

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB - BLIDA -1 -



FACULTÉ DE MEDECINE

DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

**ETUDE IN SILICO DE LA TOXICITÉ DES COLORANTS
UTILISÉS EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE**

Thèse d'exercice de fin d'études.

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Septembre 2017.

Présentée par :

- ALEM Rokaya
- TOBAL Meriem

Devant le jury :

- Présidente:** Dr. GHERFI Bahdja : Maitre-assistante en chimie thérapeutique
- **Examineurs :**Dr. MAAMERI Khaled : Maitre-assistant en toxicologie
Dr. BENAZIZ Ouarda : Maitre-assistante en pharmacie galénique.
- Promoteur :** Dr. IMOUDACH Hichem : Maitre-assistant en chimie minéral

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTÉ DE MEDECINE.

DÉPARTEMENT DE PHARMACIE.

**ETUDE IN SILICO DE LA TOXICITÉ DES COLORANTS
UTILISÉS EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE**

Thèse d'exercice de fin d'études.

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de docteur en pharmacie

Session :septembre 2017.

Présentée par :

-ALEM Rokaya

-TOBAL Meriem

Devant le jury :

-Présidente: Dr. GHERFI Bahdja, Maitre-assistante en chimie thérapeutique

- Examineurs :Dr . MAAMER Khaled Maitre-assistant en toxicologie

Dr. BENAIZ Ouarda, Maitre-assistante en pharmacie galénique.

-Promoteur : Dr. IMOUDACHE Hichem, Maitre-assistant en chimie minéral

Remerciement

Nous adressons en premier lieu notre reconnaissance à notre DIEU le tout puissant, de nous avoir permis d'en arriver là, car sans lui rien n'est possible.

Il nous tient à cœur d'accorder notre immense gratitude à notre encadreur Dr IMOUDACHE , Maitre assistant en chimie minéral, de nous avoir fait bénéficier de ses compétences, ses qualités humaines et sa disponibilité, pour la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous les membres de jury Dr GHERFI Dr MAAMER et Dr BENAZIZ pour le temps qu'ils nous ont accordé, ainsi que pour les remarques que nous accepterions avec humilité.

Nous n'oublions pas de dire un grand merci à toutes les personnes, tous les professionnels, qui ont contribué de près ou de loin à l'enrichissement de notre formation et à notre épanouissement intellectuel.

Et enfin nous exprimons notre reconnaissance envers les amis et les collègues, qui nous ont apporté le support moral tout au long de notre démarche.

Rokaya

Meriem



Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents pour le soutien et l'aide qu'ils m'ont apporté tout au long de ma thèse de fin d'étude et mon cursus universitaire et bien plus et d'avoir cru en moi.

Je leur exprime toute ma profonde reconnaissance.

A mes sœurs, mes frères, mes proches et tous mes enseignants.

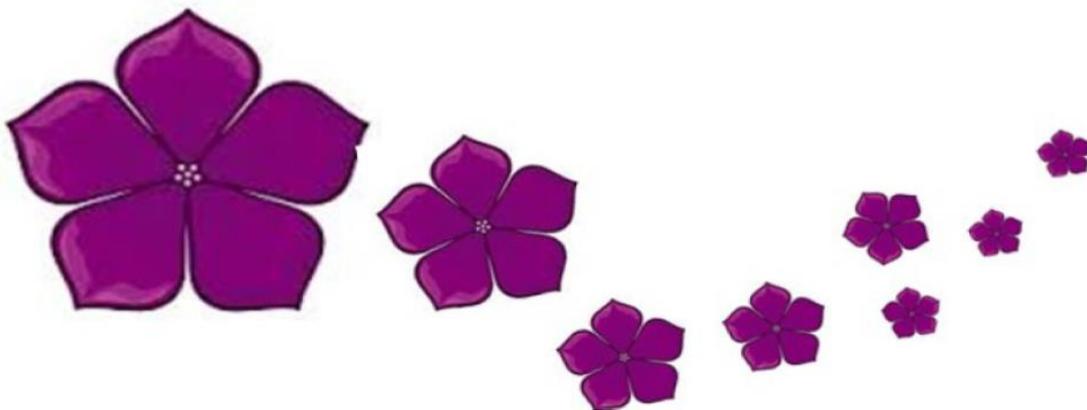
A mes adorables neveux et nièces Djomana, Khirddine, Farah, Sid ali, Hiba, Hanine, Rined et El Katkouté Nadir.

A ma meilleure amie Rima ...Merci d'être toujours là pour moi.

A mon binôme Meriem.

A tous ceux qui me sont chers.

Rokaya



Dédicace

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à ma mère et mon père pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué, avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

A mes sœurs Amina, Khaoula , Maroua, et mon petit frère Billal pour leur soutien moral et physique.

A mon mari pour ses encouragements, sa patience et son réconfort dans les moments de doute et de découragement.

A mes cousines ryma et noussa .

A mes amies nesrine kenza et meriem .

A mon binôme Rokaya

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Meriem

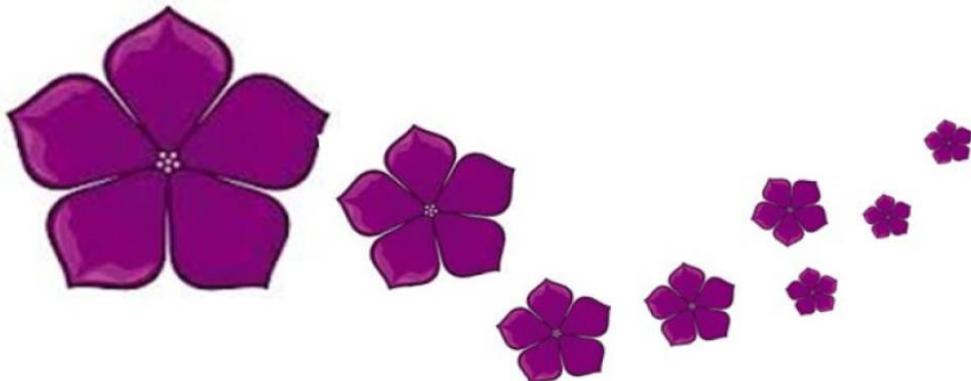


TABLE DES MATIÈRES

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION	01
PREMIER CHAPITRE:GÉNÉRALITÉS SUR LES COLORANTS	03
I. Historique	03
II. Définition	04
1- Définition d'un colorant.....	04
2- Les Propriétés idéales d'un colorant.....	04
III. Classification des colorants	05
1- Classification technologique ou (appellation usuelle).....	05
2- Classification technique.....	05
3- Classification chimique.....	06
4- Classification tinctoriale.....	09
5- Classification de cramer.....	09
IV. L'utilité des colorants dans l'industrie pharmaceutique	12
1- Augmentation de l'acceptabilité.....	12
2- Homogénéisation.....	13
3- Identification du produit.....	13
4- Identification de la marque.....	13
5- Augmentation de la stabilité.....	13
6- Influence sur l'efficacité de la thérapie.....	14
7- Perception de la saveur.....	14
8- Perception de la qualité.....	14
9- Prévention de la contrefaçon.....	14
DEUXIÈME CHAPITRE : TOXICOLOGIE ET ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE DES COLORANTS PHARMACEUTIQUES	16
I. Toxicité des colorants dans l'industrie pharmaceutiques	16
1- Toxicité des colorants Naturels.....	16
2- Toxicité des colorants de synthèse.....	16
II. La génotoxicité	23

III. Tests de mise en évidence d'un pouvoir mutagène au niveau génique.....	25
1- Test d'Ames.....	25
2- Tests cytogénétiques.....	27
IV. La place des méthodes in silico dans l'évaluation de la sécurité.....	29
1- Méthodes d'études in silico.....	29
2- QSAR(Quantitative Structure-Activity Relationship).....	30
3- Recommandation et fiabilité du (Q) SARs dans l'évaluation toxicologique.....	32
 TROISIÈME CHAPITRE : RÉGLEMENTATION DES COLORANTS ET ETABLISSEMENT DES DOSES ACCEPTABLES.....	 34
 I. Examen de la sécurité et de la réglementation des colorants pharmaceutiques.....	 34
1-Statut réglementaire international	34
2-Réglementation des colorants dans l'Union Européenne.....	35
3- Réglementation des colorants aux États Unis.....	35
4- Réglementation des colorants au Canada.....	36
5- Réglementation des colorants au Japon	36
6-Différences de réglementation dans les principales zones.....	36
II. Les impuretés génotoxiques.....	37
III. La Relation entre la cumulation de la dose et l'effetcancérigène.....	38
1- Doses acceptables basées sur le seuil de préoccupation toxicologique.....	40
2- Doses acceptables basées sur les évaluations des risques propres au composé.....	40
3- Doses acceptables pour une exposition d'une durée moindre que la durée de vie.....	41
 PARTIE EXPÉREMENTALE	
 I. Présentation de l'étude.....	 46
II. Matériels et Méthodes.....	46
1. Matériels.....	46
1.1. Présentation de logiciel QSAR.....	46
1.2. Les laboratoires producteurs.....	47
1.3. Les produits pharmaceutiques colorés commercialisés en Algérie.....	47
1.4. Liste des colorants utilisés.....	59
2. Méthodes.....	60
2.1. Explication des étapes de l'utilisation de logiciel QSAR.....	60

III. Résultats et Discussion

1. Résultats.....	64
1.1. Les fiches techniques des colorants extraites à partir de logiciel QSAR.....	64
1.2. Les alertes structurelles.....	82
1.3. Groupes réactifs liés à l'effet cancérigène et mutagène des colorants pharmaceutiques.....	87
2. Discussion.....	92
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	94

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RÉSUMÉ

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique.

BA : Binding Affinity .

CAS :Chemical Abstract Service.

CCR :Règles de Cramer développées par Curios-IT.

CCRIS: Chemical Carcinogenesis Research Information System.

CE:Commission Européenne.

CFR :Code of Federal Regulations.

CI :Color Index .

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

DfW :Derek For Windows .

DJA : Dose Journalière Admissible.

DPRA : Direct Peptide Reactivity Assay.

DSEO : Dose Sans Effet Observé.

ECB : European Chemicals Bureau.

ECHA :European Chemicals Agency.

EFSA :European Food Safety Authority .

EMA : European Medicines Agency

EPA : Environmental Protection Agency.

ER : Estrogen Receptor.

EU: Union Européenne.

FAO : Food and Agriculture Organization.

FDA : Food and Drug Administration.

FD & C et D & C: Food Drug and Cosmetic et Drug and Cosmetic

ICH:International Conference On Harmonisation

ISS :Station Spatial International

JECFA :Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

MHLW:Ministry of Health Labour and Welfare.

MLR : Régression Multi-linéaires

OECD : Organisation for Economic Cooperation and Development

OMS :Organisation Mondiale de Santé

PLS : Partial Least Squares

QSAR :Quantitative Structure-Activity Relationship

RBA : Relative Binding Affinity

ROS : espèce réactive d'oxygène.

SAs : Alertes structurelles

TDHA : Trouble de Déficit de l'Attention et Hyperactivité

TTC : Seuil de préoccupation toxicologique

UE : Union Européenne

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : La structure chimique d'un colorant azoïque.....	06
Figure 02 : La structure d'un colorant triphénylméthane.....	07
Figure03 : La structure chimique des colorants indigoïdes.....	07
Figure 04 : La structure chimique d'un colorant xanthène.....	08
Figure 05 : La structure chimique d'un colorant anthraquinone.....	08
Figure 06 : La structure chimique du colorant phtalocyanine. Exemple : phtalocyanine de cuivre.....	08
Figure 07 : La structure chimique d'un colorant nitré et nitrosé.....	09
Figure 08 : Arbre de décision du Cramer.....	11
Figure 09 : Effets génotoxiques, mutagènes, et cancérigènes.....	24
Figure 10 : Étapes de réalisation de test d'AMES	26
Figure 11 : Interface de la boîte à outils QSAR de l'OCDE.....	47
Figure 12 : Pourcentage des produits colorés et non colorés dans les 8 laboratoires	48
Figure 13 : Répartition des produits colorés dans chaque laboratoire	49
Figure 14 : Gamme de colorants pharmaceutiques.....	59
Figure15 : Étapes de l'utilisation de logiciel QSAR.....	60
Figure 16 : Alertes de toxicité signalées par QSAR.....	61
Figure 17 : Colorant curcumine obtenu par extraction a partir de la plante curcuma.....	64
Figure 18 : Structure moléculaire en deux dimensions de curcumine.....	64
Figure 19 : Riboflavine en poudre.....	65
Figure 20 : Structure moléculaire en deux dimensions de Lactoflavine.....	65
Figure 21 : Liquide jaune : la Tartrazine.....	66

Figure 22 : Structure moléculaire en deux dimensions de Tartrazine.....	66
Figure 23 : Jaune de quinoleine en poudre.....	67
Figure 24 : Structure moléculaire en deux dimensions de jaune de quinoléine	67
Figure 25 :Jaune orangéS en poudre.....	68
Figure 26 : Structure moléculaire en deux dimensions de jaune orangé.....	68
Figure 27 : Insecte <u>Dactylopius coccus Costa</u>	69
Figure 28 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'Acide carminique	70
Figure 29 :Colorant azurobine en poudre.....	71
Figure 30 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'Azorubine.....	71
Figure 31 :Rouge de cochenille en poudre.....	72
Figure 32 : Structure moléculaire en deux dimensions de rouge de cochenille.....	72
Figure 33 : Erythrosine en poudre.....	73
Figure 34 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'érythrosine.....	73
Figure 35 : Bleu patenté en poudre	74
Figure 36 : Structure moléculaire en deux dimensions de bleu patenté.....	74
Figure 37 : Indigotine E132 en poudre.....	75
Figure 38 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'Indigotine	75
Figure 39 : Bleu brillant en poudre.....	76
Figure 40 : Structure moléculaire en deux dimensions de bleu brillant	77
Figure41 : Chlorophylle naturel.....	77
Figure 42 : Structure moléculaire en deux dimensions de chlorophylle a.....	78
Figure 43 : Caramels E150 a,b,c,d.....	78
Figure 44 : Structure moléculaire en deux dimensions de 4-méthyle-imidazole.....	79

Figure 45 : Carbonate de calcium en poudre.....	80
Figure 46 : Structure moléculaire en deux dimensions de carbonate de calcium.....	80
Figure 47 : Dioxyde de titane broyé.....	80
Figure 48 : Structure moléculaire en deux dimensions de dioxyde de titane.....	81
Figure 49 : Oxyde de fer en poudre.....	81
Figure 50 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'oxyde de fer.....	81
Figure 51 : Pourcentage des colorants génotoxiques et non génotoxiques.....	92

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Classification des impuretés en fonction du potentiel mutagène et cancérigène et mesures de contrôle à prendre	39
Tableau 02 : Doses acceptables pour chaque impureté.....	42
Tableau 03 : Le nombre de produits colorés et non colorés dans les 8 laboratoires.....	48
Tableau 04 :Répartition des produits colorés dans chaque laboratoire.....	49
Tableau 05 : Les produits de laboratoire MERINAL.....	50
Tableau 06 : Les produits de laboratoire SANOFI	51
Tableau 07 : Les produits de laboratoire BAYER.....	52
Tableau 08 : Les produits de laboratoire PFIZER.....	53
Tableau 09 : Les produits de laboratoire SAIDAL.....	54
Tableau 10 : Les produits de laboratoire BIOPHARM.....	56
Tableau 11 : Les produits de laboratoire El KENDI.....	57
Tableau 12 : Les produits de laboratoire BEKER.....	58
Tableau 13 : Pourcentage des colorants génotoxiques et non génotoxiques.....	92

GLOSSAIRE

-A-

Agence européenne des produits chimiques (ECHA) : est agence communautaire créée par le règlement enregistrement (REACH), Elle a été en 2006 en Finland.

Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) : est une agence indépendante du gouvernement des États-Unis, pour étudier et protéger la nature et la santé des citoyens des États-Unis.

Agence européenne des sécurités des aliments (EFSA) : est une des principales agences de union européenne, elle est chargée de l'évaluation des risques dans le domaine des denrées alimentaires.

Agent mutagène : un agent physique ou une substance chimique susceptible de produire, de provoquer des mutations, ou augmenter la fréquence de certaines mutations.

Alerte structurelle : groupement chimique ou (sous-)structure moléculaire qui est associé à une mutagénicité.

-C-

Conseil international d'harmonisation (ICH) : est une structure internationale qui ressemble les autorités de réglementation et les représentants de l'industrie pharmaceutique d'Europe, du Japon et des États-Unis pour discuter des aspects scientifiques et techniques de l'enregistrement des médicaments.

Cancérigène : ou cancérogène (ou carcinogène) est un facteur provoquant, aggravant ou sensibilisant l'apparition d'un cancer. Cela peut être un produit chimique simple ou complexe, une exposition professionnelle, des facteurs de risque liés au mode de vie ou encore des agents physiques et biologiques.

Couleur : Propriété optique d'un objet, exprimée par l'absorption sélective de certaines radiations à certaines longueurs d'onde. Les radiations non absorbées sont alors réfléchies ou transmises par le même objet et sont donc visibles par l'observateur.

-D-

DEREK: c'est un système commercial développé et commercialisé par Lhasa Ltd. contient 89 alertes pour la mutagénicité, 77 pour le dommage aux chromosomes et 61 de la

cancérogénicité. Les dommages chromosomiques et les alertes sont fondés principalement sur les données de l'essai d'aberration chromosomique in vitro, et d'autres essais (test d'aberrations chromosomiques in vivo, in vitro et in vivo dans le test du micronoyau).

Dose acceptable : Dose présentant un risque de cancer négligeable, ou acceptable pour les indications graves ou mettant en jeu le pronostic vital lorsque les risques et les avantages sont bien équilibrés.

Dose cumulée : Dose totale d'une substance à laquelle une personne est exposée dans le temps.

Dose journalière admissible : c'est une estimation de la quantité consommable d'un additif alimentaire sans risque néfaste sur la santé, basée sur le poids corporel et exprimée en mg/kg/jour .

Dose sans effet observé (DSEO) : Dose maximale d'une substance qui, lors d'études expérimentales sur l'animal, s'est avérée ne pas causer d'effets observables (altération morphologique, capacité fonctionnelle, croissance, développement, durée de vie de l'animal). Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel et par jour.

-E-

Ecological Structure Activity Relationships (ECOSAR) : c'est un système prédictif informatisé qui permet d'estimer la toxicité aquatique. Le programme évalue la toxicité aiguë (court terme) et la toxicité chronique (à long terme ou en différé) pour les organismes aquatiques, comme les poissons, les invertébrés aquatiques et les plantes aquatiques, un produit chimique en utilisant les relations Structure-activité (QSARS) informatisé.

-F-

Forme pharmaceutique : Forme sous laquelle sont mis les principes et les excipients pour constituer un médicament. Elle correspond à l'aspect physique final du médicament tel qui sera utilisé chez un patient.

Food and Drug Administration (FDA) : Administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments responsable des études, du contrôle et de la réglementation des médicaments avant leur commercialisation d'autoriser la commercialisation des médicaments sur le territoire des États-Unis.

-J-

JECFA : comité d'experts FAO /OMS sur les additifs alimentaires ,est un comité international d'expert scientifique qui est administré conjointement par l'organisation des Nation Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'organisation Mondiale de la santé (OMS) ,pour évaluer la sécurité sanitaire des additifs alimentaires.

-G-

Génotoxique : Une substance génotoxique ou mutagène est un produit chimique, ou un rayonnement électromagnétique, qui peut provoquer des dommages à l'ADN et peut donc entraîner des modifications génétiques, des mutations.

-I-

Impureté mutagène : Impureté dont la mutagénicité a été démontrée par un test de mutagénicité dans un modèle adéquat, par exemple, un essai de mutagénicité bactérienne.

-L-

Limite acceptable : Concentration maximale acceptable d'une impureté dans une substance médicamenteuse ou un produit pharmaceutique, calculée à partir de la dose acceptable et de la dose journalière dumédicament.

-M-

Mutation : modification spontanée ou artificielle de la structure génétique (du gène ou du chromosome) qui produit habituellement un effet observable sur l'individu concerné. Il s'agit d'un accident génétique au niveau du patrimoine de l'espèce .

-O-

Organisation de coopération et de développement économiques(OECD): est une organisation internationale d'études économiques, dont les pays membres sont des pays développés pour la plupart,et ont en commun un système de gouvernement démocratique et une économie de marché. Elle joue essentiellement un rôle d'assemblée consultative.

-R-

REACH : est le nouveau Règlement sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques. Il est entré en vigueur le 1er juin 2007.

Réactif de l'ADN : Substance pouvant induire des dommages directs à l'ADN par une réaction chimique .

RQSA : désigne le rapport entre la (sous-)structure moléculaire d'un composé et son activité mutagène au moyen des relations quantitatives structure-activité tirées des données expérimentales.

-S-

Seuil de préoccupation toxicologique (TTC): correspond à une dose journalière d'exposition à certaines catégories de substances en deçà de laquelle un ensemble d'investigations toxicologiques ne serait pas obligatoirement demandé dans un cadre réglementaire.

Sécurité du médicament : basée sur les données expérimentales (préclinique : génotoxicité carcinogénicité...) et sur les données cliniques (effets indésirables).

Station spatiale internationale (ISS): est une station spatiale placée en orbite terrestre basse, occupée en permanence par un équipage international qui se consacre à la recherche scientifique dans l'environnement spatial.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction

L'industrie pharmaceutique a été influencée par la technologie alimentaire ceci peut être observé à plusieurs niveaux, un des exemples est l'utilisation des colorants qui est devenue essentielle pour conférer un aspect très agréable et attirant aux produits pharmaceutiques, ce qui a favorisé leur acceptation par les patients.

Les colorants pharmaceutiques sont des substances d'origine naturelle ou synthétique qui, ajoutées en petites proportions aux médicaments, leur confèrent la coloration désirée. Le but de la coloration varie avec les formulations différentes. La couleur du médicament peut également influencer sur l'efficacité du traitement d'où la notion de l'effet psychologique.

