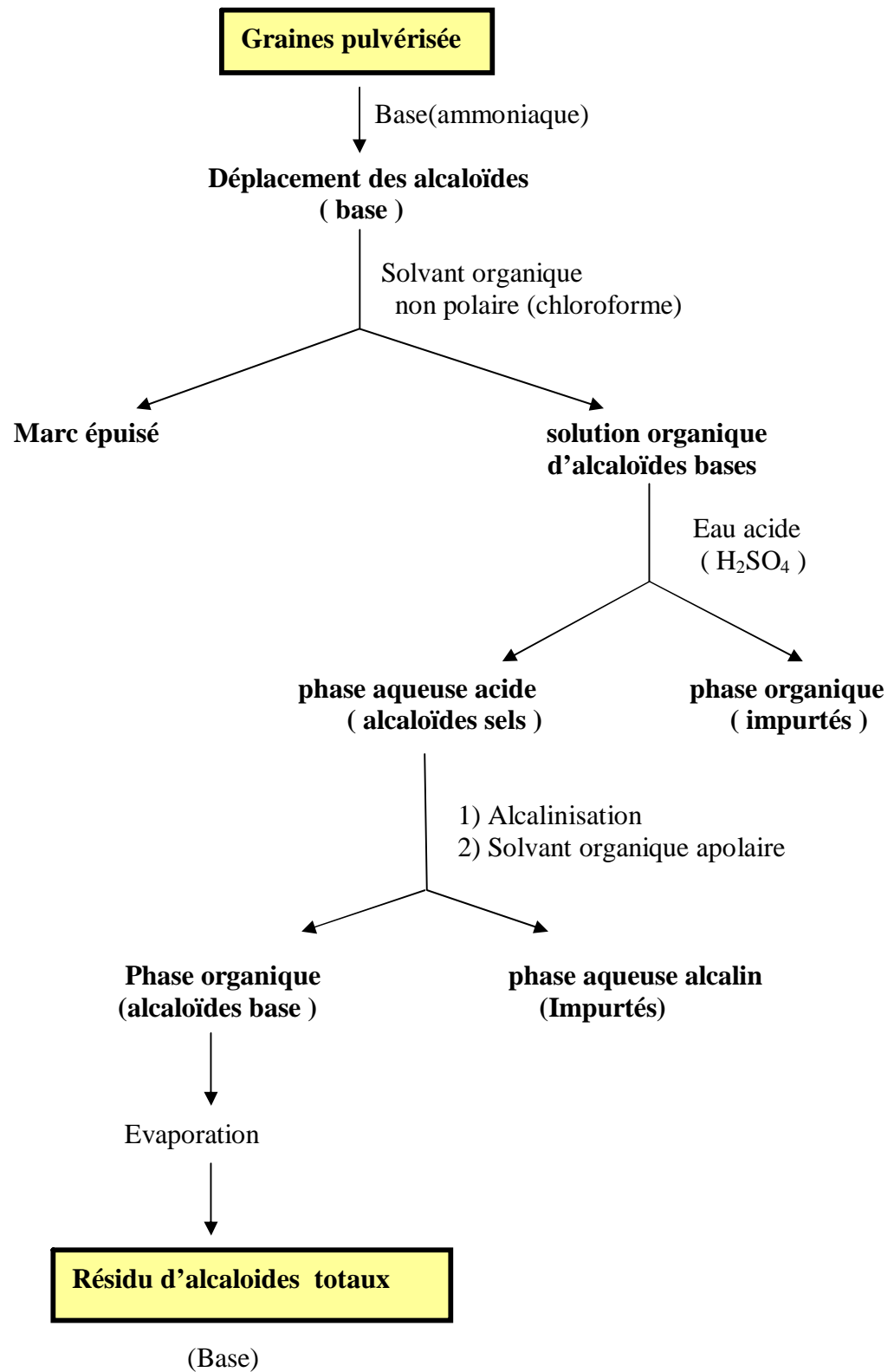


Figure 08 : Extraction des alcaloïdes par des solvants organiques non polaires

(Bruneton, 1999).

2.1.3. Identification des alcaloïdes totaux de *Datura innoxia* par C.C.M:

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide , simple et peu coûteuse , utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites . Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption.

Pour la séparation et l'identification de l'extrait chloroformique de graines de *Datura innoxia* , nous avons utilisé le gel de silice comme phase stationnaire et acétone/eau/ammoniaque comme phase mobile . Les spots des produits séparés sont observés par UV à 336 nm et les rapports frontaux sont ensuite calculés selon la réaction suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le produit}}{\text{Distance parcourue par le solvant}} = \frac{\text{Distance parcourue par le produit}}{\text{é}}$$

2.2. Préparation du matériel végétal :

Après récolte, les graines ont été séchées à 100 C° , puis broyées en poudre . Le traitement est préparé sous forme d'un mélange de sucrose (10 %) et de graines pulvérisées de *Datura Innoxia* selon le protocole d'*Alebiowu (2007)*.

2.3. Traitement des rats :

Les 40 rats femelles ont été réparties en 5 lots expérimentaux de 4 rats chacun, chaque lot comprenant un groupe témoin et un groupe traité et chaque rat a été gardé dans une cage individuelle. Une dose unique du mélange de *Datura innoxia* est administrée aux animaux par voie orale (*Per os*) à l'aide d'une seringue à raison de 1 g / kg de poids corporel pendant 1, 3 , 5 , 7 et 10 jours (*Mahdeb , 2001 ; Alebiowu , 2007*) et 30 g de l'aliment est fournie aux rats chaque jour et 500 ml d'eau . Chaque jour on calcule la consommation alimentaire et le volume d'eau consommé par les rats femelles.

2.4. Etude du comportement "Test de reconnaissance d'objets ":

Ce test a comme avantage de ne causer aucun stress chez les rats, ne faisant appel uniquement qu'à leur réflexe d'exploration lequel est inné chez eux. Avant la réalisation du traitement, chaque rat dispose de deux périodes de deux minutes pour s'acclimater à une petite chambre de plexiglas de 45 cm x 45 cm (figure 09 A) .Cette acclimatation, est **la phase de stabulation** . A la fin de chaque période de traitement, deux objets identiques sont placés dans la chambre (figure 09 B) . Ces objets sont généralement de la taille des rats et sont d'un poids suffisant pour que les rats ne puissent pas être en mesure de les déplacer. Chacun des rats dispose de deux minutes pour les explorer. C'est **la séance d'apprentissage** (T1). Lorsque toutes les variables sont bien contrôlées : âge des rats, saturation en odeur, moment dans la journée, luminosité, durée du temps de stabulation / apprentissage / reconnaissance, couleur des objets, une heure plus tard, chaque rat dispose de 2 minutes pour **la séance de reconnaissance** (T2) avec un nouvel objet et un objet ancien. Les temps passés par les rats à explorer l'objet ancien et l'objet nouveau sont chronométrés (*Ennaceur , 1988*).

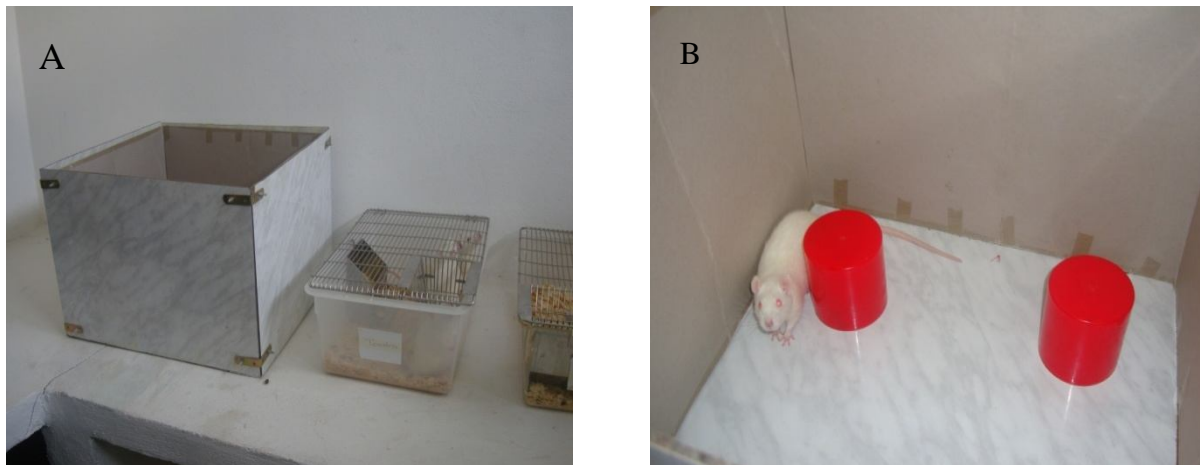


Figure 09 : Le dispositif expérimental du Test de reconnaissance d'objets.

A : Chambre de 45 cm x 45 cm de plexiglas.

B : Rat explorant les 2 objets identiques durant la séance d'apprentissage.

2.5. Préparation des prélèvements :

Après décapitation, les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes secs, puis centrifugés à 4500 tours / minute pendant 15 minutes. Le sérum est séparé en plusieurs aliquotes, dans des tubes Eppendorf, pour les différents dosages.

Après dissection, nous avons prélevé puis pesé certains organes, tels : le cerveau, le foie, les reins (On note que le poids corporel des rats a été mesuré juste avant la décapitation). Le cerveau entier a été prélevé rapidement puis rincé dans 0.9% d'HCl. Le cortex cérébral, l'hippocampe et le foie ont été prélevés puis placés au congélateur à -20 C° .

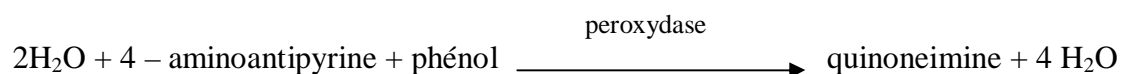
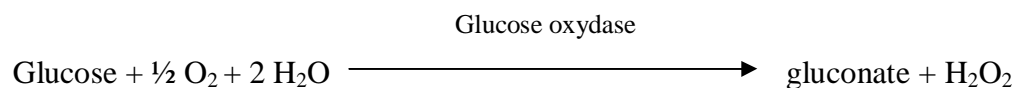
2.6. Dosages de paramètres Biochimiques :

2.6.1. Dosage du glucose :

Le dosage du glucose a été effectué selon la méthode de *kaplan (1984) et Trinder (1969)*

2.6.1.1. Principe :

Le glucose subit des réactions couplées décrites ci-dessous pour donner un complexe coloré, qui peut être mesuré par spectrophotométrie.



2.6.1.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 10 μl de sérum selon le protocole du tableau (01).

Tableau 01 : Protocole utilisé pour le dosage du glucose.

	<i>Blanc</i>	<i>Etalon</i>	<i>Echantillon</i>
<i>Etalon</i>	----	10 μl	----
<i>Echantillon</i>	----	----	10 μl
<i>Réactif (A)</i>	1 ml	1 ml	1 ml

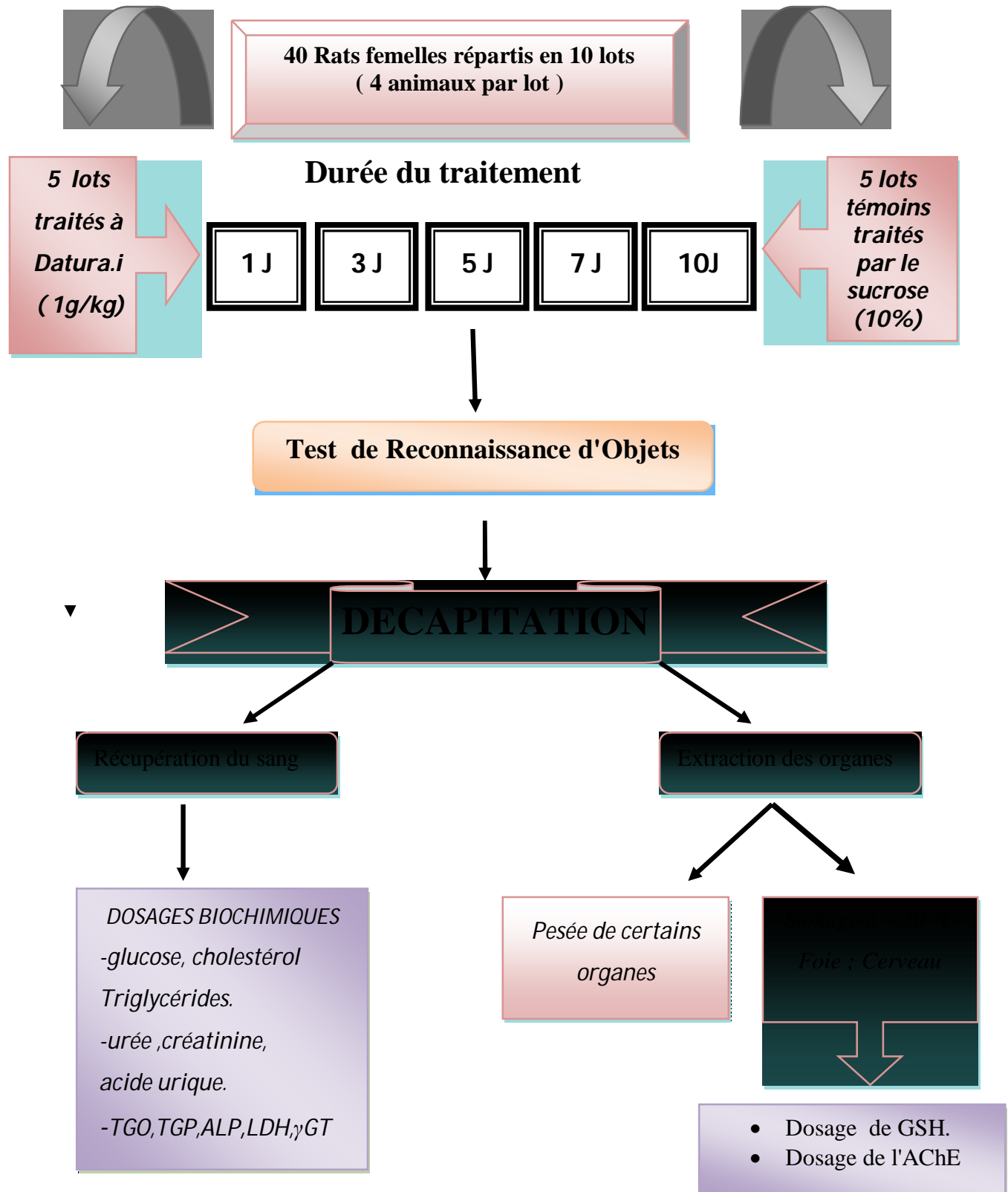


Figure 10 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

- Agiter et incuber pendant 5 min à 37 C°.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm contre le blanc , la couleur est stable après 2 heures .

