

Année 2022

N° : MM382022

MÉMOIRE DE FIN D'ETUDES

MASTER DE « **Biotechnologie médicale** »

OPTION « **Biomédicale** »

Intitulé

Etude de la toxicité de *Cannabis sativa* et de son effet analgésique

Soutenue le 30/09/2022, par :

LABYAD Asmae

Devant le jury composé de :

Pr. AANNIZ Tarik Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.....**Président**

Pr. BENAICH Souad Faculté des Sciences de Rabat.....**Encadrante**

Pr. ABBOUSSI Oualid Faculté des Sciences de Rabat**Examineur**



A mes très chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer le respect, l'amour éternel et la considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'a porté depuis l'enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes frères et ma sœur,

A tous les membres de ma Famille,

Je vous dédie en signe de reconnaissance ce travail qui n'a pu être accompli qu'avec vos encouragements et votre collaboration.



Je tiens tout d'abord à remercier et en premier **DIEU**, le Tout Puissant et Miséricordieux qui m'a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier Professeur **IBRAHIMI Azeddine**, Directeur du laboratoire de Biotechnologie médicale à la faculté de médecine et pharmacie Rabat. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

J'adresse mes sincères remerciements à notre coordinatrice Madame **OUADGHIRI Mouna**, professeur à la faculté de médecine et pharmacie à Rabat, pour ses efforts pendant les deux années précédentes malgré les circonstances difficiles du Covid 19.

J'exprime mes remerciements les plus sincères à Madame **BENAICH Souad**, professeur à la faculté des sciences à Rabat, de m'avoir chaleureusement accueillie au sein de son équipe de recherche, de m'avoir guidée et orientée vers ce travail ainsi que pour son encadrement, sa patience, ses conseils judicieux et sa disponibilité inconditionnée.

Mes remerciements vont également à Monsieur **TAGHZOUTI Khalid**, chef du Laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des sciences de Rabat, de m'avoir accueillie au sein de son Laboratoire.

Mes remerciements s'adressent à Madame **HASSIKOU Rachida**, professeur à la faculté des sciences à Rabat, pour son aide et sa disponibilité permanente.

J'exprime ma profonde gratitude et mes vifs remerciements aux membres de jury Monsieur **AANNIZ Tarik**, professeur à la faculté de médecine et pharmacie à Rabat, et Monsieur **ABBOUSSI Oualid**, professeur à la faculté des sciences à Rabat, pour le temps qu'ils m'ont consacré pour juger ce travail.

Mes vifs remerciements à **EL MSKINI Fatima Zahra**, doctorante à la faculté des sciences de Rabat, ses encouragements, ses qualités scientifiques et humaines, son aide méritent toute admiration.

Je ne manquerai pas de remercier **SAYAH Oumayma**, **MACHICH Omar**, **EL MERRAKCHY Salma**, **SADEQ Mohamed Amine**, **IBORK Hind**, **EL IDRISSI Sara**, **AKOH Rania**, **BALAFRAJ Taha** et toute l'équipe de physiologie et de physiopathologie pour son aide et ses encouragements.

Et certainement, je n'oublie pas mes camarades, amis et toute personne ayant contribué à la finalisation de ce projet.

Résumé

Titre : Etude de la toxicité de *Cannabis sativa* et de son effet analgésique.

Auteur : LABYAD asmae

Mots clés : *Cannabis sativa*, toxicité aiguë, DL50, toxicité subchronique, activité analgésique.

Cannabis sativa est une plante médicinale généralement connue par son effet psychotrope. Très répandue au Nord du Maroc, son usage médicinal a été adopté en 2021 selon le Dahir 1.21.59 portant l'application de la Loi 13.21 relative aux usages licites du cannabis.

Notre objectif dans ce travail est de déterminer le rendement, la toxicité aiguë à plusieurs doses et la toxicité subchronique de l'extrait aqueux de *C. sativa*, ainsi que l'évaluation de son effet analgésique. Le rendement obtenu a été calculé à partir des extraits issus de la technique d'extraction par décoction. L'évaluation de la toxicité aiguë a été effectuée par administration, par voie orale chez des souris swiss, des doses de 2000, 1000 et 500 mg/kg de l'extrait aqueux du *Cannabis sativa*, de même la toxicité subchronique a été réalisée en administrant les doses 25, 50 et 100 mg/kg du même extrait par gavage chez les souris femelles uniquement. Enfin, l'effet analgésique a été démontré par le test d'immersion de la queue des souris dans l'eau chaude après l'administration de la dose 25 mg/kg de l'extrait aqueux du cannabis.

Les résultats ont montré que les trois variétés Khardala, Critical et Beldia de l'extrait du cannabis ont présenté un rendement de $19,72 \pm 0,3$ %, $15,96 \pm 0,06$ % et $15,735 \pm 0,63$ % respectivement. L'étude de la toxicité aiguë a révélé que l'extrait aqueux de la variété Khardala a une DL50 supérieure à 2000 mg/kg et que cette dose est la dose maximale tolérée, alors que la toxicité subchronique nous a montré quelques signes de toxicité et aucun cas de décès n'a été enregistré. Par ailleurs, l'extrait aqueux du cannabis a révélé une absence d'effet analgésique à une dose de 25 mg/kg.

En conclusion, on peut avancer que le co-produit de la plante étudiée ne représente aucune létalité à la dose de 2000 mg/kg d'extrait aqueux et ne possède pas une activité analgésique à la dose 25 mg/kg.

Abstract

Title : Study of the toxicity of *Cannabis sativa* and its analgesic effect.

Author : LABYAD Asmae

Key words : *Cannabis sativa*, acute toxicity, LD50, subchronic toxicity, analgesic activity.

Cannabis sativa is a medicinal plant generally known for its psychotropic effect. Widespread in the North of Morocco, its medicinal use was adopted in 2021 according to Dahir 1.21.59 implementing Law 13.21 relating to the lawful uses of cannabis.

Our objective in this work is to determine the yield, acute toxicity at several doses and subchronic toxicity of the aqueous extract of *C. sativa*, as well as the evaluation of its analgesic effect. The yield obtained was calculated from the extracts obtained by the decoction. The evaluation of the acute toxicity was carried out by administering, orally in swiss mice, the doses of 2000, 1000 and 500 mg/kg of the aqueous extract of *Cannabis sativa*, in the same way the subchronic toxicity was carried out by administering the doses 25, 50 and 100 mg/kg of the same extract by gavage in female mice only. Finally, the analgesic effect was demonstrated by the tail immersion test of the mice in hot water after the administration of the dose 25 mg/kg of the aqueous extract.

The results showed a yield of $19.72 \pm 0.3\%$, $15.96 \pm 0.06\%$ and $15.735 \pm 0.63\%$ of the three varieties Khardala, Critical and Beldia respectively. The acute toxicity study revealed that the aqueous extract of Khardala variety has an LD50 higher than 2000 mg/kg and this dose is the maximum tolerated dose, while the subchronic toxicity showed us some signs of toxicity such as stress, aggressiveness and diarrhea. On the other hand, the aqueous extract showed no analgesic effect at a dose of 25 mg/kg body weight.

In conclusion, the co-product of the studied plant represents no lethality at the dose of 2000 mg/kg of aqueous extract and does not possess analgesic activity at the dose of 25 mg/kg.

ملخص

العنوان : دراسة سمية القنب ساتيفا وتأثيره كمسكن

الكاتب : لبيض اسماء

الكلمات المفتاحية : *Cannabis sativa* ، السمية الحادة، الجرعة المميّنة 50، السمية شبه المزمنة، النشاط المسكن.

القنب ساتيفا هو نبات طبي معروف عموماً بتأثيره النفسي. وهو واسع الانتشار في شمال المغرب، تم اعتماد استخدامه الطبي والعلاجي في عام 2021 وفقاً للظهير 1.21.59 الذي ينفذ القانون 13.21 المتعلق بالاستخدامات المشروعة للقنب.

هدفنا من هذا العمل هو تحديد المردود، والسمية الحادة في عدة جرعات والسمية شبه المزمنة من المستخلص المائي للقنب ساتيفا، فضلاً عن تقييم تأثيره كمسكن. تم حساب المردود الذي تم الحصول عليه من المستخلصات الناتجة عن تقنية الاستخلاص بالإغلاء. تم تقييم السمية الحادة وشبه المزمنة عن طريق إعطاء، عن طريق الفم للفئران السويسرية، جرعات 2000 ملغم/كغم و1000 ملغم/كغم و500 ملغم/كغم وجرعات 25 و50 و100 ملغم/كغم على التوالي من المستخلص المائي للمنتجات المشتركة للقنب ساتيفا عن طريق الفم. أخيراً، تم إثبات التأثير المسكن من خلال اختبار غمر ذيل الفئران في الماء الساخن بعد إعطائهم للجرعة 25 ملغم/كغم.

أظهرت النتائج مردوداً قدره $0.3 \pm 19.72\%$ و $0.06 \pm 15.96\%$ و $0.63 \pm 15.74\%$ من الأصناف الثلاثة خردالة، الحرجة وبلدية على التوالي. كشفت دراسة السمية الحادة أن المستخلص المائي لصنف خردالة يحتوي على جرعة مميّنة 50 أكبر من 2000 ملغم/كغم وأن هذه الجرعة هي الجرعة القصوى المسموح بها، بينما أظهرت لنا السمية شبه المزمنة بعض علامات السمية مثل الإجهاد والعدوانية والإسهال. علاوة على ذلك، كشف المستخلص المائي عن عدم وجود تأثيره كمسكن بجرعة 25 ملغم/كغم من وزن الجسم.

في الختام، يمكن القول أن المنتج المشترك للنبات المدروس لا يمثل أي فتك بجرعة 2000 مجم /كجم من المستخلص المائي ولا يمتلك نشاطاً مسكناً بجرعة 25 ملغم/كغم

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

11-OHTHC : 11-hydroxy THC

2-AG : 2- Arachidonoyl glycérol

7-OH-CBD : 7-hydroxy cannabidiol

AMPc : Adénosyl monophosphate cyclique

ATP : Adénosine triphosphate

B : Beldia

C sativa : *Cannabis sativa*

CB1-R : Récepteurs aux cannabinoïdes de type 1

CB2-R : Récepteurs aux cannabinoïdes de type 2

CBD : Cannabidiol

CDME : Corne Dorsale de la Moelle Epinière.

Cr : Critical

CYP : Cytochrome P

DL50 : Dose létale 50

Endo-CB : Endocannabinoïde

F : Foie

g : gramme

G : vitesse de rotation de la centrifugeuse

GRD : Ganglion de la Racine Dorsale

h : Heure

IASP : International Association for the Study of Pain

J : Jour

Kg : kilogramme

Kh : Khardala

LPA : Laboratoire de Physiologie Animale

MAPK : Mitogen-activated protein kinase

mg : Milligramme

ml : Millilitre

NT : Non traitée

OCDE : Organisation de Coopération et Développement Economique

PC : Poids corporel

PEA : Palmitoyl-éthanolamide

PKA : Protéine kinase A

R (%) : Rendement en pourcentage

R : Rein

RCPG : Récepteurs couplés à des protéines G

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

Rpm : Rotation par minute

RVM : Rostro-Ventraux

Mésencéphaliques

SEC : Système endocannabinoïde

SEM : Standard error mean

SGPA : Substance Grise Péri-Aqueducal

SNC : Système nerveux central

T : Traitée

THC : Δ 9-tétrahydrocannabinol

TP : Tissus Périphériques

Liste des figures

Figure 1 : Partie de la tige de <i>Cannabis sativa</i>	3
Figure 2 : Face abaxial (gauche) et adaxial (droite) d'une feuille de <i>Cannabis sativa</i>	4
Figure 3 : Appareil racinaire de <i>Cannabis sativa</i>	4
Figure 4 : Inhibition de l'activité d'une terminaison présynaptique par un cannabinoïde....	8
Figure 5 : Les quatre phases de la nociception.....	10
Figure 6 : Circuit cannabinoïde endogène.....	13
Figure 7 : <i>C. Sativa</i> var. Beldia	19
Figure 8 : <i>C. Sativa</i> var. Khardala.....	19
Figure 9 : <i>C. Sativa</i> var. Critical.....	19
Figure 10 : Etapes de la préparation de la poudre.	20
Figure 11 : Photo d'un groupe de souris de l'animalerie du LPA	21
Figure 12 : Montage de la technique d'extraction, la décoction.....	22
Figure 13 : Extrait aqueux de <i>C. sativa</i> par décoction.....	22
Figure 14 : Etapes de préparation de la solution aqueuse de <i>C. sativa</i>	23
Figure 15 : Administration de l'extrait aqueux du <i>C. sativa</i> par gavage (LPA, 2022).....	24
Figure 16 : Sang après centrifugation	26
Figure 17 : Plasma collecté	26
Figure 18 : Prise de poids et conservation des organes.....	26
Figure 19 : Rendement d'extraction par la technique de décoction.....	28
Figure 20 : Figure montrant des souris femelles en position couchée à la dose 2000 mg/kg (LPA, 2022).....	30
Figure 21 : Figure montrant une souris en position de redressement après l'administration de la dose 500 mg/kg (LPA, 2022)	30
Figure 22 : Figure montrant une souris présentant l'écartement des quatre membres après l'administration de la dose de 500 mg/kg (LPA,2022).....	31
Figure 23 : Evolution du poids corporel moyen des souris non traitées et traitées des deux sexes (n = 6 / groupe) pendant les 14 jours d'expérimentation (2000 mg/kg).....	32
Figure 24 : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes (n = 6 / groupe) entre le 1er et le 14ème jour (2000 mg/kg).....	32
Figure 25 : Evolution du PC moyen des souris non traitées et traitées des deux sexes (n = 5 / groupe) pendant les 14 jours d'expérimentation.	33

Figure 26 : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes (n = 5 / groupe) entre le 1 ^{er} et le 14 ^{ème} jour (1000 mg/kg).....	34
Figure 27 : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes (n = 5 / groupe) entre le 1 ^{er} et le 14 ^{ème} jour (500 mg/kg).....	34
Figure 28 : Rapport poids des organes / PC des souris traitées par la dose 2000 mg/kg en (%).....	35
Figure 29 : Rapport poids des organes / PC des souris traitées par la dose 1000 mg/kg en (%).....	36
Figure 30 : Rapport poids des organes / PC des souris traitées par la dose 500 mg/kg en (%).....	37
Figure 31 : Evolution du PC pendant les 28 jours du traitement par C. sativa	40
Figure 32 : Evolution du PC moyen des souris femelles traitées et non traitées (n = 6 / groupe) entre le 1 ^{er} et le 28 ^{ème} jour.....	40
Figure 33 : Evolution en % du PC des souris femelles traitées et non traitées (n = 6 / groupe) entre le 1 ^{er} et le 28 ^{ème} jour.....	41
Figure 34 : Rapport poids des organes / PC des quatre groupes de souris femelles traitées par le C. sativa en %	42
Figure 35 : Evaluation de l'effet analgésique du C. sativa par rapport à la buprénorphine chez les deux sexes de souris (n = 6 / groupe)	43