De plus en plus, les colorants naturels sont remplacés par les colorants de synthèse (dérivés azoïque, de l'indigotine, de l'indanthrone, du triméthylméthane, de la quinoléine, anthraquinone et xanthène iodé). Ces colorants qui sont des produits chimiques synthétiques, ne sont pas dépourvus des effets secondaires nocifs. Dès 1961, le Dr Caldecott disait : « Les produits chimiques sont de loin plus mutagènes pour l'homme que ce que le sont les radiations ». À ce sujet, les colorants de nos jours pourraient représenter un danger encore plus grand c'est la génotoxicité, qui dépend de la durée d'exposition et la quantités ingérées, face au patient qui a moins de qualification ou moins de temps pour lire ladiscrète liste des excipients, écrite en caractères minuscules sur des millions de notices, et qui pense que tout excipient nocif pour notre santé « ne serait pas autorisé » par les autorités.

La dose journalière admissible (DJA), les données toxicologiques et la légère différence dans les règlements internationaux sont les trois principaux aspects qui déterminent la quantité et le type de colorant autorisé.

Problématique :

On parle de la toxicité des colorants utilisés en industrie pharmaceutique et leurs effets cancérigènes, mais ya-t-il des études qui renforcent cette hypothèse ?

Objectifs :

Un éclaircissement des points suivants :

- Le groupe de patients à risque, et patients plus sensibles aux effets des colorants pharmaceutiques.
- La différence de réglementation sur les colorants d'un pays à un autre. (Certains colorants sont autorisés et largement utilisés dans certains pays et strictement interdits dans d'autres).
- L'absence d'une réglementation stricte soumise à des études et des recherches faites d'une façon régulière pour limiter le danger des colorants de qualité pharmaceutique.
- La relation entre la cumulation de la dose et l'effet cancérigène et leur rôle dans l'établissement de la dose journalière admissible.
- L'existence des colorants génotoxiques parmi les colorants utilisés sur le marché Algérien.

PREMIER CHAPITRE : GÉNÉRALITÉS SUR LES COLORANTS

I. HISTORIQUE

Depuis le début de l'humanité, les colorants ont été appliqués dans pratiquement toutes les sphères de notre vie quotidienne pour la peinture du papier, de la peau et des vêtements, etc. Jusqu'à la moitié du 19^{ème} siècle. Les colorants appliqués étaient d'origine naturelle. Des pigments inorganiques tels que l'oxyde de manganèse, l'hématite et l'encre étaient utilisés. Par ailleurs, des colorants naturels organiques ont été appliqués surtout dans l'industrie textile. Ces colorants sont tous des composés aromatiques qui proviennent essentiellement des plantes, telles que l'alizarine et l'indigo. L'industrie des colorants synthétiques est née en 1856 quand le chimiste anglais William Henry pékin, dans une tentative de synthèse de la quinine artificielle pour soigner la malaria, a obtenu la première matière colorante synthétique qu'il appela « mauve ». Pékin a breveté son invention et il a installé une chaîne de production, qui serait bientôt suivie par d'autres.

Des nouveaux colorants synthétiques commencent à paraître sur le marché. Ce processus a été stimulé par la découverte de la structure moléculaire du benzène en 1865 par Kekulé. En conséquence, les colorants synthétiques ont presque complètement remplacés les colorants naturels.

Pour le consommateur, la couleur est un élément subjectif de la qualité. Pour le chimiste, la couleur sera en fonction de la nature et de la composition du pigment employé, elle pourra varier en fonction de la réactivité de la substance, de la pureté, etc...

Le physicien mesurera à l'aide de spectrophotomètres l'absorption des solutions limpides et translucides ; la réflectance sur des surfaces mates, opaques. Le psycho-physiologiste analysera les facteurs influençant la vision des couleurs et tentera d'associer aux appréciations subjectives les mesures objectives classifiables. Quant au toxicologue, il se préoccupera de l'éventuelle toxicité du colorant, étudiera son métabolisme, sa répartition tissulaire, son élimination, etc cependant qu'il en déterminera la toxicité aiguë, la toxicité chronique et appréciera les seuils d'utilisation[5].

II. Définition

1- Définition d'un colorant

Un colorant est une matière colorée par elle-même, capable de se fixer sur un support, susceptible d'absorber certaines radiations lumineuses et de les réfléchir.

La coloration plus ou moins intense des différentes substances est liée à leur constitution chimique.

Les colorants comportent dans leurs molécules trois groupes essentiels : le chromophore, l'auxochrome et la matrice. Le site actif du colorant est le chromophore, il peut se résumer à la localisation spatiale des atomes absorbant l'énergie lumineuse. Le chromophore est constitué de groupes d'atomes dont les plus classiques sont le nitro ($-\text{NO}_2$), le diazo ($-\text{N}=\text{N}-$), le nitroso ($-\text{N}=\text{O}$), le thiocarbonyl ($-\text{C}=\text{S}$), le carbonyl ($-\text{C}=\text{O}$), ainsi que les alcènes ($-\text{C}=\text{C}-$).

L'absorption des ondes électromagnétiques par le chromophore est due à l'excitation des électrons d'une molécule. La molécule qui les contient devient chromogène. La molécule chromogène n'a des possibilités tinctoriales que par l'adjonction d'autres groupements d'atomes appelés «auxochrome». Ces groupes auxochrome permettent la fixation des colorants et peuvent modifier la couleur du colorant. Ils peuvent être acides (COOH , SO_3 , OH) ou basiques (NH_2 , NHR , NR_2). Le reste des atomes de la molécule correspond à la matrice, la troisième partie du colorant[4].

Les colorants utilisés en industrie pharmaceutique sont des colorants alimentaires qui font partie de la classe des additifs alimentaires. Avec une distinction entre les colorants qui peuvent être utilisés dans les médicaments et ceux pour l'utilisation alimentaire concernant les conditions de pureté et les doses utilisées.

2- Les Propriétés d'un colorant idéal

- Non toxique et sans activité physiologique.
- Exempt d'impuretés.
- Un composé chimique défini, car la puissance sera fiable, son dosage sera praticable et plus facile.
- Son pouvoir tinctorial (coloration) doit être élevé afin que seul de petites quantités soient nécessaires.
- Pas affecté par la lumière, les températures tropicales, l'hydrolyse et les micro-organismes et, par conséquent, être stable au stockage.

- Non affecté par des agents oxydants ou réducteurs et des changements de pH.
- Compatible avec les médicaments et ne pas interférer avec eux.
- La solubilité dans l'eau est souhaitable.
- Exempt de goût et d'odeur désagréables.
- Peu coûteux [66] [23].

Un colorant alimentaire s'entend d'une matière qui : est une teinture ,un pigment ou une autre substance obtenue par synthèse, ou extraite, isolée ou dérivée, d'un élément végétal ,animal ou de toute autre source, avec modification éventuelle intermédiaire ou définitive de son identité, et qui lorsqu' elle est appliquée sur une denrée alimentaire ,ou qu'elle lui est ajoutée seule ou par réaction avec une autre substance peut en modifier la couleur [93].

III. Classification des colorants

La classification peut être faite selon plusieurs manières :

1- Classification technologique

La classification technologique permet à l'utilisateur de connaître le mode d'application du colorant, et donc ses domaines d'utilisation, ses propriétés (solubilité, affinité pour tel type de fibres ou matériaux, nature de la fixation ...). Cette classification comprend trois éléments :

- Le nom générique de la classe d'application .
- La couleur .
- Le numéro d'ordre chronologique d'inscription au "color index "[29].

2 .Classification technique

Les colorants utilisés dans l'industrie contiennent habituellement des groupes acides sulfoniques, qui leur confèrent une hydro solubilité appropriée, et qui permettent à la molécule du colorant de se lier ioniquement aux sites chargés du réseau polymérique du tissu. On peut classer les colorants organiques en deux catégories suivant leur synthèse :

- Colorants naturels
- Colorants synthétiques[18].

2.1 Colorants naturels

Ils sont très répandus, surtout dans les plantes (bois, racines, graines, fleurs et fruits) et même dans les micro-organismes et le corps des animaux. On les trouve à l'état libre ou liés à des

glucides ou des protéines, exemple : garance, cochenille, indigo, pourpre. Aujourd'hui, l'importance économique des colorants organiques naturels a beaucoup diminué. Du fait de leur cherté, on ne les utilise dans l'industrie textile, du cuir et du papier que pour des traitements spéciaux. Ils restent, en revanche très utilisés dans les produits alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques soumis à des réglementations plus strictes[5].

2.2 Colorants synthétiques

Sont classés selon leur structure chimique et leur méthode d'application aux différents substrats (textiles, papier, industrie pharmaceutique, cuir, matières plastiques, etc...).

3. Classification chimique

Le classement des colorants selon leur structure chimique repose sur la nature du groupement chromophore :

3.1 Les colorants azoïques

Les colorants azoïques sont caractérisés par la présence au sein de la molécule d'un groupement azoïque (-N=N-) reliant deux noyaux benzéniques. Cette catégorie de colorant est actuellement la plus répandue sur le plan de l'application, puisqu'ils représentent plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes, ces composés organiques cancérigènes sont très résistants à la biodégradation[20].

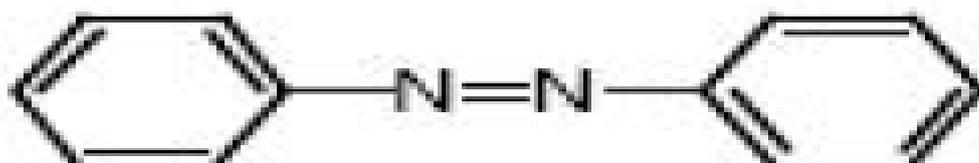


Figure 01 : La structure d'un colorant azoïque

3.2. Les Colorantstriphénylméthanes

Les colorants triphénylméthanes dérivent du triphénylméthane, qui est un hydrocarbure possédant trois cycles phényle liés à un carbone central. Leur utilisation ne se limite pas à l'industrie. On les retrouve également dans le domaine médical comme marqueur biologique et comme agent antifongique chez les poissons et la volaille[18].

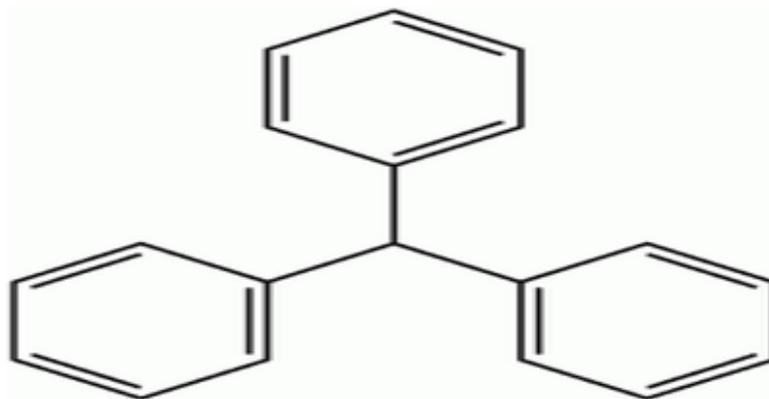


Figure 02 : Structure chimique d'un colorant triphénylméthane

3.3. Les colorants indigoïdes

Les colorants indigoïdes tirent leur appellation de l'indigo, dont ils dérivent. Ainsi, les homologues séléniés, soufrés et oxygénés du bleu indigo provoquent d'importants effets hypochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise .[29]

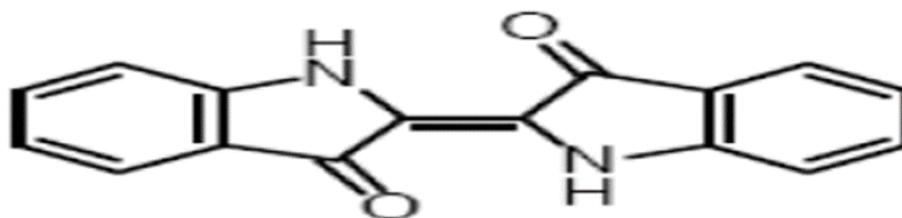


Figure 03 : La structure chimique d'un colorant indigoïde

3.4 Les colorants xanthènes

Les colorants xanthènes sont des composés qui constituent les dérivés de la fluorescéine halogénée. Ils sont dotés d'une intense fluorescence. Leur propriété de marqueurs lors d'accident maritime ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie. Ils sont aussi utilisés comme colorant en alimentaire, cosmétique, textile et impression [43].



Figure 04 Structure chimique d'un colorant xanthène

3.5. Les colorants anthraquinoniques

Les colorants anthraquinoniques sont d'un point de vue commercial, les plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'anthracène, montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amino[43].

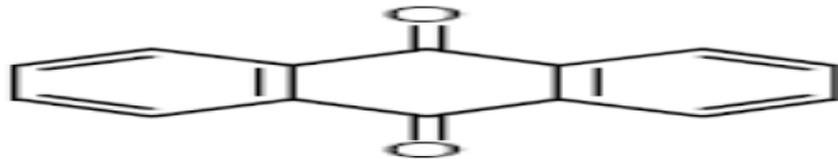
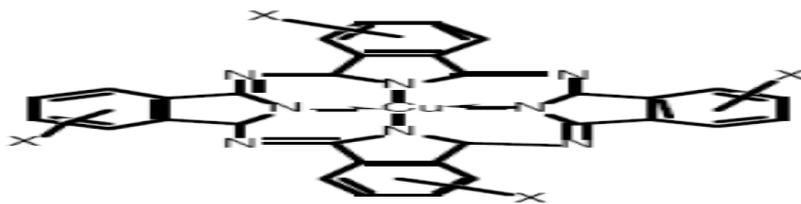


Figure 05 : La structure chimique d'un colorant anthraquinone

3.6. Les colorants phtalocyanines

Les phtalocyanines ont une structure complexe possédant un atome métallique central. Les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.)[106].



**Figure 06 : La structure chimique d'un colorant phtalocyanine. Exemple :
phtalocyanine de cuivre**

3.7. Les Colorants nitrés et nitrosé

Les colorants nitrés et nitrosés forment une classe de colorants très limitée en nombre et relativement ancienne. Ils sont actuellement encore utilisés, du fait de leur prix très modéré lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée par la présence d'un groupe nitro

(NO₂) en position ortho d'un groupement électrodonneur (hydroxyle ou groupes aminés)[22]
[43].

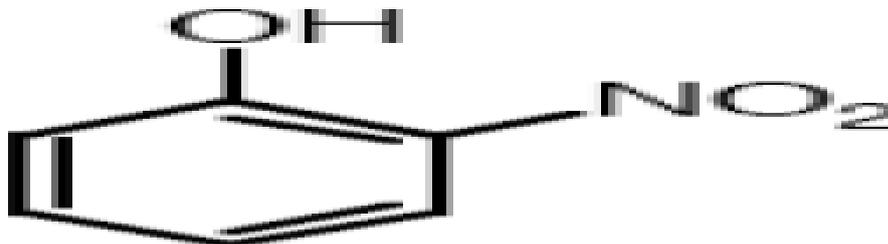


Figure 07 : La structure chimique descolorants nitrés et nitrosé

4. Classification tinctoriale

Sont utilisés beaucoup plus pour l'industrie des textiles et papeteries. On distingue différentes catégories tinctoriales définies par les auxochromes :

Les colorants acides ou anioniques

Les colorants basiques ou cationiques

Les colorants développés ou azoïques insolubles

Les colorants de cuve

Les colorants réactifs

Les colorants directs

Les colorants à mordants

Les colorants dispersés[21][31] [88].

5. Classification de Cramer

L'arbre de décision Cramer est probablement l'approche la plus couramment utilisée pour le classement des produits chimiques sur la base de leur niveau attendu de toxicité orale. Il a été proposé par Cramer Ford et Hall en 1978 comme un outil d'évaluation des additifs alimentaires qui rendrait des jugements d'experts plus transparents, explicites et rationnelles, et donc de sécurité plus reproductible et fiable. Le régime a été dérivé de l'expérience antérieure des auteurs dans la classification des arômes alimentaires, et leur travail ultérieur

dans l'évaluation d'une gamme de substances cancérigènes :les pesticides et les produits chimiques industriels[30].

L'arbre de décision original de Cramer se compose de 33 questions, chacune répondu par : «oui» ou «non» conduisant à une autre question ou au classement final dans l'une des trois classes (I, II et III) comme suit:

Classe I : Les substances ayant des structures chimiques simples et pour lesquels des modes efficaces de métabolisme existent, ce qui suggère une faible toxicité orale.

Classe II : Les substances qui possèdent des structures qui sont moins inoffensifs que les substances de classe I, mais ne contiennent pas de caractéristiques structurelles suggestive de toxicité comme ces substances en classe III.

Classe III : Les substances ayant des structures chimiques qui ne permettent aucune forte présomption initiale de la sécurité, ou qui peut suggérer une toxicité significative, ou qui ont des groupes fonctionnels réactifs.

La logique des questions séquentielles a été basée sur les connaissances disponibles sur la toxicité et sur la façon dont les structures chimiques ont été métabolisées dans les voies métaboliques de mammifères.

Ces questions ont généralement trait à la structure chimique, mais la présence naturelle dans le corps (Q1) et dans les aliments (Q22) sont également pris en considération (**annexe 1**). L'arbre est destiné à être utilisé avec toutes les substances organiques et métallo-organiques ingérés, structurellement définies.

Le système de Cramer a été testé contre 81 produits chimiques, y compris les pesticides, les médicaments, les additifs alimentaires et les produits chimiques industriels avec des valeurs connues sans effet observé (DSEO) rapportées en termes de concentrations alimentaires dans des études à court terme ou chroniques[6].

Bien qu'il y ait chevauchement dans la gamme des grandeurs des DSEO entre les trois classes structurelles, il est clair que les DSEO des substances de la classe I sont généralement supérieures à celles de la classe III, celles de la classe II étant entre les deux classes.

Il est à noter qu'il n'y a pas eu de sous-estimation de la toxicité par rapport aux données disponibles sur la toxicité orale chronique[48].

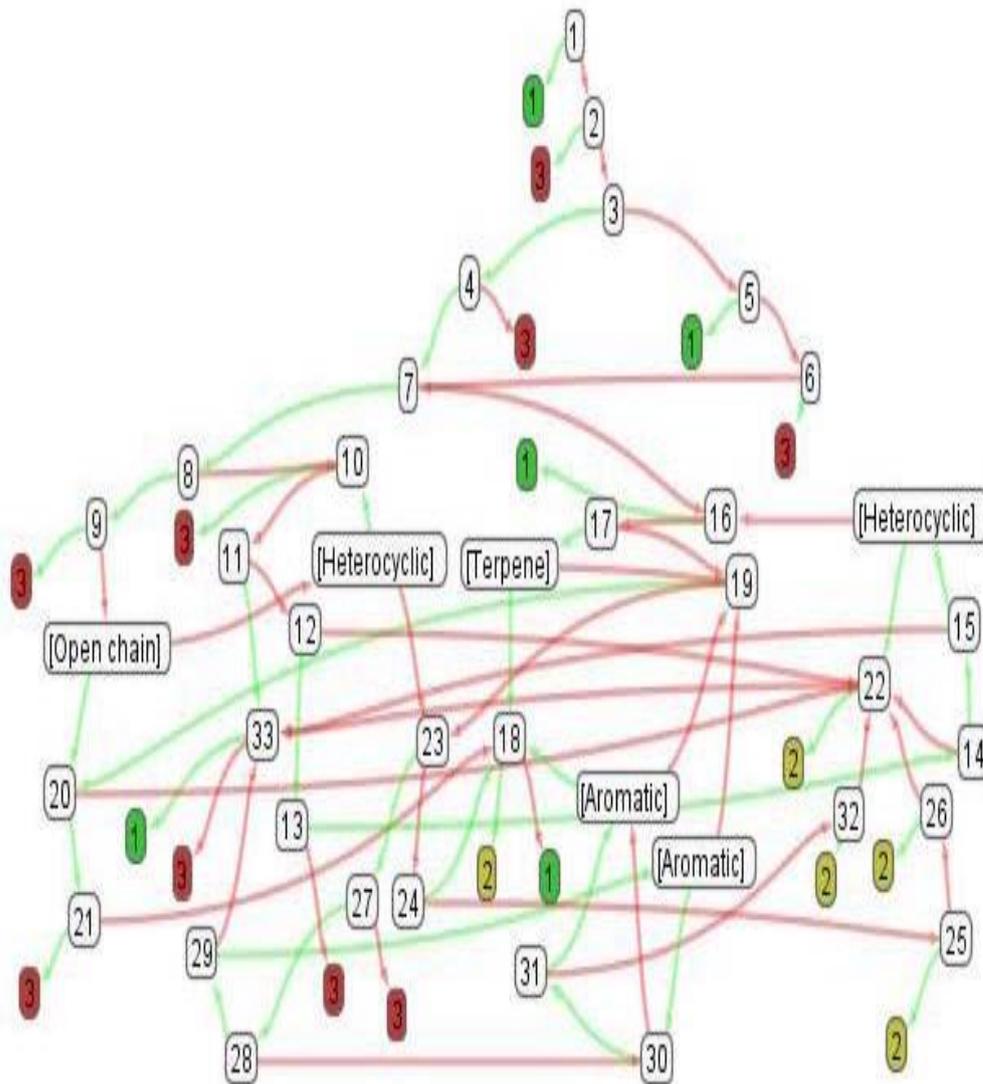


Figure 13 : Arbre de décision Cramer

- **Oui branche en vert.**
- **Non branche en rouge.**

***Les nœuds terminaux (étiquetés 1, 2 et 3) se réfèrent à la classification de cramer I, II III.**

Le schéma d'origine (Q1-33) et le régime étendu (Q40-44) telle que transposé dans le logiciel Toxtree.

Le système de classification Cramer, a servi à améliorer la cohérence entre les évaluations toxicologiques faites par différents experts. Son application à base de papier suppose une connaissance pratique de la chimie organique et la biochimie, comme la base de règles repose principalement sur les caractéristiques de la structure chimique, la réactivité chimique, la toxicité et le métabolisme, et implique inévitablement une certaine subjectivité.

Par conséquent, à la suite d'une recommandation faite dans un atelier du CCR, le CCR a demandé l'élaboration d'un outil logiciel, **Toxtree**, pour faciliter l'application uniforme du régime Cramer [48].

L'arbre de décision de TTC (Threshold of Toxicological Concern) par Kroes et al (2004) aboutit à trois résultats possibles:

- a) la substance ne seraient pas censés être un problème de sécurité.
- b) un risque négligeable (faible probabilité d'un risque de cancer à vie supérieur à 1 dans 10^6)
- c) l'évaluation des risques nécessite des données spécifiques des composés.