La concentration de glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

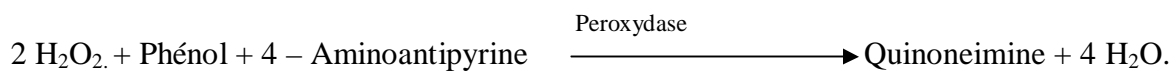
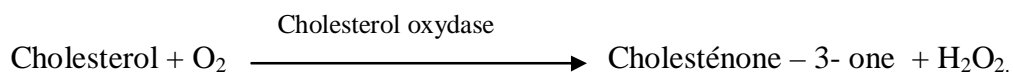
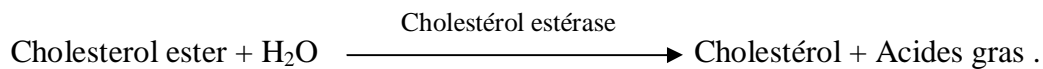
$$\text{Glucose (g/l)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 100 \text{ mg / 100 ml .}$$

2.6.2. Dosage de cholestérol :

Le dosage de cholestérol a été effectué selon la méthode de Naito (1984).

2.6.2.1. Principe :

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

2.6.2.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 10 µl de serum selon le protocole du tableau (02).

Tableau 02 : Protocole utilisé pour le dosage de cholestérol .

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml
Etalon	----	10 µl	----
Echantillon	----	-----	1ml

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 20 – 25 C°, puis on lit la densité optique « DO » à 505 nm contre le blanc réactif. la coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière .

La concentration de cholestérol dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration de cholestérol (g / l)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO Etalon}} \times n \text{ (g/l).}$$

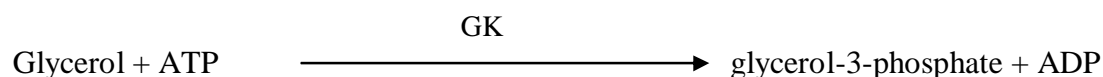
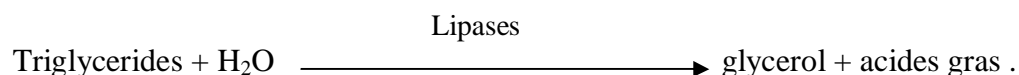
n : concentration de l'étalon (0.2 g / l).

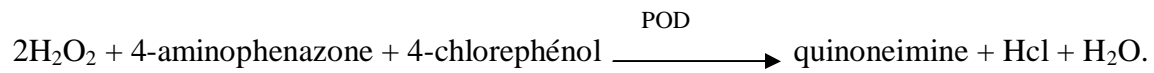
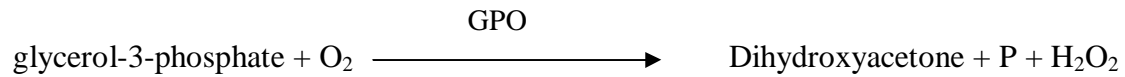
2.6. 3. Dosage des Triglycérides :

Le dosage de triglycérides a été effectué selon la méthode de *Fossati (1982)*

2.6. 3.1. Principe :

Les Triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipases. L'indicateur est un quinonemine formé à partir de l'hydrogène – peroxyde , le 4-aminophenazone et le 4-chlorophenol sous l'influence catalytique de la peroxydase ; selon les quatre réactions suivantes :





2.6. 3.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 10 µl de serum selon le protocole du tableau (03).

Tableau 03 : Protocole utilisé pour le dosage des Triglycérides .

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	----	10 µl	----
Echantillon	----	----	10 µl
Réactif	1ml	1ml	1ml

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 5 minutes à 37 °C , la lecture est effectuée à 500 nm contre le blanc réactif . La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

La concentration des triglycérides dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{TG (g/l)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times n \text{ (g/l)}.$$

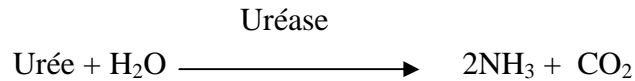
n : concentration de l'étalon (0.2 g / l).

2.6. 4. Dosage de l'urée :

Le dosage de l'urée a été effectué selon la méthode de (*Tietz , 1995*).

2.6. 4. 1. Principe :

La méthode est basée sur la réaction suivante :



Les ions ammonium peuvent réagir avec les salicylites et les dihypochlorites de sodium pour donner un complexe coloré en vert, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de l'urée présente dans le sérum.

2.6. 4.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 10 µl de serum selon le protocole présenté dans le tableau (04).

Tableau 04 : Protocole utilisé pour le dosage de l'urée .

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	----	10 µl	----
Echantillon	----	----	10 µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

- Mélanger et incuber les tubes à essais pendant 5 min à 37°C.
- Ajouter pour chaque tube préparé 1 ml de réactif.
- lire l'étalon et les échantillons à 580 nm .

La concentration de l'urée dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration de l'urée (mg / dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times 50 \text{ (mg / dl)}$$

2.6.5. Dosage de la créatinine :

Le dosage de l'urée a été effectué selon la méthode de *Murray (1984) et Burtis (1999)*.

2.6.5.1. Principe :

La créatinine présente dans l'échantillon de sérum réagit avec le picrate en milieu alcalin , pour donner un complexe rouge .

2.6.5.2. Mode opératoire :

Préchauffer le réactif de travail et l'échantillon pendant quelques minutes à 37 °C et suivre le protocole présenté dans le tableau (05).

Tableau 05 : Protocole utilisé pour le dosage de la créatinine.

	Étalon	Echantillon
Étalon	0.1 ml	----
Echantillon	----	0.1 ml
Réactif de travail	1ml	1ml

Enregistrer l'absorbance à 500 nm après 30 secondes (DO₁) et après 90 secondes (DO₂) d'incubation.

La concentration de la créatinine dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

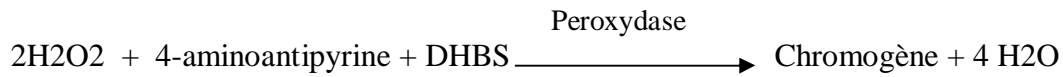
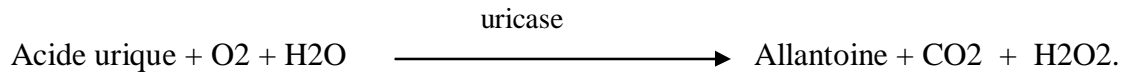
$$\text{Concentration de créatinine (mg/dl)} = \frac{(\text{DO}_2 - \text{DO}_1) \text{ Echantillon}}{(\text{DO}_2 - \text{DO}_1) \text{ Etalon}} \times 2 \text{ mg/dl.}$$

2.6.6. Dosage de l'Acide Urique :

Le dosage de l'urée a été effectué selon la méthode de *Fossali (1980) et Schultz (1984)*.

2.6.6.1. Principe :

L'acide urique présent dans l'échantillon donne selon les réactions décrites ci-dessous un complexe coloré , quantifiable par spectrophotométrie.



2.6.6.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 25 µl de serum selon le protocole présenté dans le tableau (06).

Tableau 06 : Protocole utilisé pour le dosage de l'Acide urique .

	Blanc	Etalon	Echantillon
Eau distillée	25 µl	----	----
Etalon	----	25 µl	
Echantillon	----	----	25 µl
Réactif	1 ml	1 m	1 ml

Agiter les tubes préparés, puis les incubés pendant 10 minutes à une température de 37 °C et ensuite lire l'absorbance de l'étalon et des échantillons à 520 nm.

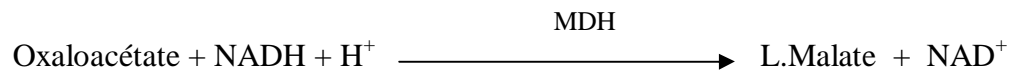
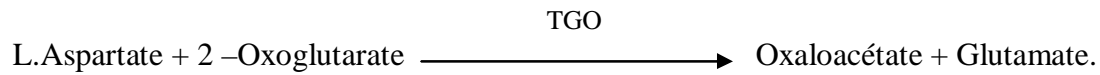
La concentration de l'Acide urique dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration d'Acide Urique(mg/dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times \text{E.}$$

Concentration de l'étalon (E) est égale à 5 mg / 100 ml.

2.6.7. Dosage de l'Aspartate aminotransferase (ASAT / TGO) :

Le dosage de l'urée a été effectué selon la méthode de *Murray (1984)*.

2.6.7.1. Principe :

L'activité catalytique de la TGO est déterminée en mesurant la vitesse de disparition du NADH à 340 nm.

2.6.7.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 50 µl de serum selon le protocole présenté dans le tableau (07).

Tableau 07 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité des TGO.

Température °C	37 °C
Réactif de travail	1 ml
Echantillon	50 µl

Mélanger et incuber les tubes préparés pendant 1 min à la température de 37 °C et lire l'absorbance à 340 nm , toutes les minutes pendant 3minutes.

L'activité spécifique des TGO dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\Delta \text{ DO} \times 1750 = \text{Activité TGO (U / L).}$$

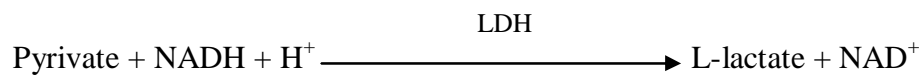
$\Delta \text{ DO}$ c'est la valeur moyenne des trois lectures.

2.6.8. Dosage de l'Alanine Aminotransferase (ALAT / TGP) :

Le dosage des TGP a été effectué selon la méthode de *Reitman (1957)*.

2.6.8.1. Principe :

Le principe est présenté par le schéma réactionnel suivante :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'alanine aminotransférase présenté dans l'échantillon .

2.6.8.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 50 µl de serum selon le protocole présenté dans le tableau (08).

Tableau 08 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité des TGP.

Température	37°C
Réactif du travail	1 ml
Echantillon	50 µl

Mélanger , incuber les tubes préparés pendant 1 min à la température utilisée pour l'essai et lire l'absorbance à 340 nm toutes les minutes pendant 3minutes.

L'activité spécifique des TGP dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\Delta \text{ DO } \times 1750 = \text{Activité TGP (U / L)}.$$

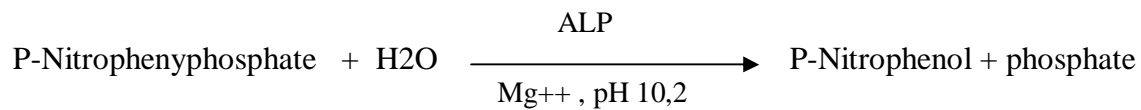
$\Delta \text{ DO}$ c'est la valeur moyenne des trois lectures.

2.6.9. Dosage de l'alcaline phosphatase (ALP) :

Le dosage de l'ALP a été effectué selon la méthode de *Wenger (1984)* .

2.6.9.1. Principe :

La détermination de l'activité enzymatique de ALP basée sur la réaction suivante :

**2.6.9.2. Mode opératoire :**

Prélever un aliquote de 20 µl de serum selon le protocole présenté dans le tableau (09).

Tableau 09 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité de l' ALP.

Température °C	37 °C
Réactif de travail	1 ml
Echantillon	20 µl

Mélanger, incuber les tubes préparés pendant 30 secondes à la température utilisée pour l'essai et lire l'absorbance à 405 nm , toutes les minutes pendant 3minutes.

L'activité spécifique de l'ALP dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\Delta \text{ DO } \times 1750 = \text{activité ALP (U / L)}.$$

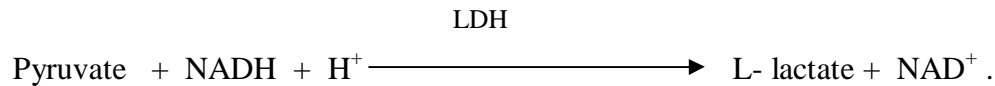
Δ DO : Valeur moyenne des trois lectures.

2.6.10. Dosage des lactate déshydrogénase (LDH) :

Le dosage des LDH a été effectué selon la méthode de *Bergmeyer (1975)*.

2.6.10.1. Principe :

L'activité enzymatique des LDH est présentée par la réaction suivante :



La concentration en NADH qui disparaît est directement proportionnelle à l'activité des LDH présentes dans l'échantillon.

2.6.10.2. Mode opératoire :

Prélever un aliquote de 50 µl de serum selon le protocole présenté dans le tableau (10).

Tableau 10 : Protocole utilisé pour du dosage de l'activité des LDH.

Température °C	37 °C
Réactif de travail	3 ml
Echantillon	50 µl

Mélanger et laisser incuber pendant une minute à une température de 37°C puis lire l'absorbance à 340 nm , toutes les minutes pendant 3minutes.

L'activité spécifique des LDH dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\Delta \text{ DO } \times 9690 = \text{activité LDH (U/L)}.$$

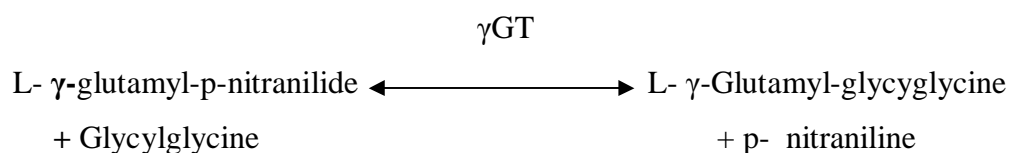
$\Delta \text{ DO}$ c'est la valeur moyenne des trois lectures.

2.6.11. Dosage du gamma glutamyle transférase (γ GT):

2.6.11.1. Principe :

Ce dosage a été réalisé par l'automate.

La détermination de l'activité du γ GT est basée sur la réaction suivante :



La formation de 5-Amino-2 nitrobenzoate est proportionnelle à l'activité de la γ GT.

2.6.12. Dosage des protéines totales:

Le dosage des protéines totales s'effectue selon la méthode de *Bradford (1967)*, qui consiste à prendre un aliquote de 100 μ l du surnageant auquel on ajoute 4 ml de réactif de bleu brillant de Coomassie (BBC) . La lecture des absorbances est effectuée dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'albumine de sérum de bœuf (BSA) à 1mg/ml .

2.6.13. Dosage du glutathion hépatique (GSH) :

2.6.13.1. Principe :

Le dosage du glutathion est réalisé selon le procédé de *Weckbeker et Cory (1988)* .Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro -5-mercapturique . Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5' -dithiobis-2-nitrobensoïque (DTNB) par les groupement (-SH) du glutathion .Une fois préparé , l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de protéger les groupements – SH du glutathion.

2.6.13.2. Mode opératoire :

200 mg de foie congelé sont broyés dans 0.8 ml d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Acétique) à 0.02 M . Le mélange est broyé à froid à l'ultrason pendant 35 secondes.