Liste des tableaux

Tableau 1 : Mécanismes de transduction des récepteurs CB1 et CB2	9
Tableau 2 :Résumé des effets indésirables du cannabis.....	17
Tableau 3 : Principales données climatiques de la station d'étude.	20
Tableau 4 : Organes des souris non traitées et traitées par <i>C. sativa</i> (LPA, 2022)	38

Sommaire

Introduction	1
Partie bibliographique	2
I. Cannabis	3
1. Plante	3
2. Constituants de <i>Cannabis sativa</i>	5
2.1. Cannabidiol	6
2.2. Δ^9 -tétrahydrocannabinol	6
3. Système endocannabinoïde	6
3.1. Endocannabinoïde	7
3.2. Récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2.....	7
II. La physiologie de la douleur	9
1. Nociception	9
1.1. Transduction	10
1.2. Transmission	11
1.3. Perception	11
1.4. Modulation.....	12
2. Traitement de la douleur	13
III. Toxicité et effets indésirables de Cannabis	14
1. Métabolisme de Cannabis	14
2. Toxicité de Cannabis	15
2.1. Toxicité aiguë.....	15
2.2. Toxicité chronique	15
3. Effets indésirables du cannabis	16
Partie expérimentale	18
I. Matériel	19
1. Matériel végétal.....	19
2. Matériel animal	20
II. Méthodes	21
1. Préparation de l'extrait aqueux du <i>C. sativa</i>	21
2. Détermination du Rendement.....	22

3. Préparation des solutions.....	22
4. Évaluation de la toxicité.....	23
4.1. Toxicité aiguë.....	23
4.2. Toxicité subchronique.....	25
5. Evaluation de l'effet analgésique	26
5.1. Tail immersion test.....	27
6. Analyse statistique des résultats.....	27
Résultats	28
1. Détermination du Rendement.....	28
2. Toxicité aigue.....	28
2.1. Observations des signes de toxicité	28
2.2. Effet du <i>Cannabis sativa</i> sur le poids corporel.....	31
2.3. Effet du <i>Cannabis sativa</i> sur le poids des organes	35
2.4. Observation macroscopique des organes	37
3. Toxicité subchronique	39
3.1. Observations des signes de toxicité	39
3.2. Effet du <i>C. sativa</i> en traitement répété sur le PC.....	39
3.3. Effet de <i>Cannabis sativa</i> sur le poids des organes.....	41
4. Evaluation de l'effet analgésique	42
Discussion	44
Conclusion et perspectives	47
Références bibliographiques	48

Introduction

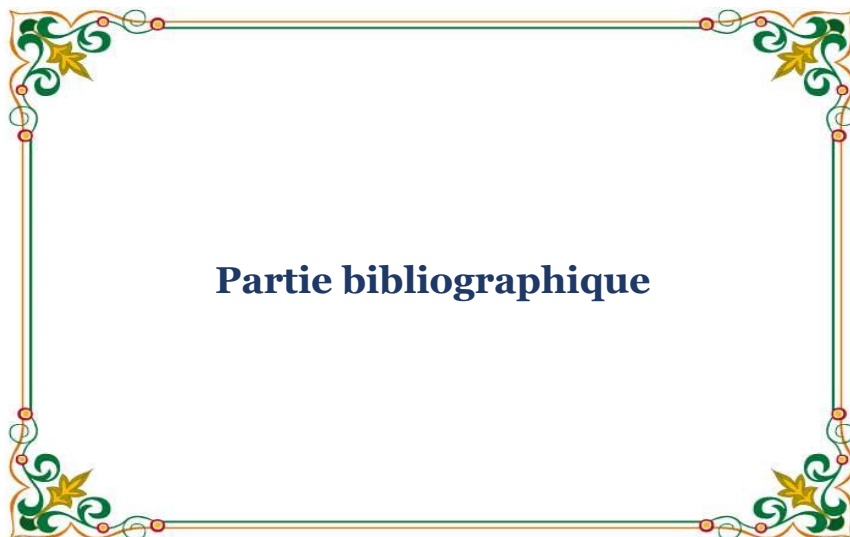
Le cannabis a été utilisé en domaine thérapeutique depuis plus de 5000 ans en Chine où il a été prescrit dans le traitement de la malaria et en tant que plante à effet analgésique. Cependant, ce n'est qu'au XIX^e siècle que les préparations médicinales à base de cannabis, essentiellement le haschich et la marijuana, sont apparues en Europe (**Derkinderen & Delettre, 2002**).

Dans les pays arabes, les voyageurs arabes ont été introduit le cannabis pour ses propriétés médicinales directement depuis l'Inde. Les effets psychoactifs de la plante étaient également bien connus dans le monde arabe et ont été diffusés au Maghreb à partir de l'Égypte entre les IX^e et XII^e siècles. Bien que le cannabis soit cultivé et utilisé dans le nord du Rif marocain depuis des temps anciens, son origine, son histoire et ses caractéristiques spécifiques ne sont pas bien connues (**Bachir et al., 2021**).

Une des caractéristiques importantes à étudier, avant de s'intéresser aux vertus d'une plante, est sa toxicité. Une plante est dite toxique lorsqu'elle renferme une ou plusieurs substances nocives pour l'Homme ou l'animal et que son utilisation induit diverses altérations plus ou moins graves. Cette gravité dépend de plusieurs facteurs, d'une part, la portion consommée, la quantité, si elle est prise à jeun ou non, et d'autre part, l'âge de l'utilisateur et les circonstances de prise de la plante (**Najem et al., 2018**).

Au Maroc, le Centre Antipoison et de Pharmacovigilance a reçu, en 2020, 221 déclarations des cas d'intoxication par les drogues et son laboratoire a reçu 430 demandes d'analyses toxicologiques, dont 77 cas parmi elles ont enregistré une intoxication causée par les cannabinoïdes (**Soulaymani Bencheikh et al., 2021**).

Ainsi, dans ce mémoire, nous allons nous intéresser, dans un premier temps, à l'étude de la toxicité du *Cannabis sativa*, toxicité aiguë et toxicité subchronique, pour avoir une idée sur son effet en une seule dose, ou en doses répétées. Et par la suite nous allons entamer la partie de l'utilisation du cannabis en thérapeutique, en tant qu'un composé analgésique après avoir déterminé la ou les doses selon lesquelles aucun signe de toxicité ne sera détecté.



Partie bibliographique

I. Cannabis

1. Plante

Le *Cannabis* représente le nom du genre de la plante qui fait partie à la famille des Cannabinacées et qui s'accompagne avec le nom d'espèce *sativa* (Goullé, 2020), cette plante est classée dans la catégorie des plantes dicotylédones herbacées et dioïque annuelle (Beaulieu & Rice, 2002).

L'appareil végétatif de cette plante est constitué de :

- **Tiges** : Elles sont généralement angulaires, sillonnées, ramifiées, avec un intérieur ligneux, parfois creuses dans les nœuds, et varient de 1 à 6 mètres de hauteur en plus des ramifications qui sont soit opposées, soit alternées (Frag & Kayser, 2017).



Figure 1 : Partie de la tige de *Cannabis sativa* (Yadav & Srivastava, 2014)

- **Feuilles** : Elles sont vertes et palmées avec sept lobes, elles mesurent de 6 à 11 centimètres de longueur et de 2 à 15 millimètres de largeur. Les surfaces adaxiales et abaxiales sont vertes, avec des trichomes résineux épars (Frag & Kayser, 2017).



Figure 2 : Face abaxial (gauche) et adaxial (droite) d'une feuille de *Cannabis sativa* (Yadav & Srivastava, 2014).

- **Racines** : Elles sont généralement profondes de 30 à 60 cm, jusqu'à 2,5 mètres dans les sols meubles, très nues en surface et plus ramifiées dans les sols humides (Farag & Kayser, 2017).



Figure 3 : Appareil racinaire de *Cannabis sativa* (Farinon et al., 2020)

Le cannabis se présente sous trois formes différentes pour les usagers à des fins récréatives, on distingue :

- **L'herbe (marijuana)** : Feuilles, tiges et sommités fleuries séchées. Généralement les fumeurs fument la marijuana mélangée à une quantité de tabac et enroulée en cigarette (le joint, le pétard) (Beaulieu & Rice, 2002).

- **Le haschich (shit) :** Les feuilles de la plante sont grattées pour avoir la résine qui sera mélangée avec la poudre des plants séchés et secoués. Le haschich se trouve sous la forme de plaque compressée, barrettes de couleur verte, brune ou encore jaune selon les zones de la production. Il est aussi fumé mélangé à du tabac et rarement qu'on le constate consommer sous sa forme de préparations culinaires **(Beaulieu & Rice, 2002)**.
- **L'huile :** Produit extrait du cannabis. Elle est habituellement mélangée à du tabac et puis consommé à travers une pipe, de nos jours son usage est moins fréquent **(Beaulieu & Rice, 2002)**.

Pour les utilisations thérapeutiques, le cannabis est utilisé sous forme de :

- La marijuana, depuis une époque très ancienne et avant sa classification dans la liste des stupéfiants interdits, pour traiter l'insomnie et les vomissements avant l'avènement des thérapies ciblées dans les années 1930 et pour le traitement de l'épilepsie réfractaire à la fin du XIX^e siècle **(Rieder et al., 2016)**.
- L'huile qui est obtenu par une distillation à la vapeur pour alléger les douleurs d'origine musculaires ou osseuses en la frottant sur la peau des clients **(Kalant & Porath-Walle, 2012)**.
- Médicaments à base de cette plante tels que : Nabiximols (un extrait normalisé d'une souche de cannabis qui contient la même teneur de THC et de CBD), dronabinol et son analogue le nabilone (dérivé synthétique du THC sous forme de pilule) **(Kalant & Porath-Walle, 2012)**.

2. Constituants de *Cannabis sativa*

Le *Cannabis sativa* (*C sativa*) renferme plus de 550 composés chimiques, dont plus de 100 phytocannabinoïdes qui ont été identifiées, y compris le Δ^9 -tétrahydrocannabinol (THC) et le cannabidiol (CBD) qui interagissent avec le système endocannabinoïde et qui sont les plus étudiés **(Rock & Parker, 2021)**.

2.1. Cannabidiol

Le CBD est parmi les phytocannabinoïdes les plus présents dans le *C sativa* avec le THC (**Rock & Parker, 2021**). Il est présent sous deux formes : La forme carboxylée (acide cannabidiolique) fabriquée par la plante et la forme synthétique synthétisée à partir de l'olivitol (**Gamelin et al., 2021**).

A l'inverse du THC, le CBD ne serait pas toxique ainsi qu'il a des propriétés pharmacologiques bénéfiques pour un usage au niveau du domaine médical. Par conséquent, le CBD pourrait être utilisé à fortes doses pour le traitement de certains troubles psychiatriques comme la schizophrénie, la démence et le diabète. Comme il pourrait être utilisé à faibles doses en engendrant des effets physiologiques : Effets antioxydants, anti-inflammatoires et neuroprotecteurs qui favorisent et maintiennent un bon état de santé. Par exemple, le CBD est plus efficace que les vitamines C et E en tant qu'antioxydant neuroprotecteur (**Gamelin et al., 2021 ; Iffland & Grotenhermen, 2017**).

2.2. Δ9-tétrahydrocannabinol

Le delta-9-tétrahydrocannabinol est l'un des terpénophénols qu'on trouve essentiellement au niveau de la plante *C sativa* et qui représente le principal constituant psychoactif chez l'être humain (**Kintz, 2020**).

Au cours des vingt dernières années, les chercheurs ont constaté une augmentation de la teneur en THC au niveau de la substance végétale, passant de 4% à 16%, ce qui donnera une variabilité aussi de sa concentration au niveau tissulaire après son inhalation. Ces différences au niveau de la teneur en principe actif vont influencer la pharmacocinétique ainsi que la pharmacologie de la drogue d'une manière importante (**Goullé & Guerbet, 2014**).

3. Système endocannabinoïde

Le système endocannabinoïde (SEC) renferme un groupe de ligands cannabinoïdes endogènes dérivés d'acides gras dits endocannabinoïdes, leurs récepteurs (récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1 -R) et de type 2 (CB2 -R)) ainsi que des enzymes responsables de leur synthèse, transport et dégradation (**Venance et al., 2004**).

3.1. Endocannabinoïde

Un endocannabinoïde (endo-CB) représente une molécule endogène capable de se fixer au niveau d'un récepteur cannabinoïde et donc entrainer l'activation des voies de signalisation dont lesquelles ce récepteur est couplé. Cinq endo-CB ont été identifiés : Trois anandamides qui ont une meilleure efficacité pour les récepteurs CB en plus du 2- arachidonoyl glycérol (2-AG) et du 2-AG éther (**Venance et al., 2004**).

A savoir que ces endo-CB sont libérés au niveau postsynaptique et passent vers le site présynaptique pour se fixer sur les CB1-R, comme ils sont capables de transmettre l'information d'un neurone à un autre en agissant en tant que neurotransmetteurs au niveau du système nerveux central (SNC) (**Bricaire & Brue, 2007**).

3.2. Récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2

Le SEC est constitué de deux récepteurs qui font partie de la famille des récepteurs couplées à des protéines G (RCPG) : CB1-R qui a été isolé à partir du cerveau de rat en 1988 et le CB2-R qui a été isolé à partir des cellules myélocytaires en 1993 (**Lauwagie et al., 2006**).

Ces deux récepteurs présentent une différence dans leur composition en acides aminés (aa), dont les CB1-R sont constitués de 472 aa alors que les CB2-R sont constitués de 360 aa, et donc dans leur structure puisque le pourcentage d'homologie du CB2-R ne dépasse pas 44 % avec le CB1-R (**Calvino, 2021 ; Costentin, 2020**).