Il intègre les règles Benigni / Bossa pour l'identification des cancérrogènes génotoxiques et oblige l'utilisateur à saisir la dose journalière estimée.

Toxtree fournit un moyen pratique et cohérent de l'application du régime Cramer basé sur l'ordinateur, et qui a été développé dans l'ère pré-informatique.

Le régime Cramer est actuellement utilisé dans l'évaluation des contaminants de l'eau : trace d'alcool, les substances aromatisants, les migrants à partir de matériaux d'emballage et les excipients et les impuretés (y compris lessivables et extractibles) dans les produits pharmaceutiques ou des produits de soins personnels et ménagers [48].

IV.L'utilité des colorants dans l'industrie pharmaceutique

Les colorants sont des excipients utilisés principalement pour conférer une apparence distinctive à l'industrie pharmaceutique. Les agents colorants peuvent être des colorants ou des pigments ; La différence entre eux est la solubilité, les colorants naturels et synthétiques sont solubles dans le milieu dans lequel elles sont appliquées, tandis que les pigments sont insolubles, en restant en suspension dans un liquide. On peut dire qu'ils sont les produits cosmétiques pour les préparations pharmaceutiques, car l'aspect esthétique des formes peut être amélioré en utilisant des colorants appropriés. Les principales formes contenant des colorants sont : comprimés (soit le noyau lui-même ou le revêtement). Capsules dures ou molles, liquides oraux, crèmes topiques, dentifrices, pommades [44].

Les préparations pharmaceutiques sont colorées principalement pour les raisons suivantes :

1. Augmentation de l'acceptabilité

Un médicament peut être rendu plus acceptable par le patient par l'utilisation des colorants, Beaucoup de patients comptent sur la couleur pour reconnaître le médicament prescrit et la posologie appropriée. Ce qui aide à améliorer l'observance du patient en particulier les patients âgés qui ont des difficultés à lire l'étiquette des emballages, et assurer un apport

approprié. On croit que fortifiants aux couleurs vives, antitussifs pour enfants de couleur rouge cerise sont plus susceptibles d'être utilisés parce qu'ils sont attrayants[44].

2. Homogénéisation

Les colorants peuvent également être utilisés pour rendre une préparation plus uniforme quand un ingrédient a un aspect variable[66].

3. Identification du produit

Elle aide à identifier un produit dans ses étapes de fabrication et de distribution. Les couleurs peuvent être utilisés pour identifier les produits similaires prospectifs au sein d'une ligne de produits, ou dans les cas où il existe des produits d'apparence similaire dans les lignes de différents fabricants [89].

L'utilisation de colorants différents pour les différentes doses du même médicament peut également aider à éviter le risque de confusion. Un exemple spécifique est l'anesthésique trichloro éthylène, qui peut être de couleur bleu pour le distinguer du chloroforme qui a les mêmes caractéristiques physiques.

Aider les patients âgés: qui reposent sur la couleur et la forme par exemple « le petit comprimé bleu pour mes brûlures d'estomac » plutôt que le nom sur l'emballage et la dose du comprimé [17].

4. Identification de la marque

La Couleur offre au fabricant de produits pharmaceutiques une voie facile pour le développement de la marque et le produit identifié. Par exemple, pensez bleu, Viagra® vient immédiatement à l'esprit [40].

5. Augmentation de la stabilité

Certains colorants insolubles ou pigments ont l'avantage supplémentaire lorsqu'ils sont utilisés dans les revêtements de comprimés ou les enveloppes de gélatine de fournir une opacité utile, ce qui peut contribuer à la stabilité des matières actives sensibles à la lumière dans le comprimé ou la capsule. Des pigments tels que les oxydes de fer, le dioxyde de titane, ainsi que certains laques d'aluminium sont particulièrement utiles à cet effet[96].

6 . Influence sur l'efficacité de la thérapie

A côté de l'aspect esthétique, la couleur de produit peut également avoir une influence sur l'efficacité de la thérapie en raison de l'effet psychologique. De même que le nom du médicament, son goût ou son prix. «L'utilisation de couleurs chaudes et saturées évoquent des émotions allant de sensations de chaleur et de confort à des sentiments de colère et d'hostilité, la couleur rouge signifie "excitant", "actif", "dangereux", augmentent la puissance perçue par le patient, le bleu est plutôt "calme", "cool" et "détendu" tandis que la couleur blanche est associée à «pure» et «neutre », résume Bernard Rouillet. Notre cerveau associe certaines longueurs d'onde à des émotions positives ou négatives, en fonction de connaissances acquises mais aussi presque innées, explique ce chercheur en neuromarketing. «La vue du sang fait s'évanouir certaines personnes chez qui la simple vision d'un liquide rouge entraîne une soudaine baisse de pression artérielle, comme un réflexe archaïque de survie», poursuit-il. En revanche, le bleu foncé, le marron et le vert ont un effet calmant et sont donc plus adaptés à des médicaments soignant les troubles du sommeil, et les médicaments stomacaux. Le rouge pour les analgésiques, médicaments cardiovasculaires, antidépresseurs et stimulants. Le jaune ou le rose pour les pilules contraceptives[74].

7. Perception de la saveur

L'attente du patient quant à la saveur et à la couleur d'un produit est importante ; Par exemple, les consommateurs s'attendent à ce qu'une pastille à saveur de cerise soit rouge[40].

8. Perception de la qualité

La couleur peut être ajoutée pour augmenter la valeur esthétique du produit, augmentant ainsi la perception de la qualité[40].

9. Prévention de la contrefaçon

Une autre question importante est la relation entre la contrefaçon et les erreurs de médication, qui a augmenté ces dernières années ; Comme la plupart des comprimés notamment les blancs de par leur forme et couleur peuvent être confondus avec d'autre, une couleur distinctive peut améliorer l'identification, mais rend difficile la contrefaçon. Le développement de couleurs uniques pour un médicament actif particulier et l'application de l'impression colorée peuvent aider à réduire le risque de contrefaçon. FDA travaille fortement sur les lignes directrices en développement pour l'industrie pour aider la prévention de ces contrefaçons[40].

➤ **Les formes pharmaceutiques colorées les plus courantes**

✓ **Comprimé**

Les colorants peuvent être incorporés dans les comprimés en les ajoutant directement comme solution pendant le processus de granulation par voie humide ou par la manière la plus conventionnelle : les ajouter à une formulation de revêtement, qui est appliquée sur la surface du comprimé. Cependant, de nombreuses difficultés (par exemple marbrure, solidité, migration, faible degré d'uniformité des couleurs) peuvent se présenter en relation avec la solubilité du colorant. Par conséquent, l'utilisation de pigments est la méthode la plus étendue pour la coloration des comprimés[8].

✓ **Capsule**

Les capsules sont principalement colorées avec des colorants qui sont répertoriés comme FD & C et D & C (food drug and cosmetic et drug and cosmetic). Le colorant est par conséquent ajouté à la masse fondue de gélatine. L'un des principaux facteurs à prendre en compte est la valeur du pH de la gélatine, car il peut altérer l'ombre de colorant [90].

✓ **Sirop**

Les colorants à cet effet devraient être complètement solubles dans le solvant particulier. Des facteurs tels que la valeur du pH, l'activité microbienne, l'exposition à la lumière et la compatibilité avec d'autres ingrédients devraient être pris en compte car ils peuvent influencer sur l'ombre et la stabilité des colorants. Normalement, les colorants sont choisis correspondant à la saveur du produit (rouge fraise, jaune citron etc.). La concentration du colorant dans les préparations liquides doit être comprise entre 0,0005% et 0,001% [14].

DEUXIÈME CHAPITRE : TOXICOLOGIE ET ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE DES COLORANTS PHARMACEUTIQUES

I. Toxicité des colorants en industrie pharmaceutiques

Partout dans le monde, se développe une réaction d'inquiétude. Parfois de panique, face à l'envahissement de notre environnement par les substances chimiques. Qu'on leur impute la responsabilité des grands syndromes modernes dont le cancer n'est pas le moindre. Nous avons choisi de présenter la toxicologie des colorants en nous fondant sur la classification chimique.

1-Toxicité des colorants Naturels

Aucune étude n'a pu mettre en évidence un pouvoir nocif quelconque pour la presque totalité des colorants naturels ou identiques aux naturels.

Les caroténoïdes ont été spécialement étudiés en raison de leur activité pro-vitaminique A. Paradoxalement, l'ingestion de forte quantités par l'homme et par les animaux d'expérience n'a pas induit d'hypervitaminose A. La seule observation microscopique consiste en une pigmentation de foie et du tissu adipeux des reins et du cortex surrénalien[38].

En ce qui concerne le noir de charbon, la question est de savoir si, lors de la production par combustion de ce colorant, il y avait formation de 3-4 benzopyrène ou autre hydrocarbures polycyclique cancérigènes.

Des analyses ont montré que le noir de charbon produit à basse température était exempt de tout composé nocif[54].

2- Toxicité des colorants de synthèse

De tous les colorants, ceux appartenant à la classe des azoïques sont les plus nocifs. Si leur toxicité aiguë est faible, à l'exception de l'orangé qui induit à doses infimes, un effet cathartique sévère, il n'en est pas de même de leur toxicité à long terme[54].

En règle générale, les composés azoïques sont réduits en amines après clivage du double liaison $-N=N-$, soit au niveau hépatique par l'action d'azo-réductase[94], soit au niveau intestinal par la flore microbienne, et subissent des réactions d'oxydation, d'hydroxylation et de conjugaison. La libération d'amines correspondantes et de produits hydroxylés serait responsable de leur toxicité [97].

De nombreuses études sur la relation structure-activité ont permis de dégager les notions générales suivantes :

Les dérivés azoïques liposolubles, après clivage de la double liaison -N=N- donnent naissance à un résidu naphthalène et un résidu benzène non substitués par des groupements sulfoniques, ils sont considérés comme les composés les plus toxiques et fortement cancérigènes [55].

Les composés azoïques hydrosolubles, mono, di, tri sulfonés donnent après scission réductive de la double liaison -N=N- soit un noyau naphthalène ou un noyau benzène, les deux étant sulfonés, sont généralement peu toxiques.

Par contre, si les groupements sulfoniques sont limités à un seul des noyaux aromatiques, la toxicité peut être élevée[107].

Un problème toxicologique s'est posé en ce qui concerne les colorants caramel (E150) dits «à l'ammoniac » faisant intervenir l'ammoniac ou les sels ammoniacaux dans la pyrolyse des sucres alimentaires .Il existe quatre types de E150, mais ce sont surtout le E150 C ("caramel ammoniacal") et le E150 D ("caramel au sulfite d'ammonium") qui sont particulièrement visés, tous deux étant des composés de synthèse. Seul le E150 A est naturel.

Une association américaine de consommateurs tire de nouveau la sonnette d'alarme à l'encontre des colorants caramel de synthèse E150. Dans une nouvelle étude publiée dans son magazine, Consumer Report, elle a en effet présenté des taux inquiétants de 4-méthylimidazole (4-MEI), un composé cancérigène et possédant des propriétés convulsivantes supposément contenus dans les E150[107].

L'analyse des colorants au caramel indique que la concentration en methyl-4 imidazole varie de 500 à 700 ppm, selon le procédé de fabrication. Des expérimentations à court terme, menées sur des rats et des chiens, n'ont montré aucun effet nocif sur le système nerveux malgré l'ingestion de fortes doses de ce colorant[107].

2.1 Action cancérigène

En 1906, FISHER souleva le problème de potentialité cancérigène de certains colorants. Après injection sous la peau de l'oreille de lapin d'un colorant azoïque de synthèse ,il constata l'apparition de prolifération épithéliale atypique bien que non maligne. Ces constatations furent corroborées par les résultats d'expériences entreprises par HEMHOTZ en 1907, BERTIER en 1911 sur le lapin, et celles de YAMAGIWA et OHNO en 1913 sur la poule[39].

En 1924, SHMIDT signala que l'administration per os chez la souris du colorant azoïque pouvait induire la formation d'adénomes hépatiques, ayant par endroits, une structure sarcomateuse, donc maligne[39].

Plus récemment, le discrédit a été jeté sur un autre colorant azoïque : l'amarante, sans affirmer avec certitude ses propriétés cancérigènes. En effet, sur de nombreuses études menées à long terme sur la souris, le rat, le chien, seules deux d'entre elles, les études de BAIGUSHEVA (1968) et d'ANDRIANOVA (1970), indiquent un pouvoir cancérigène chez le rat, pouvoir qui n'avait pas été observé par ailleurs[3].

Dans la série du triphényl méthane, le vert acide brillant BS (vert lissamine) a été reconnu cancérigène pour le foie, et induit des carcinomes mammaires et des cancers de la peau après administration orale chez le rat femelle, ainsi que des fibrosarcome au point d'injection. Les autres composés particulièrement le bleu patenté, induit des fibrosarcomes aux sites d'injections lorsqu'ils sont administrés par voie sous cutanée, intra- péritonéale ou intramusculaire[70].

La nature des réactions tissulaires, comme l'a montré GANGOLLI en 1972, suggère fortement que ces sarcomes sont imputables à des traumatismes et des régénérations répétées plutôt qu'une carcinogénèse chimique.

L'existence d'un lien électrostatique entre la protéine et les colorants incriminés donne lieu à la formation d'un complexe et retarde l'absorption de ces colorants au site d'injection, ce qui influe sur la lésion locale [70].

L'étude histologique de ces fibrosarcomes montre une nécrose locale du tissu après la première injection, l'existence de nombreux macrophages contenant du colorant dès la seconde injection et, à la cinquième injection des proliférations fibroblastiques formant un tissu granuleux[75].

La production de ces fibrosarcomes est imputable aux propriétés physicochimiques du produit injecté : essentiellement sa tensioactivité et son caractère lipophile[75].

2.2 Action tératogène, mutagène et embryotoxique

L'influence des colorants sur la fonction de reproduction et sur le développement de la descendance a permis de conclure à l'absence d'activité tératogène de la plupart d'entre eux à l'exception de l'amarante.

En effet, des expériences réalisées chez les rats blancs par SHTENBERG et GRAVILENKO en 1970, ont montré que l'administration de différentes doses de colorant entraînait notamment une diminution de fertilité chez les femelles et l'apparition de malformation chez le fœtus [34].

COLLINS et COLL reprirent l'étude en 1972 et apportèrent les conclusions suivantes :

Pour des doses de l'ordre de 200 mg/j administrées à des rats femelles pendant les 19 premiers jours de gestation , l'amarante entraîne dans chacune des portées un nombre important de morts prématurées et de morts plus tardives.

Hormis cette action embryotoxique et foetotoxique, les auteurs n'ont relevé aucune action tératogène, aucune anomalie du squelette et des tissus mous chez le fœtus ou le nouveau-né.

Les jaunes (Jaune de quinoléine, Jaune orangé S) sont responsables d'une mortalité élevée chez les descendances, d'une baisse de fertilité et d'une diminution du poids des testicules chez le mâle.

Après administration prolongée d'orange, des jaunes, on note une réduction parfois considérable de la durée de vie des animaux d'expériences[52] .

2.3 Action sur les Hématies

L'action toxique de certains colorants azoïques de synthèse se manifeste sur les cellules sanguines par l'apparition de corpuscules de HEINZ dans les hématies.

Cette dégénérescence de l'hémoglobine avec précipitation de fer s'accompagne souvent d'anémie, de méthémoglobinémie et de verdothémoglobinémie, perturbant le métabolisme et l'oxygénation cellulaire, ainsi que de réticulocytose prononcée et de splénomégalie [94].

La formation de corpuscules de HEINZ épargnerait toutefois les cellules jeunes .Elle serait due aux produits de métabolisation des colorants et non aux colorants eux-mêmes.

Aussi, la structure chimique a-t-elle une grande importance dans la prévision d'une activité toxique sur le pigment sanguin ?

Cherchant à établir la relation entre la substitution par différents groupements fonctionnels de la molécule tels que le benzo-azonaphtol et l'induction de corpuscules de HEINZ, ROFE a testé huit colorants azoïques, chaque colorant ayant été administré journalièrement à dose

équimolaire à des lots de dix rats. Des prélèvements de sang et des analyses furent effectués à intervalles réguliers [94].

Hormis l'intensité et le temps de réponse variant grandement selon le colorant utilisé, le même schéma de base fut retrouvé, à savoir : un temps de latence, puis augmentation rapide du pic de concentration des globules rouges affectés suivi d'une baisse modérée jusqu'à un palier qui sera maintenu pendant toute la durée de l'administration [94].

2.4 Réaction Allergique

La possibilité de troubles cliniques en relation avec les colorants médicamenteux fut abordée la première fois en 1948 par LOCKEY aux USA et par BAER [91].

Parmi la trentaine de colorants autorisés par C.E.E, quelques-uns peuvent provoquer chez certains sujets, soit des allergies avec comme manifestation cliniques, des rhinites, des urticaires, des œdèmes de Quincke, des crises d'asthme et très rarement des cas du purpura thrombopénique grave, soit induire une sensibilisation croisée avec d'autres produits tel que certains médicaments et additifs [64].

Des dépistages cliniques de sensibilité faisant appel aux tests cutanés et aux tests de provocation ont permis la classification des colorants allergènes par ordre d'importance : [11]

- La tartrazine
- L'érythrosine
- L'acide carminique
- L'amarante
- Le rouge ponceau
- Les quinoléines [32]

La tartrazine induit de surcroît des réactions croisées avec nombre de molécules médicamenteuses (aspirine, indométacine, acide fenfulnamique, fenofrofen, ibuprofène) et également avec des conservateurs alimentaires tels que l'acide benzoïque et ses dérivés [26].

Les allergies résultent du passage à travers la barrière intestinale des résidus moléculaires de taille importante. En effet, la barrière intestinale se compose essentiellement de mucus et d'anticorps IgA sécrétoires, situés à la surface des cellules épithéliales, dirigés principalement contre les entérobactéries et les antigènes alimentaires [15].

Cependant, certaines molécules peuvent passer la barrière intestinale ; elles sont alors immédiatement captées et complexées par des anticorps spécifiques : les IgA situés dans la lamina propria et sont déversées dans le sang sous forme de complexes immuns rapidement dégradables par l'appareil phagocytaire hépatique.

Dans le cas où il existe un déficit d'IgA spécifique et favorisé par des états inflammatoires et infectieux associés du tube digestif, une quantité d'antigènes non dégradés passent à travers la muqueuse et induit la formation d'anticorps IgE favorisant le développement de réaction allergique de type anaphylactique [27] .

Ces manifestations d'intolérance peuvent être bien évidemment entretenues par la prise quotidienne des colorants dans l'alimentation, les médicaments, voir par l'emploi de cosmétique[83] .

En tout état de cause, certains auteurs préconisent, lors de toute enquête étiologique des urticaires chroniques et d'œdème de Quincke, la systématisation des tests de sensibilité à la tartrazine, l'érythrosine et l'acide carminique[72] .

CASTELAIN(1967) signale aussi des réactions allergiques de contact, à épisodes multiples, avec production d'eczéma des mains et des bras par sensibilisation à l'orthoaminoazotoluène.

2.5 Autres actions

En raison de la structure chimique de l'érythrosine, on a envisagé la possibilité d'une libération d'iode par l'érythrosine qui pourrait perturber la fonction thyroïdienne.

Des études menées à long terme sur plusieurs espèces animales et certaines données humaines ont permis de lever ce doute[11].

Si l'érythrosine absorbée est cause d'erreurs lors de la détermination de l'iode protéique par les méthodes analytiques usuelles, elle n'a aucun impact toxicologique sur la fonction thyroïdienne, malgré sa teneur élevée en iode (57,70 %) .

Cependant , sa tendance à se convertir en fluorescéine en présence d'ions métalliques , tels que le fer ou l'étain et d'acides organiques, devrait restreindre son usage pour la coloration des sirops destinés à être mis en boîtes métalliques, la fluorescéine étant néphrotoxique[11].

L'action anti-vitaminique A de l'amarante a été évaluée par GALES, à la concentration de 0,12 % de la ration alimentaire, l'amarante provoque une chute du taux de vitamine A de 50 % et parfois plus[11] .

De même que chez l'adulte, les troubles dus aux colorants pharmaceutiques et alimentaires ont été dépistés chez l'enfant. Ces produits provoquent en effet des réactions parasites chez certains individus en fonction de leur profil génétique. Ces réactions affectent l'organisme et se manifestent par des maladies respiratoires, dermiques, gastro-intestinales, neurologiques et des maladies du squelette[7] .

L'analyse des données expérimentales établit les potentialités toxiques de certains colorants pharmaceutiques, notamment des colorants liposolubles appartenant à la classe des monoazoïques de synthèse.

Les manifestations cliniques généralement rencontrées sont l'action hémotoxique et les réactions allergiques.

De faible toxicité aiguë, ces colorants, administrés journallement pendant la plus grande partie de leur vie, peuvent induire chez les animaux des cancers de l'appareil urinaire, des cancers hépatiques, des cancers mammaires et parfois de la leucémie [12].

Ces expérimentations indiquent aussi que les produits testés ne sont pas carcinogènes par eux-mêmes, mais nécessitent une activation métabolique, et que la production, comme le délai d'apparition de la tumeur, est en relation avec la quantité totale de produit administré.

Lors des essais, les doses usitées sont considérables et sans mesure commune avec les doses auxquelles l'homme pourrait être en contact (on compte qu'en moyenne dans un pays comme la France, un homme ne consomme annuellement que 4 gramme de colorants de toutes sortes)

Parmi les réactions indésirables, on ne connaît chez l'homme que les manifestations d'hypersensibilité[12].

Mais le manque d'informations précises quant aux transformations métaboliques chez l'homme, à leurs interactions éventuelles et à leur toxicité à long terme forcent à la circonspection, circonspection qui se traduit par des mesures strictes régissant l'autorisation et les conditions d'emploi des colorants pharmaceutiques[12] .

➤ Les groupes de patients à risque, et les plus sensibles à ces colorants

En ce qui concerne les groupes à risque, ce sont les femmes enceintes ou qui allaitent, les nourrissons et les jeunes enfants sensibles aux additifs, ainsi que les personnes âgées et toutes personnes ayant un système immunitaire affaibli, les patients poly médicamenteux et ceux qui souffrent de maladies chroniques (la longue durée d'exposition). Ils devraient éviter ces colorants au maximum. Pour ce qui est de la femme enceinte, il faut bien comprendre (et ce n'est pas évident pour tout le monde) que tout ce que la future maman va avaler (voire même se mettre sur la peau) atteindra plus ou moins rapidement l'enfant qu'elle porte[16].

