

INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE - ASSOCIATION CLAUDE BERNARD

CENTRE DE RECHERCHES ALLERGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES

HOPITAL BROUSSAIS, 96, RUE DIDOT, PARIS XIV<sup>e</sup>

DIRECTEUR : PROFESSEUR B. N. HALPERN

RAPPORT D'EXPERTISE TOXICOLOGIQUE

ALGESAL SURACTIVE

-----

Je soussigné, Docteur Bernard N. HALPERN, Professeur au Collège de France, Expert Toxicologue et Pharmacologue auprès du Ministère de la Santé Publique et de la Population, nommé par arrêté paru au Journal Officiel le 25 Novembre 1960, certifie avoir effectué à la demande des Laboratoires LATEMA, 11Bis, rue Balzac à Paris, une expertise toxicologique sur une spécialité pharmaceutique dénommée ALGESAL SURACTIVE et répondant à la formule suivante :

Salicylate de Diéthylamine .....	10 g
Homomyrtényloxy-2 diéthylamino-1 éthane ou Nopoxamine .....	1 g
Excipient .....	q.s. pour ..... 100 g

Nous avons effectué nos essais à l'aide d'échantillons des principes actifs et à l'aide du lot n° 4 de bague ALGESAL SURACTIVE. Nous avons par ailleurs eu connaissance du rapport de l'expert analyste (Monsieur BARONNET).

1) ETUDE de la TOXICITE AIGUE :

Nous avons étudié la toxicité aiguë des deux principes actifs de la formule ALGESAL SURACTIVE, le Salicylate de Diéthylamine et l'Homomyrtényloxy diéthylamino éthane en déterminant la DL 50 selon la méthode de Kaerber.

1<sup>o</sup>) Toxicité aiguë du Salicylate de Diéthylamine

Bien que ce corps soit bien connu et déjà exploité depuis de nombreuses années nous avons refait l'étude de la toxicité aiguë.

L'animal mis en expérience a été la souris qui a reçu en injection sous cutanée une solution de salicylate de Diéthylamine à doses croissantes d'abord 3% puis 3,5%.

Les résultats de cette expérience sont consignés ci-dessous

Solution de Salicylate de Diéthylamine à 3% : injection 1,5 g au Kg

Souris n°	Poids de la souris	Volume de la solution injectée	Résultats observés
1	15 g	15 / 20 ml	morte en 25 mn
2	17,5g	17 / 20 ml	vivante
3	15,5g	15 / 20 ml	vivante
4	14,9g	15 / 20 ml	vivante
5	12,8g	12,5 / 20 ml	morte en 1h20mn

Dose 1,5g au kilo - mortalité 40%

Solution de Salicylate de Diéthylamine à 3,5% : injection 1,75g au Kg

Souris n°	Poids de la souris	Volume de la solution injectée	Résultats observés
6	14 g	14 / 20 ml	morte en 1h15 mn
7	11,5 g	11,5 / 20 ml	vivante
8	12 g	12,5 / 20 ml	vivante
9	18 g	18 / 20 ml	convulsions après 1h15mn - morte en 1h35mn
10	17,5g	17,5 / 20 ml	vivante
11	15 g	15 / 20 ml	morte en 45 mn

Dose 1,75g au kilo - mortalité 50 %

On peut donc conclure que la DL 50 du Salicylate de Diéthylamine est de 1,75 g au kilo.

2°) Toxicité aiguë de l'Homomyrtényloxy diéthylaminoéthane ou Noroxamine

Ce dérivé étant un corps nouveau, nous avons étudié la toxicité aiguë par deux voies différentes : voie sous cutanée, voie orale sur la souris.

Les résultats de notre étude sont consignés ci-dessous :

## - Voie sous cutanée

- sur 6 lots de 2 souris chacun
- résultat : DL 50 315 mg/Kg

## - Voie orale

- sur 5 lots de 10 souris chacun
- résultat : DL 50 322mg/Kg

La DL 50 par voie sous cutanée ou per os de la NOPOXAMINE est respectivement de 315mg et 322mg/Kg, or un tube de baume ALGESAL SURACTIVE contient 400mg de NOPOXAMINE, en conséquence la dose mortelle moyenne sous cutanée ou per os serait environ de un tube d'ALGESAL SURACTIVE par kg de poids corporel. Pour un homme de 50Kg, ceci reviendrait à l'utilisation de 50 tubes en une seule fois en admettant que la résorption du principe actif soit totale, or, toutes les recherches récentes ont montré que quelque soit le procédé ou l'excipient, il est pratiquement impossible de faire pénétrer par voie per cutanée plus de 10% de principe actif. La DL 50 correspondrait donc à 500 tubes de pommade soit 20Kg. Répartie sur toute la surface du corps (1,30 m<sup>2</sup>), la pommade représenterait 2cm d'épaisseur mais dans ces conditions il faut tenir compte que seule la surface de contact entre en jeu et non pas l'épaisseur de la couche de pommade. La pénétration serait donc très inférieure à 10% de principe actif et on peut admettre que l'innocuité est complète.