♣ Récepteurs cannabinoïdes de type 1

Le récepteur CB1 est un hétérorécepteur présynaptique, exprimé essentiellement au niveau des neurones du système nerveux central (cerveau et moelle épinière) et périphérique (neurones sensoriels primaires). Sa stimulation par les endo-CB active la protéine inhibitrice Gi/o qui va provoquer par la suite une inhibition du système de transduction formé par l'enzyme adénylate cyclase, enzyme qui stimule la synthèse de l'adénosyl monophosphate cyclique (AMPC), et par conséquence une inhibition des canaux calciques qui assurent :

- L'exocytose des neurotransmetteurs ;
- L'activation des canaux potassiques ;

- Et la régulation de l'activité cellulaire due à l'activation d'un ensemble des enzymes de phosphorylation kinases (protéine kinase A [PKA] et mitogen-activated protein kinase [MAPK]) (**Figure 4**) (**Calvino, 2021**).

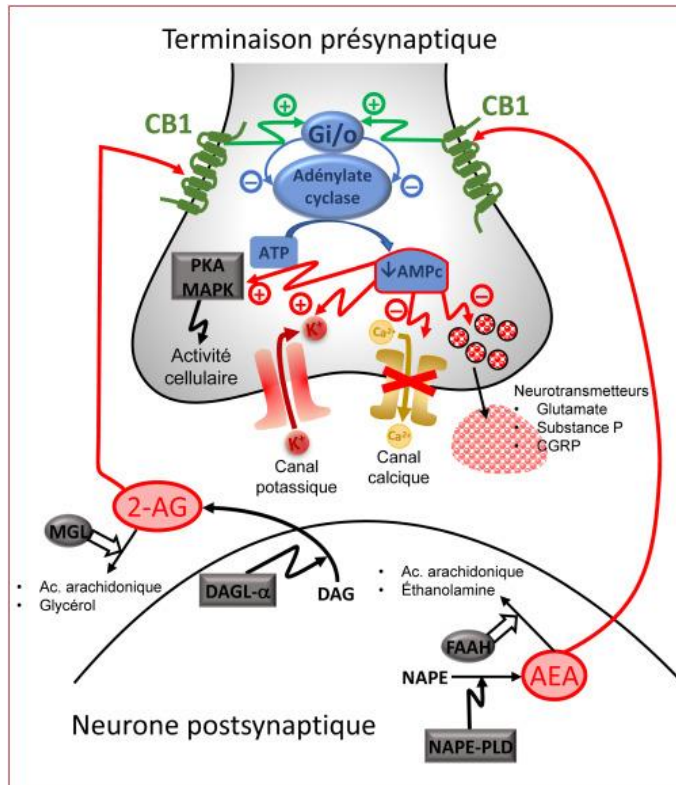


Figure 4 : Inhibition de l'activité d'une terminaison présynaptique par un cannabinoïde (**Calvino, 2021**)

♣ Récepteurs cannabinoïdes de type 2

Contrairement au CB1-R, les CB2-R ont une distribution plus limitée. Ils se localisent essentiellement au niveau des cellules associées au système immunitaire, comme les leucocytes. Cependant, ce type de récepteurs présente des similitudes au niveau de leurs voies de signalisation, tel que l'inhibition du système de transduction formé par l'enzyme adénylate cyclase et la stimulation des PK (**Lauwagie et al., 2006**).

Ces récepteurs n'ont par ailleurs aucune activité sur les canaux ioniques calcique et potassique, le **tableau 1** ci-dessous représente un résumé comparatif des mécanismes de transduction des récepteurs CB1 et CB2 (**Beaulieu & Rice, 2002**).

Tableau 1 : Mécanismes de transduction des récepteurs CB1 et CB2 (*Beaulieu & Rice, 2002*)

	CB1	CB2
Activation d'une protéine Gi/o	Oui	Oui
Inhibition de l'adénylate cyclase	Oui	Oui
Blocage des canaux Ca²⁺ de type N, P/Q	Oui	Non
Activation des canaux K⁺ (type A et GIRK11)	Oui	Non
Activation des MAPK2	Oui	Oui

II. La physiologie de la douleur

Selon l'Association internationale pour l'étude de la douleur (IASP), la douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à des lésions tissulaires réelles ou potentielles, ou décrite en termes de telles lésions (**Raja et al., 2020**).

En effet, la transmission d'un stimulus nociceptif de la périphérie au système nerveux central peut être représentée par l'activation successive de trois neurones :

- Le neurone nociceptif qui permet la transmission de l'information du lieu de stimulation (peau, muscle, articulation) vers la moelle épinière.
- Le second assure la communication de cette information au thalamus à travers le tractus spinothalamique.
- Le dernier garantit le transfert de l'information du thalamus au cortex somatosensoriel primaire (**Perruchoud et al., 2017**).

1. Nociception

La nociception est le terme utilisé pour décrire comment la douleur devient une expérience consciente. La nociception implique le fonctionnement normal des systèmes physiologiques (**Ellison, 2017**).

Quatre processus interviennent dans la nociception d'un stimulus douloureux, comme on le voit sur la **Figure 5**, ce sont : la transduction, la transmission, la perception et la modulation (**Lee & Neumeister, 2020**).

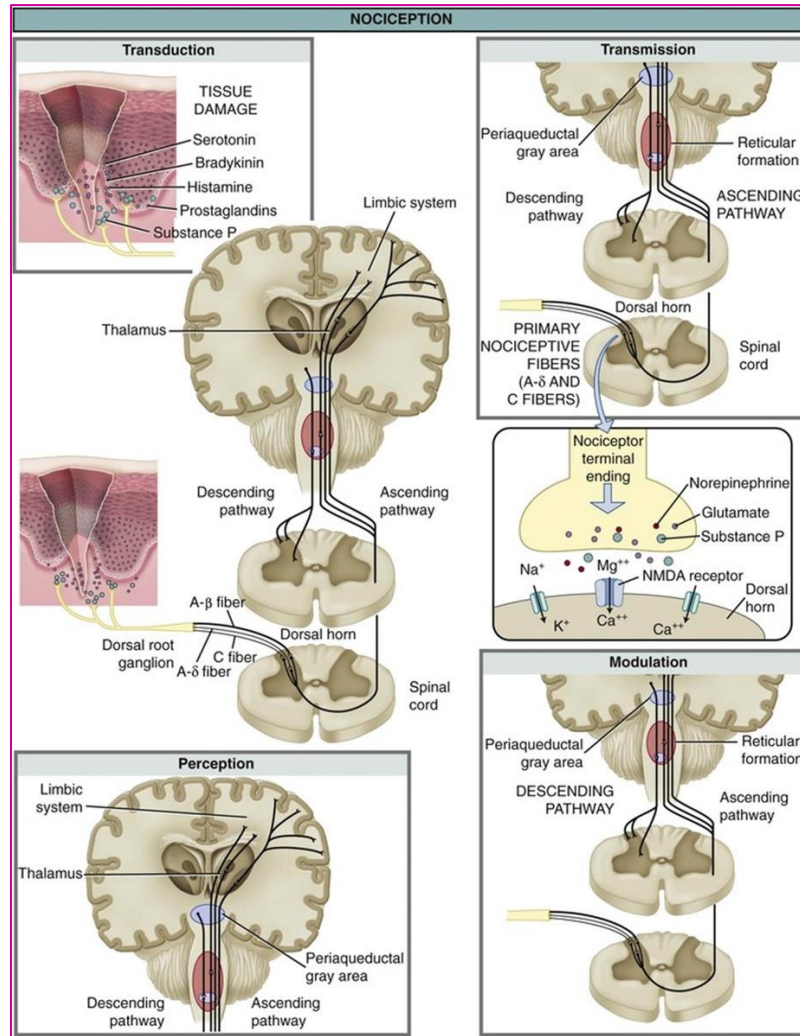


Figure 5 : Les quatre phases de la nociception (Ellison, 2017).

1.1. Transduction

La transduction est la première phase de la nociception. Elle désigne la conversion d'un stimulus nocif (thermique, mécanique ou chimique) en un influx électrique dans les terminaisons périphériques des fibres sensibles des nocicepteurs. Cette première phase démarre lorsque les nocicepteurs sont activés par un stimulus nocif, ce qui induit l'ouverture des canaux ioniques (sodium, potassium, calcium) sur les nocicepteurs, produisant des influx électriques qui circulent dans les axones des deux principaux types de nocicepteurs et sont transmises à la moelle épinière, au tronc cérébral, au thalamus et au cortex (Ellison, 2017).

1.2. Transmission

La transmission est la deuxième phase interférant dans la nociception. Elle désigne le passage des potentiels d'action depuis la borne périphérique le long des axones jusqu'à la borne centrale des nocicepteurs dans le système nerveux central. La conduction est le transfert synaptique de l'entrée d'un neurone à un autre. Au cours de ce processus, la conduction des impulsions de douleur se fait le long des fibres A delta et C (neurones d'ordre primaire) jusqu'à la corne dorsale de la moelle épinière. Là, elles forment des synapses avec des interneurons excitateurs ou inhibiteurs (neurones de second ordre) dans la substance gélatineuse de la corne dorsale. C'est à ce moment-là que le contrôle de la douleur peut avoir lieu (Ellison, 2017).

1.3. Perception

La perception est le processus tertiaire impliqué dans la nociception. Elle reflète le "décodage" et/ou l'interprétation de l'entrée afférente dans le cerveau qui assure à l'individu une expérience sensorielle spécifique. C'est la conscience de la douleur. La perception a lieu dans les systèmes réticulaire et limbique et dans le cortex cérébral, où la transmission d'un stimulus s'arrête. Cela se produit presque simultanément. La perception de la douleur peut être influencée par plusieurs facteurs, à savoir la génétique, les préférences culturelles, les rôles des sexes, l'expérience de vie, les expériences douloureuses passées et le niveau de santé (Ellison, 2017).

La perception de la douleur est produite par l'interaction de trois systèmes :

- Le système sensori-discriminatif est médié par le cortex somatosensoriel et est coupable d'identifier la présence, le caractère, la localisation et l'intensité de la douleur.
- Le système affectif ou émotionnel établit les comportements d'évitement conditionnés et les réponses émotionnelles d'un individu à la douleur. Il est médié par la formation réticulaire, le système limbique et le tronc cérébral.

- Le système cognitif et comportemental recouvre le comportement appris de l'individu concernant l'expérience de la douleur et peut aussi moduler la perception de la douleur. Il est médié par le cortex cérébral (**Ellison, 2017**).

L'intégration de ces trois systèmes est désignée sous le nom de "matrice de la douleur".

Le seuil et la tolérance à la douleur d'un patient sont subjectifs et influencent la perception de la douleur. Cette dernière peut être influencée par la génétique, le sexe, les perceptions culturelles, les attentes, la santé physique et mentale, la douleur passée et l'âge (**Ellison, 2017**).

1.4.Modulation

La modulation est le dernier processus de la nociception. Elle fait référence à l'altération (par exemple, l'augmentation ou la suppression) de l'entrée sensorielle. Au cours de cette dernière étape, la modulation du stimulus douloureux avant la perception de la douleur se fait soit par inhibition, soit par stimulation grâce à des influences supra-spinales provenant de la protubérance, de la moelle et du mésencéphale (**Ellison, 2017**).

En effet, l'inhibition supra-spinale entraîne la libération d'opiacés endogènes qui limitent la libération de neurotransmetteurs par le neurone primaire et hyperpolarisent le neurone secondaire de sorte qu'il a besoin de stimuli plus importants pour atteindre son potentiel d'action. Alors que la stimulation supra-spinale se produit en libérant des neurotransmetteurs supplémentaires pour améliorer la progression du stimulus des neurones primaires aux neurones secondaires (**Ellison, 2017**).

Parmi les exemples de modulation de la douleur, citons le cas d'une personne qui subit une stimulation douloureuse évidente mais ne ressent aucune douleur, comme lorsqu'une personne est capable de marcher sur des charbons ardents ; l'effet inverse se produit lorsqu'une personne se coupe avec du papier et ressent une douleur extrême (**Ellison, 2017**).

2. Traitement de la douleur

L'utilisation de cannabis dans le traitement de la douleur reste importante pour des raisons parmi lesquelles on cite :

- L'effet antalgique qu'il présente pour soulager des douleurs réfractaires à d'autres analgésiques ;
- Et la régulation de la douleur par le système cannabinoïde endogène (**Beaulieu & Rice, 2002**).

Concernant cette deuxième raison, des études ont montré que les agonistes soient endogènes ou exogènes des CB1-R provoquent une inhibition de l'activité nerveuse des SEC et les données expérimentales obtenues chez les animaux indiquent qu'elles interviennent dans la modulation de la douleur comme analgésiques : Des micro-injections d'agonistes du CB1-R effectuées dans les noyaux rostro-ventraux mésencéphaliques du tronc cérébral du rat (RVM) ont montré que le contrôle inhibiteur de la douleur se déroule à partir des sites CB1-R du tronc cérébral en activant les voies de projections inhibitrices descendantes provenant de la substance grise périaqueducale (SGPA) et du RVM (**Figure 6**) (**Calvino, 2007**).

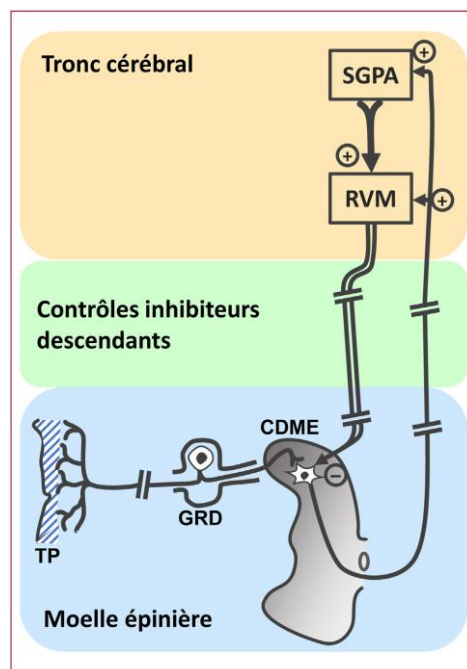


Figure 6 : Circuit cannabinoïde endogène (**Calvino, 2021**)

CDME : Corne Dorsale de la Moelle Epinière.

GRD : Ganglion de la Racine Dorsale.

RVM : Noyaux Rostro-Ventraux Mésencéphaliques.

SGPA : Substance Grise PériAqueducule

TP : Tissus Périphériques.