II. La génotoxicité

On peut définir une mutation comme une modification permanente du nombre ou de la structure du matériel génétique dans un organisme, qui aboutit à une modification des caractéristiques phénotypiques de l'organisme. Les altérations peuvent impliquer un gène unique ou un chromosome entier. Les effets concernant les gènes uniques peuvent résulter d'effets sur une seule des bases d'ADN (mutations ponctuelles) ou de profondes modifications, y compris des délétions, au sein du gène. Les effets sur des chromosomes entiers peuvent entraîner des modifications structurelles ou numériques. Une mutation des cellules germinales dans les organismes à reproduction sexuée peut être transmise à la descendance [49].

La génotoxicité est un terme plus large se réfère à l'effet d'agents dits génotoxiques, qui interagissent avec l'ADN qui maintient l'intégrité du génome. Il s'agit notamment des radiations ionisantes, capables de provoquer directement des dommages et cassures à l'ADN, et des substances chimiques, souvent électrophiles, qui directement ou après bioactivation par des systèmes enzymatiques adéquats, vont se lier à l'ADN pour former des adduits (**figure10**). Ces adduits vont pouvoir être responsables de cassures et de pontage de l'ADN, d'erreurs de réplication et de substitution de bases. Ces lésions de l'ADN peuvent conduire à la mort cellulaire si les dommages sont très importants, mais elles peuvent aussi être réparées par la machinerie cellulaire et il n'y aura alors pas de conséquence pour la cellule. Si la réparation est imparfaite, incomplète ou absente, les lésions vont alors conduire à des mutations, qui sont permanentes et irréversibles, et qui peuvent impliquer des gènes individuels (mutation génique), des blocs de gènes (mutation génomique) ou des chromosomes (mutation chromosomique) [49]. Les mutations conduisant à des cassures des chromosomes sont appelées clastogènes tandis que celles se traduisant par des anomalies de la

ségragation chromosomique sont appelées aneugènes. Ces mutations peuvent ensuite être à l'origine des premières étapes de la cancérogénèse, notamment si elles concernent des gènes impliqués dans la prolifération et la survie cellulaire ; alternativement, elles peuvent être sans conséquences néfastes directes pour l'organisme. Un effet génotoxique n'est donc pas synonyme d'effet mutagène et encore moins d'effet cancérogène, ce qui illustre bien que les tests de génotoxicité diffèrent des tests de dépistage de cancers basés sur la détection précoce de marqueurs tumoraux. De plus, il est important de rappeler que, si les substances cancérogènes sont souvent génotoxiques, il existe cependant des cancérogènes non génotoxiques [49].

Les produits chimiques cancérogènes ont été traditionnellement divisés en deux grandes catégories en fonction du mode d'action présumé : effets génotoxiques et non génotoxiques. Les cancérogènes génotoxiques causent des dommages en interagissant directement avec l'ADN de nombreux mutagènes connus sont dans cette catégorie. En revanche, des cancérogènes non génotoxiques épigénétiques qui n'impliquent pas de modifications dans l'ADN mais qui peuvent influencer le processus cancérogène. La compréhension des mécanismes du processus cancérogène varie considérablement entre les deux modes d'action. La distinction n'est pas absolue, les produits chimiques peuvent être cancérogènes par les deux modes d'actions [49].

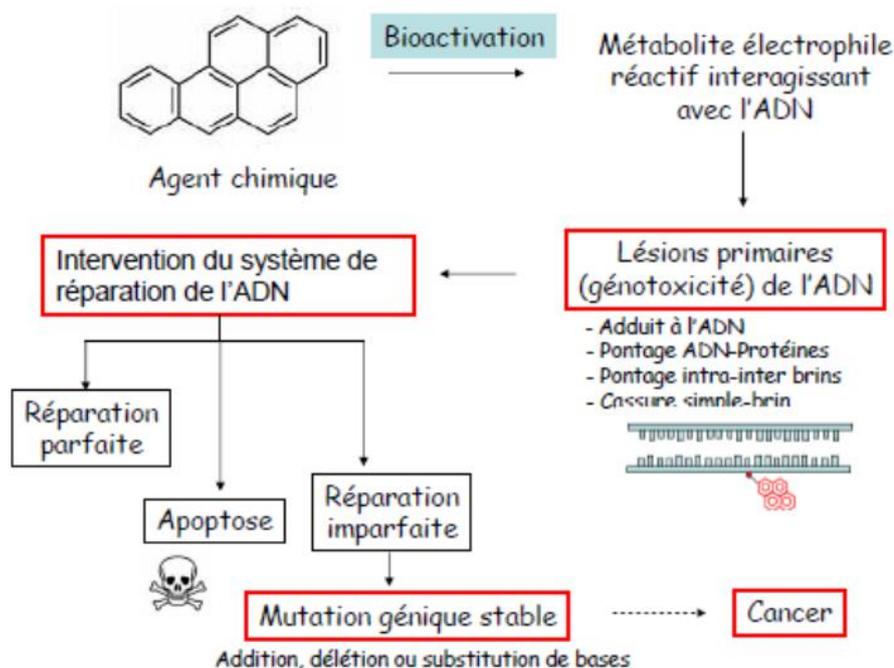


Figure10 : Effets génotoxiques, mutagènes et cancérogène

III. Tests de mise en évidence d'un pouvoir mutagène au niveau génique

Les tests de génotoxicité visent à mettre en évidence l'altération par des composés chimiques ou physiques du matériel génétique (Acide désoxyribonucléique (ADN) et/ou chromosome), pouvant conduire, si les lésions génotoxiques ne sont pas efficacement et correctement réparées par les systèmes enzymatiques adéquats, à des mutations. Ils détecteront donc principalement les lésions de l'ADN et/ou des chromosomes ou ses conséquences (effets phénotypiques de mutation génique). Ils ne visent pas à détecter directement des cellules cancéreuses, mais des cellules normales ayant subi une atteinte ou agression génotoxique.

Les marqueurs de génotoxicité diffèrent donc de marqueurs de dépistage du cancer ou marqueurs tumoraux (calcitonine, antigène prostatique spécifique, alpha-foetoprotéine...), qui sont des substances (protéines) produites principalement par les cellules cancéreuses, que l'on retrouve dans le sang et qui peuvent ainsi permettre la détection (et le suivi) d'un cancer établi avant l'apparition de signes cliniques grâce à un dosage sanguin. Ces marqueurs tumoraux utilisés sont de plus généralement des marqueurs biochimiques témoignant du métabolisme des cellules tumorales, sans lien direct avec la génotoxicité. L'analyse de ces marqueurs de dépistage précoce des cancers n'a par conséquent pas été incluse dans la présente étude[41].

1. Test d'Ames

Décrit dans une série de publications au début des années 70 par Bruce Ames et son équipe de l'université de Californie à Berkeley[45]. Le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*[1]. Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His- rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His- reversent spontanément vers His+ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His- à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet, en quantifiant l'induction de ces mutations réverses His+, de mesurer le potentiel génotoxique de la substance ou préparation étudiée. Plusieurs souches bactériennes de nature génétique différente peuvent être utilisées notamment les souches TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535 et TA1537. Ces souches sont porteuses de mutations His- différentes qui permettent de tester des agents mutagènes variés[79].

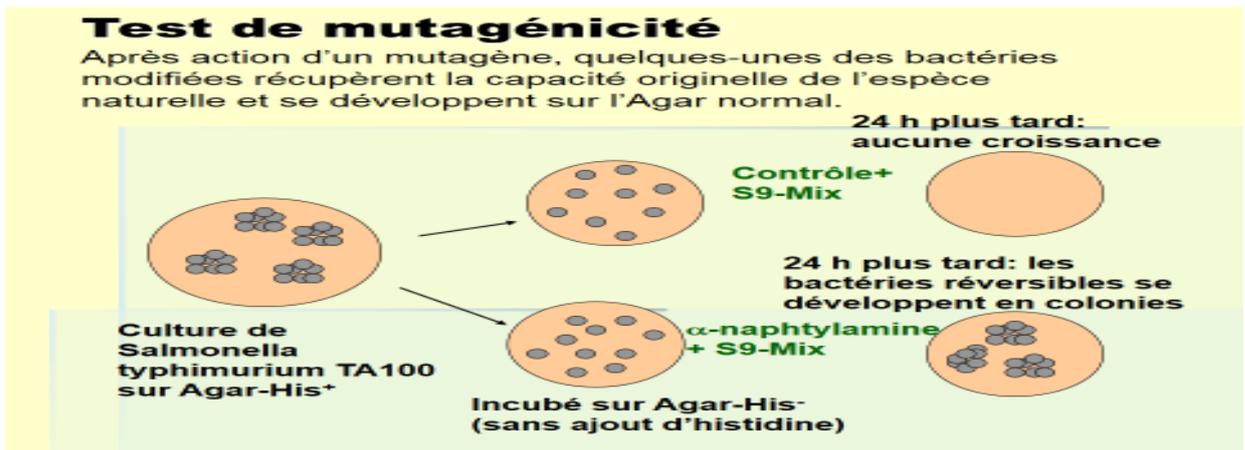


Figure 11 : Les étapes du test d'AMES

La grande majorité des produits pénétrant dans un organisme humain est détoxifiée afin d'être rapidement éliminée. Ce métabolisme conduit souvent à des espèces chimiques réactives intermédiaires électrophiles, qui sont les formes mutagènes. Le métabolisme ou la bioactivation de beaucoup de composés génotoxiques est donc requis pour qu'ils exercent leurs effets délétères [68]. Les systèmes enzymatiques, notamment les cytochromes P-450 qui interviennent dans ces réactions se situent principalement au niveau du foie et exigent des cofacteurs (oxygène et NADPH). Ils sont aussi inductibles. Dans le test d'Ames, ce métabolisme est mimé en mélangeant un homogénat de foie de rat (appelé fraction S9) avec les bactéries et les cofacteurs nécessaires. Un traitement préalable des rats par un inducteur (généralement l'Aroclor 1254) assure la présence de tous les systèmes enzymatiques [10].

Le test d'Ames est applicable à l'étude du pouvoir mutagène de produits chimiques ou de mélanges, mais aussi de fluides biologiques tels que les urines chez les sujets exposés [24].

Le test d'Ames a pour inconvénient d'être un test bactérien, pouvant rendre en théorie critiquable l'extrapolation à des cellules humaines. Il est par contre bien calibré et n'est pas invasif pour l'étude du personnel (simple recueil d'urine) [101]. Il est de plus relativement peu coûteux. Son utilisation pour la bio surveillance des sujets exposés ne témoigne cependant pas d'une génotoxicité, mais d'une exposition à des substances génotoxiques, et le test d'Ames urinaire doit par conséquent être strictement considéré comme un test d'exposition à des génotoxiques et non d'effet précoce génotoxique [99].

Le test d'Ames fait enfin l'objet d'une ligne directrice de l'organisation pour la coopération et le développement économique (OCDE) pour les essais de produits chimiques.

2 .Tests cytogénétiques

Il s'agit de tests basés sur l'étude des anomalies chromosomiques et/ou chromatidiennes entraînées par l'exposition aux génotoxiques.

2.1.Test des micronoyaux

Les micronoyaux sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de la molécule d'ADN) ou d'effets aneugènes (altérations de l'appareil mitotique liées principalement à des interactions avec les protéines). Les tests des micronoyaux a donc pour objet de détecter et numérer ces micronoyaux dans des cellules traitées in vitro par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition in vivo (par exemple des lymphocytes de rongeurs ou de sujets humains exposés à l'agent génotoxique) [80]. Il s'agit d'un cas particulier du test "aberrations chromosomiques" qui va être applicable à l'analyse du potentiel génotoxique d'un composé ou à la surveillance de personnels exposés en médecine du travail) .Les micronoyaux constituent un dommage stable et persistant (effet mutagène), qui persiste dans la cellule pendant la durée de vie de celle-ci, et il a donc une rémanence longue ,le test des micronoyaux a d'ailleurs été présenté récemment comme ayant une valeur prédictive pour le risque de cancer .Le test des micronoyaux peut être aussi utile pour évaluer une exposition récente (heures, jours)[87]. Applicable à toutes les cellules-cibles (cellules vésicales, endobuccales, fibroblastes, kératinocytes, etc...). L'avantage de cette technique est de ne comptabiliser que les lésions génotoxiques hérissables (micronoyaux dans les seuls lymphocytes binucléés) répondant seules à la définition stricte de la mutation. Le test est de plus, associable à une étude de la qualité du matériel génétique contenu dans le micronoyau (présence ou non de centromères, type de chromosome altéré, nature exacte de l'altération) par hybridation " in situ " fluorescente (technique FISH), ce qui apporte des éléments mécanistiques fondamentaux à l'interprétation des résultats (la détection des centromères dans les micronoyaux orientant vers un effet aneugène tandis que l'absence de cette détection oriente plus vers un effet clastogène). Le test des micronoyaux peut aussi être pratiqué directement sans culture préalable des lymphocytes recueillis par ponction sanguine chez les sujets exposés[84].

Le test des micronoyaux est relativement facile à mettre en œuvre. Il ne détecte cependant pas toutes les aberrations chromosomiques. Il requiert aussi nécessairement un prélèvement

cellulaire et présent donc de ce fait un certain caractère invasif. L'analyse cellule par cellule permet néanmoins d'avoir un grand nombre de données, ce qui peut permettre un traitement statistique performant des résultats[71].

Le test des micronoyaux fait enfin l'objet d'une ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, applicable cependant aux érythrocytes de mammifères.

2.2. Détection des aberrations chromosomiques

Il s'agit de déterminer les anomalies du caryotype sur des cellules eucaryotes, liées à l'exposition à des composés génotoxiques entraînant des cassures d'ADN. Les cellules analysées peuvent notamment être des lymphocytes isolés de sujets humains ou d'animaux (exposés in vivo à des substances chimiques ou préparations) ou des cellules de lignée ou des lymphocytes exposés in vitro aux génotoxiques[51]. Ce type de test va donc pouvoir être employé pour mesurer le potentiel génotoxique d'un composé in vitro (traitement de cultures cellulaires) ou in vivo (exposition expérimentale de rongeurs), mais aussi pour la surveillance du personnel exposé en médecine du travail[42]. Le caryotype est réalisé selon les techniques cytogénétiques habituelles en bloquant les cellules en métaphase à l'aide de colchicine ; l'analyse d'un grand nombre de métaphases (au moins 200 par conditions) est souvent réalisée[36]. Plusieurs types d'anomalies chromosomiques peuvent être détectées, notamment les anomalies du nombre de chromosomes (aneuploïdie qui peut correspondre à une augmentation du nombre de chromosomes appelée hyperploïdie ou au contraire à une diminution du nombre de chromosomes appelée hypoploïdie) ou les anomalies de structure des chromosomes (délétion, translocation, inversion...).

Les résultats sont rendus habituellement en % de métaphases présentant des aberrations. Il faut noter que les aberrations chromosomiques indiquent un dommage stable et persistant (mutation), qui représente un événement potentiellement initiateur dans le processus qui mène à la néoplasie. La présence d'aberrations chromosomiques a d'ailleurs été corrélée avec un risque accru de survenue de cancers [2]. Ce test correspond donc selon certains à un véritable biomarqueur d'effet précoce, qui pourrait avoir dans une certaine mesure une valeur prédictive potentielle. Les aberrations chromosomiques persistent de plus pendant la durée de vie des lymphocytes, ce qui fait que ce test est potentiellement applicable à l'évaluation d'une exposition cumulée et a une rémanence longue (au moins quelques semaines à quelques mois, voir plus). Le test d'aberration chromosomique est relativement lourd et fastidieux à réaliser. Il a de plus l'inconvénient de requérir une culture cellulaire. Les principaux facteurs confondants interférents sont le tabac et l'âge[2]. Comme pour la plupart des tests de

génomotoxicité, ces facteurs confondants sont cependant relativement controversés. Le polymorphisme d'expression d'enzymes impliqués dans le métabolisme ou les systèmes de réparation de l'ADN peut aussi interférer avec les résultats des tests d'aberrations chromosomiques[37].

Les tests d'aberrations chromosomiques font l'objet de lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques applicables à des expositions in vitro ou in vivo sur la moelle osseuse de mammifères.

IV. La place des méthodes in silico dans l'évaluation de la sécurité

Pour assurer la sécurité du patient lors des études cliniques ou de la mise sur le marché d'un médicament, la toxicologie a bénéficié ces dernières années de l'essor des nouvelles connaissances qu'elles soient scientifiques, techniques ou bio-informatiques. Celles-ci ont permis la mise au point de modèles expérimentaux in silico qui, sans remplacer l'évaluation effectuée en grande partie sur l'animal de laboratoire, permettent d'éliminer très en amont des molécules à toxicité rédhibitoire contribuant ainsi à la diminution du nombre d'animaux utilisés. De plus, ce modèle particulièrement adapté aux études mécanistiques permet d'améliorer la pertinence des résultats obtenus et donc de mieux prévoir et dépister les effets indésirables qui pourraient être observés chez l'homme. Des progrès restent encore à faire, notamment au niveau de la validation. Cependant, l'effort consenti par les industriels, les laboratoires académiques et les instances réglementaires devraient, dans les années à venir, améliorer de façon significative l'évaluation de la sécurité non clinique de médicaments par l'intégration de cette méthode[33].

Réglementairement, cette évaluation est codifiée par les lignes directrices ICH (International Conference on Harmonisation), et s'effectue essentiellement sur l'animal de laboratoire. Cette technique, in silico, contribue au respect du principe des 3R (remplacer, raffiner, réduire). énoncé par Russel et Burch en 1959 et intégré dans l'encadrement législatif actuel relatif à l'expérimentation animale. Elles permettent en outre de comprendre certains mécanismes de toxicité et de mieux évaluer la pertinence pour le patient des effets observés chez l'animal[33].

1- Méthodes d'études in silico

Le développement d'outils informatiques fiables couplés à la croissance de la puissance informatique a permis la mise en place de techniques de simulation numérique centrées sur la

biologie. Par analogie avec les expressions *in vivo* et *in vitro*, le terme « *in silico* » a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériau principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. Le champ *in silico* regroupe un très large ensemble de méthodes numériques fondées sur les lois de la physique et de la chimie qui, utilisant les approches des mathématiques, permettent de simuler ou de modéliser un phénomène biologique à l'aide de l'outil informatique[13].

2- Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR)

Quantitative Structure-Activity Relationships font appel à des outils informatiques, d'où leur nom « *in silico* » ; son principe consiste à mettre en place une relation entre la structure d'un composé ou d'une classe de composés appelées descripteurs et un effet biologique. Le QSAR utilise des modèles mathématiques plus élaborés et donne des réponses plus complètes reposant sur des bases de données obtenues d'après des études *in vivo* ou *in vitro*, ou d'après des observations d'études cliniques, et les relie par des corrélations statistiques aux informations structurales. La qualité des QSARs dépend donc de la qualité de la base de données utilisée. Actuellement, ces méthodes *in silico* jouent un rôle d'orientation pour l'évaluation des produits pour lesquels aucune donnée n'est disponible. Un exemple est la recherche du potentiel génotoxique d'une molécule (les colorants par exemple). Cette recherche s'effectue très tôt dans le processus de développement, dès l'étape de screening, afin d'éviter la sélection d'une molécule présentant à terme un risque cancérogène[73]. Parmi les nombreux modèles disponibles, l'industrie pharmaceutique va privilégier ceux qui ont été validés, comme DEREK[67] ou MCASE[95], très utilisés pour le médicament mais aussi dans l'industrie chimique, et reconnus par les instances réglementaires. Ces bases sont enrichies en permanence par les utilisateurs, ce qui augmente d'année en année leur prédictivité. L'utilisation est très simple : la structure du produit à étudier est saisie grâce à un logiciel de dessin, et le programme applique les lois de relation structure activité contenues dans le répertoire, ainsi que toutes les données toxicologiques. Le système prédit la toxicité du produit et fournit les éléments sur lesquels il se fonde pour cette prédiction (commentaires, références bibliographiques, données de toxicité...). Ceci permet à l'utilisateur de savoir dans quelle mesure il est en accord avec les prédictions, d'envisager des modifications de structure afin d'obtenir un produit moins toxique, et de conduire une étude bibliographique plus poussée si nécessaire. Ces modèles *in silico* ont évidemment des limites : pour la génotoxicité,

leur prédictivité n'est pas totale (concordance de 65,6 % à 88 %). La combinaison de 3 systèmes (DEREK, MCASE et Awork) permet d'augmenter la concordance (98,7 %)[69].

Concernant le potentiel de toxicité chronique, le potentiel cancérigène ou la toxicité sur le processus de la reproduction, la prédictivité est limitée car ces effets indésirables résultent d'une multitude de variables, elles-mêmes influencées par divers mécanismes. Néanmoins, pour l'industrie pharmaceutique qui utilise une quantité impressionnante de produits chimiques, cette approche devient incontournable dans le domaine du screening des futurs médicaments, mais également dans l'évaluation de la toxicité des matières premières et des intermédiaires de synthèse pour assurer la sécurité au poste de travail de ses employés. Un rapport de l'ECB (European Chemicals Bureau) suggère que l'utilisation optimale des méthodes *in silico* dans le cadre de REACH pourrait diminuer les besoins en animal de laboratoire de 1,3 à 1,9 millions[77].

Les descripteurs théoriques se déclinent eux-mêmes en sous-classes de descripteurs: les constitutionnels, basés sur la composition chimique de la molécule, les topologiques, obtenus à partir de la structure bidimensionnelle (table de connectivité des atomes de la molécule), les géométriques, évalués à partir de la structure tri-dimensionnelle et les quantiques, issus de la structure électronique de la molécule[73].

Le choix de la base de données expérimentale de référence est décisif dans une étude QSAR; Elle doit être composée de données expérimentales fiables obtenues en suivant un protocole expérimental unique. En effet, la robustesse du modèle dépend fortement de la base sur lequel il se fonde. Néanmoins, malgré tous les efforts mis en œuvre pour recueillir des données homogènes, une certaine incertitude ne peut être évitée, notamment pour les systèmes biologiques[73].