On procède ensuite à la déprotéinisation de l'homogénat en prélevant 0.8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique à 0.25% (SSA) . Le mélange obtenu est mis 15 mn au congélateur puis centrifugé pendant 15 mn à 5000 tr / mn .Le surnageant récolté est utilisé pour doser le GSH .Le dosage se fait comme suit (tableau 11):

Tableau 11 : Protocole utilisé pour le dosage du GSH.

Réactifs	Blanc	Echantillon
Surnageant	----	500 µl
H2O distillée	500 µl	----
Tampon Tris-EDTA ;PH=9.6	1 ml	1ml
DTNB (0.01M)	25 µl	25 µl

Le tout est laissé pendant 5 min pour la stabilisation de la couleur. La mesure de l'absorbance est obtenue à une longueur d'onde de 412 nm. La concentration est calculée par la formule :

$$\text{GSH} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13.1 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg prt}} \quad (\mu\text{M} / \text{mg prt}).$$

DO: densité optique.

1 : Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml d'homogénat + 0.2 ml SSA).

1.525 : volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1ml Tris-EDTA + 0.025ml DTNB).

13.1 : coefficient d'absorbance (concernant le groupement – SH à 412).

0.8 : volume de l'homogénat trouvé dans 1 ml.

0.5 : le volume du surnageant trouvé dans 1.525 ml.

On peut remarquer que la concentration du GSH est mesurée toujours par rapport à 1 mg de protéines .C'est pour cela que ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

2.6.14. Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE) :

Le dosage de l'AChE est effectué au niveau du cortex cérébral et l'hippocampe des rats femelles adultes témoins et traitées au cours du temps, l'activité de l'enzyme est mesurée par rapport aux protéines.

2.6.14.1. Principe :

La méthode de dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (*Ellmen et al, 1961*) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'Acétylthiocholine iodide dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique, la quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique, on la révèle grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le dithiobisnitrobenzoate ou DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm.

2.6.14.2. Préparation de l'homogénat :

Les échantillons sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution de détergent à l'aide d'un sonicateur (sonifer B -30) puis centrifugés à 9000 tours/ min pendant 5 min, le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité d'AChE et les protéines.

2.6.14.3. Mode opératoire :

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée comme suit (tableau 12):

Tableau 12 : Protocole utilisé pour le dosage de l'activité AChE.

Réactifs	Blanc	Echantillon
DTNB	100 µl	100 µl
Détergent	100 µl	----
Surnageant	----	100 µl
Tampon Tris (0.1 M)	1ml	1 ml

- Après 3 à 5 min de repos nécessaires pour épuiser la réaction spontanée, **100µl** du substrat acétylthiocholine iodide sont ajoutés ,
- la lecture des densités optiques s'effectue à 412nm toutes les 4minutes pendant 28 minutes contre un blanc .

l'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante :

$$X (\mu \text{ mol/ min/mg de protéine}) = \frac{\Delta \text{DO/ min} \times V_t}{1,36 \times V_s \times \text{prot}}$$

X : activité spécifique de l'AChE en $\mu \text{ mol /min/mg}$ de protéine

ΔDO: densité optique

V t : volume total des solution (0,1 ml du surnageant + 0,1ml du DTNB +1ml de tris + 0,1 ml de substrat ASCh).

Vs : volume du surnageant (0,1 ml)

1,36 : coefficient d'extinction (concernant le DTNB à 412 nm)

On peu remarquer que l'activité spécifique de l'AChE est mesuré toujours par rapport à 1 mg de protéine . C'est pour cela que ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

3. Analyse statistique:

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm l'erreur moyenne standard ($m \pm \text{s.e.m}$) et l'analyse statistique est réalisée grâce au logiciel Minitab disponible au laboratoire de toxicologie cellulaire. Différents tests tels que la régression linéaire , le test « t » de Student et l'analyse de la variance à un critère de classification ont été effectués.

RESULTATS

1. Etude phytochimique :

1.1. Composition chimique des graines de *Datura innoxia*:

L'étude de la composition chimique des graines de *Datura innoxia* révèle la présence d'alcaloïdes, des saponosides, des cardénolides, des stérols et des terpènes . D'un notre côté , nous avons noté l'absence des flavonoïdes et des tanins (tableau 14).

Tableau 14 : Screening des principes actifs dans les graines de *Datura innoxia*

(+) : test positif ; (-) test négatif.

TEST	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Saponosides	Tanins	Cardénolides	Stérols et terpènes
Observation	+++	-	++	-	+	++

1.2. Extraction des alcaloïdes totaux au niveau des graines de *Datura innoxia* :

A partir d'une échantillon de graines (100g), l' extraction nous a permis d'obtenir un résidu sec avec un rendement de 0.228% ,d'une couleur jaune foncée et d'une saveur amère.

1.3. Identification des alcaloïdes de *Datura innoxia* par C.C.M.:

La C.C.M de l'extrait chloroformique de *Datura innoxia* avec le système acétone/eau/ammoniaque comme phase mobile a permis d'identifier plusieurs extinctions de fluorescence au niveau de notre extrait dont deux sont majoritaires avec un Rf de 0.30 et 0.86. Cette chromatographie (témoin + extrait) nous a permis de révéler la présence de l'atropine (Rf = 0.30 identique au Rf du témoin) et de la scopolamine (Rf = 0.86 identique au Rf du témoin) (figure 11) .

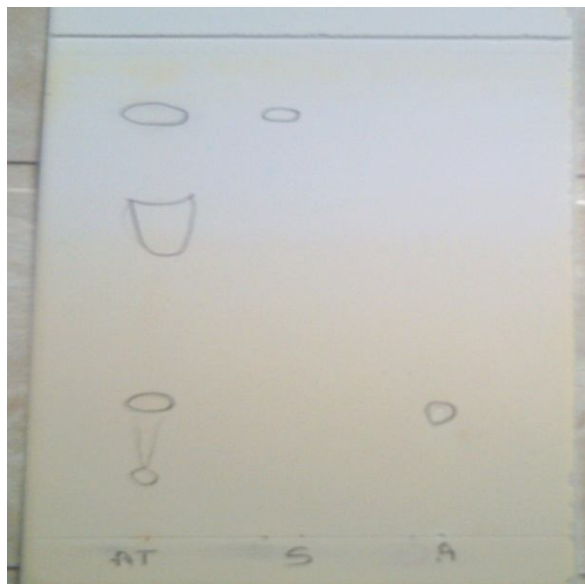


Figure 11: La plaque de C.C.M. des alcaloïdes totaux des graines de *Datura innoxia* M.

AT : Alcaloides Totaux des graines .

S : Scopolamine (témoin).

A :Atropine (témoin).

2. Résultats du test de reconnaissance d'objets :

La figure (12) montre que le traitement par *Datura innoxia* à raison de 1g/kg de poids corporel n'induit aucune différence significative sur le temps mis à explorer l'ancien objet et le nouvel objet au 5^{ème} et au 10^{ème} jour durant la séance de reconnaissance (T2) .Par contre le temps pris pour explorer le nouvel objet est plus long chez les traités(lots du 1^{er} , 3^{ème} et 7^{ème} jours) par rapport aux témoins . En effet la différence entre les témoins et les traités est hautement significative ($p \leq 0.01$).

La figure (13) illustre que le temps totale passé par les rats femelles à explorer les deux objets durant la séance de reconnaissance (T2) est hautement significatif ($p \leq 0.01$) au 5^{ème} jour du traitement par rapport au lot témoin .

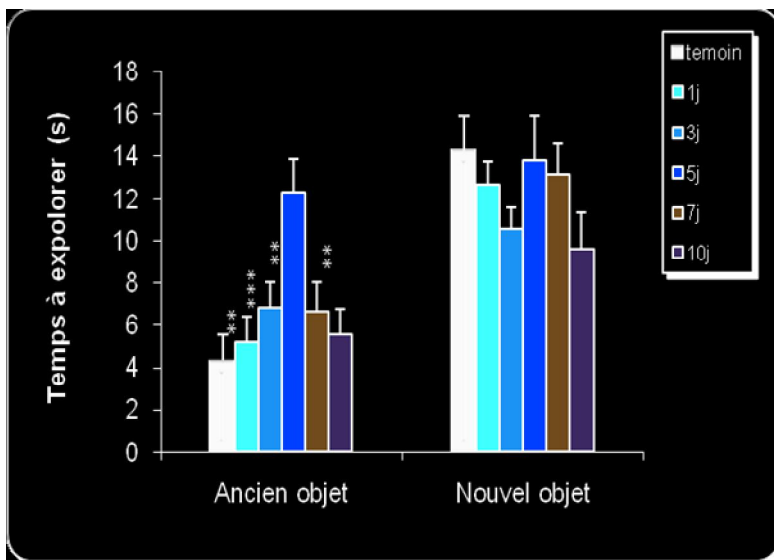


Figure 12: Comparaison entre le temps à explorer un ancien objet et un nouvel objet par les rats femelles témoins et traitées par 1 g/kg de *Datura innoxia* pendant 1,3,5,7 et 10 jours durant le test de reconnaissance d'objets (T2).
 (x ± s.e.m ; n=4), (**p ≤ 0.01 , *** p ≤ 0.001).

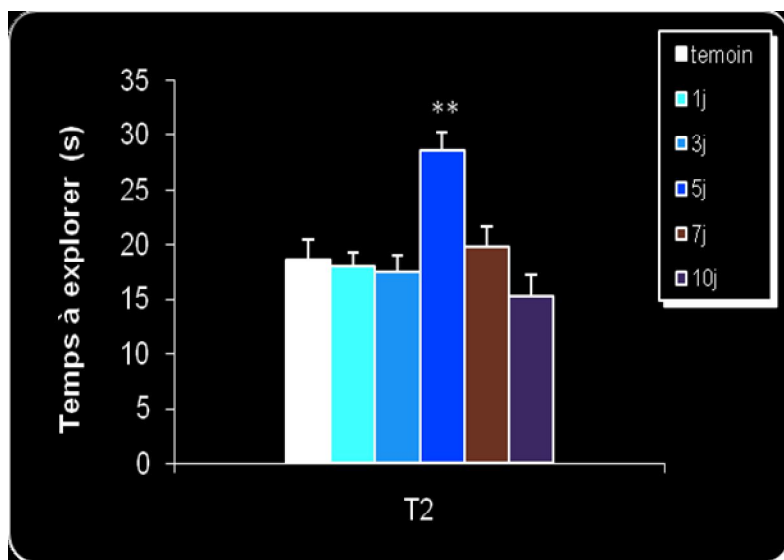


Figure 13: Le temps total passé par les rats femelles témoins et traitées par 1 g/kg de *Datura innoxia* pendant 1,3,5,7 et 10 jours durant le test de reconnaissance d'objets (T2).
 (x ± s.e.m ; n=4). (Tr vs T : * p ≤ 0.05)*** p ≤ 0.001).

3. Croissance pondérale des animaux et consommation alimentaire :

3.1. Croissance pondérale :

La figure (14) met en évidence que l'administration *Per os* d'une dose de *Datura innoxia* à (1g/kg) pendant 1,3,5,7 et 10 jours chez les rats femelles, a provoqué un déficit très hautement significatif ($p \leq 0.001$) du poids corporel comparativement aux témoins. En effet le poids des rats témoins varie entre (251 g \pm 2.3) et (267.3 g \pm 5.5), alors que celui des traités reste stable durant le traitement.

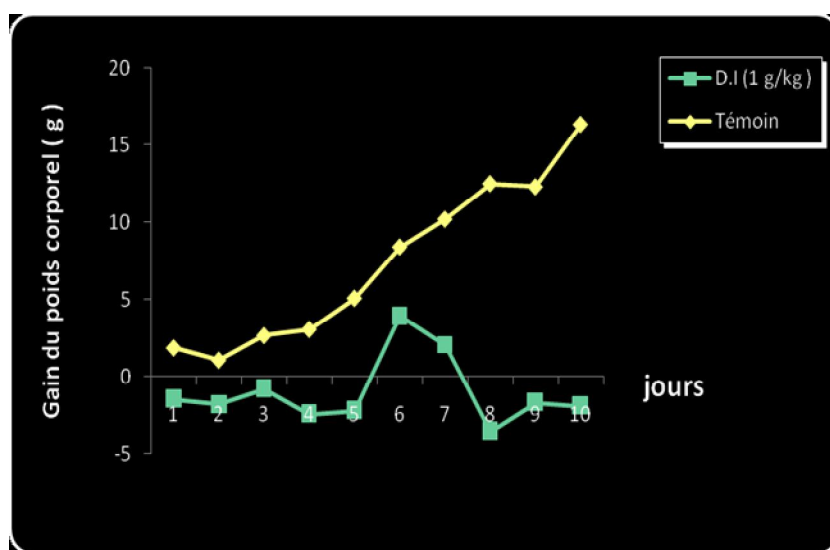


Figure 14: Effet de *Datura innoxia* M. sur l'évolution pondérale des rats femelle. traités par *Datura innoxia* à raison de 1g/kg de poids corporel pendant 1,3,5,7 et 10 jours.

3.2. Variation de la consommation alimentaire et du volume d'eau consommé :

La figure (15) et (16) illustrent l'évolution de la consommation alimentaire et le volume d'eau consommé durant le traitement. Ainsi, on remarque que la consommation alimentaire diminue d'une façon significative ($p \leq 0.05$) chez les lots traités par rapport aux lots témoins. De plus nous remarquons une diminution très hautement significative ($p \leq 0.001$) de la

consommation d'eau chez les lots traités variant entre (37.6 ml ± 2.79) et (23 ml ± 4.54), alors que chez les traités , celle-ci reste inchangée .

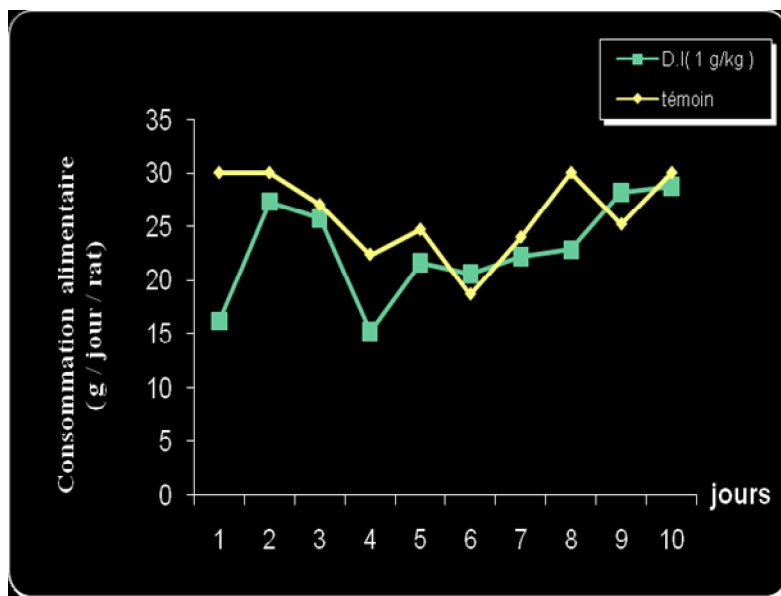


Figure 15: Evaluation de la consommation alimentaire (g /jour /rat). Durant le traitement des rats femelles par *Datura innoxia* à raison de 1g/kg de poids corporel durant 1,3,5,7et 10 jours.