III. Toxicité et effets indésirables de Cannabis

1. Métabolisme de Cannabis

Le métabolisme du THC se fait par l'intermédiaire des cytochromes oxydases hépatiques (CYP2C9 et 3A4), isoenzymes du cytochrome P450 (CYP 450), pour donner le métabolite inactivé THC-carboxylase (THC-COOH) qui suit par la suite une glucuronidation et le principal métabolite actif 11-hydroxy THC (11-OHTHC) qui a une activité psychoactive. En ajoutant que le métabolisme s'effectue également dans les tissus extra-hépatiques qui expriment le CYP450, y compris l'intestin grêle et dans le cerveau. (**Lucas et al., 2018 ; Wong & Baum, 2019**).

Il est important de noter que le THC lipophile a la capacité de traverser le placenta et est excrété dans le lait maternel humain, ce qui soulève des inquiétudes quant à la toxicité pour le cerveau en développement (**Lucas et al., 2018**).

Cependant, en raison de la circulation entéro-hépatique et de la libération lente des compartiments de stockage des lipides, la demi-vie d'élimination du THC varie de 25 à 36 heures. Après métabolisme, le THC est excrété principalement sous forme de métabolites hydroxylés et carboxylés par les selles (65 %) et l'urine (20 %) (**Wong & Baum, 2019**).

En outre, le métabolisme du CBD s'effectue également par voie hépatique avec une intervention des deux isoenzymes CYP2C19 et CYP3A4 responsables de son hydroxylation en 7-hydroxy cannabidiol (7-OH-CBD), par la suite ce dernier est métabolisé par le foie, puis ces métabolites sont excrétés dans les selles et une petite partie étant excrétée dans l'urine (**Lucas et al., 2018**).

2. Toxicité de Cannabis

2.1. Toxicité aiguë

L'anxiolyse, l'ivresse légère, euphorie et onirogène associée à une somnolence sont les effets principaux de l'intoxication cannabique aiguë sous sa forme mineure. Or cette intoxication peut entraîner des perturbations qui peuvent être plus importantes lorsqu'il s'agit de fortes doses de cannabis et/ou chez des utilisateurs plus sensibles aux effets du cannabis (**Fabresse et al., 2019**).

En effet, l'inhalation d'une dose de 2 à 3 mg ou l'ingestion d'une dose de 5 à 20 mg de THC peut altérer l'attention, la concentration, la mémoire à court terme et les fonctions exécutives chez les adolescents et les adultes. Cependant, chez les jeunes enfants, la toxicité est le plus souvent se manifeste après l'ingestion d'un produit alimentaire très concentré. Par exemple, une dose orale comprise entre 5 et 300 mg chez un enfant a provoqué des symptômes d'intoxication (**Wong & Baum, 2019**).

D'autre part, l'intoxication à la marijuana présente chez les enfants plus âgés et les adultes des symptômes divers, en passant des symptômes cardiovasculaires (tachycardie, hypertension), ophtalmologiques (injection conjonctivale, nystagmus), respiratoires (tachypnée, bradypnée) et gastro-intestinaux (sécheresse de la bouche, augmentation de l'appétit) jusqu'aux symptômes neurologiques (somnolence, ataxie, troubles de l'élocution) (**Wong & Baum, 2019**).

En outre, les manifestations de l'intoxication au cannabis chez les nourrissons sont majoritairement liées à des modifications du sensorium, allant de l'encéphalopathie au coma. La gravité des symptômes neurologiques chez les nourrissons est probablement liée à la dose de cannabis consommée par rapport au poids corporel (**Wong & Baum, 2019**).

2.2. Toxicité chronique

Selon Fabresse et al, chez l'être humain plusieurs études ont montré que la consommation de cannabis à long terme est associée à une consommation fréquente d'alcool, de tabac et même d'autres stupéfiants. Par conséquent, il est difficile d'isoler les effets spécifiques au

cannabis dans les études épidémiologiques. Et donc les effets de l'usage chronique de cannabis restent difficiles à évaluer (**Fabresse et al., 2019**).

Cependant des études de la toxicité subchronique de l'extrait éthanolique des feuilles de cannabis chez des rats à une dose de 1/10 de la DL50, qui est de 1729,6 mg/kg, ont montré que ces derniers étaient moins actifs pendant 1 à 2 heures après l'administration de la dose, mais ils sont ensuite devenus plus actifs et agressifs et que leur poids a augmenté de manière significative par rapport au groupe témoin pendant la période de l'étude en raison de l'augmentation de leur appétit, sachant qu'ils deviennent en état agressif pour prendre la nourriture quand le manipulateur leur donne une autre quantité. Ainsi que d'autres signes ont été mentionnés tels que la diarrhée, des signes de tremblements, une position de couchée, une ouverture étroite des yeux et une tendance de se blottir contre la litière (**Marx et al., 2018; Yassa et al., 2010**).

3. Effets indésirables du cannabis

La consommation du cannabis provoque des effets indésirables qui sont subdivisés en trois grandes catégories : Effets aigus, effets chroniques incertains mais très probables et effets indésirables (*Tableau 2*) (**Beaulieu & Rice, 2002**).

Tableau 2 :Résumé des effets indésirables du cannabis(Beaulieu & Rice, 2002)

Résumé des effets indésirables du cannabis		
Effets aigus	Effets chroniques	Effets indésirables possibles (à confirmer)
<ul style="list-style-type: none"> • Anxiété et panique, surtout chez les utilisateurs naïfs. • Altération de l'attention, de la mémoire et des performances psychomotrices pendant la prise. • Risque accru possible d'accidents de voiture dans le cas de conduite sous l'emprise de la drogue. • Risque accru de symptômes psychotiques chez les personnes qui sont vulnérables en raison d'antécédents psychotiques personnels ou familiaux. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bronchite chronique et changements histopathologiques qui peuvent être des précurseurs du développement de la malaria. • Syndrome de dépendance au cannabis caractérisé par une incapacité à s'abstenir ou à contrôler la consommation de cannabis. • Troubles mineurs de l'attention et de la mémoire qui persistent pendant l'intoxication chronique et qui sont réversibles ou non après arrêt prolongé de la consommation de cannabis. 	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation du risque de cancers ORL ; leucémie chez le nouveau-né exposé in utero. • Baisse du rendement scolaire chez les adolescents et baisse de la performance professionnelle chez les adultes dont le métier nécessite des compétences cognitives de haut niveau.

A côté de ce qui est démontré par les chercheurs scientifiques dans l'étude des propriétés et composants du cannabis et en raison de la réglementation de ses usages au niveau national dans le domaine médical et thérapeutique, nous avons jugé intéressant de contribuer à sa valorisation et d'aborder la toxicité de cette plante et d'évaluer son activité antinociceptive.



Partie expérimentale

I. Matériel

1. Matériel végétal

Il s'agit de trois variétés de co-produits des feuilles de la plante *Cannabis sativa* à savoir Beldia, Khardala et Critical (**Figure 7, 8 et 9**) provenant de la région Douar Rkaiba - Taounate et qui ont été récoltées durant le mois d'août 2021. Les données GPS de la région de récolte sont résumées dans le *tableau 3*.

La partie collectée a été séchée dans l'étuve à une température de 40°C pendant 72 heures puis broyée, tamisée pour obtenir une poudre fine et homogène avec un diamètre de 250 µm. Cette dernière est utilisée pour la préparation des extraits (**Figure 10**).

Il est à noter que nous allons effectuer nos tests de toxicité et de l'effet analgésique par la variété Khardala, alors que les deux autres variétés seront l'objectifs d'autres études par la suite.



Figure 7 : *C. Sativa* var.
Beldia

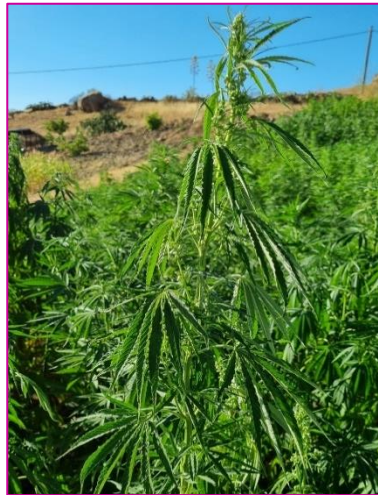


Figure 8 : *C. Sativa* var.
Khardala



Figure 9 : *C. Sativa* var.
Critical

Tableau 3 : Principales données climatiques de la station d'étude.

Données climatiques	Station
	FES
Latitude	34°43'55.6"N
Longitude	4°52'01.8"O
Altitude	267
Etage bioclimatique	Semi-Aride

N : Nord ; *O* : Ouest

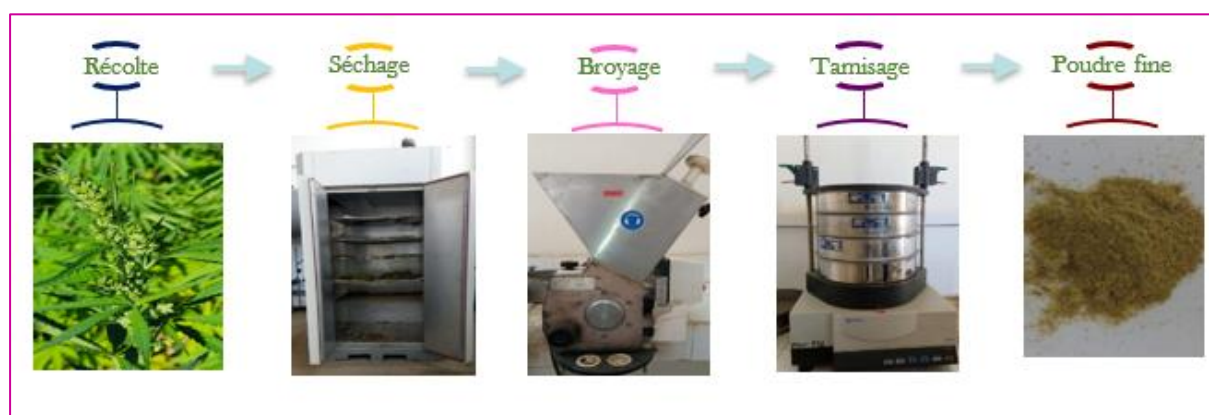


Figure 10 : Etapes de la préparation de la poudre.

2. Matériel animal

L'étude a été réalisée sur des souris swiss des deux sexes, pesant entre 27 et 30 g et âgées de 12 semaines, élevées à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale (LPA) à la Faculté des Sciences de Rabat, dans des conditions standards d'élevage, à savoir, une température moyenne de 22 ± 3 °C, une humidité relative de 70% et une photopériode de 12/24 heures.

Les souris ont été gardées dans des cages en polypropylène et nourries à volonté avec un régime standard de laboratoire (Orge et cicalim) et abreuvées à volonté.

Pour chaque expérimentation, nous avons travaillé avec deux groupes : Un groupe d'essai et un témoin dont chacun d'eux est constitué de six souris. Les femelles ont été séparées des mâles, elles étaient non gravides et nullipares.

Avant le début de l'expérimentation, les souris ont été acclimatées pendant une semaine. Chaque groupe a été placé dans une cage (**Figure 11**).



Figure 11 : Photo d'un groupe de souris de l'animalerie du LPA

II. Méthodes

1. Préparation de l'extrait aqueux du *C. sativa*

Le décocté a été préparé par ébullition de 20g de poudre dans 200 ml d'eau distillée pendant 15 minutes (**Figure 12**) et le mélange a été ensuite centrifugé à 2000 G pendant 10 minutes. Le surnageant est ainsi récupéré puis filtré à l'aide d'un papier Wattman.

Le filtrat est collecté et le solvant est ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40 °C, afin d'obtenir un extrait qui est ensuite lyophilisé et stocké à 4 °C à l'abri de la lumière (**Figure 13**).



Figure 12 : Montage de la technique d'extraction, la décoction.



Figure 13 : Extrait aqueux de *C. sativa* par décoction.

2. Détermination du Rendement

Le Rendement (R) représente la quantité de l'extrait obtenu à partir de la matière végétale par rapport à celle initialement utilisée (matière sèche). On le calcule à l'aide de la formule suivante :

$$R \% = \frac{\text{Quantité d'extrait obtenus}}{\text{Quantité de la matière végétale sèche}} \times 100$$

R% : Rendement en pourcentage

3. Préparation des solutions

Afin de préparer la solution aqueuse, nous avons utilisé l'extrait, ayant une texture limoneuse, obtenu par décoction.

Nous avons pesé la quantité d'extrait nécessaire, à l'aide d'une balance à précision, pour 12 souris pour des doses de 2000, 1000 et 500 mg/kg de poids corporel pour la toxicité aiguë et des doses de 25, 50 et 100 mg/kg pour la toxicité subchronique. Le volume d'eau distillée nécessaire à la dissolution de l'extrait a été calculé en prenant en considération que le volume maximal à administrer par gavage est de 1 ml par 100 g de poids corporel. Ensuite le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex et la solution obtenue par la suite a été conservée

dans un réfrigérateur à une température de 4 °C et à l'abri de la lumière, afin d'éviter toute oxydation (**Figure 14**).

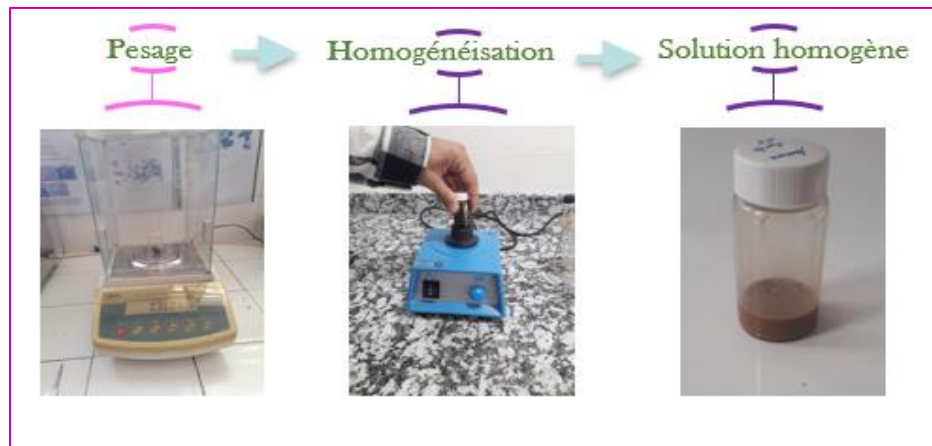


Figure 14 : Etapes de préparation de la solution aqueuse de *C. sativa*

4. Évaluation de la toxicité

4.1. Toxicité aiguë

- **Principe de la toxicité aiguë**

La toxicité aiguë consiste à étudier les effets toxiques engendrés par l'administration d'un xénobiotique, en une seule dose, ainsi que leur mise en évidence en fonction du temps pour déterminer par la suite :

- La relation entre la dose administrée et l'intensité des effets observés ;
- La nature des effets toxiques aigus ;
- La dose létale 50 (DL50).