Enfin, le lien entre les descripteurs et la base de données est déterminé grâce à des outils d'analyse comme les régressions multi-linéaires (MLR), les régressions aux moindres carrés partiels (PLS), les arbres de décisions, les réseaux de neurones, et les algorithmes génétiques[53]. En pratique, le développement d'un modèle débute par la collecte de données expérimentales fiables et en nombre conséquent. Cette étape est suivie par le développement d'une série de descripteurs qui caractérisent les structures géométriques et électroniques des composés étudiés en vue de les relier à la propriété expérimentale étudiée. Des outils d'analyse de données sont alors employés pour orienter le choix des descripteurs adéquats et mettre en place le modèle à proprement dit[57]. Le modèle une fois développé, sa corrélation doit ensuite être validée sur le jeu d'entraînement. Sa robustesse, c'est-à-dire l'influence des

composés du jeu d'entraînement sur le modèle, est estimée par des méthodes de validation interne. Afin d'estimer son pouvoir prédictif, des données expérimentales supplémentaires sont nécessaires afin de déterminer la capacité du modèle à prédire ces valeurs. Enfin, il est important de savoir quel type de molécule s'utilise avec quel modèle. On parle alors de domaine d'applicabilité[13]. La relation QSAR mise en place peut alors être employée pour la prédiction de propriétés d'un jeu de nouvelles molécules existantes physiquement ou non, pour lesquelles les valeurs expérimentales ne sont pas disponibles. Une analyse fine des descripteurs intervenant dans le modèle QSAR donne également des informations sur la nature des mécanismes et des phénomènes moléculaires (interactions électrostatiques ou hydrophobes) mis en jeu dans la propriété d'intérêt[72].

Dans la plupart des cas, les propriétés considérées sont relatives à des mesures in vitro comme l'affinité de liaison au récepteur, absolue (binding affinity, BA) ou relative au ligand naturel E2 (relative binding affinity, RBA). Les propriétés issues d'études in vivo ont rarement été considérées[72].

3- Recommandation et fiabilité des(Q) SARspour l'évaluation toxicologique :

Ligne directrice M7 de L'ICH , concernant le potentiel mutagène des impuretés est résumée ci-après:

« L'approche informatique de l'évaluation toxicologique doit être réalisée au travers de méthodologies (Q)SARs qui prédisent le résultat du test de mutation bactérienne. Deux méthodologies de prédiction (Q)SARs se complétant doivent être appliquées, l'une basée sur l'expertise, et l'autre sur les données statistiques. Les modèles (Q)SARs usant de ces méthodes de prédictions doivent suivre les principes de validations fixés par l'OCDE

Les résultats de n'importe quelle analyse basée sur un système informatique doivent dans tous les cas être contrôlés et revus au travers de la connaissance d'expert(s) afin de fournir une preuve additionnelle de tout résultat (positif ou négatif), et d'apporter une explication à des résultats contradictoires[111].

L'absence de structure d'alerte venant de deux méthodologies (Q)SARs complémentaires (expert et statistique) est suffisante pour conclure que l'impureté n'est pas mutagène et qu'il n'est pas utile de poursuivre les tests » .

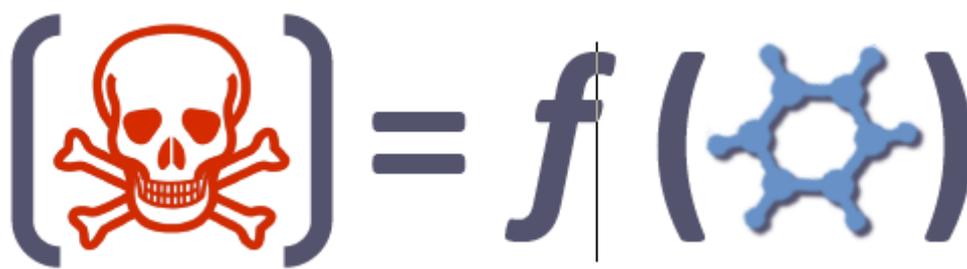
Ainsi, les (Q)SARs peuvent être utilisés pour prédire le résultat d'un test de mutagenicité bactérienne dans l'évaluation du risque des impuretés des produits pharmaceutiques. Dans certains cas cela permet d'éviter de tester les impuretés ou produits de dégradation sur la mutation bactérienne. Deux méthodes doivent être utilisées, l'une expert (Derek par exemple), l'autre basée sur des statistiques (Leadscope par exemple) [111].

L'EMA reprend l'ICH guideline M7, concernant les impuretés génotoxiques. Elle confirme également qu'en cas d'absence de structure d'alerte, aucun test supplémentaire n'est requis.

L'EMA va même jusqu'à préciser qu'une absence d'alerte structurelle, basée sur une évaluation bien exécutée (par exemple via l'application de logiciels (Q)SARs communément utilisés, tels que DEREK ou MCASE), sera suffisante pour conclure que l'impureté ne pose pas de préoccupation en génotoxicité, et qu'aucune nouvelle étude ne sera requise.

Les approches in silico sont donc clairement recommandées, sans être toutefois validées selon un processus défini[111].

La QSAR la plus commune est de la forme : activité = f(propriétés physico-chimiques et/ou structurales).



TROISIÈME CHAPITRE : RÉGLEMENTATION DES COLORANTS ET ETABLISSEMENT DES DOSES ACCEPTABLES

I. Examen de la sécurité et de la réglementation des colorants Pharmaceutiques

La sélection des couleurs, est l'un des éléments clés de la construction d'un fort développement de la marque et de l'identité de l'industrie pharmaceutique, et de prévenir la contrefaçon.

Les préoccupations en matière de sécurité sont augmentées au cours de ces dernières années. Mais les efforts visant à transformer les colorants naturels semblent peu prometteurs. Leurs problèmes d'instabilité et le développement de colorants «non toxiques» sont encore un défi. Cet examen porte spécifiquement sur les questions liées à la sélection des colorants et résume le statut réglementaire actuel.

1- Statut réglementaire international

En raison des changements fréquents de la réglementation, il est difficile de maintenir la liste des colorants mis à jour pour une utilisation pharmaceutique et alimentaire.

De plus, les colorants sont plus strictement réglementés que d'autres excipients, et la législation varie d'un pays à l'autre. Les colorants acceptés dans certains pays sont interdits dans d'autres.

La Commission européenne (CE) dans l'Union européenne (UE), la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis, ainsi que le Ministère de la santé, du travail et du bien-être social au Japon et au Canada figurent parmi les autorités responsables de la définition et le maintien des spécifications, et l'évaluation de la sécurité dans différentes applications [60]

Dans de nombreuses régions, les autorités distinguent les colorants qui peuvent être utilisés dans les produits médicamenteux de ceux qui sont autorisés dans les aliments.

De plus, les noms de colorants peuvent varier, cependant, les numéros d'indice de couleur (CI) sont identiques.

Un exemple intéressant, qui témoigne de ce fait, est la différence entre la réglementation concernant le jaune de quinoléine en Europe, et aux États-Unis, même indice de couleur, même apparence mais répertoriés pour différentes utilisations.

Il est approuvé pour les médicaments et les cosmétiques aux États-Unis, et approuvé en Europe pour les aliments et les médicaments. Toutefois, le Japon ne l'approuve pas pour son utilisation dans les aliments ou les médicaments [105]

En outre, les colorants doivent respecter les normes de pureté requise pour protéger le consommateur (énoncées dans la directive 2008/128/CE établissant des critères de pureté spécifiques pour les colorants pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires)[60].

2- Réglementation des colorants dans l'Union européenne

La plupart des pays européens suivent les directives européennes qui énumèrent les colorants et les spécifications pour l'utilisation dans les aliments et les médicaments dans l'UE. La directive qui contrôle les colorants approuvés pour les produits pharmaceutiques en Europe est la directive: 94/36 / CE en 1994 (Annexe II) [60].

Au cours des dernières années, certaines modifications ont été introduites, par exemple : Le colorant Rouge 2G a été retiré de la liste en 2007 pour des raisons de sécurité [81].

Le système de l'UE attribue à tous les colorants, qui sont définis comme additifs alimentaires, un nombre "E".

3- Réglementation des colorants aux États-Unis

La FDA est chargée de réglementer la liste des colorants destinés à être utilisés aux États Unis. Ces colorants doivent être conformes aux spécifications chimiques, aux utilisations, aux restrictions et aux exigences d'étiquetage décrites dans le code des règlements fédéraux.

Le règlement relatif à la pureté est spécifié dans le 21 CFR partie 74 et partie 82. La FDA a divisé les colorants en deux catégories: ceux qui sont soumis à des procédés de certification incluant : azo, xanthène, triarylméthane ,et les colorants indigoïdes ,et celles exemptes de la certification, y compris les colorants dérivés de sources naturelles, comme le β -carotène.

Lorsqu'un colorant est destiné à une nouvelle application, une pétition devrait être faite à la FDA. Dans le cas où la pétition est approuvée, la FDA publiera une nouvelle liste [61].

La loi de l'FDA prévoit que les aliments, les médicaments, les cosmétiques et les dispositifs sont considérés comme falsifiés s'ils n'ont pas été prouvés sûrs pour leur utilisation. De plus, la certification de colorant garantit que les lots fraîchement fabriqués sont conformes aux spécifications et à l'identité. Cette certification est constamment revue et mise à jour selon les résultats toxicologiques pour les colorants certifiés.

Ces changements sont la suppression de la certification, le transfert d'un colorant d'une catégorie à l'autre et l'ajout de nouveaux colorants à la liste.

En outre, le fabricant de produits pharmaceutiques est responsable de s'assurer que les colorants sont conformes aux spécifications. La responsabilité d'assurer la qualité des colorants est la responsabilité du fabricant[61].

4- Réglementation des colorants au Canada

Au Canada, la réglementation sur les colorants est semblable à celle des États-Unis. La plupart des colorants indiqués pour l'utilisation aux États-Unis et en Europe sont également répertoriés au Canada, mais certains qui sont approuvés aux États-Unis sont interdits au Canada et vice versa[65].

5- Réglementation des colorants au Japon

Au Japon, le ministère japonais de la santé, du travail et de la protection sociale (MHLW) est responsable de l'approbation des colorants. Les colorants synthétiques autorisés au Japon comprennent les colorants approuvés dans l'UE et/ou aux États-Unis[86].

6- Différences de réglementation dans les principales zones

Aux États-Unis, des études sérieuses et convaincantes commandées par la FDA en 1983 prouvent que l'érythrosine cause des tumeurs de la glande thyroïde des rats de laboratoire. Cependant, la recommandation de la FDA de bannir l'érythrosine a été rejetée par des pressions de la part du gouvernement de Ronald Reagan à l'époque.

En 1990, la FDA a mis en place une interdiction partielle de l'érythrosine lui permettant de demeurer dans l'alimentation et les pharmaceutiques, et l'excluant des cosmétiques et des pharmaceutiques à usage externe [112].

L'érythrosine (E127) est listée comme colorant au standard international du Codex alimentarius. Elle est également utilisée dans les excipients de nombreux pharmaceutiques, y compris pour enfants, dans les produits cosmétiques, dans les encres d'impression, comme agent létal pour les mouches, insectes et leurs larves [112].

Les colorants alimentaires sont testés par différents organismes à travers le monde qui donnent parfois des avis différents sur leur innocuité, menant à des réglementations différentes. Ainsi, le Rouge citrus n°2 est interdit en Europe, autorisé aux États-Unis, alors que l'Amarante est autorisée en Europe et interdite aux États-Unis. La réglementation évolue aussi avec le temps : certains colorants autrefois autorisés ont été interdits lorsque leur nocivité a été avérée. Pour qu'un nouveau colorant puisse être listé, il doit maintenant faire la preuve de son innocuité [112].

Bien que des études de 1999 et 2002 n'aient montré aucun lien entre le trouble déficitaire de l'attention / hyperactivité (TDHA) et les colorants alimentaires, une étude de 2008 suggère que six colorants (Tartrazine, Jaune de quinoléine, Jaune orangé, Azorubine, Rouge cochenille

A et Rouge allura) pourraient, lorsqu'ils sont associés à des conservateurs du type benzoates (E210 acide benzoïque, E211 benzoate de sodium,...), modifier les paramètres d'attention des enfants diagnostiqués TDAH. Les personnes souffrant de TDAH seraient touchées au même titre que le reste de la population. En 2008, l'EFSA ne tient cependant pas entièrement compte de ces études, invoquant un manque de rigueur dans la recherche : ces colorants doivent être assortis en France et en Allemagne d'une mention "Peut avoir des effets indésirables sur l'activité et l'attention chez les enfants", mais restent autorisés.

En 2007, la commission européenne a interdit l'utilisation du colorant rouge alimentaire Rouge 2G (E128) car son innocuité pour la santé n'était plus prouvée[112].

II. Les impuretés génotoxiques

La pharmacopée contrôle strictement la présence des impuretés génotoxiques dans les préparations médicamenteuses même à dose infime par contre elle tolère les colorants génotoxiques qui peuvent être à doses plus élevées.

➤ Ligne directrice M7 de l'ICH :Évaluation et contrôle des impuretés réactives de l'ADN (mutagènes) dans les produits pharmaceutiques pour limiter les risques de cancérogénicité

-Met l'accent sur les considérations relatives à l'innocuité et à la gestion des risques liés à la qualité pour déterminer les concentrations d'impuretés mutagènes qui devraient poser un risque de cancérogénicité négligeable. Elle présente des recommandations touchant l'évaluation et le contrôle des impuretés mutagènes qui subsistent ou devraient raisonnablement subsister dans la substance ou le produit pharmaceutique final, en tenant compte des conditions prévues d'utilisation chez l'homme [50].

Fournit des recommandations touchant la qualification et le contrôle de la majorité des impuretés, ces conseils sont limités en ce qui concerne les impuretés qui sont réactives avec l'ADN. A pour objet de fournir un cadre pratique applicable à l'identification, à la catégorisation, à la qualification et au contrôle de ces impuretés mutagènes en vue de limiter le risque de cancérogénicité[50].

Visé à compléter les directives Q3A(R2) et Q3B(R2) de l'ICH, ainsi que la directive M3(R2) : Études d'innocuité non cliniques requises pour les études cliniques chez l'homme et les autorisations de mise sur le marché de produits pharmaceutiques.

L'évaluation du potentiel mutagène des impuretés décrite dans cette directive ne vise pas les excipients utilisés dans les produits déjà commercialisés : les aromatisants, les colorants et les parfums[50].

Se penche sur les substances réactives avec l'ADN qui peuvent, lorsqu'elles sont présentes à de faibles concentrations, causer directement des dommages à l'ADN et entraîner des mutations, ce qui risque de provoquer un cancer. Ce type de substance cancérigène mutagène est généralement détecté au moyen d'un essai de mutation inverse bactérienne (mutagénicité). Les autres types de substances génotoxiques qui ne sont pas mutagènes ont en général des mécanismes de seuil et ne présentent habituellement pas de risque cancérigène pour l'homme à la concentration normalement présente sous forme d'impuretés[50].

Par conséquent, afin de limiter le risque de cancer chez l'homme associé à l'exposition à des impuretés potentiellement mutagènes, l'essai de mutagénicité bactérienne est utilisé pour évaluer le potentiel mutagène et la nécessité de prendre des mesures de contrôle.

Les impuretés génotoxiques sont classées par catégories 1,2, 3,4 et 5, soumis à des stratégies de contrôle appropriées .

Etablie les doses acceptables pour les impuretés mutagènes multiples qui sont basés sur le SPT(seuil de préoccupation toxicologique) et qui dépendent de la durée d'utilisation des produits pharmaceutiques (long ou court terme) et le potentiel cancérigène des impuretés :par exemple les composés N-nitrosés et les composés alkylés azoxyques, substances cancérigènes très puissantes, si ces composés sont détectés sous forme d'impuretés dans les produits pharmaceutiques, les doses acceptables seront probablement beaucoup plus faibles que les doses acceptables définies dans la présente directive.

Dans le cas des produits composés, chaque matière active doit être contrôlée séparément[50].

III. La relation entre la cumulation de la dose et l'effet cancérigène et leur rôle dans l'établissement de la dose journalière admissible

Les colorants présentant des structures d'alerte sur la génotoxicité doivent être traités de la même façon que les impuretés génotoxiques, en se référant au même énoncé de la directive M7 de l'ICH [50].

Une analyse initiale basée sur les données de cancérigénicité et de mutagénicité bactérienne ainsi qu'une évaluation des rapports structure-activité (RSA) permet de classer les impuretés dans la catégorie 1, 2 ou 5 d'après le tableau 1.

Tableau 01 : Classification des impuretés en fonction du potentiel mutagène et cancérigène et mesures de contrôle à prendre

Catégorie	Définition	Mesure de contrôle proposée
1	Substances mutagènes et cancérigènes connues	Contrôler à la limite acceptable propre au composé ou en deçà
2	Substances mutagènes connues dont le potentiel cancérigène est inconnu (résultats positifs pour la mutagénicité bactérienne, aucune donnée sur la cancérigénicité chez les rongeurs)	Contrôler aux limites acceptables (SPT approprié) ou en deçà
3	Structure préoccupante, non liée à la structure de la substance médicamenteuse; aucune donnée sur la mutagénicité	Contrôler aux limites acceptables (SPT approprié) ou en deçà, ou effectuer un essai de mutagénicité bactérienne : Si l'impureté n'est pas mutagène = catégorie 5 Si l'impureté est mutagène = catégorie 2
4	Structure préoccupante, avec une alerte identique dans la substance médicamenteuse ou les composés liés à la substance médicamenteuse (p. ex., produits intermédiaires) qui ont été testés et ne sont pas mutagènes	Traiter comme une impureté non Mutagène
5	Aucune alerte structurelle, ou structure	Traiter comme une impureté non

	préoccupante avec des données suffisantes pour démontrer la non-mutagénicité ou la non-cancérogénicité	Mutagène
--	--	----------

À partir des données sur la toxicité de la substance, la dose acceptable peut être établie de plusieurs méthodes :

1-Doses acceptables basées sur le seuil de préoccupation toxicologique

Pour une impureté mutagène, une dose acceptable basée sur le SPT de 1,5 µg par personne par jour est considérée comme étant associée à un risque négligeable (augmentation théorique du risque de cancer de < 1 sur 100 000 pour une exposition pendant toute la durée de vie) et peut en général être utilisée pour la plupart des médicaments comme valeur par défaut pour calculer une limite de contrôle acceptable. Cette approche est habituellement adoptée pour les impuretés mutagènes présentes dans les produits pharmaceutiques destinés à un traitement de longue durée (> 10 ans) et pour lesquelles il n'existe pas de données sur la cancérogénicité (catégories 2 et 3)[50].

2-Doses acceptables basées sur les évaluations des risques propres au composé

2.1 Impuretés mutagènes assorties de données positives sur la cancérogénicité

Lorsqu'il existe des données suffisantes sur la cancérogénicité, il convient de calculer les doses acceptables à partir des évaluations des risques propres au composé, et non en fonction du SPT. Dans le cas d'une substance connue pour être mutagène et cancérogène, une dose acceptable propre au composé peut être calculée en fonction du potentiel cancérogène, en utilisant une extrapolation linéaire comme approche par défaut.

Il est également possible d'appliquer d'autres pratiques établies d'évaluation des risques, telles que celles utilisées par les organismes de réglementation internationaux, soit pour calculer les doses acceptables soit pour utiliser des valeurs déjà existantes publiées par les autorités réglementaires. Les calculs des doses applicables propres au composé peuvent être appliqués au cas par cas pour les impuretés dont les propriétés chimiques sont similaires à celles d'une catégorie de composés cancérogènes connus (doses acceptables propres à une catégorie), à condition qu'une justification attestant la similitude chimique et des données à l'appui puissent être fournies [50].

2.2 Impuretés mutagènes assorties de preuves d'un seuil pratique

Il est de plus en plus largement admis qu'il existe des mécanismes entraînant une relation dose-réponse qui n'est pas linéaire ou qui comporte un seuil pratique, non seulement pour les composés qui interagissent avec des cibles non-ADN, mais aussi pour les composés réactifs avec l'ADN, dont les effets peuvent être modulés, par exemple, par une désintoxication rapide avant d'entrer en contact avec l'ADN ou par une réparation efficace des dommages induits. Pour ces composés, l'approche réglementaire peut se fonder sur la détermination d'une dose sans effet observable (DSEO) et sur l'utilisation de facteurs d'incertitude pour calculer une exposition quotidienne admissible lorsque des données sont disponibles.

Les doses acceptables calculées à partir des évaluations des risques propres au composé peuvent être ajustées pour une durée d'utilisation plus courte ou doivent être limitées à 0,5 % au maximum, selon la plus faible des deux. Par exemple, si la dose acceptable propre au composé est de 15 microgrammes (μg) par jour pour une exposition pendant toute la durée de vie, les limites pour une exposition d'une durée moindre (tableau 2) peuvent être augmentées jusqu'à une dose journalière de 100 μg (durée du traitement comprise entre plus d'un an et 10 ans), de 200 μg (durée du traitement comprise entre plus d'un mois et 12 mois) ou 1200 μg (durée du traitement inférieure à un mois). Toutefois, dans le cas d'un médicament ayant une dose quotidienne maximale de 100 milligrammes (mg), par exemple, la dose journalière acceptable pour un traitement d'une durée inférieure à un mois sera limitée à 0,5 % (500 μg), et non à 1200 μg [50].

3-Doses acceptables pour une exposition d'une durée moindre que la durée de vie

Les évaluations des risques standards des substances cancérogènes connues partent du principe que le risque de cancer augmente en fonction de la dose cumulée. Par conséquent, le risque de cancer associé à une faible dose administrée en continu pendant toute la durée de vie devrait être équivalent au risque de cancer associé à une exposition cumulée identique atteinte en moyenne sur une plus courte durée. On considère que la dose acceptable basée sur le SPT de 1,5 μg par jour offre une protection adéquate pour une exposition quotidienne pendant toute la durée de vie.

Pour tenir compte des expositions d'une durée moindre que la durée de vie aux impuretés mutagènes présentes dans les produits pharmaceutiques, une approche est appliquée dans laquelle la dose cumulée acceptable pendant toute la durée de vie [50].