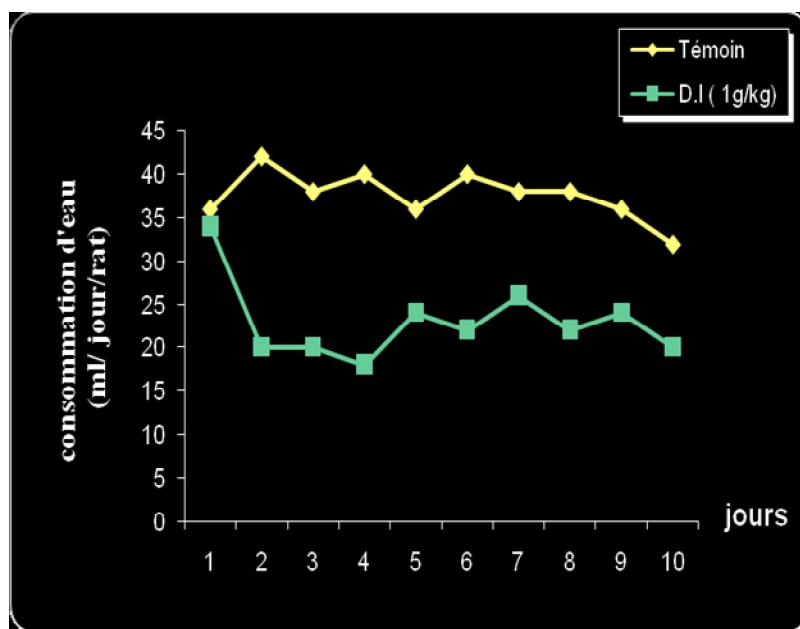


Figure 16: Evolution du volume d'eau consommé (ml / jour/rat). Durant le traitement des rats femelles par *Datura innoxia* à raison de 1g/kg de poids corporel durant 1,3,5,7et 10 jours.

4. Effet de *Datura innoxia* sur le poids des différents organes :

La figure (17), montre que le traitement des rats femelles par *Datura innoxia* à la concentration de 1 g/kg pendant 1, 3, 5, 7 et 10 jours entraîne une augmentation hautement significative des poids absolus du cerveau ($p \leq 0.01$) chez le lot traité du 5^{ème} jour par rapport aux lot témoin (figure 17 A) .

Nous remarquons aussi que *Datura innoxia* induit une augmentation significative ($p \leq 0.05$) du poids absolu et relatif du foie (figure 17 B) dès le 1^{er} jour et des reins au 5^{ème} jour. (figure 17 C).

De plus, la variation des moyennes des poids absolus et relatifs des différents organes , met en évidence des différences significatives ($p \leq 0.05$) pour le cerveau et le rein et très hautement significative ($p \leq 0.001$) pour les poids absolus et relatifs du foie.

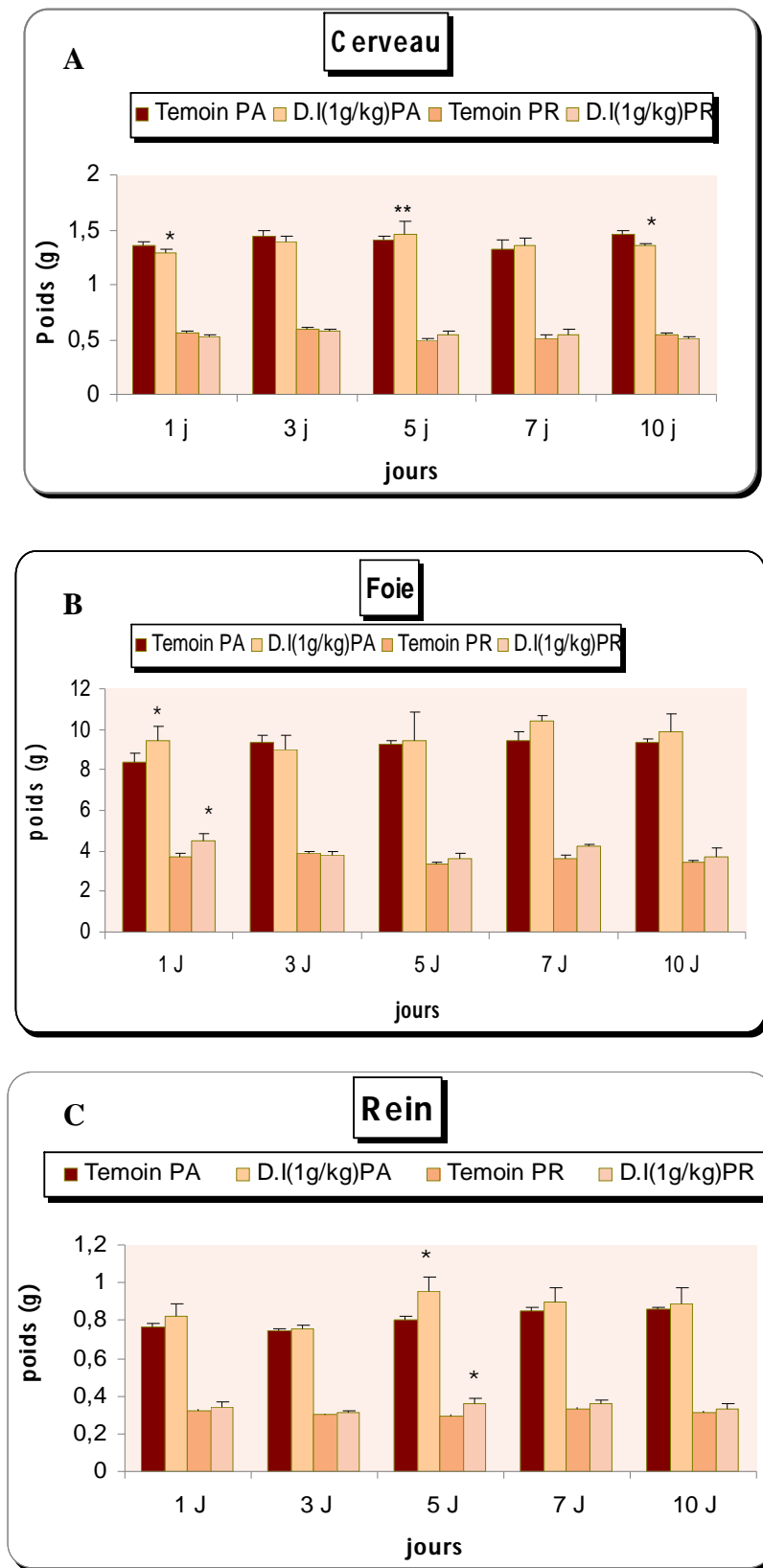


Figure 17: Variation des poids absolus et relatifs du cerveau (A), foie (B) et des reins (C) après administration de *Datura innoxia* (D.I) (1g/kg) durant 1,3,5,7et 10 jours chez les rats femelles Wistar . ($\bar{x} \pm s.e.m$; n=4) (Tr vs T : * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$)

PA : poids absolu , **PR** : poids relatif

5. Etude Biochimique :

Pour déterminer les caractéristiques des paramètres biochimiques des rats femelles, nous avons calculé par lot traité et par lot témoin et pour chaque période du traitement la moyenne arithmétique (X) et l'erreur moyenne standard (S.E.M.).

5.1. Concentration plasmatique en Glucose , Cholestérol et Triglycérides :

La figure (18) , met en évidence l'effet de *Datura innoxia* sur les concentrations plasmatiques en glucose , cholestérol et triglycérides . Ainsi nous constatons que *Datura innoxia* induit une hypoglycémie durant toute la période de traitement , qui ne devient statistiquement significative qu'aux 5^{ème} jour (0.44 g/l \pm 0.18) chez les traités par rapport aux témoins (1.44 g/l \pm 0.19) (figure 18.A). En outre, une variation importante est détectée au niveau du taux du cholestérol (figure 18.A) qui augmente d'une façon significative au 1^{er} et au 5^{ème} jour avec respectivement (0.82 g/l \pm 0.04) et (0.85 g/l \pm 0.07)chez les traités par rapport aux témoins (0.67 g/l \pm 0.09) et (0.68 g/l \pm 0.02) . Concernant l'évolution du taux de triglycérides (figure 18.C), nous notons une diminution significative des triglycérides ($p \leq 0.05$) chez le lot traité du 1^{er} jour par rapport au lot témoin.

Par ailleurs, la comparaison des moyennes des concentrations plasmatique en marqueurs biochimiques des rats traités par *Datura innoxia* à 1g/kg entre les différentes périodes de traitement montre une variation très hautement significative de la concentration sérique en glucose ($p \leq 0.001$) ainsi qu'une différence significative de la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol ($p \leq 0.05$).

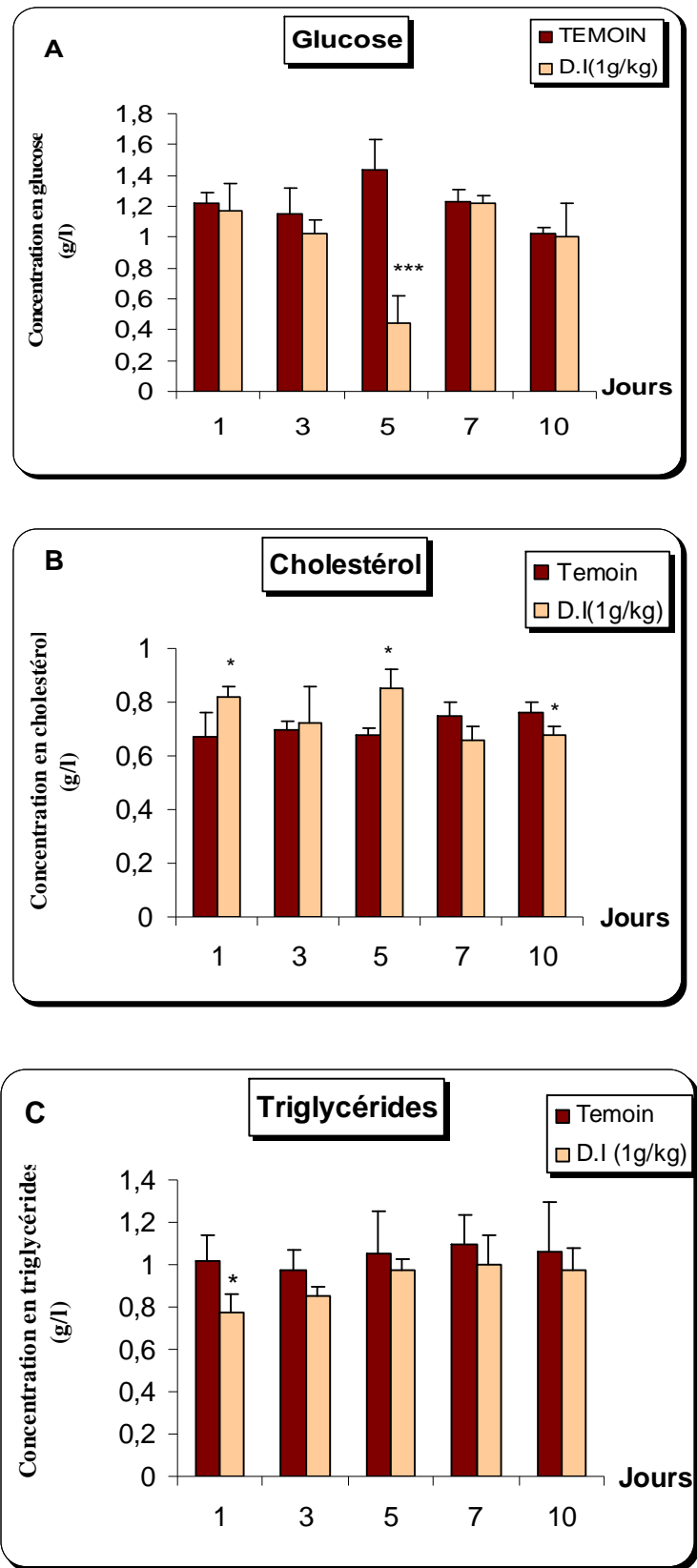


Figure 18: Variation de la concentration sérique en glucose(A) , cholestérol (B) et triglycérides (C) chez les rats femelles témoins et traités par *Datura innoxia* à 1g/kg durant 1,3,5,7et 10 jours . ($\bar{x} \pm s.e.m$; n=4).
 (Tr vs T : * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$).

5.2. Concentration plasmatique en urée, créatinine et d'acide urique :

La figure (19), montre que durant toute la période de traitement par *Datura innoxia*, le taux de créatinine chez les lots traités diminuent d'une manière non significative par rapport aux lots témoins (figure 19.A). De plus , nous remarquons que la diminution de la concentration plasmatique en urée (figure 19.B) n'est significative qu'au 10^{ème} jour du traitement comparativement aux lots témoins. De plus une augmentation significative du taux d'acide urique est décelée au 5^{ème} jour avec ($48.78 \text{ g/l} \pm 4.18$) chez les traités par rapport aux témoins ($19.57 \text{ g/l} \pm 2.48$) (figure 19.C).

Par ailleurs, l'analyse de la variance à un critère de classification (AV1) effectuée pour les différentes périodes de traitement a révélé des différences très hautement significatives du taux d'acide urique pour ($p \leq 0.001$).