- **Protocole de la toxicité aiguë**

L'étude de la toxicité à dose unique a été réalisée en suivant les lignes directrices 425 de l'Organisation de Coopération et Développement Economique (OCDE) pour les essais de produits chimiques adoptées le 3 octobre 2018.

Dans cet essai, l'extrait de *C. sativa* à la dose de 2000 mg/kg pour les deux sexes a été administré par gavage (**Figure 15**), en parallèle, un groupe témoin, avec le même nombre qui est de six animaux, a été traité avec le véhicule (Eau distillée).



Figure 15 : Administration de l'extrait aqueux du *C. sativa* par gavage (LPA, 2022)

Avant l'administration de la dose, les souris ont été mises à jeun pendant 3 à 4 heures. Ensuite, les souris ont été pesées et la substance d'essai administrée. Après l'administration de l'extrait, la nourriture a été suspendue pendant 1h 30.

Les souris ont été observés d'une manière continue pendant les 4 premières heures suivant l'administration de l'extrait, puis une fois par jour pendant 14 jours.

Pendant cette période, les signes de toxicité notamment la modification du pelage, la motilité, les tremblements, le toilettage, la respiration, l'aspect des selles, la mobilité, l'évolution du poids corporel ainsi que les décès ont été notés.

A la fin de la période d'observation de deux semaines, les souris ont été sacrifiées et les organes (foie et reins) ont été prélevés, pesés et examinés macroscopiquement.

Il est à noter qu'au cours de l'expérimentation la litière a été changée et le poids a été mesuré un jour sur deux.

4.2. Toxicité subchronique

- **Principe de la toxicité subchronique**

Selon la ligne directrice 406 de l'OCDE, étudier la toxicité subchronique consiste à étudier les effets toxiques provoqués par l'administration quotidienne d'un xénobiotique, par voie orale à différentes doses à plusieurs groupes d'animaux, à raison d'une dose par groupe pendant une période de 28 jours.

- **Protocole de la toxicité subchronique**

Dans l'étude de la toxicité subchronique, qui a été portée uniquement sur des souris femelles, les souris ont été divisées en trois groupes d'essai, dont chacun d'eux est constitué de six souris, et ont reçu des doses quotidiennes de l'extrait de *C. sativa* de 25, 50 et 100 mg/kg par poids corporel, pendant 28 jours, en parallèle, le groupe contrôle a été traité avec le véhicule.

Avant l'administration de l'extrait, les souris femelles ont été mises à jeun pendant 4 heures, après cette période, les souris ont été pesées et la quantité adéquate a été administrée. Après l'administration de la substance, la nourriture a été suspendue pendant 1h avec un accès libre à l'eau.

Les doses ont été administrées par gavage, à l'aide d'une sonde gastrique, et elles ont été réajustées en continu en fonction de l'évolution du poids corporel des souris durant l'expérimentation toute en respectant l'heure d'administration pour chaque jour.

Par ailleurs, dans le premier jour d'expérimentation, avant l'administration de la dose, nous avons effectué des observations cliniques chez tous les animaux pour pouvoir réaliser des comparaisons par la suite pour chaque souris.

Pendant cette période, les signes de toxicité notamment la modification du pelage, la motilité, les tremblements, le toilettage, la respiration, l'aspect des selles, la mobilité, l'évolution du poids corporel ainsi que les décès ont été notés.

A la fin de cette période d'essai (29^{ème} jour), les souris femelles ont été sacrifiées, le sang a été collecté dans des eppendorfs de 1 ml héparinés et étiquetés puis il a été centrifugé, pendant 15 minutes à 3000 G, puis le plasma a été recueilli et conservé à une température de

-20 °C pour effectuer ultérieurement des examens biochimiques (**Figures 16 et 17**). Les organes (foie et reins) ont été prélevés, nettoyés à l'eau distillée, séchés au papier, pesés et examinés macroscopiquement puis fixés dans le formol et conservés à une température de 4 °C afin d'effectuer un examen histopathologique par la suite (**Figure 18**).



Figure 16 : Sang après centrifugation



Figure 17 : Plasma collecté



Figure 18 : Prise de poids et conservation des organes

5. Evaluation de l'effet analgésique

Pour évaluer l'effet analgésique assuré par notre extrait, chez nos souris swiss, nous avons d'abord déterminé la dose dans laquelle aucun signe de toxicité n'a été constaté. Cette dernière a été de **25 mg /kg** de poids corporel. Ensuite nous avons utilisé le test suivant :

5.1. Tail immersion test

- **Principe**

Le test d'immersion de la queue, consiste à immerger la queue d'une souris dans l'eau chaude à 50 °C, afin que la queue fouette ou qu'un tressaillement de tout le corps se produise.

- **Protocole**

Pour évaluer l'effet analgésique de notre échantillon, nous avons travaillé avec deux lots de souris homogènes des deux sexes par dose : Contrôle positif (buprénorphine) et traité (extrait aqueux de cannabis), dont chaque lot contient 6 souris. Durant l'expérimentation, la queue des souris a été placée dans un bain-marie chauffé à $50 \pm 0,5$ °C avec un temps de coupure de 15 s pour éviter d'endommager les tissus de la peau de la queue.

Avant l'administration de la buprénorphine (0.4 mg/kg) et la dose que nous souhaitons tester, nous avons d'abord mesuré la latence de base (réponse de latence de base) pour que la souris retire la moitié distale de la queue après son immersion dans l'eau chauffé.

Ensuite les souris ont reçu leur dose de l'extrait par gavage et les réponses de latence post-traitement ont été déterminées durant les 180 premières minutes après le gavage à des intervalles de 30 minutes (30 min, 60 min, 90 min, 120 min et 180 min).

6. Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus ont été saisis et analysés par le logiciel **GraphPad Prism** 8^{ème} Version. Les variables ont été exprimées en moyenne \pm erreur type standard de la moyenne (SEM).

Les données ont été analysées à l'aide du test **Two-Ways repeated-measures ANOVA**, suivi de **Bonferroni's multiple comparisons test**. La valeur $p < 0,0001$ désigne que la différence est hautement significative, alors que la valeur $p > 0,05$ est considérée statistiquement non significative.

Résultats

1. Détermination du Rendement

Les résultats du rendement obtenu par la technique décoction sont représentés ci-dessous (Figure 19).

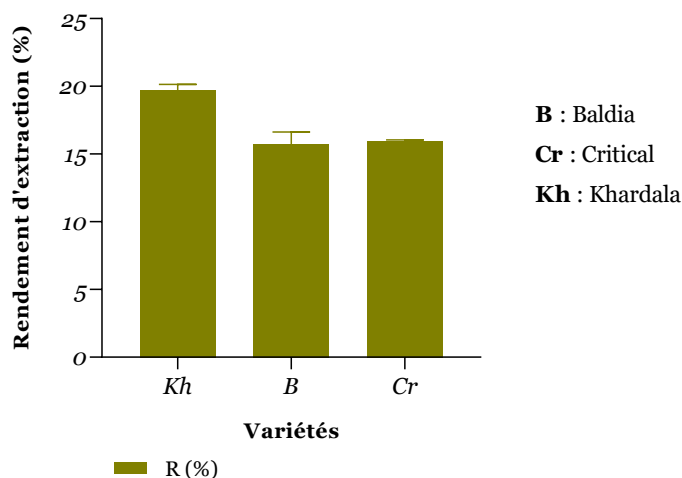


Figure 19 : Rendement d'extraction par la technique de décoction.

L'évaluation du rendement en extrait des trois variétés du co-produit de *C. sativa* a montré que le meilleur résultat a été obtenu pour l'extrait aqueux de la variété Khardala ($Kh = 19,72 \pm 0,3 \%$), suivi de celui de Critical ($Cr = 15,96 \pm 0,06 \%$) puis de la variété Beldia qui a eu le rendement le plus faible ($B = 15,74 \pm 0,63 \%$).

2. Toxicité aigue

2.1.Observations des signes de toxicité

- **Dose de 2000 mg/kg**

Durant les premières heures après le gavage de la dose 2000 mg/kg, toutes les souris ont été moins actives pendant 2 heures, ensuite elles ont commencé à présenter certains signes de toxicité tels que : Tremblements, tachycardie, isolement, changement de la posture et de la démarche, somnolence, fermeture des yeux et prise de la position de couchée (Figure 20), en plus d'une faible sensibilité au bruit ainsi que des fois certaines femelles se sont montrées plus excitées et deviennent hyperactives puis elles sont retournées à leur état normal après 15 min.

Au cours de la période de l'expérimentation nous avons constaté que les souris ont présenté, durant les trois premiers jours après l'administration de la dose, une polyurie, une diarrhée, un changement de couleur de la matière fécale. Cependant, après ces premiers jours, elles ont commencé à se comporter normalement comme le groupe témoin.

À noter qu'au cours de l'expérimentation les femelles ont été les premières à présenter les signes de toxicité par rapport aux mâles et qu'aucune mort n'a été enregistrée ce qui implique que la Dose Létale 50 (DL50) est supérieure à 2000 mg/kg du poids corporel.

- **Dose de 1000 mg/kg**

L'administration de la dose 1000 mg/kg dans les mêmes conditions que celle de 2000 mg/kg, a provoqué dès les premiers instants chez les mâles : Une hyperactivité, un saut, un tournoiement répétitif, une agitation qui se caractérise par des déplacements fréquents suivis d'un allongement sur le ventre, chez une souris mâle sur cinq, durant 30 min.

Cependant, chez les femelles, cette dose a entraîné une pilo-érection, une tachycardie et une vibration durant les premiers instants après le gavage. Sauf une femelle qui a présenté une convulsion périodique, suivie d'un relâchement et d'une bradycardie. A savoir qu'aucune mortalité n'a été enregistrée pendant les 14 jours de l'étude.

- **Dose de 500 mg/kg**

Cependant, la dose 500 mg/kg a révélé chez deux souris sur dix, des deux sexes, un signe de tremblement caractérisé par un redressement assez prolongée pendant 2 minutes au niveau d'un coin de la cage (**Figure 21**), suivi par un glissement et un relâchement. Ce signe a été apparu dans la première heure qui a suivi le gavage.

A côté de ce signe, d'autres signes ont été apparus durant les quatre premières heures : Blottissement dans un coin de la cage, relâchement, écartement des pâtes (**Figure 22**), hypoactivité, convulsion suivie de saut et de déplacement... De plus au niveau du 12^{ème} jour, nous avons constaté la fermeture d'un œil chez une souris qui peut être due à la sécheresse des larmes sécrétées.



Figure 20 : Figure montrant des souris femelles en position couchée à la dose 2000 mg/kg (LPA, 2022)



Figure 21 : Figure montrant une souris en position de redressement après l'administration de la dose 500 mg/kg (LPA, 2022)



Figure 22 : Figure montrant une souris présentant l'écartement des quatre membres après l'administration de la dose de 500 mg/kg (LPA,2022)

2.2.Effet du *Cannabis sativa* sur le poids corporel

L'évolution du poids corporel (PC) des souris après l'administration de la dose 2000, 1000 et 500 mg/kg de l'extrait aqueux a été suivie pendant 14 jours, avec une fréquence d'un jour sur deux, chez les lots de souris non traitées (NT) et traitées (T) des deux sexes (**Figures 23, 24, 25, 26 et 27**).

- **Dose de 2000 mg/kg**

Les résultats ont montré que le PC des souris du même sexe n'a pas changé significativement ($p > 0,9999$) chez les souris non traitées et traitées par la dose de 2000 mg/kg durant les 14 jours. Alors qu'il y avait un effet sexe qui a montré une différence significative du PC avec une valeur de $p = 0,0431$ (**Figure 23**).

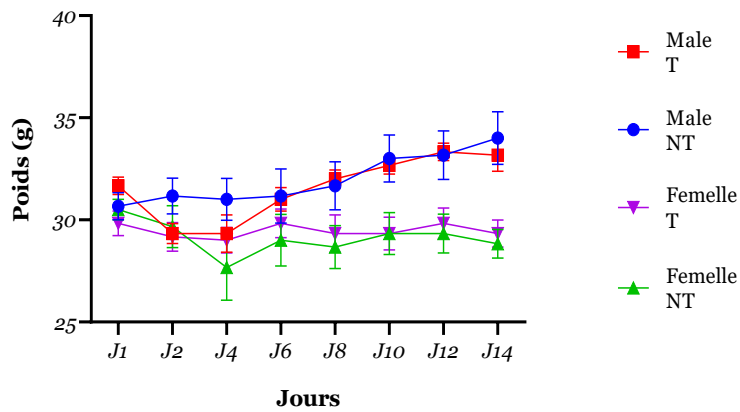


Figure 23 : Evolution du poids corporel moyen des souris non traitées et traitées des deux sexes ($n = 6 / \text{groupe}$) pendant les 14 jours d'expérimentation (2000 mg/kg)

Par ailleurs, la différence du PC des souris par rapport au premier jour a révélé que seul le PC du groupe des mâles non traités à la dose étudiée a augmenté significativement ($p = 0,0002$), en passant de la moyenne de $30,67 \pm 0,66$ g (à J-1) à $34 \pm 1,29$ g (à J-14) soit une augmentation de $10,72 \pm 2,33$ %. Cependant, les femelles du groupe non traité par Cannabis et celles du groupe traité ont perdu du poids avec une différence de $5,43 \pm 2,01$ % et $1,64 \pm 1,40$ % respectivement (**Figure 24**).