($1,5 \mu\text{g} / \text{jour} \times 25\ 550 \text{ jours} = 38,3 \text{ mg}$) est répartie uniformément sur le nombre total de jours d'exposition dans le cas d'une exposition d'une durée moindre que la durée de vie. Cette approche permet d'obtenir une dose journalière d'impuretés mutagènes plus élevée que dans le cas d'une exposition pendant toute la durée de vie, tout en maintenant des niveaux de risque comparables pour les schémas thérapeutiques quotidiens et non quotidiens. Le tableau 2, dérivé des concepts ci-dessus, illustre les doses acceptables pour les expositions d'une durée moindre que la durée de vie ou pendant toute la durée de vie aux fins de développement clinique et de mise en marché. Dans le cas d'une administration intermittente, la dose journalière acceptable doit être fonction du nombre total de jours d'administration, et non de l'intervalle de temps pendant lequel les doses sont administrées, et ce nombre de jours d'administration doit être associé à la catégorie de durée correspondante dans le tableau 2. Par exemple, pour un médicament administré une fois par semaine pendant deux ans [c'est-à-dire 104 jours d'administration], la dose acceptable serait de $20 \mu\text{g}$ [50].

Tableau 2 : Doses acceptables pour chaque impureté

Durée du traitement	≤ 1 mois	> 1 à 12 mois	> 1 à 10 ans	> 10 ans à toute la durée de vie
Dose journalière ($\mu\text{g}/\text{jour}$)	120	20	10	1,5

➤ **Exceptions et souplesse dans les approches**

Des doses acceptables plus élevées peuvent être justifiées lorsque l'exposition humaine à l'impureté sera nettement plus importante en raison d'autres sources, telles que des aliments ou un métabolisme endogène (exemple : formaldéhyde).

-Des exceptions au cas par cas à l'utilisation de la dose acceptable appropriée peuvent être justifiées dans les cas de maladie grave, d'espérance de vie réduite, de maladie apparue tardivement mais chronique, ou de maladie pour laquelle les solutions thérapeutiques sont limitées. Des composés appartenant à certaines classes structurelles de substances mutagènes peuvent présenter un potentiel cancérigène extrêmement élevé (cohorte

préoccupante), à savoir les composés semblables aux aflatoxines, les composés N-nitrosés et les composés alkylés azoxyques. Si ces composés sont détectés sous forme d'impuretés dans les produits pharmaceutiques, les doses acceptables pour ces substances cancérigènes très puissantes seront probablement beaucoup plus faibles que les doses acceptables définies dans la présente directive. Bien que les principes énoncés ici puissent être utilisés, une approche au cas par cas fondée, par exemple, sur des données de cancérigénicité portant sur des structures étroitement liées doit habituellement être élaborée afin de justifier les doses acceptables pour les produits pharmaceutiques commercialisés ou en cours de développement[50].



**PARTIE
EXPERIMENTALE**

I. Présentation de l'étude

Depuis des années, Il y -a -eu plus de préoccupations concernant la sécurité des colorants utilisés dans les aliments et même les dans médicaments. Et la question de savoir si les colorants naturels pourraient remplacer les colorants synthétiques a été demandée. Mais le manque des études sérieuses a empêché de répondre aux questions et donner plus d'éclaircissements. Notre travail n'a pour but que celui d'informer et sensibiliser sur les effets secondaires possibles que pourraient avoir les colorants pharmaceutiques sur la santé. L'étude in silico de la toxicité des colorants utilisés en industrie pharmaceutique est l'objet de notre thèse de fin d'étude. (On s'intéresse surtout par la génotoxicité).

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. MATÉRIELS

1.1. Présentation de logiciel QSAR

QSAR est une alternative qui peut être utilisée pour économiser les ressources et pour accélérer l'évaluation des risques. Il est d'une utilité pratique pour la collecte de la preuve et la législation sur les produits chimiques.

L'interface de la boîte à outils QSAR de l'OCDE est conçue pour suivre le flux de travail typique pour prédire le(s) point (s) d'extrémité pour un produit chimique donné. Il représente les six étapes principales du flux de travail (entrée, profilage, point final, définition de la catégorie, remplissage des temps de données et rapports) sur une barre d'outils **(1)** située sur la partie supérieure de la fenêtre du programme **(figure 11)**. Au-dessous de la barre d'outils des étapes, il existe une autre barre d'outils: la barre d'outils des actions **(2)**. Il fournit les actions les plus importantes, qui sont liées à l'étape actuelle. Sur la partie gauche de la fenêtre principale se trouve le panneau des options de scène **(3)**. Il fournit un contenu spécifique pour l'étape actuelle et les actions liées à ce contenu. La plus grande partie de la forme principale est occupée par la matrice de données **(4)**. Il montre les données demandées, à la fois expérimentales et prévues pour les produits chimiques chargés dans le système.

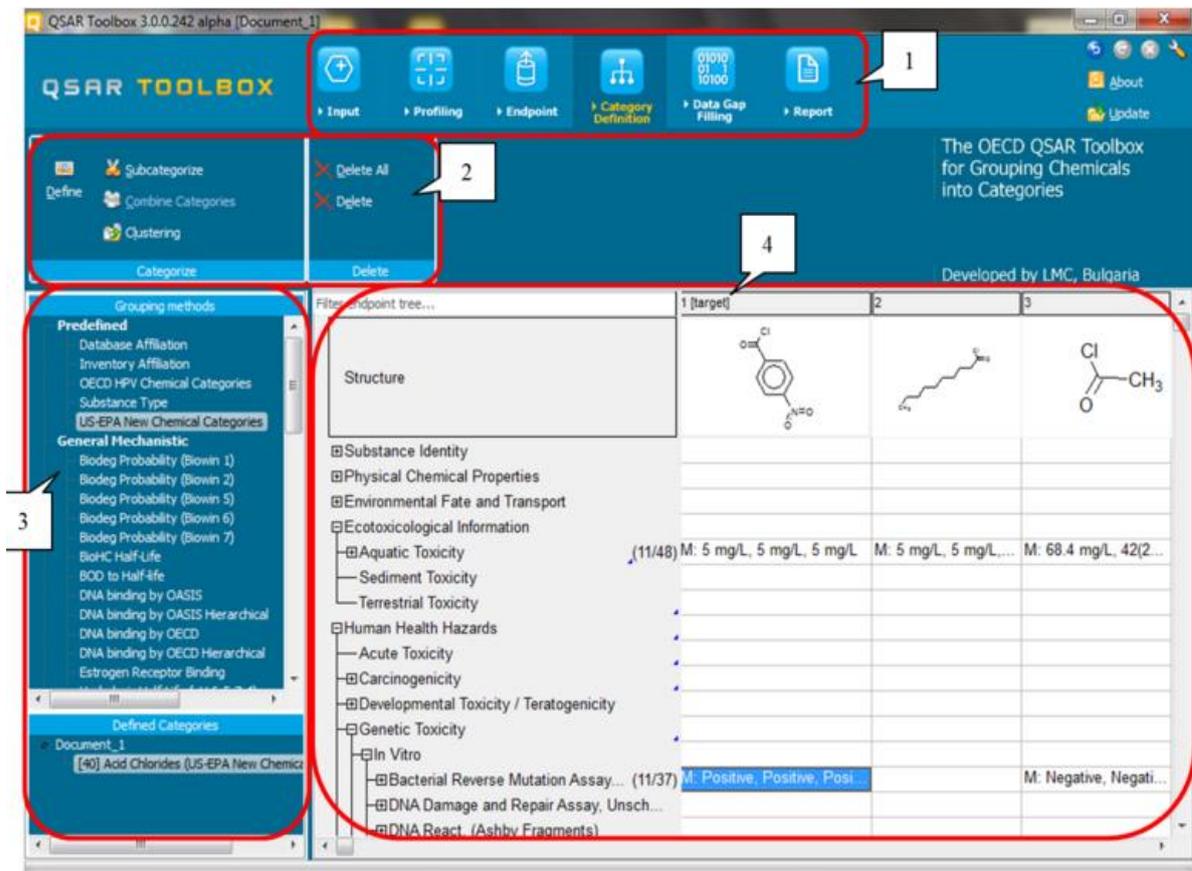


Figure 11 : L'interface de la boîte à outils QSAR de l'OCDE

1.2. Les laboratoires producteurs

On a choisi 08 laboratoires producteurs et importateurs des médicaments de plus grande rotation sur le marché Algérien : Mérinal, Sanofi, Bayer, Pfizer, Sidal, El Kendi, Biopharm, Beker, à la recherche des médicaments colorés.

1.3. Les produits pharmaceutiques colorés commercialisés en Algérie

Ils sont au nombre de 816 produits appartenant aux 08 laboratoires divisés comme suit : des produits ne contiennent pas de colorants, des produits contiennent des colorants non autorisés, des produits qui ont été retirés du marché, des produits qui ne sont plus disponibles (ne sont plus commercialisés en Algérie mais disponibles à l'étranger), et des produits disponibles qui contiennent les colorants autorisés. Ces derniers sont au nombre de 134 produits équivalents à 16,42%, comme l'a montré la figure 12.

Tableau 03: Le nombre de produits colorés et non colorés dans les 08 laboratoires

Les produits colorés	Les produits non colorés
134	682

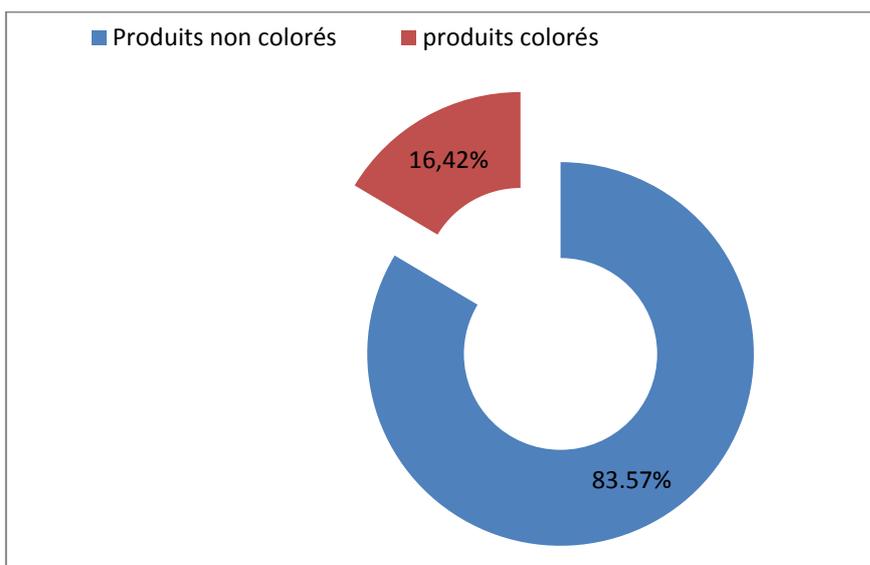


Figure 12 : Pourcentage des produits colorés et non colorés dans les 8 laboratoires

Et Avec la répartition suivante :Mérinal 11 produits sur 53, Sanofi 22 produits sur 132, Bayer 9 produits sur 33, Pfizer 15 produits sur 24, Sidal 19 sur 300, El Kendi 17 sur 181, Biopharm 20 sur 93,Beker 21sur 128, La figure **13** montre cette répartition .

Tableau 04 :Répartition des produits colorés dans chaque laboratoire

Laboratoire	Les produits totaux	Les produits colorés
MERINAL	53	11
SANOFI	132	22
PFIZER	24	15
SAIDAL	300	19
EL KENDI	181	17
BIOPHARM	93	20
BEKER	128	21

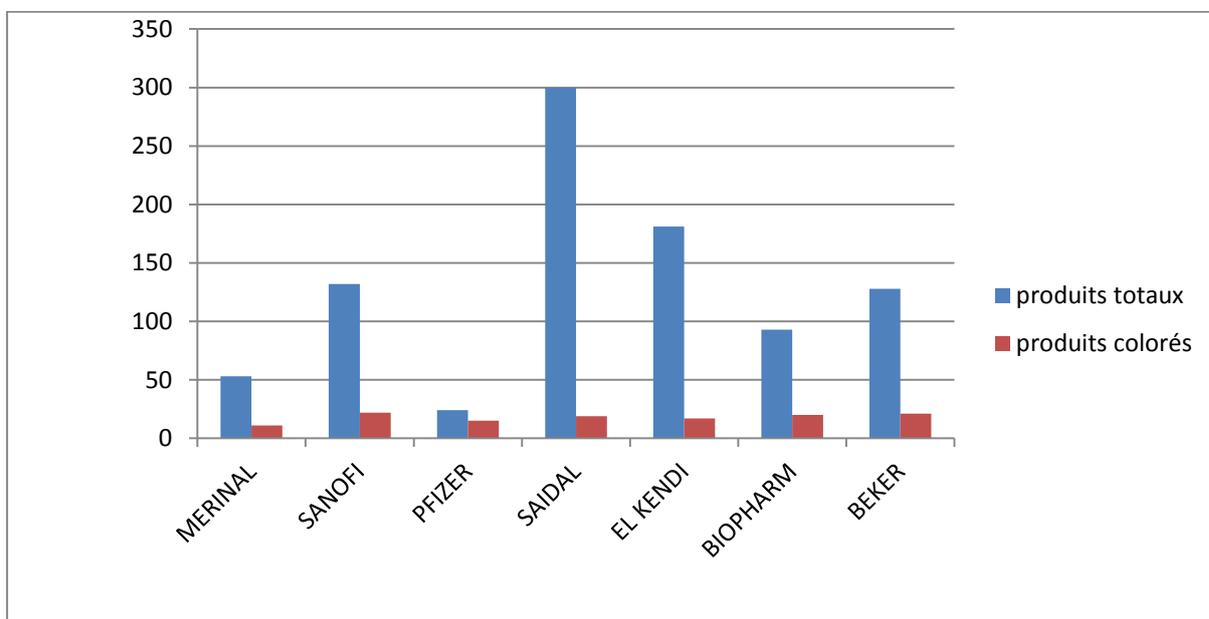


Figure 13 : Répartition des produits colorés dans chaque laboratoire

Les produits pharmaceutiques colorés obtenus sont représentés dans les tableaux ci-après :

Tableau 05 : Les produits de laboratoire MERINAL

Produit	DCI	Classe pharmacothérapeutique	Le Colorant
AMIKOZ	Fluconazole	Antifongique	E171,E104, E132
RIFEX180	Féxofenadine	Antiallergique	E 110,E171
XYDOL GYN	Flurbiprofène	Anti-inflammatoire	E132,E171
XYDOL RHUME	Ibuprofene+pseudoe phedrine	Etat grippal	E132,E172
DOLEX	Tramadol	Analgésique central	E127 ,E171, E172,E132
KOLESTINE 20 et 40mg	Simvastatine	Hypolipémiant	E104
VASKOL	Atorvastatine	Hypolipémiant	E170 ,E104,E172
SEBUTOL	Acébutolol	Antihypertenseur	E171
ZIMOR	Oméprazol	Antiacide	E104 ,E171
FERRO-SANOL GYN	Sulfate ferreux	Antianémique	E172, E171
DYSENTYL	Nifuroxazide	Anti-diarrhéique	E172, E171

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoire MERINAL**

E171(dioxyde de titane) ,E172(oxyde de fer jaune), E104 (jaunequinoleine),

E132(carmin d'indigo) ,E127 (erythrosine),E 110(Jaune orangé).

Tableau 06: Les produits de laboratoire SANOFI

Produits	DCI	Classe pharmacothérapeutique	Colorant
AMAREL	Glémipiride	Antidiabétique orale	1mg :E172,E132 2mg : E172 E132 3mg :172 . 4mg :E132 6mg :E110
ACTONEL 5 et 30 mg	Risédrone monosodique	Bisphosphonates	E171,E172
ARAVA 100 et 20 mg	Léflunomide	Immuno supprimeurs sélectifs	E171
ALDOMET	Methyl-dopa	Anti hypertenseur	E172,E104
PLAVIX	Clopidogrel	Antiagrégant plaquettaire	E171,E172
COAPROVEL 300-12.5et 300-25	Irbésartan/ hydrochlorothiazide	Anti-hypertenseur	E171,E172
MONOTILDIEM 300	Diltiazem	Anti-hypertenseur	E171,E172
TRIA TEC	Ramipril	Anti-hypertenseur	E172
TRITAZIDE	Ramipril/hydrochlorothiazide	Antihypertenseur	E172
URSOLVAN	Acide urodésoxycholique	Acide biliaire	E132,E171
XATRAL	Alfuzosine	alpha bloquant	E171
MAXILASE	Alpha –amylase	Anti-inflammatoire	E110
BIRODOGYL	Spiramycine	Antibiotique	E 171
CLOMID	Clomifène	Inducteur de l'ovulation	E 172
DEPAKINE 200 mg	Valproate de sodium	Antiépileptique	E171

DOLIPRAN	Paracétamol	Antalgique	E171,E104,E172,E131
OROKEN cp	Céfixime	Antibiotique	E171
OROKEN sirop enf	Céfixime	Antibiotique	E 124
PYOSTACINE	Pristinamycine	Antibiotique	E171
STILNOX	Zolpidem	Sédatif	E171
DITROPAN	Oxybutynine	Urologie	E132
TELFAS120-180	Féxofinadine	Antiallergique	E171, E172

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoires SANOFI**

E104 (jaune de quinoléine), E172 (oxyde de fer), E131 (bleu patenté V), E110 (jaune orangé)
E 124 (Rouge de cochenille A), E132(indigotine), E171(dioxyde de titane), E172 (oxyde de fer).

Tableau 07 : Les produits de laboratoire BAYER

Produit	DCI	Classe pharmacothérapeutique	Le Colorant
DIANE 35	Acétate de cyprotérone/éthynylestradiol	Contraception	E170 ,E171,E172
CLIMENE	Acétate de cyprotérone	Traitement hormonal substitutif(TSH)	E170, E172 ,E171
PROGYNOVA	Valérianate d'estradiol	Traitement hormonal substitutif(TSH)	E170, E 171 ,E132
MELIANE	Ethinyl estradiol/gestodene	Contraception	E170
MICROGYNON	Lévonorgestrel /Ethinylestradiol	Contraception	E171 ,E172
Jasmine	Drospirénone/Ethinyl estradiol	Contraception	E172 E171
Xalerto	Rivaroxaban	Anticoagulant orale	E171 E172

Vitamine B1B6	Vit B1B6	Neurologie	E171
Uniflox	Ciprofloxacine	Antibiotique	E171

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoire BAYER**

E171(dioxyde de titane) ,E172(oxyde de fer) ,E170(carbonate de calcium),E132(carmin d'indigo).

Tableau 08:Les produits de laboratoire PFIZER

Produit	DCI	Classe pharmacothérapeutique	Le Colorant
VIAGRA	Séldénafil	Vasodilatateur périphérique	E171E132
RELPAK	Elétriptan	Neurologie/psychiatrie	E171,E110
CELEBREX	Celecoxib	Anti-inflammatoire	E171,E172
AMLOR	Amlodipine	Antihypertenseur	E104, E172,E171
TAHOR	Atorvastatine	Hypolipémiant	E170,E171
LYRICA	Prégabaline	Antidouleur à action central	E171,E172
AQUILIX	Quinapril/hydrochlorothiazide	Antihypertenseur	E 172,E171
CARDULAR	Doxazosine	Urologie	E172,E171
DEBRIDAT	Trimébutine	Antispasmodique	E110
FELDENE	Piroxicam	Anti-inflammatoire	E171
FLUCONAZOLE	Fluconazole	Antifongique	E127,E132 ,E172
LYSANXIA	Prazépam	Anxiolytique	E132
AROMAZINE	Exemestane	Cancérologie et hématologie	E171,E172
ZOLOFT	Sertraline	Antibiotique	E171
ZITHROMAX	Azithromycine	Antibiotique	E171

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoire PFIZER**

E171(Dioxyde de titane), E110(Jaune orangé S),E172 (Oxyde de fer) ,E104(Jaune de quinoléine),E132(Indigotine) , E127(Erythrosine) ,E170(Carbonate de calcium).

Tableau 09 : Les produits de laboratoire SAIDAL

Le nom commercial	DCI	Classe pharmacothérapeutique	Le colorant
Alcool dénaturé	Ethanol	désinfectants externes	E 102
Mycotine	Nystatine	Antifongique polyénique	E 102, E 127
Rhumafed	Tripolidine Pseudoéphédrine Paracétamol	Décongestionnants ORL	E 104
STOCALM	Levomenthol	Antiseptique local.	E 104
ACIDRINE	Myrtécaïne	pansements gastro-intestinaux	E 110, E170
ENCOFLUIDE	Guaiéfénésine	Antitussifs.	E 110 ,E131
EUPNEX	Oxéladine	Antitussifs.	E 110
OXALINE	OXACILLINE	ATB	E 127
TIMONAL	TIMONAL	Antispasmodiques	E 120
PENTUSSYL	Pentoxyvérine	Antitussifs.	E 122
Paralgan sirop	Paracetamol	antalgiques	E127E150
PARALVIC	Dextropropoxyphène chlorhydrate, Paracétamol	Antalgiques morphiniques mineurs	E 132 ,E171 E172
AMPILINE	Ampicilline	ATB	E 150
DENORAL sirop cp	Clocizine, Pholcodine, Buzévide	Antitussifs opiacés.	E 150
FRUBIAL	Ergocalciférol, Calcium gluconate.	Vitamines	E 150
CARDITAL	Acébutolol	Bêta- bloquants.	E171

DIAGUANID	Metformine	Antidiabétiques oraux	E171
TYFODINE	Thiamphénicol	Antibiotiques phénicolés	E171
VALZEPAM	Diazépam	Anxiolytiques	E132 ,E102

Les colorants utilisés par laboratoire SAIDAL sont

Dioxyde de titane (E171), Jaune orange S (E110), Oxyde de fer (E172) ,Caramel (E150) , cochenille A(E120) ,Jaune de quinoléine(E104), Indigotine(E132) , Erythrosine (E127),bleu patenté V (E131) ,Tartrazine (E102), Carbonate de calcium (E170), azorubine (E122).