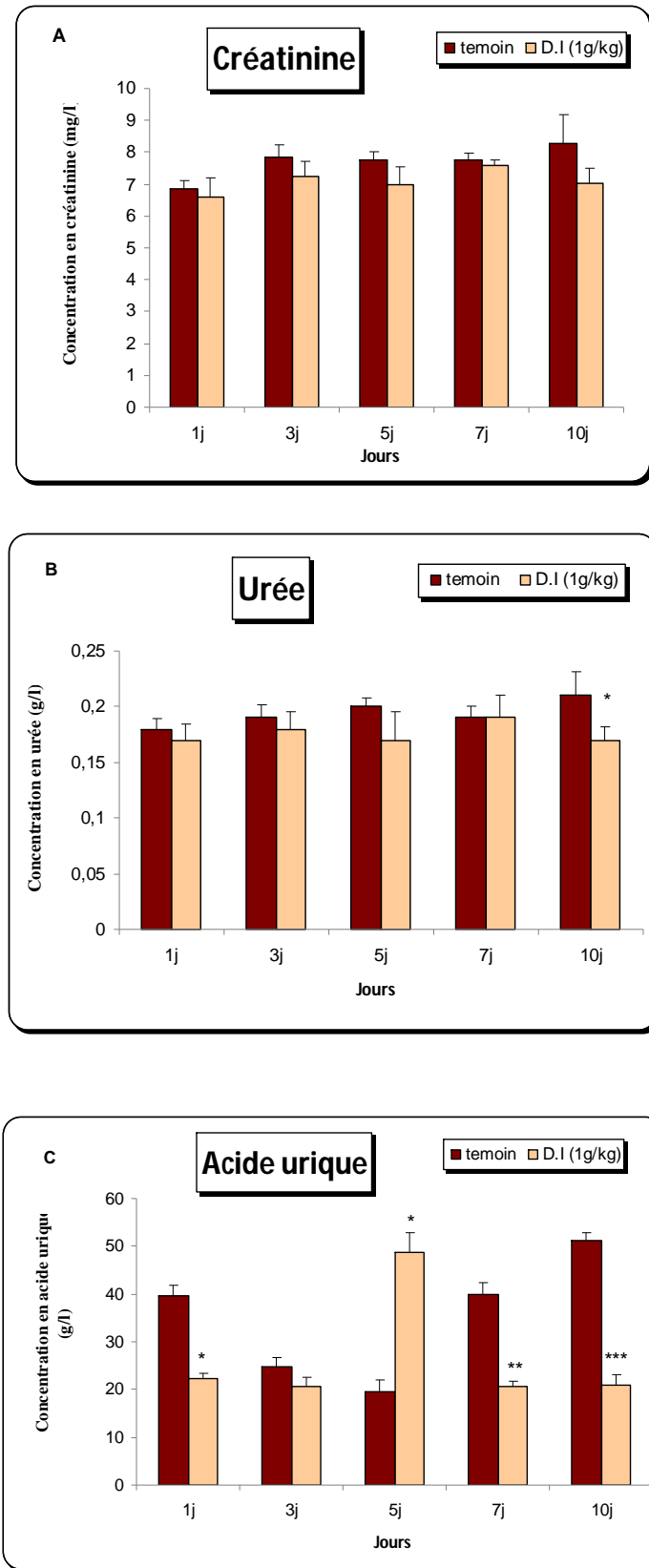


Figure 19: Variation de la concentration sérique en créatine (A), urée (B) et en acide urique (C) chez les rats femelles témoins et traités par *Datura innoxia* à 1g/kg durant 1,3,5,7 et 10 jours. ($\bar{x} \pm \text{s.e.m}$; n=4). (Tr vs T : * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$).

5.3. Résultats du bilan enzymatique :

5.3.1. Variation des taux de TGO, TGP et ALP:

La figure (20), met en évidence les variations des taux des TGO , TGP et ALP après une administration *Per os* de *Datura innoxia* à raison de 1 g/kg de poids corporel. Ainsi , nous notons une augmentation significative ($p \leq 0.05$) pour les TGO (figure 20.A) et l'ALP (figure 20.C) et très hautement significative ($p \leq 0.001$) pour les TGP (figure 20.B) chez le lot traité du 1^{er} jour par rapport au lot témoin. De même, durant toute la période de traitement l'activité enzymatique des TGO/TGP reste élevée, celle-ci n'est significative ($p \leq 0.05$) qu'au 7^{ème} jour pour les TGO et au 3^{ème} jour pour les TGP. De plus, la comparaison des moyennes des ALP, TGO/TGP des lots traités entre les différentes périodes de traitement par l'analyse de la variance à un critère de classification montre une différence significative ($p \leq 0.05$) pour l'ALP et les TGO et très hautement significative ($p \leq 0.001$) pour les TGP.

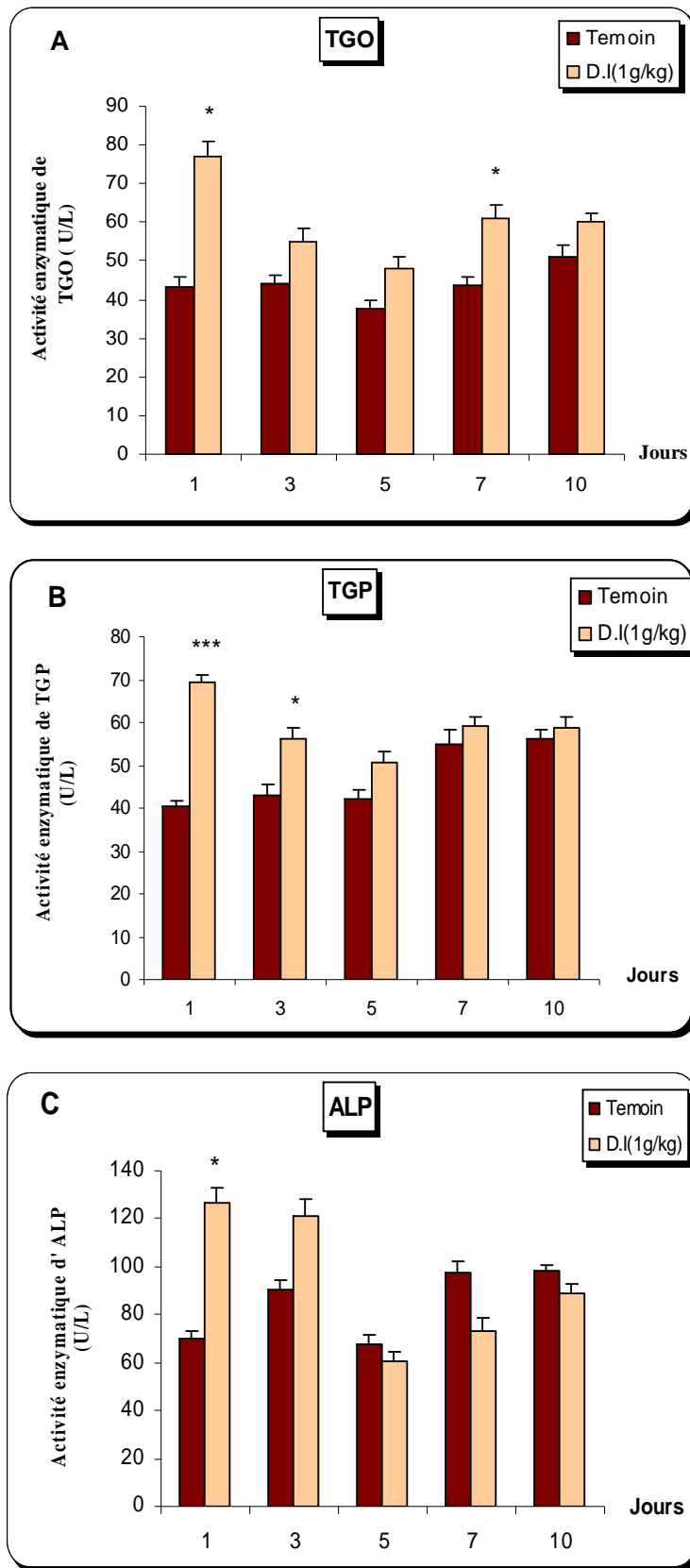


Figure 20: Variation de l'activité enzymatique des TGO(A), TGP (B) et des ALP (C) chez les rats femelles témoins et traités par *Datura innoxia* à 1g/kg durant 1, 3, 5,7 et 10 jours ($x \pm s.e.m$; n=4). (Tr vs T : * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$).

5.3.2. Variation des taux de LDH et γ GT:

la figure (21) montre que le traitement par *Datura innoxia* à raison de 1g/kg de poids corporel des rats femelles, induit une diminution significative des LDH au 5^{ème} jour par rapport aux lots témoins(276.75 U/L \pm 4.95) (328.5 U/L \pm 5.06) (figure 20.A) ,et une diminution significative de taux de γ GT au 10^{ème} jour (27.47 U/L \pm 2.38) chez les traités par rapport aux lots témoins (41.73 U/L \pm 2.92)(figure 21.B).

De plus , l'analyse de la variance à un critère de classification entre les différentes périodes de traitement montre une différence significative ($p \leq 0.05$) pour les LDH et les γ GT.

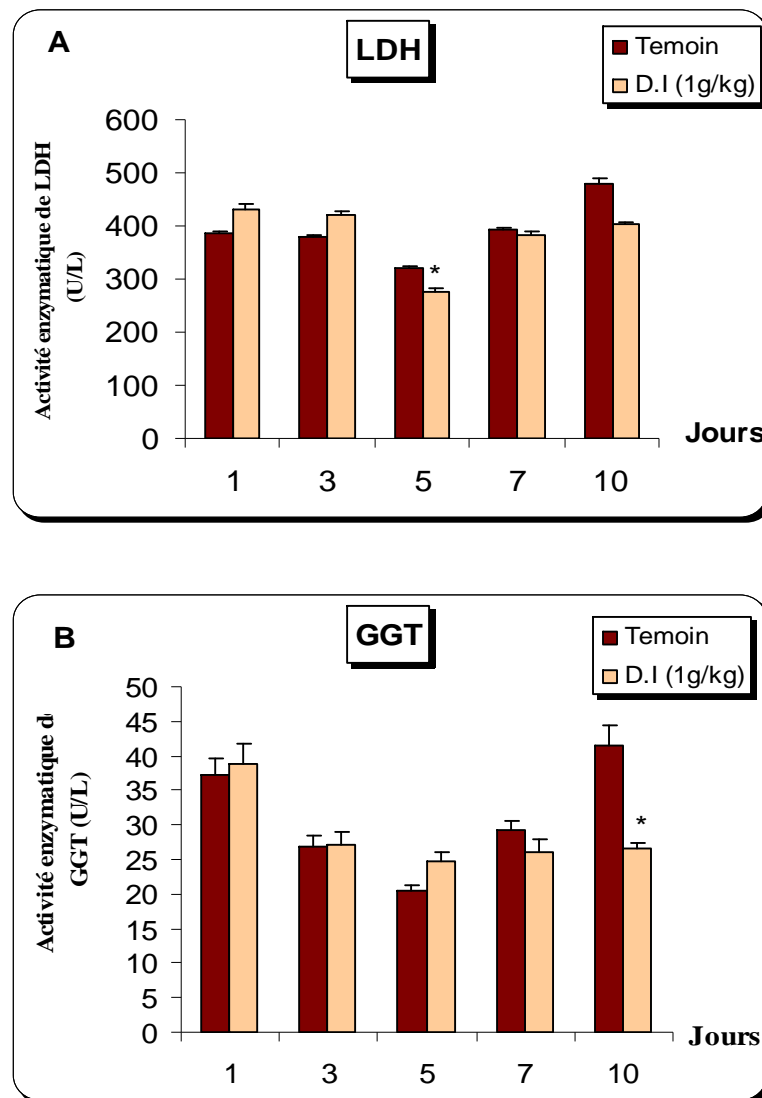


Figure 21: Variation de l'activité enzymatique des LDH (A) et γ GT (B) chez les rats femelles témoins et traités par *Datura innoxia* à 1g/kg durant 1, 3, 5, 7 et 10 jours. ($\bar{x} \pm$ s.e.m ; n=4) . (Tr vs T : * $p \leq 0.05$).

5.4. Teneur en glutathion hépatique (GSH):

La figure (22), illustre l'effet de *Datura innoxia* sur l'évolution du taux de GSH hépatique. Ainsi, nous remarquons que cette plante induit une diminution de la teneur en glutathion hépatique. Cette diminution est significative ($p \leq 0.05$) au 7^{ème} jour du traitement et très hautement significative ($p \leq 0.001$) au 10^{ème} jour par rapport aux lots témoins avec respectivement ($30.72 \text{ nmol/mg de prot} \pm 2.45$) et ($21.48 \text{ nmol/mg de prot} \pm 1.52$) chez les traités par rapport aux lots témoins ($43.8 \text{ nmol/mg de prot} \pm 2.49$) et ($49.2 \text{ nmol/mg de prot} \pm 1.54$).

Par ailleurs, la comparaison des moyennes de la teneur en glutathion hépatique des rats traités entre les différentes périodes de traitement met en évidence une variation significative ($p \leq 0.05$).

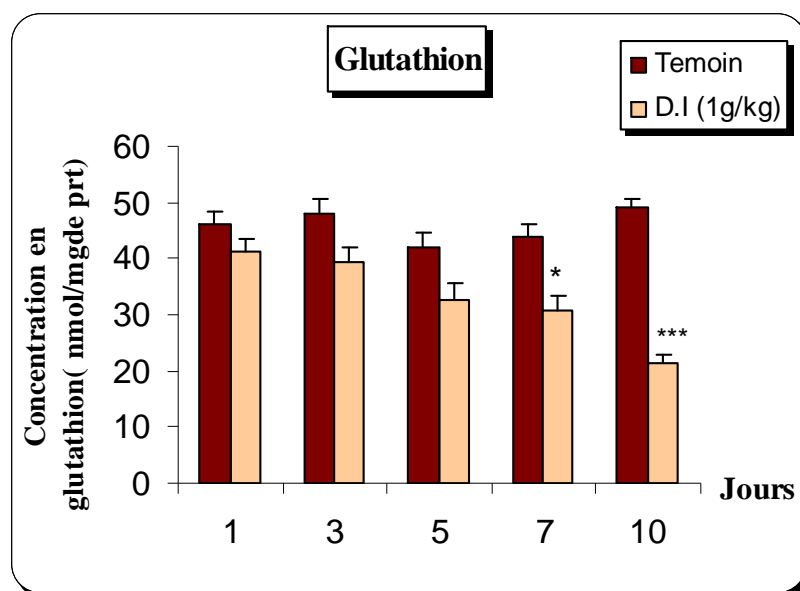


Figure 22: Variation de la teneur en glutathion hépatique (nmol /mg de protéines) Chez les rats femelles témoins (T) et traités (Tr) par *Datura innoxia* à 1g/kg de poids corporel pendant 1, 3, 5,7 et 10 jours.($\bar{x} \pm \text{s.e.m}$; n=4). (Tr vs T : * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$).

5.5. Effet de *Datura innoxia* sur l'activité spécifique de l'Acétylcholinestérase :

Le tableau (15) et la figure (23) montrent que l'activité spécifique de l'Acétylcholinestérase (AChE) au niveau du cortex cérébral et de l'hippocampe est perturbée chez les rats femelles sacrifiés après 1,3,5,7et 10 jours après administration orale de 1 g/ kg de *Datura innoxia* . En effet l' activité enzymatique diminue d'une façon significative ($p \leq 0.05$) au 5^{ème} et au 7^{ème} jours de traitement au niveau du cortex cérébral avec (18.13 ± 1.23 ; $17.34 \pm 1.17 \mu \text{ mol/min/mg}$ de protéine) par rapport aux témoins (20.96 ± 1.03 ; $21.71 \pm 1.55 \mu \text{ mol/min/mg}$ de protéine) ce qui correspond à un pourcentage d'inhibition élevé d'environ 13.5% et 20.12% respectivement. Cependant , on remarque que l'inhibition de l'activité AChE au niveau de l'hippocampe est plus élevée que celle au niveau du cortex cérébral , où elle atteint son maximum au 5^{ème} jour de traitement avec un pourcentage d'inhibition d'environ 51.64%.