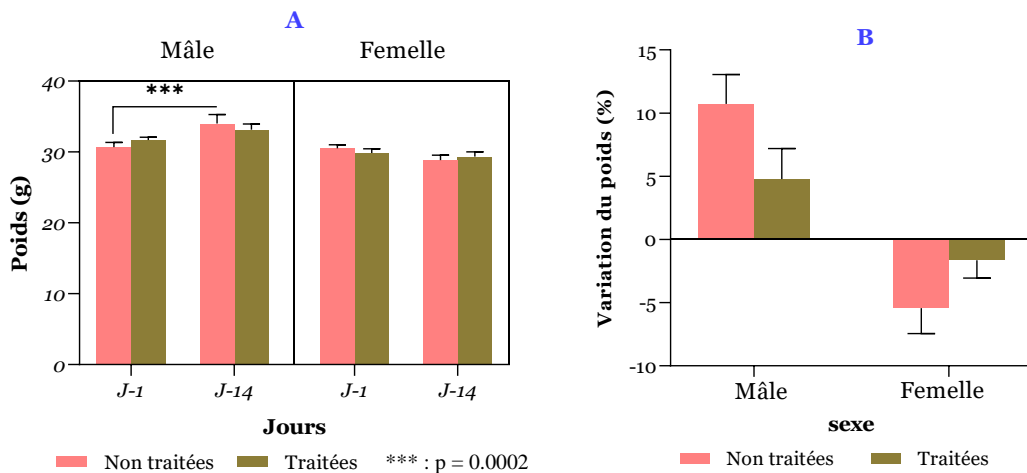


Figure 24 : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes ($n = 6 / \text{groupe}$) entre le 1er et le 14ème jour (2000 mg/kg)

A : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour en gramme (g).

B : Evolution en % du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour.

• **Doses de 1000 mg/kg et 500 mg/kg**

De même, les résultats obtenus montrent que l'administration des doses 1000 mg/kg et 500 mg/kg n'ont pas induit un effet significatif sur l'évolution du PC des souris des deux sexes. Les valeurs du PC des souris sont restées plus au moins comparables et identiques à celles notées pour le groupe non traité ($p > 0,9999$) (**Figure 25**).

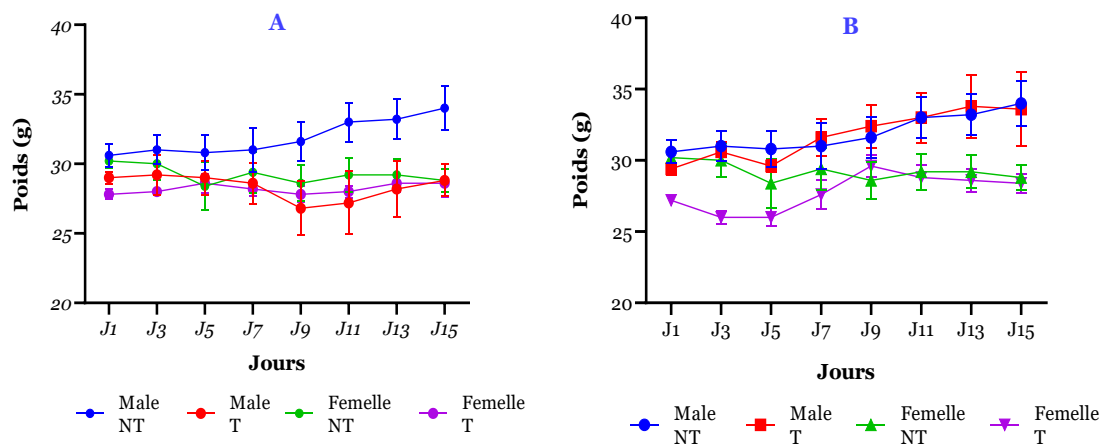


Figure 25 : Evolution du PC moyen des souris non traitées et traitées des deux sexes ($n = 5 /$ groupe) pendant les 14 jours d'expérimentation.

A : Evolution du PC moyen des souris traitées par la dose **1000 mg/kg** pendant les 14 jours

B : Evolution du PC moyen des souris traitées par la dose **500 mg/kg** pendant les 14 jours

Les résultats illustrés dans la **figure 26** montrent que le PC des souris mâles traitées à la dose 1000 mg/kg n'a pas varié significativement ($p > 0,9999$), il a diminué avec une différence de $0,81 \pm 2,75$ % par rapport au 1^{er} jour. Par contre, le PC des souris mâles non traitées a augmenté significativement ($p = 0,0041$) avec une différence de $10,93 \pm 2,85$ % vis-à-vis au 1^{er} jour. Ces résultats montrent aussi que le PC des souris femelles non traitées et traitées n'a pas eu une variation significative ($p = 0,1995$ et $p > 0,9999$ respectivement).

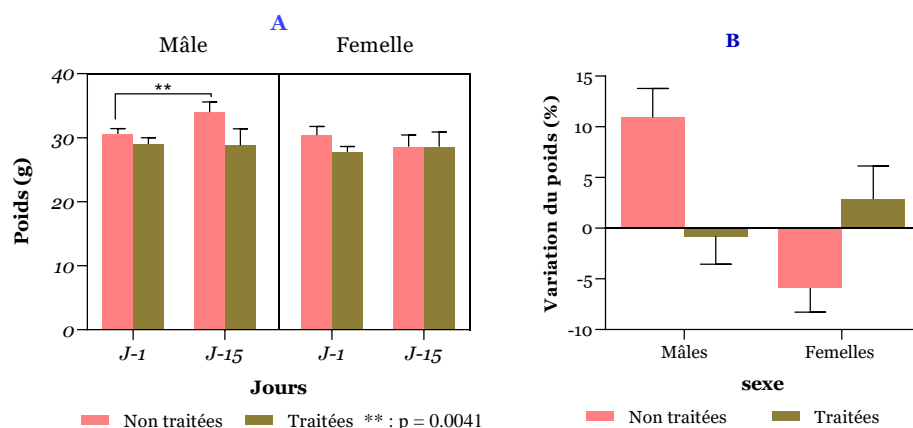


Figure 26 : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes ($n = 5 / \text{groupe}$) entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour (1000 mg/kg)

A : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour en gramme (g).

B : Evolution en % du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour.

En outre, l'évolution du PC des souris mâles et femelles traitées à la dose 500 mg/kg entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour de l'expérimentation ne montre aucune différence significative ($p = 0,0882$ et $p > 0,9999$ respectivement) par rapport à l'évolution du PC des souris non traitées des deux sexes ($p > 0,9999$) (**Figure 27**).

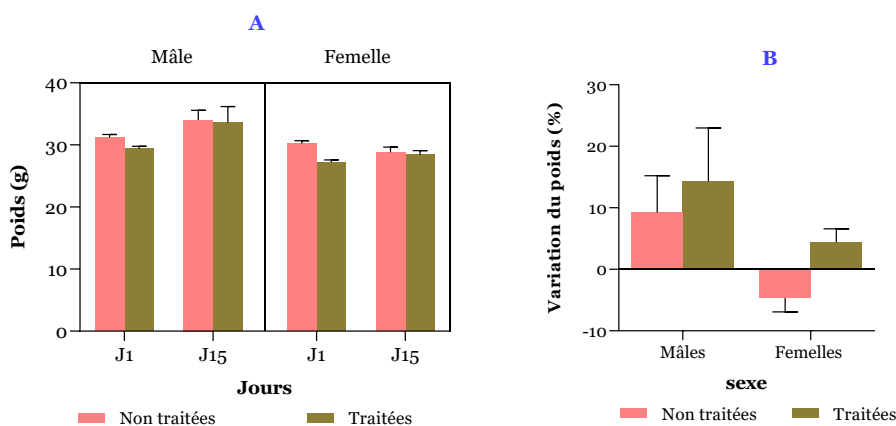


Figure 27 : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes ($n = 5 / \text{groupe}$) entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour (500 mg/kg)

A : Evolution du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour en gramme (g).

B : Evolution en % du PC des souris traitées et non traitées des deux sexes entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour.

Cependant, l'évolution en % du PC des souris traitées entre le 1^{er} et le 14^{ème} jour montre une compatibilité entre les résultats obtenus chez les femelles traitées aux doses 1000 mg/kg et 500 mg/kg, leur PC a été évolué avec une différence de $2,86 \pm 3,28$ % et $4,42 \pm 2,16$ % respectivement par rapport au J-1 (**Figures (26, B) et (27, B)**) [page 34].

Ces résultats obtenus laissent suggérer que ces deux doses ont favorisé la prise du poids en augmentant l'appétit chez les souris femelles.

2.3.Effet du *Cannabis sativa* sur le poids des organes

- **Dose 2000 mg/kg**

Les résultats du calcul du rapport de poids des organes (foie et reins) sur le PC des souris traitées par *C. sativa* à la dose 2000 mg/kg ne montrent aucune différence significative ($p > 0,9999$) par rapport à ceux obtenus chez les souris du groupe non traité (**Figure 28**).

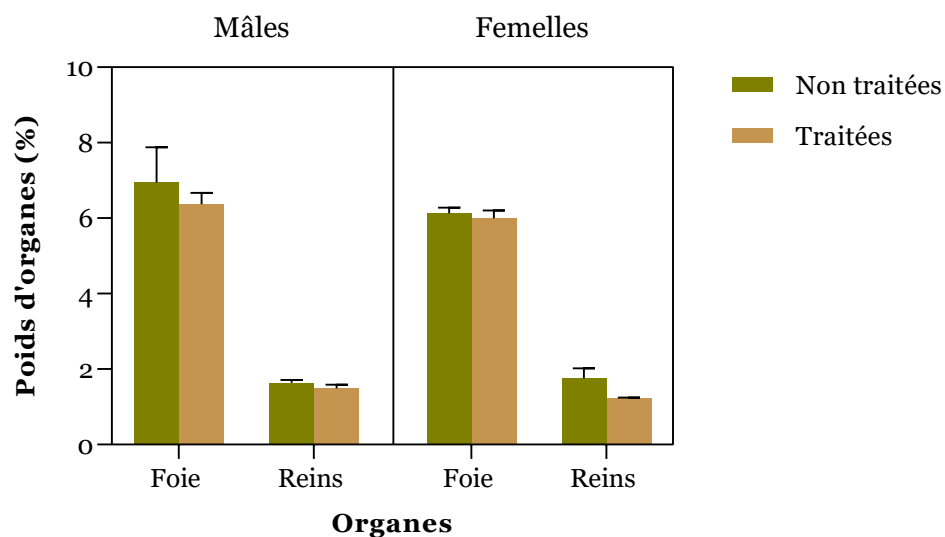


Figure 28 : Rapport poids des organes / PC des souris traitées par la dose 2000 mg/kg en (%)

- **Dose 1000 mg/kg**

Le traitement des souris mâles par la dose 1000 mg/kg a révélé une diminution significative ($p = 0,0293$) de leur rapport poids du foie / PC avec une valeur de $5,47 \pm 0,28$ % vis-à-vis au résultat de rapport poids du foie / PC chez les souris mâles non traitées qui est de $6,95 \pm 0,93$ %. Cependant cette dose n'a pas eu d'effet sur le poids des organes chez les femelles ($p = 0,117$) (**Figure 29**).

Ces résultats expliquent la différence que nous avons trouvé lors de l'évaluation du PC (en %) chez le lot des souris mâles traitées à la même dose qui a diminué avec une différence de $0,81 \pm 2,75$ % par rapport au J-1 (**Figure 26**) [page 34], ce qui laisse penser à faire une étude histopathologique pour savoir si cette dose (1000 mg/kg) a eu un effet sur les hépatocytes.

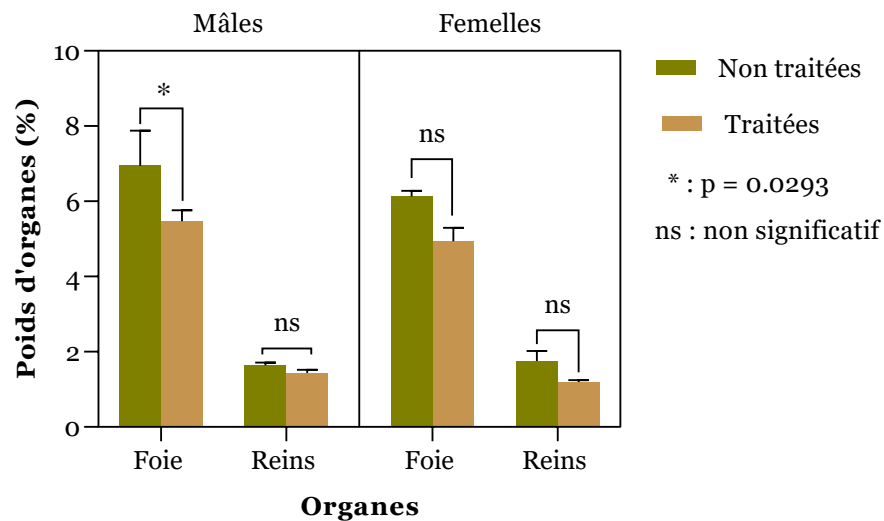


Figure 29 : Rapport poids des organes / PC des souris traitées par la dose 1000 mg/kg en (%)

- **Dose 500 mg/kg**

De même, le calcul du rapport poids du foie / PC a montré une diminution très significative ($p = 0.009$) chez les souris mâles traitées par la dose 500 mg/kg ($4,78 \pm 0,26$ %) par rapport au résultat du calcul obtenu chez les souris mâles non traitées ($6,95 \pm 0,93\%$), contrairement

aux femelles qui n'ont eu aucune différence significative ($p = 0,081$) du poids de leurs organes après leur traitement par cette dose (**Figure 30**).

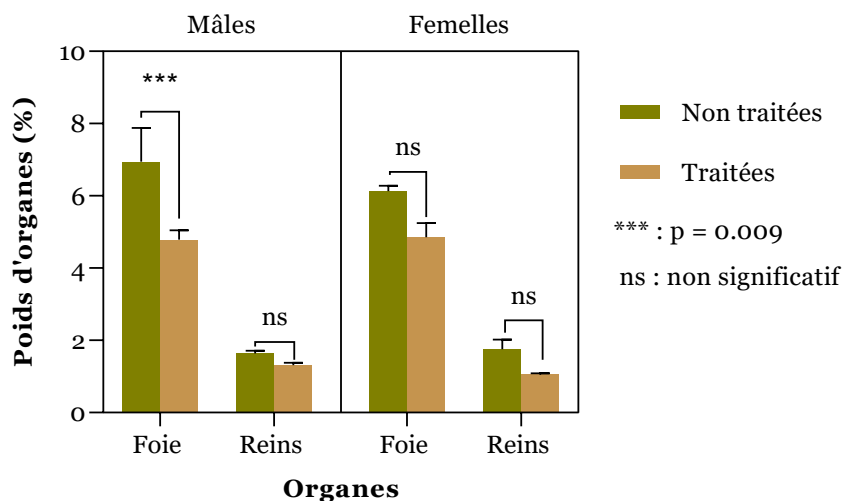


Figure 30 : Rapport poids des organes / PC des souris traitées par la dose 500 mg/kg en (%)







En comparant le rapport poids du foie / PC chez les souris mâles traitées à cette dose (500 mg/kg) par rapport à celles traitées à la dose 1000 mg/kg, nous avons constaté que la dose 500 mg/kg a montré un effet très significatif en diminuant le poids du foie vis-à-vis à la dose 1000 mg/kg ($4,78 \pm 0,26$ % et $5,47 \pm 0,28$ % respectivement).