3°) Toxicité aiguë du mélange Salicylate de Diéthylamine - Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane

Nous avons vérifié la toxicité aiguë per os chez la souris d'un mélange comprenant :

- Salicylate de Diéthylamine.....10%
- Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane..... 1%

c'est-à-dire la proportion figurant dans la formule de l'ALGESAL SURACTIVE.

Nous avons observé les taux de mortalité consignés ci-dessous

Quantité de mélange au Kg d'animal	Quantité de mélange par souris de 20g	Pourcentage de mortalité
2,75g/Kg	55mg	100%
2,20g/Kg	44mg	90%
1,55g/Kg	33mg	70%
1,10g/Kg	22mg	20%
0,550g/Kg	11mg	0%

En appliquant aux chiffres de ce tableau la formule de KAERBER, on obtient la DL 50% qui se situe à 1,485g/kilo.

Cette dose létale correspondrait donc à environ 160 fois la dose thérapeutique mais si l'on tient le même raisonnement que précédemment et si l'on admet que seulement 10% du mélange de principes actifs franchit la barrière cutanée, la DL 50 ne correspond plus à 160 fois mais à 1600 fois la dose thérapeutique.

## II) ETUDE de la TOXICITE CHRONIQUE :

### 1°) Toxicité chronique de l'homomyrtényloxydiéthylaminoéthane

Nous avons particulièrement étudié la toxicité chronique de l'homomyrtényloxydiéthylaminoéthane ou Nopoxamine.

L'animal mis en expérience a été le raton de 80g environ (souche Champion), 40 rats ont été répartis en 4 lots homogènes de 10, 3 lots ont été traités, un lot a servi de témoin.

Lot n° 1 témoin	- a reçu 250 ml eau ordinaire par 24 heures
Lot n° 2	- a reçu 250 ml solution Nopoxamine à 1/1000 par 24 heures
Lot n° 3	- a reçu 250ml " " à 1/5000 par 24 heures puis 250ml " " à 1/2500 par 24 heures
Lot n° 4	- a reçu 250ml " " à 1/10.000 par 24 heures puis 250ml " " à 1/5000 par 24 heures

L'expérience a été poursuivie pendant 120 jours à raison de 6 jours par semaine.

Dès les premiers jours, les animaux du lot n° 2, recevant la solution à 1/1000, ont refusé de boire ; la solution étendue à 1/2500 a été également refusée. Les animaux déshydratés ont beaucoup maigri, deux sont morts. Le lot a été éliminé. Chaque rat du lot n° 3 a absorbé :

- pendant 78 jours 5mg de Nopoxamine soit 390mg
- pendant 25 jours 10mg de Nopoxamine soit 250mg

Chaque rat a donc absorbé 640 mg de produit pendant la durée de l'expérience. Chacun des animaux du lot n° 4 a absorbé dans les mêmes conditions la moitié de la dose précédente soit 320mg de produit par rat.

### Contrôle anatomopathologique

Les animaux des lots 1 - 3 - 4 ont été sacrifiés à la fin de l'expérience. Les différents organes : foie, rate et reins ont été prélevés. L'examen anatomopathologique a montré que tous ces organes étaient restés normaux aussi bien chez les animaux témoins que chez les animaux intoxiqués par l'ingestion d'une solution à 1/2500 à 1/5000 ou 1/10.000 6 jours par semaine pendant 120 jours.

2°) Toxicité subaiguë du mélange Salicylate de Diéthylamine et Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane

Nous avons réalisé d'autre part une étude de la toxicité subaiguë chez le rat d'un mélange Salicylate de Diéthylamine-Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane.

Formule :

- Salicylate de Diéthylamine .....	20 g
- Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane .....	2 g
- Eau .....	n.s. pour 100 g

Il s'agit donc d'une solution aqueuse renfermant 0,22g de mélange par ml dans les proportions de la formule ALGESAL SURACTIVE.

Déroulement de l'expérience

Vingt rats (10 mâles et 10 femelles) d'un poids moyen de 85g au départ ont été divisés en 4 lots. Deux lots de 5 rats ont été traités, deux lots de 5 rats ont été pris comme témoins.