En outre , la comparaison des moyennes des activités de l'AChE des lots traités , entre les différentes périodes du traitement , par une analyse de la variance à un critère de classification montre une variation très hautement significative ($p \leq 0.001$) au niveau de l'hippocampe et hautement significative ($p \leq 0.01$) au niveau du cortex cérébral.

Tableau 15 : Variation de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (μ mol/ min /mg de protéine) au niveau du cortex cérébral et de l'hippocampe chez les rats femelles témoins et traités par *Datura innoxia* à 1 g/kg de poids corporel pendant 1, 3, 5, 7 et 10 jours.

organe	Lots	1 ^{er} jour	3 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	10 ^{ème} jour
Hippocampe	témoins	22.98 ± 0.93	23.99 ± 1.4	23.64 ± 1.38	20.64± 1.45	17.86 ± 1.37
	Traité (D.i 1g/kg)	21.71± 1.78	16.34±1.48*	11.43±2.08*	17.9 ± 1.78	16.87± 1.23
	% d'inhibition	5.52	31.88	51.64	13.27	5.54
Cortex cérébral	témoins	22.73±1.67	20.36±1.29	20.96±1.03	21.71±1.55	21.13±1.54
	Traité D.i(1g/kg)	22.04±1.06	18.02±1.7	18.13±1.23*	17.34±1.17*	17.7±0.93
	% d'inhibition	3.01	11.46	13.5	20.12	16.23

*: Différence significative témoin Vs Traités de la même période, ($p \leq 0.05$).

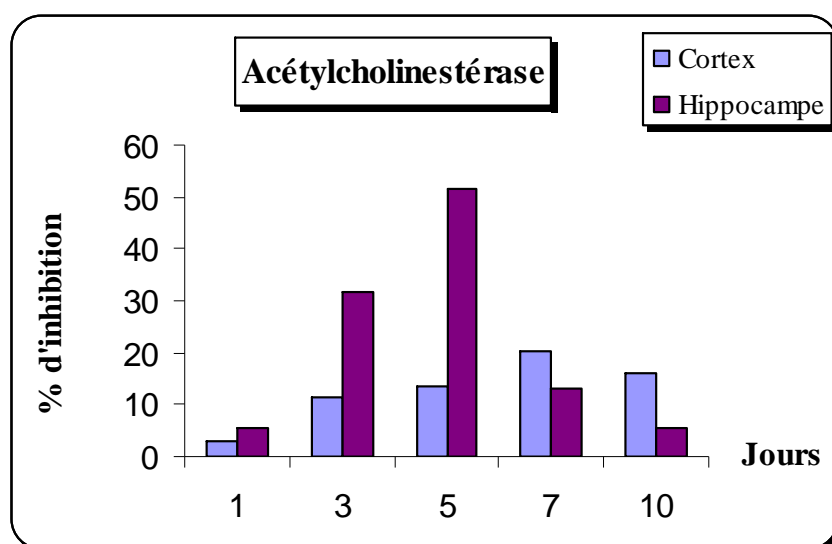


Figure 23 : Variation du pourcentage d'inhibition de l'AChE au niveau du cortex cérébral et de l'hippocampe chez les rats femelles témoins (T) et traités (Tr) par *Datura innoxia* à 1g/kg de poids corporel pendant 1, 3, 5, 7 et 10 jours .

V. Discussion

Plusieurs études ont montré que les plantes du genre *Datura* sont toxiques à cause de leur teneur en alcaloïdes tropaniques dont la plupart sont des molécules neurotoxiques telles que la scopolamine, l'atropine et l'hyosciamine (*brunton* , 1999).

Notre travail a pour objectif l'étude de la composition alcaloïdique de *Datura innoxia* , et l'évaluation de la toxicité des graines de *Datura innoxia* chez les rats femelles Wistar.

➔ Etude phytochimique

Notre étude nous a permis en premier lieu d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans les graines de *Datura innoxia* à travers les réactions de caractérisation qui révèlent que la plante constitue un ensemble riche en substances actives, telles que les saponosides, les stérols, les triterpènes et les alcaloïdes. Ces derniers ont été extraits en utilisant la méthode classique d'extraction des alcaloïdes totaux. Les résultats obtenus révèlent que les graines de *Datura innoxia* contiennent une importante proportion d'alcaloïdes totaux (0.228%).

Plusieurs études ont été réalisées sur différentes espèces de *Datura* dans d'autres régions telles que l'Egypte et l'Inde. Ces études ont montré que les rendements sont différents, il en va de même concernant notre échantillon cueilli dans la région d'El-Kala. Ainsi, les graines de *Datura metel* d'Egypte et *Datura stramonium* d'Inde renferment 0.446% et 0.16% d'alcaloïdes totaux respectivement (*Elchahet* , 1985), alors que notre espèce contient 0.228%, ce qui explique vraisemblablement que les rendements sont différents d'une espèce à une autre et d'une région à une autre, ceci est probablement dû aux facteurs génétiques, climatiques et la nature du sol (*Herourat* , 1988 , *Gontier* ,1991, *Hiraoka* ,1996)

De plus, la purification du mélange d'alcaloïdes a permis l'obtention de deux produits majoritaires purs : l'atropine et la scopolamine, qui sont identifiés par l'analyse chromatographique (C.C.M). Après comparaison de nos résultats aux normes nous avons mis en évidence que nos R_f sont très proches de ceux de la pharmacopée Française et les travaux de *Djendli* (2002), ce qui a confirmé réellement la présence de l'atropine et de la scopolamine.

➤ Paramètres pondéraux et consommation alimentaire

Dans nos conditions expérimentales, nous avons remarqué que le poids corporel des rats femelles a été affecté par *Datura innoxia* à 1 g/ kg de poids corporel par rapport aux témoins, ce qui constitue un premier indice de toxicité. Cette diminution a été également observée chez des rats mâles et femelles traités par les graines de *Datura stramonium* incorporées avec l'aliment à des doses de : 0.5%, 0.58% et 5% (Dugan, 1989). De même les études de Morisset et Loisel (1985) ont montré que l'administration de la scopolamine par une injection péritonéale provoquait une diminution du poids corporel chez les rats. Ainsi, cette baisse de poids corporel peut être expliquée par l'action des constituants toxiques de *Datura innoxia* (la scopolamine et l'atropine) sur les fonctions vitales de l'organisme, en inhibant le contrôle parasympathique du tractus gastro-intestinal, ce qui favorise une mauvaise absorption intestinale des éléments nutritifs (les acides aminés, le glucose, et certains autres minéraux essentiels) par conséquent ces alcaloïdes peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps (Cortamira, 1992 ; Piva, 1997 ; Van Kempen, 1992).

Parallèlement, nous avons également mis en évidence une diminution de la consommation alimentaire et de l'eau chez les rats femelles traités par les graines de *Datura innoxia*. Ceci est en accord avec les travaux de Worthington (1981) qui a testé *Datura stramonium* sur le porc, bien que les travaux de Nelson et al (1982) n'aient révélé aucun effet chez le bétail.

D'autre part, Simons et al., (1995) ont signalé que l'augmentation des poids absolus ou relatifs des organes des animaux est un indicateur de toxicité par les xénobiotiques, cependant, notre étude montre des variations de ces paramètres ainsi : Au 1^{er} jour nous avons remarqué une diminution du poids absolu du cerveau et une augmentation du poids absolu et relatif du foie et au 5^{ème} jour une augmentation du poids absolu et relatif des reins et du cerveau. Ces résultats abondent dans le même sens que ceux de Dugan (1989) qui a travaillé sur des rats traités par *Datura stramonium* incorporée à l'alimentation.

➤ Comportement et l'activité de L'acétylcholinestérase

Notre cerveau comporte environ 1 million de milliards de synapses, ces connexions chimiques assurant la communication entre deux neurones. Plus une synapse est utilisée, mieux elle laisse passer le courant(*Bartrus, 1982*). La synapse est aujourd'hui considérée comme pleinement malléable et permet aux neurones de stocker des informations. Chaque information stockée dans notre cerveau augmente l'efficacité de la connexion entre deux neurones. Mais comment la connexion entre deux neurones peut-elle augmenter en efficacité et ainsi stocker une information? C'est par le biais de mécanismes moléculaires. Un des types les plus étudiés de la plasticité synaptique est la potentialisation à long terme (PLT), qui peut être définie comme étant une augmentation d'amplitude de la réponse post-synaptique à la suite d'une intense activation pré-synaptique. . (*Chamayou, 2002*).

Au niveau des jonctions interneuronales et neuromusculaires , l'influx nerveux est transmis grâce à la libération d'acétylcholine par la terminaison nerveuse, dans l'espace synaptique où elle va se fixer sur l'un des récepteurs cholinergiques de la membrane post synaptique (*Brimijoin,1983*).

L' interaction entre l'acétylcholine et le récepteur induit une dépolarisation de la membrane et la transmission de l'influx nerveux .Le système retrouve son état de repos suite à l'inactivation de L'acétylcholine par une enzyme responsable de son hydrolyse rapide: l'acétylcholinestérase (AChE) en choline et acétate (*Donald,2002*).

Dans notre travail , nos résultats révèlent que la scopolamine et l'atropine contenues dans les graines de *Datura innoxia* inhibent significativement l'activité enzymatique et d'une façon réversible l'AChE au niveau de l'hippocampe et le cortex cérébral après les différents temps d'exposition , cette inhibition est plus marquée aux 5^{ème} jours de traitement particulièrement au niveau de l'hippocampe avec un pourcentage d'inhibition de 51%. Ceci ,signifie que les alcaloïdes tropaniques (la scopolamine et l'atropine) agissent en se liant aux récepteurs muscariniques M₁, M₂ et M₃ de l'acétylcholine (*shinichi ,1995, Chan, 1995*), ce qui favorise leur blocage. L'atropine a une affinité équivalente pour les deux récepteurs M₁ et M₂ (*Hulme, 1990*), mais la scopolamine est très sélective pour M₁ (*Burke , 1986; Katayama , 1990*). L'inhibition des récepteurs cholinergiques entraîne une libération intense d'acétylcholine , rapidement détruite par les cholinestérases , ce qui provoque une réduction de la quantité d'acétylcholine au niveau de la fente

synaptique (Tan,1978;Bymaster, 1993;Dixon, 1997) , affectant donc le fonctionnement électrophysiologique de l'hippocampe,et inhibent la potentialisation à long terme (PLT) des potentiels prés-synaptiques excitateurs de l'hippocampe , élément clé dans l'apprentissage, le stockage, l'encodage et la restitution de données (Frey, 1993 ;Chamayou , 2002).

Ces résultats expliquent le changement du comportement chez les rats femelles traités et qui s'est traduit par une diminution de l'activité locomotrice durant les trois premiers jours et au 5^{ème} jour où leur comportement s'est transformé en une agitation ainsi qu'une baisse de la capacité d'exploration (test de reconnaissance d'objets). De plus , durant ce test aucune rats témoins n'a montré de déficit amnésique , en effet, tous les animaux passent plus de temps (± 10 secondes) pour explorer le nouvel objet lors de la séance de reconnaissance .

Par ailleurs , les rats femelles traités par les graines de *Datura innoxia* à raison de 1g/kg de poids corporels pendant 5 jours ont passé autant de temps à explorer aussi bien l'ancien que le nouvel objet, cela signifie que lors de la séance d'apprentissage , leur transmission synaptique cholinergique était encore inhibée par la scopolamine et qu'ils n'ont pu pas de ce fait , mémoriser les deux objets identiques présentés. Ces résultats sont en accord avec ceux de Nikolaos (2006) et Nikolaos (2007) qui ont démontré le déficit amnésique causé par la scopolamine à travers le test de reconnaissance d'objets , ainsi que ceux de Luttgen (2005) et Naghdi (2006) .

Le modèle Scopolamine a été utilisé en recherche cognitive, pour étudier les conséquences cliniques d'un déficit en acétylcholine (Lydon ,1995, Corey-Bloom , 1998). Il a été appliqué à des sujets âgés et à des patients souffrant de maladie d'Alzheimer comme marqueur d'une sensibilité cholinergique, dans le but d'améliorer le diagnostic et l'évaluation du stade de la maladie .

Les études animales étudiant la capacité de diverses molécules capable d'inhiber les troubles cognitifs induits par la scopolamine sont nombreuses , telles que celles de Carli (1998) , Nasser (2005) et Park (2000), de plus l'administration de la scopolamine à raison de 0.5 mg/kg pendant 7jours (Shinichi ,1996) , et pendant 30, 45, 60 et 120 minutes (Wang ,1999) provoque une atteinte de la mémoire spatial chez les rats. Ben- Barak et Dudai (1980) ont révélé que l'administration chronique de la scopolamine augmentait le nombre de récepteurs muscariniques dans l'hippocampe du rat. Ainsi nos résultats sont en accord avec tous les travaux effectués sur la scopolamine .

➤ Etude Biochimique

En plus de l'effet sur le système nerveux central, il nous a semblé judicieux de nous intéresser aux éventuelles actions de cette plante sur le métabolisme cellulaire.

Ainsi nous avons mis en évidence une diminution de la concentration sérique en glucose chez les animaux traités par les graines de *Datura innoxia* à la concentration de 1g/kg de poids corporel. Cette hypoglycémie est due probablement à l'action des molécules actives contenues dans la plante sur l'activité sécrétoire du pancréas. Les molécules agissent par stimulation directe de la production de l'insuline par les îlots de Langerhans (Krishna Murthy, 2004). Il apparaît alors que l'insuline facilite l'entrée de glucose dans les cellules par l'intermédiaire des transporteurs spécifiques de glucose. En accord avec nos résultats la diminution du glucose a été observée après administration subchronique des graines de *Datura stramonium* chez les rats femelles (Dugan et al., 1989), ainsi que chez les porcs (Piva, 1997). De même, Krishna Murthy (2004) a montré que les graines de *Datura metel* administrées à court terme chez les rats mâles Wistar diminuent la concentration sérique en glucose.

Nos résultats obtenus révèlent aussi une diminution de la concentration sérique en triglycérides chez les rats traités. Cette hypotriglycémie peut être due à la diminution de la glycémie. Ainsi l'insuline facilite l'entrée de glucose dans les adipocytes par l'intermédiaire des transporteurs de glucose (GLUT4), et au sein de ces cellules, le glucose peut être utilisé pour la synthèse du glycérol, ainsi que les acides gras libérés par le foie, et qui sont utilisés pour la synthèse des triglycérides dans l'adipocyte. Par ces mécanismes l'insuline est impliquée dans l'accumulation des triglycérides dans les cellules graisseuses. Ces résultats vont dans le même sens que celui de Hirunpanich et al., (2006). Mais sont contraires à ceux de Piva et al. (1997) qui ont enregistré une augmentation des TG de manière dose-dépendante en présence des alcaloïdes tropaniques (scopolamine et hyoscyamine).