Ces résultats laissent suggérer que plus on diminue la dose de *Cannabis sativa* chez les souris mâles plus la probabilité d'engendrer des effets qui peuvent être néfastes au niveau de leur foie augmente sachant que la dose 2000 mg/kg n'a montré aucun effet sur le poids de ce dernier.

2.4.Observation macroscopique des organes

Après le sacrifice des souris au terme de la période de l'expérimentation, les organes ont été passés par un examen macroscopique à l'œil nu. Cette observation n'a révélé aucune différence au niveau de l'aspect des organes chez toutes les souris traitées par la dose 2000 mg/kg, 1000 mg/kg et 500 mg/kg par rapport aux témoins. Le foie et les reins ont été en bon état et n'ont présenté aucune anomalie (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Organes des souris non traitées et traitées par *C. sativa* (LPA, 2022)

	Contrôles	Traitées
2000 mg/kg		
1000 mg/kg		
500 mg/kg		

F : Foie ; **R** : Rein

3. Toxicité subchronique

3.1. Observations des signes de toxicité

Durant la première semaine du traitement répété par le cannabis, les groupes de souris traitées par les deux doses de 25 et 50 mg/kg respectivement ont présenté un changement de la démarche et de la posture, une pilo-érection, un tournoiement répétitif, un relâchement, une tachycardie, un regroupement des unes à côté des autres, un changement de la couleur de la matière fécale et une diarrhée.

En plus des signes cités pour les deux doses, les souris du troisième lot (100 mg/kg) ont présenté après l'administration de la dose des signes de tremblement, d'hypoactivité et un sautillerment.

Par ailleurs, plus la durée du traitement avance plus l'intensité des signes augmente et les souris deviennent plus stressées, agressives et des fois elles nous attaquaient lorsqu'on essayait de leur administrer la dose, en plus de leur habitude à se regrouper et se blottir contre la litière.

3.2. Effet du *C. sativa* en traitement répété sur le PC

- **Evolution du PC moyen des souris au cours de l'expérimentation**

L'évolution du PC a été suivi pour tous les lots pendant 28 jours avec un intervalle d'un jour entre chaque prise de poids (**Figure 31**).

Les résultats révèlent que l'administration répétée des doses 25, 50 et 100 mg/kg de notre extrait aqueux chez les femelles n'affecte pas leurs PC. Le PC des souris traitées a évolué de façon similaire par rapport à celui enregistré pour le groupe des souris non traitées.

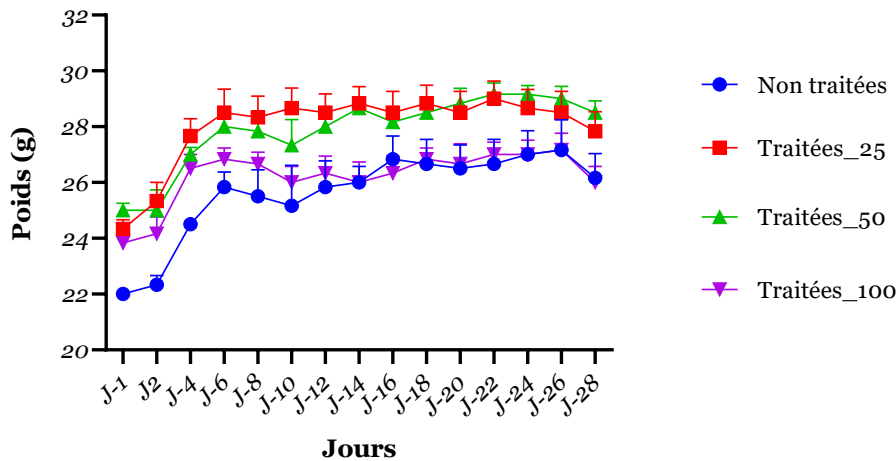


Figure 31 : Evolution du PC pendant les 28 jours du traitement par *C. sativa*

• **Evolution du PC moyen des souris entre le 1^{er} et le 28^{ème} jour**

Les résultats présentés dans la figure 32 montrent que le PC a augmenté de manière hautement significative chez les deux groupes traités au cannabis aux doses 25 mg/kg et 50 mg/kg ($p = 0,0003$) ainsi que le groupe témoin ($p < 0,0001$), passant en moyenne de $24,33 \pm 0,33$ g ; $25 \pm 0,25$ g et $22 \pm 0,0$ g au premier jour à $27,83 \pm 0,70$ g ; $28,5 \pm 0,42$ g et $26,17 \pm 0,87$ g respectivement au 28^{ème} jour de l'expérimentation. Cependant, le PC moyen du lot traité à 100 mg/kg a eu une variation significative ($p < 0,0226$) en passant de $23,83 \pm 0,30$ g (à J-1) à $26,00 \pm 0,57$ g (à J-28).

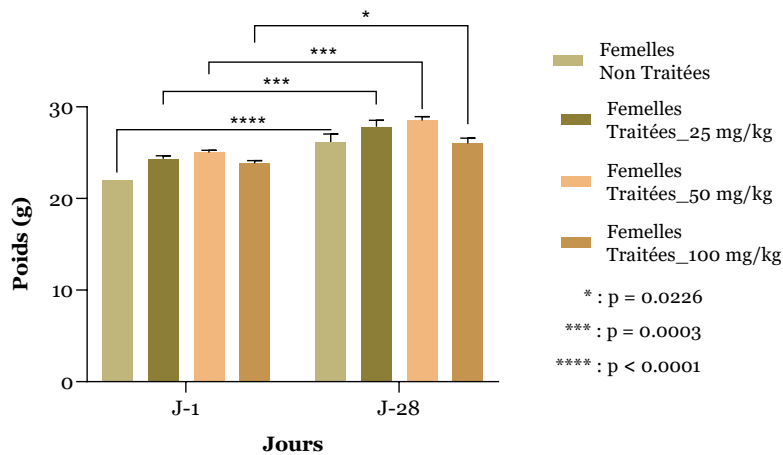


Figure 32 : Evolution du PC moyen des souris femelles traitées et non traitées (n = 6 / groupe) entre le 1^{er} et le 28^{ème} jour

Cependant, l'évolution du PC (en %) noté chez les quatre groupes de souris femelles : NT, T_25, T_50 et T_100 au bout de l'expérimentation montre un gain de PC ($19 \pm 4 \%$, $14,42 \pm 2,82 \%$, $14,06 \pm 2,05 \%$ et $9,214 \pm 3,08 \%$ respectivement) mais d'une manière non significative ($p > 0,05$) chez les quatre lots de souris (**Figure 33**).

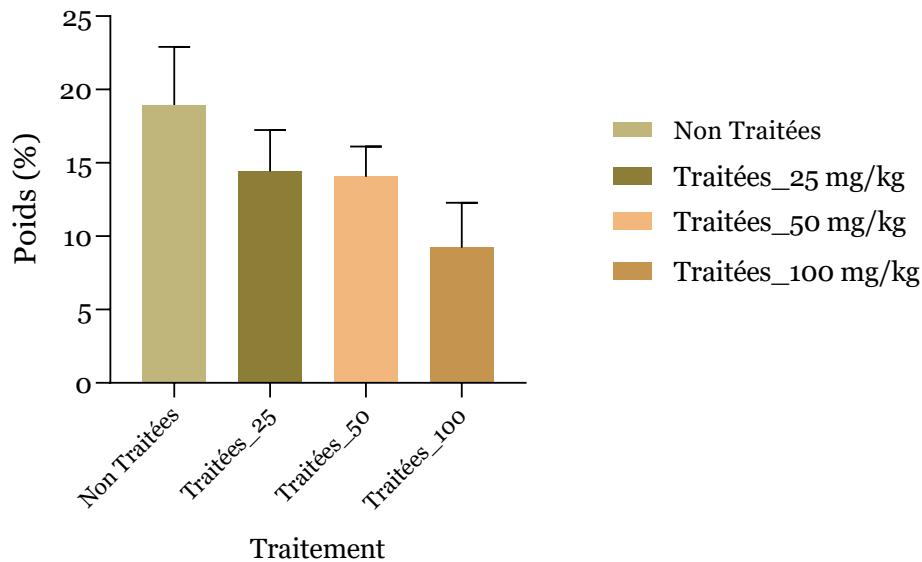


Figure 33 : Evolution en % du PC des souris femelles traitées et non traitées (n = 6 / groupe) entre le 1^{er} et le 28^{ème} jour

3.3.Effet de *Cannabis sativa* sur le poids des organes

Les résultats illustrés dans la **figure 34** ci-dessous montrent un effet significatif ($p = 0,0133$) du traitement par le cannabis sur le poids du foie uniquement chez les souris femelles traitées par la dose journalière de 25 mg/kg par rapport à leur PC comparé au lot non traité.

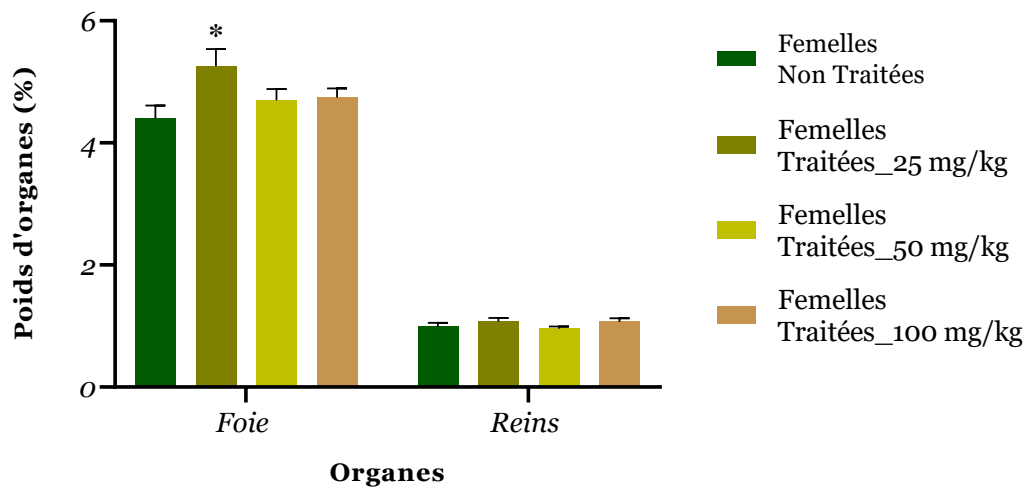


Figure 34 : Rapport poids des organes / PC des quatre groupes de souris femelles traitées par le *C. sativa* en %

4. Evaluation de l'effet analgésique

L'administration par voie orale de la buprénorphine à la dose 0,4 mg/kg chez le lot de souris mâles a produit une réponse antinociceptive maximale significative ($p = 0,0004$) à $t_{180} = 5,43 \pm 2,004$ s après le gavage par rapport à $t_0 = 1,61 \pm 0,13$ s, alors que son administration à la même dose chez les souris femelles n'a pas produit d'effet antinociceptif significatif.

Par ailleurs, l'administration de la dose 25 mg/kg, dans laquelle aucun signe de toxicité n'a été constaté, de l'extrait aqueux de *C. sativa* n'a donné aucun effet antinociceptif significatif chez les souris traitées des deux sexes ($p > 0,05$) (**Figure 35**).

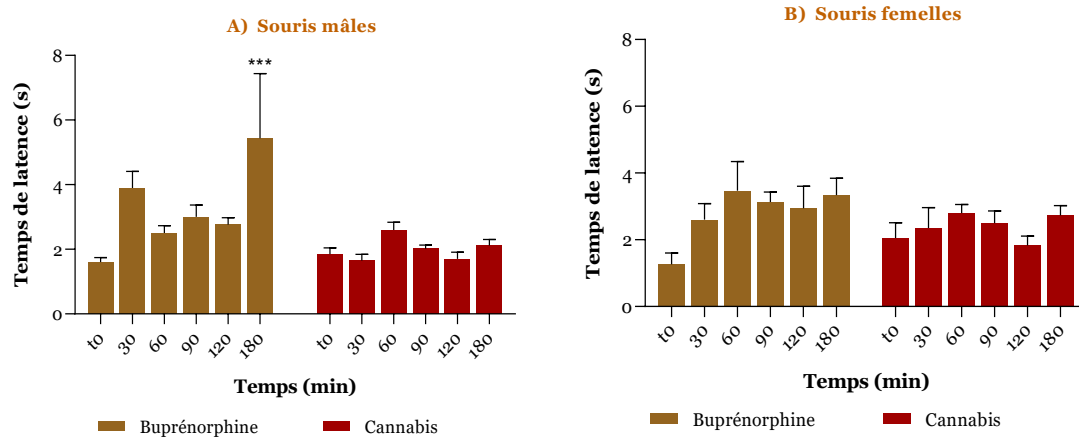


Figure 35 : Evaluation de l'effet analgésique du *C. sativa* par rapport à la buprénorphine chez les deux sexes de souris (n = 6 / groupe)

Discussion

Le calcul de rendement d'un extrait a un intérêt majeur, car il permet d'estimer la quantité de la matière végétale première nécessaire à extraire les principes totaux existant dans la partie concernée par l'étude (feuille, racine, tige ou fleur).

Selon les résultats obtenus, l'évaluation des rendements des extraits de *C. sativa* a révélé que le taux le plus élevé a été enregistré dans l'extrait aqueux, issu de la décoction, des co-produit de la variété khardala avec $19,72 \pm 0,3\%$, suivi de Critical avec $15,96 \pm 0,06\%$ et Beldia avec $15,74 \pm 0,63\%$. Ces résultats obtenus justifient notre choix de la variété Khardala.

En outre, **Rožanc et al., (2021)** ont trouvé que l'extraction des fleurs de *Cannabis sativa* en utilisant la technique de soxhlet a donné le meilleur rendement avec une valeur de 20,5%.

D'un autre côté, la sécurité des plantes est justifiée par une faible, voire un manque de toxicité en raison de leur utilisation à long terme chez l'Homme. Ce point est assuré par les essais de toxicité qui permettent aux chercheurs de déterminer les effets indésirables possibles et d'obtenir des informations pour définir le rapport exposition-réponse (**Saleem et al., 2017**).