La dose moyenne utilisée a été de 6mg de mélange pour 100g de poids corporel, elle a été additionnée à l'eau de boisson. Cette quantité représente environ dix fois la dose thérapeutique utilisée journellement. L'expérience a été poursuivie pendant 68 jours. Le produit a été donné 5 jours par semaine dans les conditions suivantes :

- on a donné à deux lots de 5 rats. 15 fois une quantité de 0,14 ml de la solution dans 100 ml d'eau (0,14ml de solution = 30 mg de mélange pur).

Chaque rat de ce lot a donc reçu pendant cette première période :

- par jour  $\frac{30\text{mg}}{5} = 6\text{mg}$  de mélange pur
- pendant 15 jours :  $6\text{mg} \times 15 = 90\text{mg}$  de mélange pur

- on a donné ensuite à ces mêmes deux lots de 5 rats, 35 fois une quantité de 0,28ml de solution dans 150 ml d'eau de boisson (0,28ml de solution = 60 mg de mélange pur).

Chaque rat a donc reçu pendant cette deuxième période :

- par jour  $\frac{60\text{mg}}{5} = 12\text{mg}$  de mélange pur
- pendant 35 jours :  $12\text{mg} \times 35 = 420\text{mg}$  de mélange pur

Totalité de mélange pur injecté par rat :  $90 + 420 = 510\text{mg}$

Poids moyen des rats :

	animaux traités	animaux témoins
- au début de l'expérience	85 g	85 g
- à la fin de l'expérience	227 g	228 g

Nous n'avons donc pas observé de différence de poids entre les animaux traités et les animaux témoins à la fin de l'expérience, la courbe de croissance des deux lots a été parfaitement normale. Par ailleurs, l'état général de tous les animaux est demeuré excellent, nous n'avons observé aucune modification de leur aspect ou de leur comportement.

#### Contrôle anatomopathologique

A la fin de l'expérience, les rats témoins et les rats traités ont été sacrifiés et les différents organes : rate, reins, foie ont été prélevés pour un contrôle anatomopathologique.

Nous avons constaté que les organes des animaux traités étaient parfaitement normaux et en tous points semblables à ceux des animaux témoins.

#### III) ESSAI de TOLERANCE CUTANEE du BAUME ALGESAL SURACTIVE

Le baume ALGESAL SURACTIVE étant destiné à l'usage externe, il nous est apparu intéressant de procéder à un essai de tolérance cutanée. Cet essai a été effectué sur la peau du rat.

Un lot de 10 rats a été mis en expérience.

Le flanc des animaux est préalablement rasé sur une surface d'environ 3cm x 3cm.

L'application du baume ALGESAL SURACTIVE est effectuée une fois par jour pendant 12 jours consécutifs.

La tolérance du baume ALGESAL SURACTIVE a été très bonne notamment nous n'avons observé aucune manifestation d'irritation locale.

Par ailleurs, aucun phénomène d'origine allergique n'a pu être mis en évidence.

La peau de l'animal est restée souple et saine.

On pouvait d'ailleurs prévoir cette absence de pouvoir allergisant puisque la NOPOXAMINE est un dérivé terpénique ne possédant aucune fonction paraamino.

#### CONCLUSION

L'étude de la toxicité aiguë des différents constituants de l'ALGESAL SURACTIVE a permis de déterminer la DL 50 qui se situe :

- à 1,75g au kilo pour le Salicylate de Diéthylamine par voie sous cutanée
- à 315mg/Kg pour l'homomyrtényloxydiéthylaminoéthane par voie sous cutanée
- à 322mg/Kg pour l'homomyrtényloxydiéthylaminoéthane par voie orale
- à 1,465g/Kg pour le mélange des deux corps dans les proportions de la formule ALGESAL SURACTIVE par voie orale.

L'Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane a été administré par voie buccale pendant 120 jours à des rats à des doses progressives. L'autopsie des animaux n'a montré aucune lésion anatomopathologique.

L'étude de la toxicité subaiguë par administration à des rats pendant 68 jours du mélange Salicylate de Diéthylamine-Homomyrtényloxydiéthylaminoéthane dans les proportions de la formule ALGESAL SURACTIVE n'a pas permis de déceler sur les organes des animaux sacrifiés une lésion anatomopathologique. Nous avons pu constater que l'ingestion de ce mélange n'avait pas empêché la croissance normale des animaux.

Au cours d'un essai de tolérance cutanée sur la peau rasée du rat, nous avons pu constater que l'ALGESAL SURACTIVE Baume est un produit qui, utilisé en massages sur les téguments, présente une excellente tolérance locale. Aucun phénomène irritatif ni aucun phénomène d'origine allergique ne peuvent lui être attribué.

Fait à Paris, le 9 MAI 1962



B.N. HALPERN  
Professeur au Collège de France