De plus, nous avons constaté une augmentation significative de la concentration sérique en cholestérol chez les rats femelles traités. Cette augmentation pourrait s'expliquer par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux pour assurer l'énergie nécessaire aux fonctions vitales de l'organisme. Ceci est accompagné par une forte activité enzymatique des lipases en présence de glucagon. Ces résultats sont en accord avec ceux de Piva et al (1997).

La fluctuation de la concentration de l'acide urique peut s'expliquer par la dégradation du matériel génétique (ADN et ARN) , dont *Jin fu et al (1988)* ont signalés qu'une forte dose de scopolamine induisait des aberrations chromosomiques des lymphocytes humaine in vitro.

La phosphatase alcaline (ALP) permet de dépister toute pathologie se rapportant à l'os et au foie , son dosage est souvent associé à celui de l'alanine aminotransaminase (ALAT/ TGP) et à l'aspartate aminotransaminase (ASAT/TGO) qui sont spécifiques aux intoxications hépatiques et celle des voies biliaires (*Millan , 2005*). Dans notre travail , nous avons constaté une augmentation significative de l'activité de l'ALP et des transaminases (TGO/TGP) dans le sérum des rats traités, ce qui explique l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et l'acide glutamique dans le sérum provenant de la dégradation des composés protéiques du corps. Ainsi ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques telles que l'acide α céto glutamique et l'acide pyruvique provenant de la glycolyse , expliquant une forte activité enzymatique des TGO et TGP.

Notre hypothèse est que l'augmentation du taux des transaminases pourrait être liée au déclenchement du processus de détoxification mis en jeu par les cellules du tissu hépatique. En effet nous pouvons suggérer que la forte activité de l'ALP et les transaminase est liée à l'effet hépatotoxique de ces xénobiotiques. Ces résultats sont en accord avec ceux de *Dugan (1989); Piva (1997) et Mahdeb (2001)*.

La lactate déshydrogénase (LDH) est très ré pondue dans les cellules des différents organes. C'est une enzyme qui catalyse le transfert d'hydrogène et conduit en anaérobiose à la transformation réversible de l'acide pyruvique en acide lactique et l'oxydation du NAD en NADH₂ (*Vassault ,1983 ; Tietz, 1987; Donald ,2002*) . Nos résultats révèlent une diminution de l'activité des LDH chez les rats traités aux 5^{ème} jour de traitement , que l'on peut expliquer par la faible concentration sérique du glucose .

Les gamma glutamyl transférase (γ GT) jouent un rôle dans le transfert du groupement γ -glutamyl , intervenant dans la biosynthèse du glutathion . Son dosage permet d'évaluer certains pathologies hépatiques et biliaires(*Pratibha , 2006*).

Dans ce travail , l'activité enzymatique des γ GT a diminué significativement au 10^{ème} jour de traitement . Cette diminution peut s'expliquer par le fait que devant ce type de toxicité, le foie ne parvient pas à éliminer une concentration aussi élevée de métabolites toxiques. Il en ressort une inhibition de l'activité de γ GT , par conséquent une diminution de la teneur en glutathion hépatique.

La cellule vivante peut se défendre par plusieurs systèmes de détoxifications dont le plus important est celui du glutathion , ce dernier est un tripeptide (L- γ -glutamyl –L-cystéinyglycine) dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides , des protéines et des acides nucléiques . En situation de stress oxydant , son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de cosubstrat des GPx et des GSH- transférases (*Kaplowitzn,1997*).

Nos résultats révèlent que 1g/kg de graines pulvérisé de *Datura innoxia* administré par voie orale pendant 1,3,5,7 et 10 jours a provoqué une diminution progressive de teneurs hépatique en glutathion mais qui ne devient statistiquement significative qu'aux 7^{ème} et 10^{ème} jour . Cette diminution est le résultat de la liaison du glutathion aux métabolites réactifs toxiques par le biais du groupement (SH). D'un autre côté la réduction du taux de GSH peut être expliquée par l'utilisation de ce dernier par la GST dans la réaction de conjugaison (*Leeuwenburgh ,1995; Malaya , 2004*) .

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail , nous pouvons conclure , que l'administration à court terme de 1g/kg de poids corporel de graines pulvérisées de *Datura innoxia* par voie orale chez des rats femelles Wistar adultes provoque:

- Un déficit pondéral avec une augmentation des poids relatif moyen du foie, du rein et du cerveau et une diminution de la consommation alimentaire par rapport au témoin.
- Un effet anticholinergique réversible des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine, ce qui favorise une altération de la mémoire à court terme (amnésie antérograde) et les fonctions cognitifs.
- Une perturbation du métabolisme biochimique sérique.
- Une déplétion du système de détoxification glutathion- dépendant.

A partir de ces résultats, il serait souhaitable de :

- Extraire et isoler les principes actifs tels que la scopolamine et l'atropine par HPLC.
- Déterminer la concentration en scopolamine et en atropine dans le sang et les urines.
- Etudier les capacités de détoxification à travers les dosages de la catalase, du glutathion peroxydase et du superoxyde dismutase.
- Réaliser des études subchroniques et chroniques.

Annexes

I. Préparation des solutions d'AChE:

- **Tampon Tris (0.1M, PH=7) :** 1.211 g de Tris , 90 ml d'eau distillé et ajuster avec Hcl (1N)
- **Tampon Tris (0.01M, PH=7) :** 0.1211 g de Tris , 90 ml d'eau distillé et ajuster avec Hcl (1N)
- **Détergent :** 38 ,03mg éthylène glycol tris –bita aminoéthyl-éther N NN'N' ou EGTA, 1ml triton X 100 % , 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris 0.01M.
- **DTNB (0,1 M, pH 8) :** 39,6 mg de DTNB, 15mg CO₃ Na, dans 10ml de tampon Tris (0,1 M; PH 7).
- **Acétylthiocholine iodide (Sigma R):** 118 mg d Acétylthiocholine iodide , 5 ml d'eau distillé.

II. Préparation des solutions du glutathion :

- Acide sulfo-salicylique à 0.25%: 0.25 ml SSA , 100ml d'eau distillée.
- Solution d'homogénéisation EDTA (0.02M) : 0.37224 g, 50ml d'eau distillée.
- Tampon Tris- EDTA (PH 9.6) : 2.422 g de Tris , 0.3722 d'EDTA , 50 ml d'eau distillée et ajusté avec le NaOH (0.1 N) ou HCl (1N).
- DTNB (0.01 M) : 0.0396 g de DTNB , 10 ml de methanol.

II. Réactifs du dosage des paramètres biochimique :

1. Glucose :

Les Réactifs	Composition	concentration
Réactif (R1) (Tampon) pH= 7.5	-Phosphate - Phénol -Glucose oxydase - Peroxydase -4 – aminoantipyrine	70 mmol/l 5 mmol/l > 10 U/l 1 U/l 0.4 mmol/l
Réactif (R2) Etalon de glucose	-Glucose	100mg/dl (5.55 mmole/l)

2. Triglycérides:

Les Réactifs	Composition	concentration
Réactif (A)	-p Chlorophénole	2 mmol/l
Tampon, pH= 7.5	- ESPAS (pH 7.5)	50 mmole/l
Réactif (B)	- Lipoprotéines Lipase	>150000 U/l
	-Glycérol Kinase	>500 U/l
	-Glycérol –3-Phosphate Oxydase	> 2500 U/l
	- Peroxidase	440 U/l
	-Amino –4- Antipyrine	0.1 mmol/l
	-ATP	0.1 mmol/l
Réactif d'Etalon(C)	-Triglycérides aqueux primaire standardisé	200mg/dl (2 g/l)

3.Cholesterol totale:

Les Réactifs	Composition	Concentration
Réactif (A)	- Pipes pH 6.9	90 mmole/l
	- Phénol	26 mmole/
Réactif (B)	-Cholestérol estérase	300 U/l
	-Cholestérol oxydase	300 U/l
	-Peroxydase	1250 U/l
	-4 – Aminoantipyrine (4 – ap)	0.4 mmole/l
Réactif Etalon (C) :	Étalon de cholestérol aqueux primaire	200mg/dl (2 g/l)

4. Urée :

Les Réactifs	Composition	Concentration
Réactif (A) pH 6.7	-Phosphate -EDTA -Salicylate de sodium -Nitroprussiate de sodium	20 mmole/l 2 mmole/l 62 mmol/l 3.4 mmole/l
Réactif (B)	-Uréase	>500 U/l
Réactif (C) Etalon	-Etalon Urée	50 mg/100ml
Réactif (D)	-Hypochlorite de sodium -Hydroxyde de sodium	7 mmole/l 150 mmole/l

5. Créatinine :

Les Réactifs	Composition	Concentration
Réactif (A)	-Acide Picrique	25 mmole/l
Réactif (B)	-Hydroxyde de sodium	0.2 mmole/l
Réactif (C)	-Étalon de l'urée	50 mg/dl

6. Acide urique:

Les Réactifs	Composition	concentration
Réactif (A) Tampon pH 7.5	- 4 – Aminoantipyrine - 3.5 Dichloro2- hydroxy benzène sulfonate - Uricase	4 mmole 2 mmole 150 U/l 10000 U/l
Réactif (B) Etalon	- Acide Urique	5 mg/dl

7. TGO/ ASAT :

Les Réactifs	Composition	concentration
Réactif (R1) :	- Solution Tris Tampon pH 7.8 -L .Aspartate	80 mmol/l 200 mmol/l
Réactif (R2)	-NADH -LDH -MDH -Oxoglutarate	0.18 mmol/l 800 U/l 600 U/l 12 mol/l

8. TGP/ ALAT:

Les Réactifs	Composition	concentration
Réactif (R1) :	-Solution Tris Tampon pH 7.8 -L. Alanine	100 mmol/l 500 mmol/l
Reactif (R2)	-NADH -LDH -Oxoglutarate	0.18 mmol/l 1200 U/l 15 mmol/l

9. Phosphatase alcaline (ALP):

Les Réactifs	Composition	concentration
Réactif (R1) :	- Tampon Diethanolamine pH 9.8 -magnesiumsulfate -Dértergent	1.0 mmol/l 0.6 mmol/l > 0.1%
Reactif (R2)	- P-Nitrophenylphosphate	2.0 mmol/l

10. Lactate déshydrogénase (LDH):

Les Réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R1) :	-Tampon Tris pH 7.5 -Pyruvate	80 mmol/l 1.6 mmol/l
Reactif (R2)	- NADH	0.18 mmol/l

1. Créatinine :

2.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alebiowu G., Femi-Oyewo M.N., E lujoba A.A. & Ojo O.S. , 2007. Toxicity studies on *Datura metel L.* with reference to official stramonium. *Herbal pharmacotherapy* . 7: 1-12.

Baba Aissa F., 1991. Les plantes médicinales en Algérie .*Ed. Bordas.*181p.

Barturs R.T., Dean HI.R.L.,Beer H. et Lippa A.S. ,1982. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction . *Science* 217 : 408-417.

Bastianelli C., Bénézech A. & Cammas R., 1999. Usages de drogues de synthèse. Réduction des risques dans le milieu festif .*Techno.Médecine du monde, Mission rave, paris.*p.234 .

Bayle J.J., 1984. Cultures en conflit ?. *Université de Saint- Etienne* .p 204.

Ben-Barak J. & Dudai Y.,1980. Scopolamine induces an increase in muscarinic receptor level in rat hippocampus . *Brain Res* 193 : 309.

Bezanger L. , Pinkas M. & Tork M., 1980 .Les plantes médicinales des régions tempérées .*Ed. Maloine*, p. 439.

Bezanger L. , Pinkas M. & Tork M., 1986 . Les plantes dans la thérapeutique moderne .*Ed.Maloine*, p-p : 186-529.

Bianchini F., 1975. Guide vert des plantes et des fleurs .*Ed. Solar*, p.125.

Boulos L., 1983 . Medicinal plant of the wole . *Ed.Maloine* ,p. 164.

Bourin M. & Jolliet P., 1999. Pharmacologies générale et pratique .*Ed Ellips S.A.*p.61

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protien utilizing the principale of protien dye binding . *Anal. Biochem.*72 : 248- 254.

Brimijoin S., 1983. Molecular forms of acetylcholinesterase in brain , nerve and muscle : nature, localisation and dynamics .*Prog. Neurobiol.* 21 : 291.

Brown J.H. & Taylor P., 2001. Muscarinic receptor agonists and antagonists , in : **Hardman J.G., Limbird L.E.**, eds .**Goodman & Gimans**'s .*The pharmacological basis of therapeutics* , Newyork: Mac Graw-Hill, p.155.

Bruneton J. ,1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed: Technique et documentation, *Lavoisier*, p . 783-831.

Brust J.C.M. & Garcia-Larrea L., 2007. Aspect neurologiques de l'addiction .Elseveir Masson

Burke R.E., 1986. The relative selectivity of anticholinergic drugs for the M1 and M2 muscarinic receptor subtypes .*Movement Disorders.* 1 : 135 – 144.

Burtis A. & al ., 1999.Tietz text book of clinical chemistry ,3^{ed} AACC.

Bymaster F.P. , Heath I., Hendrix J.C. & Shannon H.E., 1993. Comparative behavioral and neurochemical activities of cholinergic antagonists in rats . *Journal of pharmacology and Experimental Thetapeutics.* 267 : 16 -24.

Carli M., Bonalumi P. & Samanin R., 1998 . Stimulation of 5- HT_{1A} receptors in the dorsal raphe reverses the impairment of spatial learning caused by intrahippocampal scopolamine in rats . *Eur. J. Neuroscience.* 10: 221- 230.

Cassagnes A.M., 1982 . Etude de l'influence des conditions de néoformation in vitro sur le conteneue alcaloïdique chez *Datura innoxia* - D.E.A. Biologie et Physique végétal. *Université Pierre et Marie Currie.* Parie 6èm 1-2.

Caulfield MP., 1993. Muscarinic receptors characterization , coupling and function . *Pharmacol. Ther.* 58 : 319.

Chamayou J. , 2002 . Les dangers du Haschich : Les derniers découverts scientifiques sur le cannabis . Thèse pour le Doctorat en médecine. Faculté mixte de médecine de Rouen .176 p.

Chan T.Y., 1995. Anticholinergic poisoning due to chinese herbal medicine « Datura metel – yangjinhua » .*Vet Hum Tox.*37 : 156-157.

Clement S., 1987. Larousse agricole.- éd. Larousse, Paris.