Par ailleurs, l'administration unique de notre extrait aqueux du *C. sativa* à plusieurs doses, 2000 mg/kg, 1000 mg/kg et 500 mg/kg, pour évaluer sa toxicité aiguë a donné comme signes cliniques : une hypoactivité, une tachycardie, une somnolence, une diarrhée et des convulsions périodiques. En ajoutant qu'aucune mortalité n'a été observée.

Le signe de la tachycardie noté lors de ce test peut être dû au stress des souris en raison de leur inhabitude à la contention et au gavage alors que l'hypoactivité et la somnolence peuvent être expliquées par l'effet anxiolytique de cette plante.

Il ressort également de ce test que la dose létale 50 (DL50) de l'extrait aqueux de *C. sativa* est supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel, en raison de l'absence de mortalité des souris suite à leur exposition orale aiguë à cette dose qui est autrement appelé la dose maximale tolérée.

En se basant sur l'échelle de Hodge et de Sterner (1943), on peut conclure que l'extrait aqueux de *C. sativa*, spécifiquement de la variété khardala, est classée parmi les substances qui sont légèrement toxiques.

D'autre part, les signes cliniques observés après exposition répétée des souris femelles à l'extrait aqueux durant les 28 jours de l'expérimentation sont principalement une diarrhée, une hypoactivité, un regroupement et une agressivité. De même, ces signes ont été aussi rapportés par **Yassa et al., (2010)** lors d'une étude de la toxicité de l'extrait éthanolique des feuilles de *C. sativa* sur des rats albinos mâles.

Sachant que la variation du PC est parmi les indicateurs essentiels pour détecter les effets secondaires d'un médicament ou d'un produit chimique, un suivi de 14 jours et un autre de 28 jours ont été effectués pour que nous puissions estimer la variation de la masse corporelle des animaux au cours de l'expérimentation.

Ainsi, l'évolution du PC des souris traitées par l'extrait aqueux de *C. sativa* à différentes doses ne montre aucune différence statistiquement significative pendant les jours qui suivent le traitement, en comparaison aux souris témoins, que ce soit pour la toxicité aiguë ou la toxicité subchronique. Ce qui laisse penser que l'extrait aqueux de la plante *C. sativa* n'affecte pas la variation du PC. Néanmoins, il aurait un effet en freinant la prise du poids à des doses uniques de 2000 mg/kg et 1000 mg/kg respectivement.

Les organes prélevés (foie et reins), dans le cas de la toxicité aiguë et subchronique, et observés macroscopiquement n'ont présenté aucune atteinte. Leur couleur, leur texture et même leur poids ont été comparables à ceux des souris du groupe témoin ont été normaux.

D'un autre côté, l'étude de l'activité des plantes dans le domaine thérapeutique a pour but de mettre en évidence des traitements naturels sans effets secondaires. Pour atteindre cet objectif principal, les chercheurs scientifiques essaient de définir les doses efficaces qui ne présentent aucun risque et qui ciblent l'agent responsable de la pathologie. Dans ce sens, nous avons déterminé une dose sans effets secondaires de l'extrait du co-produit de *Cannabis*

sativa, dont nous nous sommes servis par la suite pour étudier l'effet pharmacologique présenté par cette plante pour soulager les douleurs d'origine thermique.

En effet, l'administration de cette dose par voie orale n'a révélé aucun effet sur l'inhibition de la douleur induite par l'eau chaude focalisé sur la queue des souris, ce qui laisse suggérer que la voie choisie pour administrer la dose n'a pas été la bonne en raison de la réduction de sa biodisponibilité par l'effet du premier passage hépatique. Ou encore que la dose n'est pas efficace pour montrer un effet significatif sachant qu'une dose plus élevée ne reste pas sans effets indésirables notés.

En revanche, ces résultats désaccordent avec ceux obtenus par **Doshi et al., (2013)** qui ont montré que l'administration de l'extrait polyherbal de feuilles d'*Aloe Vera* et de *Cannabis sativa* par voie orale à une dose de **100 mg/kg** a présenté un effet significatif à 30 minutes ($3,37 \pm 0,27s$) et une activité analgésique plus significative ($6,65 \pm 0,54s$) après 120 minutes, tandis qu'à une dose de **200 mg/kg**, cet extrait a révélé une activité analgésique plus significative ($4,10 \pm 0,12s$) après 30 minutes.

Cependant, les recherches sur l'évaluation de la toxicité et de l'effet analgésique des extraits de *C. sativa* sont encore limitées et les informations dont nous disposons ne permettent pas de faire une comparaison approfondie avec d'autres études.

Ce qui laisse penser à des perspectives ouvertes de l'étude des bienfaits éventuels du Cannabis en variant différents paramètres tels que les méthodes d'extraction, les doses utilisées, la voie d'administration, la partie utilisée de la plante, l'espèce animale...

Conclusion et perspectives

En conclusion, la nouvelle réglementation relative à l'usage de *Cannabis sativa* dans notre pays a encouragé à mener des études sur cette plante pour un usage thérapeutique.

Dans la présente étude, les résultats ont montré que l'extraction par décoction du co-produit de *C. sativa* en utilisant l'eau distillée comme solvant a permis d'obtenir un meilleur taux de rendement chez la variété Khardala ; Soit $19,72 \pm 0,30$ %. Cependant, l'évaluation de la toxicité aiguë à plusieurs doses, chez les deux sexes de souris, et la toxicité subchronique chez les souris femelles ont montré quelques signes de toxicité de l'extrait, mais aucun cas de décès n'a été enregistré ainsi qu'aucune variation significative de poids corporel n'a été observée chez les souris traitées.

Finalement, l'évaluation de l'activité antinociceptive de l'extrait aqueux du co-produit de *C. sativa* n'a pas montré des résultats significatifs à la dose 25 mg/kg.

Au terme de cette étude, il semble utile et intéressant de :

- Étudier la toxicité subchronique chez des souris mâles pour comparer l'effet de cette plante entre les deux sexes ;
- Faire une étude des paramètres hépatiques et étude histopathologique des organes prélevés des souris traitées lors de l'évaluation de la toxicité subchronique ;
- Évaluer la toxicité du même extrait en changeant la voie d'administration ;
- Effectuer une étude phytochimique pour savoir la composition de l'extrait obtenu à une telle méthode d'extraction pour faire la liaison entre les composants, la technique d'extraction et les signes de toxicité apparus suite à l'administration de l'extrait étudié.

Références bibliographiques

- Bachir, F., Eddouks, M., Arahou, M., & Fekhaoui, M. (2021). Origin, Early History, Cultivation, and Characteristics of the Traditional Varieties of Moroccan Cannabis sativa L. *Cannabis and Cannabinoid Research*. <https://doi.org/10.1089/can.2021.0020>
- Beaulieu, P., & Rice, A. S. C. (2002). Pharmacologie des dérivés cannabinoïdes : Applications au traitement de la douleur? *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 21(6), 493-508. [https://doi.org/10.1016/S0750-7658\(02\)00663-9](https://doi.org/10.1016/S0750-7658(02)00663-9)
- Bricaire, L., & Brue, T. (2007). Le système endocannabinoïde : Des effets métaboliques aux effets neuroendocriniens. *Annales d'Endocrinologie*, 68, 12-17. [https://doi.org/10.1016/S0003-4266\(07\)80004-7](https://doi.org/10.1016/S0003-4266(07)80004-7)
- Calvino, B. (2007). Cannabinoïdes et douleur. *Douleurs : Evaluation - Diagnostic - Traitement*, 8(4), 218-226. [https://doi.org/10.1016/S1624-5687\(07\)91882-X](https://doi.org/10.1016/S1624-5687(07)91882-X)
- Calvino, B. (2021). Le système de signalisation endocannabinoïde : Structure, fonction, pharmacologie. *Douleurs : Évaluation - Diagnostic - Traitement*, 22(2), 53-67. <https://doi.org/10.1016/j.douler.2021.03.001>
- Costentin, J. (2020). Le cannabis, son $\Delta 9$ -tétrahydrocannabinol/THC et le système endocannabinoïde. *La Presse Médicale Formation*, 1(3), 264-270. <https://doi.org/10.1016/j.lpmfor.2020.05.024>
- Derkinderen, P., & Delettre, D. (2002). *Cannabis et neurologie*. VI(9), 327-330.
- Doshi, S., Mohan, P., Kabra, P., & Singh, S. (2013). EVALUATION OF ANALGESIC ACTIVITY OF POLYHERBAL LEAVES EXTRACT OF ALOE VERA AND CANNABIS SATIVA IN EXPERIMENTAL ANIMALS. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 2525-2534.
- Ellison, D. L. (2017). Physiology of Pain. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, 29(4), 397-406. <https://doi.org/10.1016/j.cnc.2017.08.001>
- Fabresse, N., Becam, J., Carrara, L., Descoeur, J., Di Mario, M., Drevin, G., Duval, T., Hannas, N., Lanot, T., Marillier, M., Palayer, M., Senechal, H., & Salle, S. (2019). Cannabinoïdes et thérapeutique. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 31(3), 153-172. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2019.06.002>

- Farag, S., & Kayser, O. (2017). The Cannabis Plant : Botanical Aspects. In *Handbook of Cannabis and Related Pathologies : Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment* (p. 3-12). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800756-3.00001-6>
- Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., & Merendino, N. (2020). The Seed of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition. *Nutrients*, *12*(7), 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>
- Gamelin, F.-X., Berthoin, S., Cuvelier, G., Mendes, A., Anthierens, A., & Heyman, E. (2021). L'usage du cannabidiol dans le sport : Une bonne idée ? *Science & Sports*, *36*(4), 251-258. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2021.03.003>
- Goullé, J.-P. (2020). Le cannabis aujourd'hui : La plante et ses usages festifs, données épidémiologiques et sanitaires. *La Presse Médicale Formation*, *1*(3), 258-263. <https://doi.org/10.1016/j.lpmfor.2020.05.025>
- Goullé, J.-P., & Guerbet, M. (2014). Les grands traits de la pharmacocinétique du delta-9-tétrahydrocannabinol (THC) ; les nouveaux cannabinoïdes de synthèse ; le cannabis et la sécurité routière. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, *198*(3), 541-557. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)31321-4](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)31321-4)
- Iffland, K., & Grotenhermen, F. (2017). An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol : A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis and Cannabinoid Research*, *2*(1), 139-154. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0034>
- Kalant, H., & Porath-Walle, A.-J. (2012). Dissiper la fumée entourant le cannabis : Usage de cannabis et de cannabinoïdes à des fins médicales – version actualisée. *desLibris*, *22*.
- Kintz, P. (2020). Cannabis et cannabinoïdes de synthèse. À propos de leur détection biologique. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, *204*(6), 577-582. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2020.04.003>
- Lauwagie, I. S., Stern, E., Millet, R., & Depreux, P. (2006). Cannabinoïdes et pharmacologie des récepteurs aux cannabinoïdes—Cannabinoids and pharmacology of cannabinoid receptors. *Parmacologie*, *20*, 11.
- Lee, G. I., & Neumeister, M. W. (2020). Pain : Pathways and Physiology. *Clinics in Plastic Surgery*, *47*(2), 173-180. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2019.11.001>

- Lucas, C. J., Galettis, P., & Schneider, J. (2018). The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 84(11), 2477-2482. <https://doi.org/10.1111/bcp.13710>
- Marx, T., Reddeman, R., Clewell, A., Endres, J., Béres, E., Vértesi, A., Glávits, R., Hirka, G., & Szakonyiné, I. (2018). An Assessment of the Genotoxicity and Subchronic Toxicity of a Supercritical Fluid Extract of the Aerial Parts of Hemp. *Journal of Toxicology*, 2018, 1-26. <https://doi.org/10.1155/2018/8143582>
- Najem, M., Belaidi, R., Harouak, H., Bouiamrine, E. H., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2018). Occurrence de plantes toxiques en phytothérapie traditionnelle dans la région du Moyen Atlas central Maroc. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 35(2), 5651-5673.
- Perruchoud, C., Albrecht, E., & Moret, V. (2017). *Manuel pratique d'algologie : Prise en charge de la douleur chronique*. Elsevier Health Sciences.
- Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X.-J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain : Concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976-1982. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Rieder, M. J., Société canadienne de pédiatrie, & Comité de pharmacologie et des substances dangereuses. (2016). Le cannabis à des fins médicales est-il une option pour les enfants? *Paediatrics & Child Health*, 21(1), 35-38. <https://doi.org/10.1093/pch/21.1.35>
- Rock, E.-M., & Parker, L.-A. (2021). Constituents of Cannabis Sativa. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1264, 1-13. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57369-0_1
- Rožanc, J., Kotnik, P., Milojević, M., Gradišnik, L., Knez Hrnčič, M., Knez, Ž., & Maver, U. (2021). Different Cannabis sativa Extraction Methods Result in Different Biological Activities against a Colon Cancer Cell Line and Healthy Colon Cells. *Plants*, 10(3), Art. 3. <https://doi.org/10.3390/plants10030566>
- Saleem, U., Amin, S., Ahmad, B., Azeem, H., Anwar, F., & Mary, S. (2017). Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of Saccharum munja Roxb. Roots in albino mice as per OECD 425 TG. *Toxicology Reports*, 4, 580-585. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.10.005>

- Soulaymani Bencheikh, R., Rhalem, N., & Chaoui, H. (2021). *Toxicovigilance Rapport Général et Spécifiques*. CAPM/ Revue de toxicologie. <https://www.capm-sante.ma/revue>
- Venance, L., Maldonado, R., & Manzoni, O. (2004). Le système endocannabinoïde central. *médecine/sciences*, 20(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1051/medsci/200420145>
- Wong, K. U., & Baum, C. (2019). Acute Cannabis Toxicity: *Pediatric Emergency Care*, 35(11), 799-804. <https://doi.org/10.1097/PEC.0000000000001970>
- Yadav, V., & Srivastava, A. (2014). Microscopical and Chemical Study of Cannabis sativa. *Journal of Forensic Research*, 05(01). <https://doi.org/10.4172/2157-7145.1000210>
- Yassa, H., Dawood, A., Shehata, M., Abdel-Hady, R., & Abdel Aal, K. (2010). Subchronic toxicity of cannabis leaves on male albino rats. *Human & Experimental Toxicology*, 29(1), 37-47. <https://doi.org/10.1177/0960327109354312>