Tableau 10: Les produits de laboratoire BIOPHARM

PRODUITS	DCI	Class pharmacothérapeutique	LE COLORANT
Biofenac	Diclofenac	AINS et antalgique	E171 ,E110
Athymil	Chlorydrat de mlanserine		E171
Fucidine	Fucidate de Na	Antibiotique	E171
Fludex	Indapamide	Antihypertenseur	E171
Keforal	Cefalexine	Cephalosporine	E171 , E172
Lomac	Omeprazole	Antiulcéreux antiH2	E171
Nozinan	Levomépromazine	Neuroleptique	E150
Casodex	Bicalutamide	antiandrogène	E171
Rynza	Paracetamol±	Rhinologie	E110
Surmontil	Trimipramine	Antidépresseur	E150
Zecuf	Base de plante	Antitussif	E140 ,E124, E104
Véliton	Acide ascor	Veinotonique	E171
Daflon	Flavonoïque	Veinotonique	E171 ,E172
Ginko fort	Ginko biloba	Circulation veineuse	E172 ,E132,E172
Piascledine	Avocat – soja	Arthrose	E171 ,E172
Josacine	Josamycine	ATB	E171
Climaston	Estradiol/dydrogesteronr	Traitement hormonal	E171 ,E172
Praxilène	Naftidrofuryl	Vasodilatateur périphérique	E171 ,E127
Neocodion	Camphosulfonate de codeine	Antitissuf	E171 ,E110, E131
Titanoreine supp	Carraghenate	Cicatrisant	E171

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoire de BIOPHARM**

Dioxyde de titane (E171), Jaune orange S (E110), Oxyde de fer (E172) ,Caramel (E150) , chlorophylles (E140), cochenille A(E120) ,Jaune de quinoléine(E104), Indigotine(E132) , Erythrosine (E127),bleu patenté V (E131).

Tableau 11 : Les produits de laboratoire El KENDI

Produits	DCI	Class pharmacothérapeutique	Le colorant
Airditine	Desloratidine	Antihistaminique	E131 ,E104
Biorotens	Bisoprolol	B bloquant	E172
Dilacard	Carvédilol	B bloquant	E172
Divido	Diclofenac de NA	AINS	E132, E171
Exval	Amlodipine/Valsartan	Antihypertenseur	E171
Fexodine	Fexofénadine	Antihistaminique	E171 ,E172
Kenprazol	Esomeprazole	Antiulcéreux	E172
Mentex	Diphenhydraminepseudophedrine	Anticoryza	E150
Mentelair	Montélukast	Bronchodilatateur	E172
Prasivast	Pravastatine	Hypolipémie	E171 ,E170
Prof	Ibuprofène	AINS	E171
Prostax	Chlorydrate alfuzosine	Adenome prostatique	E172
Quinox	Ciprofloxacine	Quinolone	E171
Rapidus	Diclofenac de k	AINS	E171 ,E172
Rupafin	Rupatadine	Antihistaminique	E172
Sarteg /cosarteg	Valsartan	Antihypertenseur	E172
Taloprex	Escitalopram	Antidépresseur	E171

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoire El Kendi sont :**

Oxyde de fer (E172), Indigotine (carmin d'indigo), (E132),dioxyde de titane (E171)

Caramel (E150), Carbonate de calcium (E170).

Tableau 12 : Les produits de laboratoire BEKER

Produits	DCI	Class pharmacothérapeutique	Le colorant
Bektal	Losartan	Antihypertenseur	E171
Donepezil	Donépezil	Mdied'alzheimer	E171, E104, E172
Freegas	Siméticone	Protecteur intestinaux	E170
Glimépirid beker	Glimépiride	Antidiabétique oraux	2mg : E110, E133 3mg: E172 4mg: E133
Ibuprofene	Ibuprofène	AINS	E171,E172
Lercanidipine	Lercanidipine	Antihypertenseur	E172
Loratadine	Loratadine	Antihistaminique	E172
Metronidazol	Metronidazol	Nitro 5 imidazol	E122, E131, E171 ,172
Montelukast	Montelukast	Bronchodilatateur	E171, E172
Mycozangle	Fluconazol	Antimycotique	E171, E127, E132
Naftilenege	Naftidrofuryl	Vasodilatateur	E122 , E171
Olanza	Olanzapine	Neuroleptique	E171
Osporix	Alendronate monosodique	Ostéoporose	E124, E171 , E172, E110
Ostonel	Riséronate monosodique	Antirhumatismaux	E124, E172, E171 , E110
Paroxetine	Paroxetine	Antidepresseur	E102
Pinatel	Bromure du pinavérium	Gastroenterology	E172 E171 E104
Pregabaline	Pregabaline	Antiepileptique	E171 E122 E172
Setreme	Ondansétron	Motrice digestif	E171 E104
Socob	Simvastatine	Hypolipidémiant	E171 E172 E110 E124
Sofosled	Sofosbuvir	Antiviral	E171 E172 E110 E124
Tadalafil	Tadalafil	Inducteur d'ecretion	E172 E171 E110

➤ **Les colorants utilisés par le laboratoire Beker**

Dioxyde de titane (E171),Jaune de quinoléine(E104), oxyde de fer (E172) , Carbonate de calcium (E170) , Azorubine(E122) ,bleu patenté V(E131),bleu brillant (E133),Erythrosine (E127), Indigotine (carmin d'indigo) (E132) , Rouge cochenille A (E124), Jaune orange(E110) ,Tartrazine(E102).

1.4. Liste des colorants utilisés

Ils sont au nombre de 16 colorants équivalant à 50% des colorants autorisés selon l'union européenne :



Figure14 : Gamme de colorants pharmaceutiques

- Curcumine(E100)
- Tartrazine(E102)
- Jaune de quinoléine(E104),
- Jaune orangé(E110)
- L'acide carminique (Cochenille E120)
- Azorubine(E122)
- Rouge cochenille A/ Ponceau 4R(E124)
- Erythrosine (E127)
- Bleu patenté V(E131)
- bleu brillant(E133)
- Indigotine (carmin d'indigo) (E132)
- Chlorophylle (E140)
- Caramel (E150)
- Carbonate de calcium (E170)
- Dioxyde de titane (E171)
- Oxyde de fer (E172)

2. MÉTHODES

2.1. Explication des étapes de l'utilisation de logiciel QSAR

Les substances chimiques sont identifiées dans la boîte à outils d'application QSAR de l'OCDE, via leur connectivité atomique, généralement déterminée aussi comme leur structure bidimensionnelle (2D).

La connectivité pourrait être codée à partir d'identificateurs différents. Le produit chimique puisse être entré dans le système par son nom, le numéro de registre CAS, en dessinant sa structure 2D, etc., le système identifiera la connectivité atomique correspondante et la plupart des activités suivantes, y compris la recherche d'analogues, la prédiction de l'activité, etc... sera basé sur cette connectivité.

Pour entrer un produit chimique par son numéro CAS (Chemical Abstract Service), l'utilisateur peut simplement appuyer sur le bouton CAS # (1), entrer le numéro CAS du produit chimique sans traits d'union (2), appuyer sur le bouton Rechercher (3), et une fois qu'il est correct, la structure apparaît, appuyez sur le bouton OK (4). (Figure15).

Dans le cas où une structure comporte plusieurs numéros CAS ou une structure pourrait être liée à plus d'une substance (par exemple dans le cas de composés), plus d'une identité chimique pourrait être récupérée. Dans ce cas, l'utilisateur peut décider quelle substance doit être retenue pour le flux de travail ultérieur.

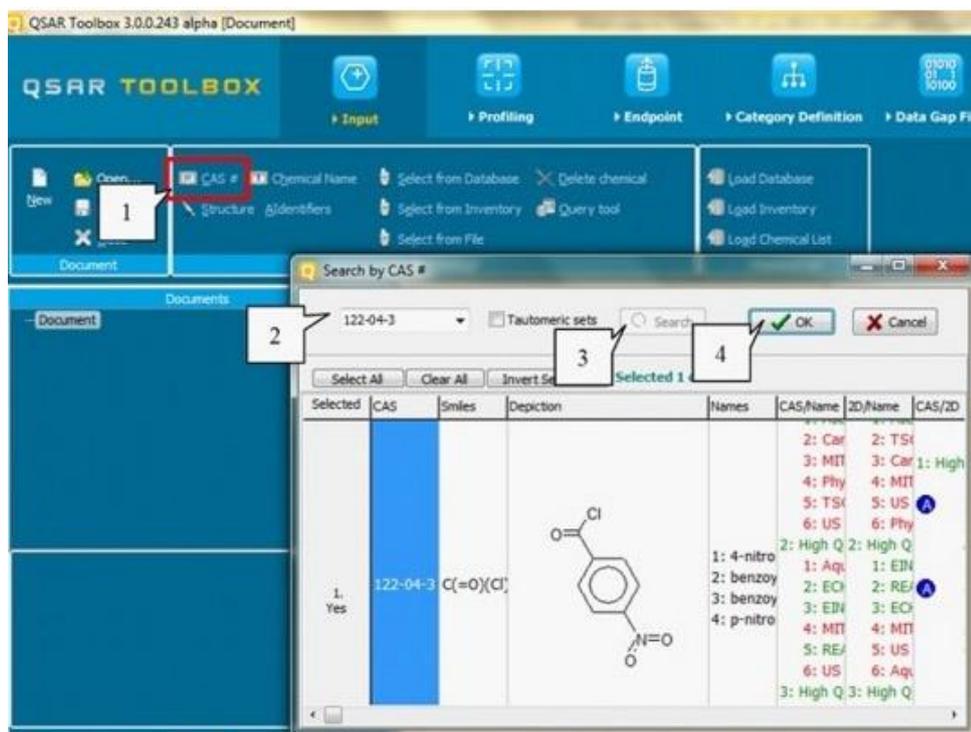


Figure15 : Les étapes de l'utilisation de logiciel QSAR

Le produit chimique sélectionné est ensuite ajouté à la matrice de données et l'utilisateur peut passer à l'étape suivante du flux de travail. Avec le module «Profiling», l'utilisateur peut récupérer des informations en fonction de l'identité du produit chimique ou de sa structure. La Boîte à outils contient actuellement une grande liste de méthodes de profilage qui identifient l'affiliation dans des catégories définies précédemment. Pour la plupart des profileurs, des explications détaillées sont disponibles. Les alertes de toxicités sont ensuite signalées en rouge.

The screenshot displays the QSAR Toolbox 3.3.0.132 interface. The top navigation bar includes 'Input', 'Profiling', 'Endpoint', and 'Category Definition'. The 'Profiling' tab is active, showing a toolbar with 'Apply', 'New', 'View', and 'Delete' buttons. The main workspace is divided into several sections:

- Profiling methods:** Includes 'Predefined' (Database Affiliation, Inventory Affiliation, OECD HPV Chemical Categories, Substance Type, US-EPA New Chemical Categories) and 'General Mechanistic' (Biodeg BioHC half-life, Biodeg primary, Biodeg probability, Biodeg ultimate, DNA binding, DPRAs).
- Metabolism/Transformations:** Includes 'Documented' (Observed Mammalian, Microbial, Rat In vivo, Rat Liver S9) and 'Simulated' methods.
- Filter endpoint tree...:** A tree view showing endpoints like 'Protein binding by OASIS v1.3', 'Protein binding by OECD', 'Toxic hazard classification by Cramer', and 'Aquatic toxicity classification by ECOSAR'.
- 1 [target]:** Displays a chemical structure and a list of toxicity alerts in red text, including 'Acylation', 'High (Class III)', 'Reactive unspecified', 'Acid moiety', 'Amides', 'Phenol Amines', 'Phenols', 'Salt', and 'Amide [-C(=O)-N ...]'. A chemical structure is also shown in the top right of this panel.

Figure 16 : Les alertes de toxicité signalées par QSAR

RESULTATS ET DISCUSSION

1. RÉSULTATS

1.1. Les fiches techniques des colorants extraites à partir de logiciel QSAR

✓ CURCUMINE E100

C'est le pigment principal jaune –orangé obtenue par extraction a partir de la plante curcuma essentiellement composé du curcumines : bis-(hydroxy-4-méthoxy-3-phényl)-1,7-heptadiène-1,6-dione-3,5]. Ne doit pas être confondue avec la curcumine naturelle connue pour ses effets bénéfiques) [58].



Figure 17 :Le colorant curcumine obtenu par extraction à partir de la plante curcuma

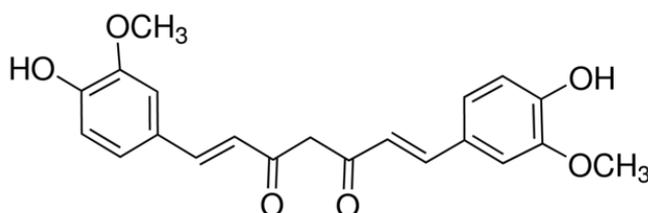


Figure 18: Structure moléculaire en deux dimensions de curcumine

Numéro CAS : 458-37-7

Formule moléculaire brute : C₂₁H₂₀O₆

DJA : 0-3mg/kg de masse corporelle par jour selon

Classification de Cramer : Classe III

Réglementation : dans l'U.E. comme aux Etats-Unis, exclu de la filière d'alimentation biologique, mais autorisée dans les cosmétiques et les pharmaceutiques

Liaison a l'ADN par l'OCDE et par OASIS : Liaison de Michael

Liaison aux protéines par OASIS et par l'OCDE: Liaison de Michael

Numéro cas: 83-88-5

Formule moléculaire brute : CH₁₇H₂₀N₄O₆

DJA : 0 - 0,5 mg/kg de masse corporelle / jour

Réglementation : autorisé dans l'union européenne pour l'industrie pharmaceutique et l'industrie alimentaire [92]

Classification de Cramer: Class I

Liaison aux protéines par OASIS et OCDE: Acylation

Test de mutagénicité in vivo : positif par interaction avec l'ADN de type H-acceptor-path3-H-acceptor.

Classification primaire oncologique: type amine aromatique

✓ **TARTRAZINE (E102)**



Figure 21 : Le liquide jaune : la tartrazine,

Il s'agit d'un colorant jaune de synthèse : sel trisodique d'hydroxy-5-(sulfo-4-phényl)-1-(sulfo-4-phénylazo)-4-H-pyrazole-carboxylate-3

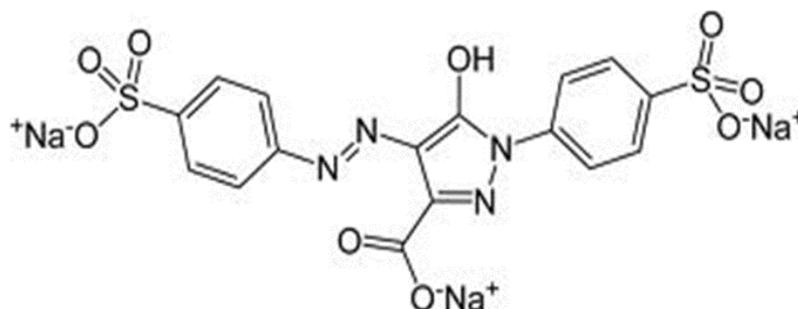


Figure 22 : Structure moléculaire en deux dimensions de Tartrazine

Formule moléculaire brute : $C_{16}HgN_4Na_3O_9S_2$

Numéro CAS : 1934-21-0

DJA : 7,5 mg/ kg de poids corporel

Réglementation : autorisé dans UE, mais exclus de la filière d'alimentation biologique et interdite dans divers pays européens (Australie)[108]

La classification de cramer : class III

Liaison à l'ADN par OECD : liaison de Michael, acylation

Classification primaire oncologique: de type Diazo aromatique, Hydrazines

Test de mutagenicité in vivo par ISS : positif par interaction avec l'ADN de type Hacceptor-path3-Hacceptor

✓ **JAUNE DE QUINOLEINE E104**

Colorant synthétique, obtenu par sulfonation de (quinolyl-2)-2-indane-dione-1,3.



Figure 23 : Jaune de quinoléine en poudre

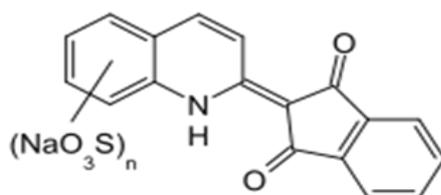


Figure 24: Structure moléculaire en deux dimensions de jaune de quinoléine

Formule moléculaire brute : $C_{18}H_9NNa_2O_8S_2$

Numéro cas : 8004-92-0

DJA: 0 - 10 mg/kg de masse corporelle / jour.

Réglementation : autorisé dans l'UE pour l'industrie pharmaceutique mais exclus de la filière d'alimentation biologique[100]

Classification de Cramer : Class I

Liaison à l'ADN par OASIS : liaison de Michael

Liaison aux protéines par OASIS : Acylation

Test de mutagénicité in vivo par ISS: test de micronoyau positif par Hacceptor-path3-Hacceptor

✓ **JAUNE ORANGE S (E110)**

C'est un colorant azoïque obtenu par synthèse chimique. Il s'agit du sel disodique de l'acide Hydroxy-2-(sulfo-4-phénylazo)-1-naphtalènesulfonique-6



Figure 25: Jaune orangé S en poudre

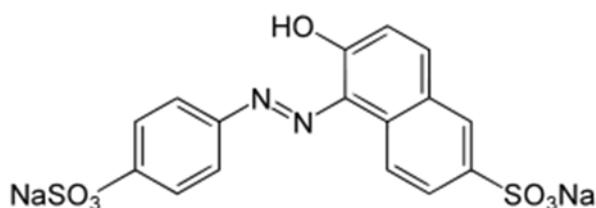


Figure 26 : Structure moléculaire en deux dimensions de jaune orangé

Formule moléculaire brute : $C_{16}H_{10}N_2O_7S_2 \cdot 2Na$

Numéro cas: 2783-94-0

DJA : 4mg/kg de masse corporelle/jour [104]

Classification de Cramer : Class III

Liaison à l'ADN par OECD : formation d'adduits avec l'ADN via l'ion nitrenium

Liaison aux récepteurs d'œstrogène : Forte liaison OH

Test de mutagenicité in vivo par ISS : positif de type Hacceptor-path3-Hacceptor .

Classification primaire Oncologique: composé de type arylazo et de type phénol

Réglementation : autorisé dans l'union européenne pour les produits pharmaceutiques mais exclu de la filière d'alimentation biologique.

✓ **COCHENILLE E120 (acide carminique)**

Obtenu à partir d'extraits aqueux, alcool-aqueux ou alcooliques de cochenille, qui est constituée de carapaces séchées de l'insecte femelle Dactylopius coccus Costa.



Figure 27 : Insecte Dactylopius coccus Costa

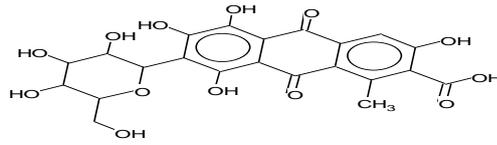


Figure 28: Structure moléculaire en deux dimensions de l'Acide carminique (COCHNILLE)

Formule moléculaire brute : C₂₂H₂₀O₁₃

Numéro cas: 1260-17-9

DJA : non limité

Réglementation : autorisé dans l'UE[19]

La classification de Cramer : Class III .

Catégories chimiques selon L'OCDE : Phénol, 4-méthyl.

Liaison a L'ADN par OASIS : liaison de Michael.

Liaison aux récepteurs à l'œstrogène : liant très fort.

Test de mutagénicité in vitro par ISS: positif par similitude structurelle aux quinones.

Test de mutagénicité in vivo par ISS : positif :Hacceptor-path3-Hacceptor ,Quinones.

Alerte de cancérogénicité par ISS:Quinones .

✓ **AZORUBINE (carmoisine) E122**

C'est un colorant pétrochimique .Il s'agit de sel disodique de l'acide hydroxy-4-(sulfo-4-naphtylazo-1)-3-naphtalène sulfonique-1



Figure 29 : Le colorant azurobine en poudre.

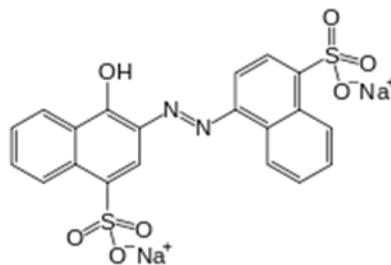


Figure 30: Structure moléculaire en deux dimensions de l'Azorubine

Formule moléculaire brute : $C_{33}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$

Numéro cas : 3567-69-9

DJA: 0- 4 mg/kg de masse corporelle / jour.

Réglementation : autorisé dan l'union européenne, mais exclu de la filière d'alimentation biologique[92]

Classification de Cramer : Class III

Liaison à l'ADN par l'OECD : l'acylation, Addition de Michael

Test de mutagenicité in vivo ISS (test de micronoyau) : positif :Hacceptor-path3-Hacceptor

Classification primaire oncologique: Composés de Type Arylazo,phénol .

Réglementation : autorisé dan l'union européenne, mais exclu de la filière d'alimentation biologique

✓ **ROUGE DE COCHENILLE E 124 (rouge ponceau)**

C'est un colorant artificiel pétrochimique de couleur rouge brillant, de la famille des colorants azoïques.



Figure31 :Rouge de cochenille en poudre

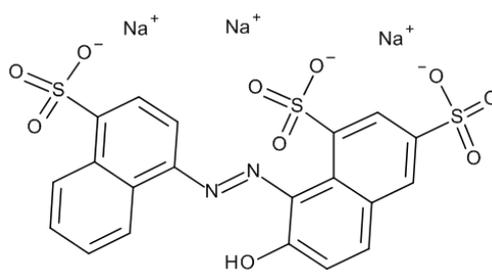


Figure 32: Structure moléculaire en deux dimensions de rouge de cochenille.

Numéro cas : 26-11-82-7

Formule moléculaire brute : C₂₀H₁₁N₂Na₃O₁₀S₃

DJA : 0 - 4 mg./kg. de masse corporelle / jour

Réglementation : Il est interdit aux États-Unis (car suspecté d'être génotoxique) et en Norvège et Finlande mais autorisé au Canada, Japon et l'union européenne [100]

Classification de cramer : classe III

Liaison aux protéines par OASIS et OECD : liaison de Michaël

Test de mutagénicité in vitro par ISS: positif par similitude structurelle à l'hydrazine.

Test de mutagénicité in vivo par ISS: type H-acceptor-path3-H-acceptor, Hydrazine

Liaison aux protéines pour la sensibilisation cutanée par OASIS : Liaison de Michael

Irritation de la peau / corrosion Règles d'inclusion par BfR : Hydrazines, sels d'hydrazonium ,Cétones

✓ **ERYTHROSINE E127**

C'est un colorant synthétique rouge à base d'iode, qui se présente sous forme de sel di sodique de l'acide 2,4,5,7- tétraiodofluoresceine.



Figure 33 : Erythrosine en poudre.