Corey-Bloom J., Anand R. & Veach Z., 1998. Arandomized trial evaluating efficacy and safety of ENA 713 (Rivastigmine tartrate) , a new acetylcholinesterase inhibitor , in patients with mild to moderately sever Alzheimer’s disease .*International journal of Geriatric psychopharmacology* . 1 : 55-65.

Cortamira O. & Durselen G., 1992. *Datura ferox* projet .Swine experiment .Swine digestibility experiments .N°.2-4. Contribution to Datura workshop. Joint DG XII-DG VI .Seminar Brussels,1-2.

Delaveau P. & Dabelmas A.M., 1978 . Guide des plantes dangereuses .Ed . Maloine S.A. p. 190.

D'andreta C.,1969 . Les plantes medicinales. Documentaire en couleur .Ed. Kister,Erasme. 60 p.

Debelmas A.M. , 1978. Guide des plantes dangereuses. Ed : Maloine S.A . Paris. p.p. 113-114

Djendli H. , 2002. Inventaire des plantes toxiques dans la région d’EL-KALA « P.N.E.K. ». Extraction des alcaloïdes de *Datura meteloïdes* L. *Mémoire de Magister Université de Annaba* p.144.

Dixon C.E., Ma X. & Marion D.W., 1997 . Reduced evoked release of acetylcholine in the rodent neocortex following traumatic brain injury .*Brain Research*. 749 : 127-130.

Donald V. Yves G. , Hubert D. , Judith G. & Voet A., 2002 . Biochimie .*Ed. De Boekuniversité*. p.78 .

Dugan G.M , Gumbmann R. & Mendel F., 1989. Toxicological évaluation of jimson weed (*Datura stramonium*) seed . *Food Chem toxicol.* ,27: 501-510.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Anders, F. & Featherstone R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95.

Evans W. & Partridge M. , 1953. Alkaloid biogenesis part 11 : changes in the ontogenetic production of alkaloid in *Atropa* and *Datura*. *J.pharm. pharmacology* .5 : 772 – 779.

Fossati P. & al., 1982. *Clin Chem* .28 (10) : 2007-2080.

Frey H., Huang Y.Y. & Kandel ER ., 1993. Effect of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons .*Science* . 11 :260

Fritz –Martin E., 1984. Plantes vénéneuses , vertus et danger .*Ed. Saliva Zurich*.p.123.

Gay G., Olié J.P., Löö H. & Denker P., 1986. Aspects cliniques pharmacologiques et thérapeutiques de l'intoxication au datura .*Evolution psychiatrique* .51(3) : 671-682.

Graham-brown R., 1992 . Toxicity of chinese herbal remedies *lancet*. 340 : 673-674.

Guignard J.L., 1989 . Abrèges de botanique .*Ed. Masson* ; Paris p. 259.

Gontier E., Herouart D. & Sangwan-Norreel B.S., 1991 . Analysis of the potentiel use of androgénic *Datura innoxia* for the development of cell cultures producing high amounts tropane alkaloids. *J. Exp. Bot.* 42 (241): 1073-1076.

Herouart D., Sangwan R.S., Fliniaux M.A. & Sangwan-Norreel B.S., 1988. Variation on the leaf alkaloid content of androgenic diploid plant of *Datura innoxia* Mill .*Planta medica*.1: 14-17.

Hiraoka N., Tashimo K., Kinoshita C. & Hiro'oka M., 1996. Genotypes and alkaloid content of *Datura metel* varieties . *Bio.Pharm.Bull.*19(8) : 1086 – 1089.

Hoffer A. & Osmond H.,1967 . The hallucinogens, New York, *Academic Press*.

Hulm E.C., Birdsall N.J.H. & Buckley N.J., 1990. Muscarinic receptor subtypes .*Annual Review of pharmacology and Toxicology* , 30 : 633 – 673.

Jimfu Y.Y., Shou Y., Weiga W., Guixin X. & Mingheng C., 1988 . Mutagenicity and teratogenicity of chlorpromazine and scopolamine , *chinese med J.*, 101: 339- 345 .

Kaplan L.A., 1984. Glucose .Kaplan A. et al .*Clin Chem* the C.V.Mosby Co.St Louis Toronto .Princeton ,1032-1036.

Kaplowitzn , 1997- Hepatotoxicity of herbal remedies . Insights into the intricacies of plant – animal warfare and cell death .*Gastroenterology* ,133: 1408-1412.

Katayama S., Ishizaki F., Yamamira Y., Khoriyama T. & Kito S. , 1990. Effects of anticholinergic antiparkinsonian drugs on bindin of muscarinic receptor subtypes in rats brain . *Research communications in chemical Pathology and Parmacology*, 69 : 261 -270.

Krishna Murthy B. , Nammi S. , Kota M.K., Krishna Rao R.V., Kteswara N. & Annapurna A., 2004 . Evaluation of hypoglycemie andantihyperglycemic effects of *Datura metel* L. seeds in normal andalloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* , 91 : 95-98.

Larrey D. Vial T. , Pauwels A., Castot A., Biour M., David M. & Michel H., 1992 . Hepatitis after germander (*teucrium chamaedrys*) administration : another instance of herbal medicine hepatotoxicity .*Ann Intern Med .*, 171 : 129-132 .

Larrey D., 1997 . Hepatotoxicity of herbal remedies .*J.Hepatol.*, 26 :47 -51.

Leete E., 1979 . Biosynthesis and metabolism of tropane alkaloids. *Planta medica*, 36 (2) : 4-52 .

Lemoine C., 2004. Les plantes toxiques Gissort – nature .Ed. *Jean-paul Gissort*, p-p.214- 216.

Lesley B., 1996 . Plantes aromatiques et médicinales .Ed. *Bordas*, 304 p.

Leuwenbugh C. , 1995. Glutathione depletion in rested and exercised mice : biochemical consequence and adaptation . *Arch Biochem Biophys.*,316 :941-949

Luttgen M., Elvander E.,Vather M. & Oveogren S.,2005. Analysis of the role of 5HT₁ receptors in spatial and aversive learning in the rat . *Neuropharmacology*, 48 : 830-852.

Lydon R.G. , 1995 . Cholinergic neurons and memory : an historical perspective and overview of current research . *CNS Neurotransmitters and Neuromodulators :acetylcholine* .London .CRC Press,197-232.

Mahdeb N., 2001. Effet de l'extrait des feuilles de *Datura stramonium* sur le foie et le cerveau des rats .Thèse de Magistère .Université Farhat Abbas .Setif.

Malaya G. ,Upal KM., Thangaval SK., Periyasamy G. & Ramanathan SK. 2004. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Bauhinia racemosa* against paracetamol and carbon tetrachloride induced liver damage in rats .*Iranian .Pharmacology et thérapeutic* , 3 : 12-20.

Mechler E & Kohlenbach H.W., 1978 . Alkaloid content in leaves of diploid and haploid *Datura* species. *Planta Medica*. 33 : 350- 355.

- Megee J.H.** et al., 1998. Acute, Subchronic, and chronic toxicity studies with Felbamate, 2phenif - 13- propanediol dicarbamate. *Toxicologie science* 45 : 226.
- Millan J.L.**, 2005 . Alkaline phosphatase structuring substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes . *Purinergie Signalling*. 2: 335- 349.
- Moreau F.**,1948 . Alcaloïdes et plantes alcaloïfères.- Presse Universitaire de France. 126 p.
- Morrisset J. & Loisel J.**,1985 . Alteration of the rat exocrine pancreas after chronic scopolamine administration . *Pharmacology* ,30 : 308-313.
- Moulin M. & Coquerel A.**, 2002. Pharmacologie . *Elsevier Masson* .p-p. 326-327.
- Muller –Esterl W.**, 2007. Biochimie et biologie moléculaire .*Ed. Dund*, paris p.414.
- Murray R.L.**,1984. Creatinine .Kaplan A. et al .clin chem the C.V.Mosby Co.St Louis .Toronto Princeton .1261-1266.
- Murray R.L.**, 1984. Aspartate aminotransferase .Kaplan A. et al .clin chem the C.V.Mosby Co.St Louis .Toronto Princeton .1112-1116.
- Naghdi N. , Rezaei M. & Fathollahi Y.**, 2005 . Microinjection of ritanserin into the CA1 region of hippocampus improves scopolamine induced amnesia in adult male rats . *Behavioural Brain Research*, 168: 215- 220.
- Naito H.K.**,1984. Cholesterol. Kaplan A.et al .Clin Chem the C.V.Mosbyco.St Louis. Toronto .Princeton .1194-11206 .
- Nelson P.D., Mercer H.D., Essig H.W. & Minyard J.P.**, 1982 . Jimson weed seed toxicity in cattle . *Vet. Hum. Toxicol.*, 24 : 321 – 325.

Neal M., 2003. Pharmacologie médicale. *Ed De Boeck universite* p. 315.

Nikolaos P. & Nikolaos S., 2006. *Cocus sativus L.* extracts antagonize memory impairments in different tasks in the rat . *Behavioural Brain Research*. 173 : 112-115.

Nikolaos P., 2007. Effects of scopolamine an L-NAME on rat's performance in the object location test. *Behavioural Brain Research*. 179 :294-298.

Paris M. & Hurabille M. ,1981. Abrégé de matière médicale pharmacognosie, tome -1- .Ed.: Masson, , p-p : 282-284.

Paris R.R & Moyse H., 1971. Les Solanacées médicale.- Matière médicale. 3è^m édit., Masson et Cie Edit., Paris, 76-79.

Park CH., 2000. Dehydroevodimine HCl prevents impairment of learning and memory and neuronal loss in rat models of cognitive disturbance . *J. Neurochem*. 79: 244- 253.

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: 29-39.

Pol D.,2002. Dictionnaire encyclopédie des drogues .Ed.Ellips, paris ,p.239.

Poletti A. ,1987. Fleurs et plantes médicinales. *Ed : DELA chauk et nestle S.A.* , paris .

Pratibha R., Sameer R., Pamanabh V.R., Dayanand A.B. & Chitra Y.D., 2006 . Enzymatic studies of cisplatin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats. *European journal of pharmacology* .

Reitman S. & Frankel S.J., 1957. Clin path, 28-56.

Rodzoko V., 1999 . Abécédaire de phytothérapie . *Ed. Copyrigh* . 192 p.

Samuelsson G., 1992. Drugs of natural origin. A text book of pharmacology.- Stockholm,p.134.

Schultz A., 1984.Uric acid .Kaplan A. et al.clin chem The C.V..Mosby C.St. Louis Toronto princeton .1261-1266.

Sénécal P.E., 1998. Intoxications atropinique d'origine végétale au Québec .*Toxicologique* ,vol 14 N° 01.

Shinichi H., Mitsuhiro N., Atsushi I., Sakae A., Tsutonu O. & Yukio O., 1996. Effect of Hachimi –jio- gan on scopolamine-induced memory impairment and on acetylcholine content in rat brain. *Jour of Ethnopharmacology* , 50 : 77-84

Shukla Y.N & Thakur R.S., 1992. Tropane alkaloids from *Duboisia myoporoides*. *Phytochen.*, 31 (12): 4380-4390.

Simon J.E. , Yang R.S.H. & Berman E., 1995. Evaluation of the nephrotoxicity of complex mixtures containing organic metals : avantages and disadvantages of the use of real-world complex mixtures . *Environ health Prespect* ,103 : 67-71

Somon E., 1987. Arbres, arbustes et arbrisseaux en Algérie. *Ed. O.P.U.* Alger .143 p.

Steenkamp P.A., Harding N.M., Van Heerden F.R. & Van Wyk B.E., 2004 . Fatal Datura poisoning : Identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography / Photodiode array / Mass spectrometry. *Forensic Science International* , 145: 31-39.

Story F. , 1992. plantes médicinales. ed : Grùnd, paris, p.22.

Southon S. et Gea J. & Jhonson T.T., 1984. System diet for mice and rats . *Brit .Nutr.* 58 :371 -380.

Tan U., Senyuva F., Marangoz C., 1978. Electrocorticographic effects of topically applied scopolamine .*Epilepsia*. 19 : 223-232.

Tietz N.W., 1987 . Fundamentals of clinical chemistry in **Ribeiro S., Guilhermino L. , Sousa J.P.** et **Soares A.M.V.M.** Novel bioassay on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil esopods . *Ecotoxicology and Environnemental Safty* . 44: 287-293.

Tietz N.W. & al. , 1995. Clinical Guide to labratory Tests 3^{ed} AACC.

Trinder P.,1969. Ann Clin Biochem , 6 : 24-33.

Valla J. P., 1983 . L'expérience hallucinogens, Ed. : *Masson*, Paris.

Van kempen G.J.M., Beelen G.M. & kuypars A.W.A.H.,1992 . Toxicity of Datura alkaloids in pigs . ILOB Report n I ., 92-3779 in **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: 29-39.

Vassault A., 1983. Lactate deshydrogenase in Ribeiro S., **Guilhermino L. , Sousa J.P.** et **Soares A.M.V.M.** Novel bioassay on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil esopods. *Econ. Entonol.*, 73: 189.

Verdrager D.J. , 1978. Quelques notions sur les principes actifs des plantes médicinales. in : Ces médicaments qui nous viennent des plantes. Ed. *Maloine* , p-p: 15-17.

Waller G.R. & Dermer OC., 1981. The biochemistry of plant. Comprehensive treatise. 7. *Academic press*. Newyork ,345p.

Wang R.H., Bejar C. & Weinstock M., 1999. Gender differences in the effect of rivastigmine on brain cholinesterase activity and cognitive function in rats. *Neuropharmacology* .39 : 497-506.

Weaver S.E , Dirks V.A & Warwick S.I. ,1985 .Variation and climatic adaptation in northern populations of *Datura innoxia* . *Can .J.Bot* . 63 : 1303-1308.

Weaver S.E et Warwick S.I.,1984. The biology canadian weeds *Datura stramonium* .*Can J. Botanic* 64 : 979-991.

Weckbeker G. & Cory J.G. , 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathion – depleted mous leukemia L 1210 cells in vitro . *Cancer Letters* , 40 : 257-264.

Westen D. & Garitte C., 2000. Psychologie: Pensé , Cerveau et culture. *De Boeck université*. P.67.

Wenge C. & al. , 1984. Alkaline phosphatase .Kaplan A. et al. Clin chem the C.V.Mosby CO.St.Louis Toronto princeton, 1094-1098.

Worthington T.R. ,Nelson E.P. & BryantM.J. ,1981. Toxicity of thornapple (*Datura stramonium* L) seeds to the pigs.Vet.Rec. , 108: 208-211.

Yves C. & Christien J., 2008. Pharmacologie .Elsevier Masson, 589 p.

Zetlaoui P. & Lenoble M., 2004. Intowications aux urgences .Collaborateur collectif .Pierre carli, publier pa Elsevier Masson ,266 p.

الشحات نصر ابو زيد. 2000. النباتات الطبية و الاعشاب الطبية. دار العربية للنشر و التوزيع. ص 176.