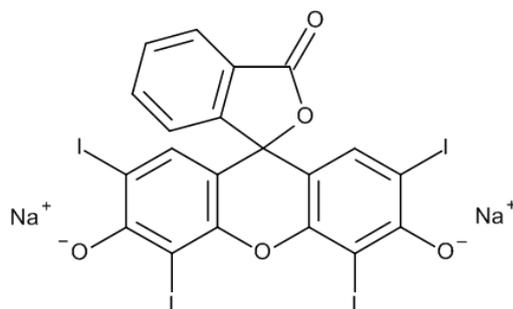


Figure 34 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'érythrosine

Numéro cas : 164-23-68-0

Formule moléculaire brute : C₂₀H₆I₄Na₂O₅H₂O

DJA : 0-0.1mg/kg de masse corporelle/jour

Réglementation : autorisé dans : l'union européenne, états unis, Canada et japon[104]

Liaison aux protéines par OECD: Acylation

Classification de Cramer : Class III

Test de mutagénicité in vivo (Micronucleus) par ISS: phenoxy-benzene, H-acceptor-path3-H-acceptor

Classification primaire oncologique : Composés hydrocarbonés aromatiques halogénés

✓ **BLEU PATENTEE E131**

Il s'agit du sel interne d'hydroxyde de composé calcique ou sodique d' [(α -(diéthylamino-4-phényl)-hydroxy-5-disulfo-2,4-phénylméthylidène)-4-cyclohexadiène-2,5-ylidène-1]-diéthylammonium.



Figure 35 : Bleu patenté en poudre.

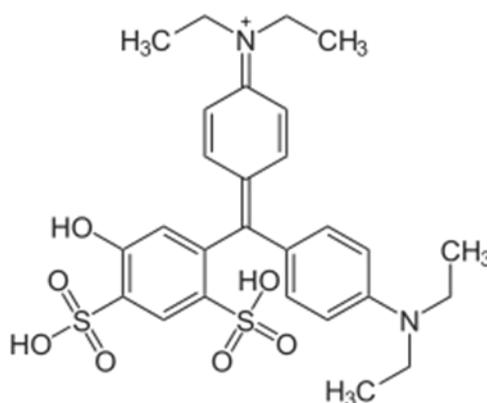


Figure 36 : Structure moléculaire en deux dimensions de bleu patenté

Numéro cas : 20262-76-4

Formule moléculaire brute : $C_{27}H_{31}N_2NaO_7S_2$

DJA:Non limitée ou non spécifiée.

Réglementation :interdit ou non listé dans plusieurs pays, comme les Etats-Unis, l'Australie et le Canada il a été interdit en Norvège jusqu'en 2001, date de son entrée dans l'U.E[19]

Classification de Cramer : Class I

Liaison à l'ADN par l'OECD:L'acylation, Addition de Michael

Test de mutagénicité in vivo par ISS : test de micronoyau positif

Interaction avec l'ADN : de type Hacceptor-path3-Hacceptor

Classification primaire oncologique: Composé de typeAmine aromatique , Composé de type phénol

✓ INDIGOTINE E 132

Colorant artificiel pétrochimique bleu, essentiellement constitué d'un mélange de sels disodiques des acides dioxo- 3,3'- bi-indolylidène- 2,2'- disulfonique- 5,5' et dioxo- 3,3'- bi-indolylidène- 2,2'- disulfonique-5,7' .



Figure 37 :Indigotine E132 en poudre

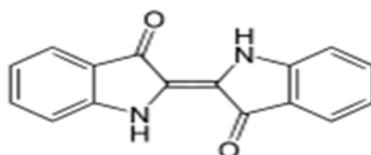


Figure 38 : Structure moléculaire en deux dimensions de l'Indigotine

Formule moléculaire chimique : $C_{16}H_{10}N_2O_2$

Numéro cas : 482-89-3

DJA: 0-5 mg/kg de masse corporelle / jour.

Réglementation : dans l'Union Européenne comme aux Etats-Unis, exclu de la filière d'alimentation biologique, mais très largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique[58]

La classification de Cramer : Class III

La mutagénicité in vivo par ISS : test de micronoyau positif

Interaction avec l'ADN : Hacceptor-path3-Hacceptor

Classification primaire oncologique: Composés de type amine aromatiques

Sensibilisation respiratoire: réaction avec des protéines dans le poumon par un mécanisme direct d'addition Michael.

✓ **Bleu brillant E133**

Le bleu brillant FCF est un colorant synthétique essentiellement constitué de sel disodique de l'acide α -[(N-éthyl-sulfo-3-benzylamino)-4-phényl]- α -(N-éthyl-sulfo-3-benzylamino-4)-cyclohexadiène-2,5-ylidène)toluène sulfonique-2.



Figure 39 : Bleu brillant en poudre

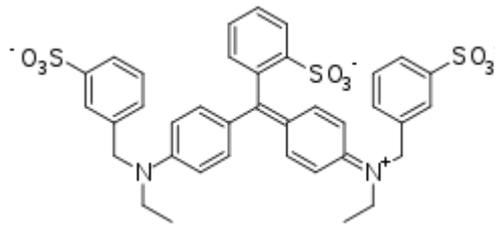


Figure 40 : Structure moléculaire en deux dimensions de bleu brillant

Formule moléculaire brute: $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$

Numéro CAS : 3844-45-9

DJA : 0-6 mg/kg.

Réglementation : autorisé dans l'union européenne[58]

Classification de cramer : classe III

Test de mutagénicité in vivo : Hacceptor-path3-Hacceptor

Classification primaire oncologique: typeAmine Aromatique .

✓ **Chlorophylle E 140**

Est un colorant naturel obtenu par extraction à partir des plantes vertes

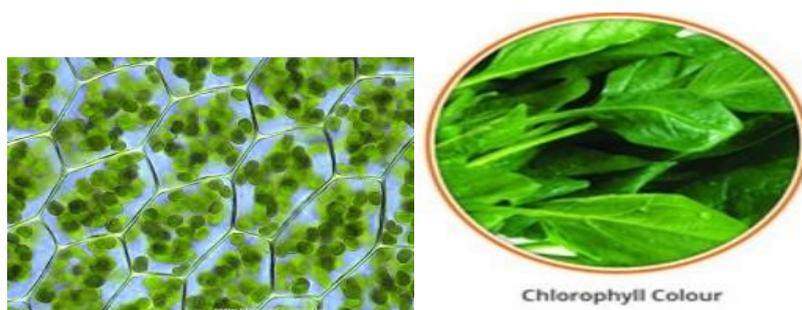


Figure41 :Le chlorophylle naturel

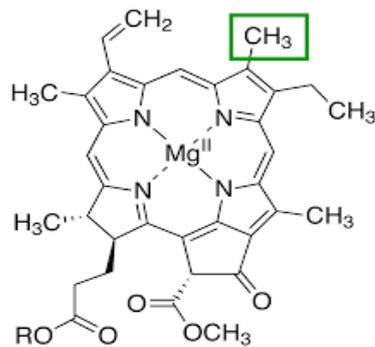


Figure 42 : Structure moléculaire en deux dimensions de chlorophylle a

Numéro Cas : 1406-65-1

Formule moléculaire brute : $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$

DJA: Non limitée ou non spécifiée.

Réglementation : Dans l'Union Européenne comme aux Etats-Unis utilisé dans l'industrie pharmaceutique.[\[103\]](#)

Classification de Cramer : Class III

✓ Caramel E150

Colorants bruns naturel ou chimiques, fabriqués par déshydratation des sucres. La structure chimique des caramels est mal connue, car elle correspond à un mélange complexe de produits de cyclisation et de polymérisation.



Figure 43 : Les caramels E150 a,b,c,d.

E150a : caramel naturel

E150b : caramel de sulfite caustique

E150c : caramel ammoniacal

E150d : caramel au sulfite d'ammonium

DJA

E150a : 0-300 mg/kg de masse corporelle /jour.

E150b : 0-160 mg/kg de masse corporelle/jour.

E150c : 0-200 mg/kg de masse corporelle/jour.

E150d : 0-200 mg/kg de masse corporelle/jour.

Le caramel (E150a), mélange d'eau et de sucre, ne présente en rien un danger pour la santé. C'est seulement lorsqu'il est mélangé à l'ammoniac et/ou à des sulfites qu'il devient néfaste, ce qui entraîne l'apparition de substances néoformées nocives comme le 4-méthylimidazol (4-MEI).

Numéro cas : 822-36-6

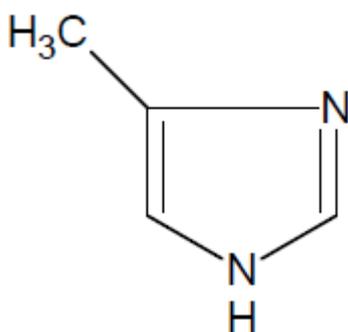


Figure 44: Structure moléculaire en deux dimensions de 4-méthyle-imidazole [76]

Classification de cramer : ClassIII

Test de mutagénicité in vivo : positif de H-typeacceptor-path3-H-acceptor

Cancérogénicité: Imidazole, Benzimidazole

✓ **Carbonate de calcium E170**

Le carbonate de calcium est un minéral naturel présent dans les roches sédimentaires et dont la forme la plus commune est le calcaire. Il est aussi trouvé dans la craie, le marbre, le corail et en tant que composant principal des coquilles d'œufs,etc...



Figure 45 : carbonate de calcium en poudre.

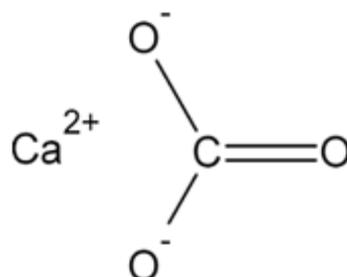


Figure 46 : Structure moléculaire en deux dimensions decarbonate de calcium

DJA: non limitée ou non spécifiée

Réglementation : autorisé en Europe et aux Etats unis dans la filière d'alimentation biologique et l'industrie pharmaceutique [109]

Numéro CAS : 471-34-1

Test de mutagénicité in vivo: positif de type Hacceptor-path3-Hacceptor

Class de cramer : classeIII

✓ **DIOXYDE DE TITANE E171**

Il s'agit d'un pigment blanc, dont l'effet est simplement d'augmenter la blancheur ou la brillance ou encore de modifier les teintes d'autres colorants.



Figure 47: Dioxyde de titane broyé



Figure 48: Structure moléculaire en deux dimensions de dioxyde de titane

Numéro CAS: 13463-67-7

Formule moléculaire brute : TiO₂

DJA: Non limitée ou non spécifiée

Réglementation : Aux Etats-Unis comme dans l'Union Européenne il est exclu de la filière d'alimentation biologique, mais autorisé dans l'industrie pharmaceutique. [\[58\]](#)

La classification de cramer : classe III.

✓ Oxyde de fer E172



Figure 49 : l'oxyde de fer en poudre

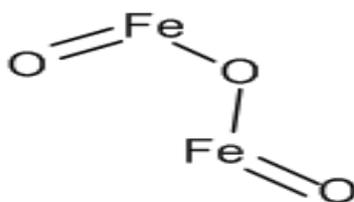


Figure 50: Structure moléculaire en deux dimensions de l'oxyde de fer

Numéro cas : 1309-37-1

Formule moléculaire brute : Fe₂ O₃

DJA : 0-0,5mg/kg de masse corporelle/jour

Réglementation : interdit aux japons, états unis et Canada, mais autorisé dans l'UE [110]

Classification de cramer : classe III .

➤ A l'aide de logiciel QSAR, nous avons trouvé les alertes structurelles et les groupes réactifs responsables des effets mutagènes et cancérigènes à coté d'autres perturbations liées aux colorants pharmaceutiques :

1.2. Les alertes structurelles

Les alertes structurelles sont des sous-structures moléculaires ou groupes réactifs qui sont liés à l'effet cancérigène et mutagène des produits chimiques, et représentent une sorte de "codification" d'une longue série d'études visant à mettre en évidence les mécanismes d'action de l'effet mutagène et cancérigène chimique. L'identification de la structure indicatrice a eu une grande valeur tant en termes de compréhension des mécanismes, et d'évaluer les risque posés par les produits chimiques [82].

La théorie de l'électrophile de la cancérogenèse chimique conduit à penser que la plupart, sinon tous les agents chimiques cancérigènes sont soit, ou sont convertis in vivo à l'électrophile qui combine des dérivés réactifs nucléophiles avec des groupes dans des tissus, tels que les acides nucléiques et les protéines[25].

Après un certain nombre de décennies, l'hypothèse de la réactivité électrophile de carcinogènes chimiques conserve sa validité, et a été incorporée dans une théorie plus générale sur les carcinogènes chimiques.

❖ Alerte de mutagénicité et Génotoxicité

L'étude des effets génotoxiques et/ou mutagènes concerne de nombreux produits et est devenue d'une grande importance. Les tests sont effectués sur des bactéries et des cellules de mammifères ou des lymphocytes humains. Ces essais sont répartis en trois catégories:

- Les marqueurs de l'activité mutagène des milieux biologiques : le test d'Ames
- Les marqueurs des anomalies cytogénétiques : le test de micronoyau
- marqueurs de liaisons à l'ADN ou adduits[28]

Les alertes structurelles mentionnées dans le test d'Ames et de micronoyau sont considérées comme des agents génotoxiques hautement réactifs. Ils possèdent des propriétés alkylantes responsables de leur interaction avec l'ADN. Ce sont des mutagènes puissants mais des cancérigènes faibles.

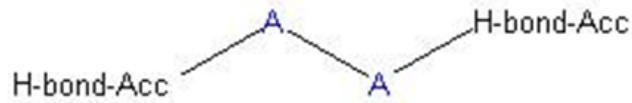
La détection des liaisons entre des substances génotoxiques et des macromolécules forme des adduits à l'ADN, l'hémoglobine et d'autres protéines par Acylation, liaison de Michaël, intercalation de l'ADN, etc... [28].

En raison de la grande variété des structures et des modes d'action des substances génotoxiques, il existe un grand nombre de dommages à l'ADN possibles. Ces altérations structurales de l'ADN appelées lésions primaires concernent principalement des modifications des bases constitutives de l'ADN ou des cassures affectant un seul ou les deux brins de l'ADN. Y'a tout d'abord les adduits encombrants qui correspondent à l'entité chimique résultant de l'établissement d'une liaison covalente entre une molécule chimique électrophile et un site nucléophile d'une base de l'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles des bases constitutives de l'ADN sont les cibles privilégiées des génotoxiques[28].

Certains agents mutagènes tels que les HAP et les amines aromatiques sont capables de réaliser ce type de liaison entraînant la formation d'un complexe appelé adduit (pour produit d'addition). Cette lésion entraîne une modification de la structure spatiale de l'ADN au voisinage de l'adduit qui va perturber sa reconnaissance par l'ADN polymérase (enzyme) au cours du processus de réplication. La formation et la persistance de telles lésions de l'ADN sont des étapes clé vers la mutagenèse et le développement tumoral.

Il y a ensuite les micro-adduits formés par l'alkylation d'une base azotée de l'ADN. Ces modifications bien que minimes perturbent la reconnaissance de la base par l'ADN polymérase lors de la duplication de l'ADN. Les nitrosurées, les alkylsulfonates sont la plupart des agents alkylants qui sont capables d'ajouter des groupements alkyle à divers groupes électronégatifs dans des conditions présentes au sein des cellules[28].

- **H acceptor-path3-Hacceptor** représente une substructure pouvant expliquer l'interaction avec l'ADN.



A = un atome quelconque, sauf l'hydrogène

H-bond-Acc = un atome quelconque qui est un accepteur de liaison hydrogène possible

Cette alerte explore la possibilité qu'un produit chimique interagisse avec l'ADN ou de protéines via des liaisons non-covalentes, telles que d'intercalation d'ADN, le squelette moléculaire présent représentant deux atomes collés reliant les deux accepteurs de liaisons H a entraîné une sensibilité/spécificité accrue en ce qui concerne l'ensemble de formation de micronoyaux. [35] Munro et ses collaborateurs ont proposé une liste de groupements fonctionnels répertoriés entant que structures d'alerte d'une activité cancérigène-génotoxique

❖ **Alertes de cancérogénicité**

La US FDA applique l'examen de la présence de structures d'alerte potentiellement cancérogènes lors de l'évaluation des additifs et colorants alimentaires, elle prévoit, une catégorie « C » qui comportent des composés et métabolites chimiques présentant une structure en relation avec une substance reportée mutagène ou cancérogène.

Un total de 55 sous-groupes chimiques individuels a été rassemblé dans six groupes majeurs dépendant de la présence ou de l'absence des groupes chimiques fonctionnels spécifiques [3]

❖ **Perturbateur endocrinien**

Les produits chimiques agissant par divers modes d'action peuvent entraîner un déséquilibre hormonal et la surproduction ultérieure d'hormones trophiques. Ce mécanisme non génotoxique est à l'origine d'une variété de types de tumeurs. Il peut être causé par :

❖ **Liaison aux récepteurs aux œstrogènes**

Ce type de liaison peut exercer une perturbation endocrinienne. Les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes impliquées dans de nombreuses fonctions. Elles se lient à des récepteurs spécifiques pour activer des cellules cibles. Il existe deux récepteurs canoniques, les récepteurs alpha (ER α) et les récepteurs beta (ER β) [63]. L'œstradiol est un œstrogène qui, une fois fixé à son récepteur, active certaines fonctions, comme par exemple la prolifération

des cellules mammaires. Certaines molécules sont reconnues pour être capables de se fixer sur les récepteurs des œstrogènes et agir comme agoniste ou antagoniste. La cellule cible peut alors être activée ou inhibée dans des conditions non physiologiques.

Certains colorants ont la capacité de se fixer sur les récepteurs des œstrogènes et de les activer. Lorsqu'un cancer se déclare, les cellules se multiplient en se différenciant.

Les premières cellules cancéreuses se multiplient mais sont encore différenciées et possèdent toujours leurs récepteurs. On peut alors imaginer que les colorants peuvent venir se fixer à ces récepteurs et activer la prolifération de ces cellules cancéreuses [63].

La méthodologie des essais *in vitro* faisant appel au récepteur d'œstrogène recombinant humain pour la détection des substances ayant une affinité de liaison avec les récepteurs des œstrogènes (essais de liaison au hrER pour détecter les ligands des récepteurs des œstrogènes (ER α). Cet essai consiste principalement à mesurer la capacité d'un ligand radio marqué (le [3H]-17 β -œstradiol) à se lier aux ER en présence de concentrations croissantes du produit chimique testé (appelé « compétiteur »). Les produits chimiques d'essai qui présentent une forte affinité de liaison avec les ER entrent en concurrence avec le ligand radio marqué à une concentration plus faible que les composés ayant une affinité moindre vis-à-vis du récepteur[63].

❖ **Liaison aux récepteurs aux androgènes**

Des fragments structurels d'imidazole et de benzimidazole ont été trouvés dans un certain nombre de produits chimiques qui induisent des tumeurs de cellules de Leydig par inhibition de la biosynthèse de testostérone (Fort, 1995). Les cellules de Leydig sont les cellules interstitielles testiculaires qui produisent la testostérone comme leur principale fonction. L'hormone principale qui stimule les cellules de Leydig pour produire de la testostérone est l'hormone lutéinisante (LH). LH est produit par l'hypophyse avec une réaction négative de testostérone. Les inhibiteurs de la biosynthèse de la testostérone diminuent les niveaux de testostérone et augmentent les taux de LH, ce qui entraîne le développement de tumeurs de cellules de Leydig. Les imidazoles et les benzimidazoles semblent inhiber la biosynthèse de la testostérone en inhibant les enzymes du cytochrome P450 nécessaires à la biosynthèse [102].

❖ **La sensibilisation respiratoire**

Les colorants de synthèse constituent un élégant modèle pour l'étude de l'allergie respiratoire aux produits chimiques puisque la caractéristique chimique qui les rend sensibilisants est

précisément à l'origine de leur intérêt technologique. En effet, ils sont constitués d'une molécule colorante (groupe chromophore) sur laquelle est fixé un groupe réactif électrophile destiné à former une liaison chimique stable, de covalence, avec la matière que l'on veut teindre[47].Le groupement réactif fixé au chromophore se comporte en haptène [59].

Le plus souvent, il s'agit d'un dérivé halogéné d'hétérocycle azoté, d'un dérivé de vinylsulfone ou d'un dérivé d'acryloylamine.(les acrylates de cyano, les acrylates, les méthacrylate, les dérivés indigotine et les 4-méthylencyclohexa-2, 5-dien-1-imines).Ces groupes électrophiles réagissent avec les protéines de poumon qui possèdent de nombreux sites nucléophiles. La liaison covalente est le résultat d'une substitution ou d'une addition nucléophile. Comme tous les produits chimiques réactifs, les colorants réactifs sont des irritants respiratoires et comme tels peuvent participer à des manifestations respiratoires non spécifiques, la manipulation de ces molécules sous forme de poudre facilement inhalable qui est à l'origine de la sensibilisation. Leur utilisation sous forme liquide, en pulvérisation, présente un risque similaire[56].

❖ La sensibilisation cutanée

La formation d'un adduit covalent entre une substance sensibilisante et les protéines ou peptides endogènes de la peau est une étape clé dans l'induction de la sensibilisation. Les peptides modifiés sont ensuite pris en charge par les cellules dendritiques dans les nœuds lymphatiques, et déclenchent une réponse immunitaire par l'intermédiaire de lymphocytes T spécifiques[46].

La consommation des peptides de cystéine par DPRA: Dosage direct de la réactivité des peptides, évaluation du potentiel de sensibilisation cutanée par réactivité au peptide.

La corrélation entre la réactivité envers les protéines avec la sensibilisation cutanée est bien établie (Lepoittevin JP, 1998)La majorité des allergènes de contact (ou leurs métabolites) ont des propriétés électrophiles et sont capables de réagir avec des nucléophiles variés pour former une liaison covalente stable. De nombreux acides aminés de protéines sont riches en électrons, et sont donc capables de réagir avec ces allergènes électrophiles. La lysine et la cystéine sont le plus souvent citées .En l'occurrence, les protéines de la peau formées d'acides aminés possèdent plusieurs atomes donneurs d'électrons, tels que les atomes de soufre et d'azote, qui leur confèrent leur nature nucléophile. Ces atomes riches en électrons s'associent facilement aux molécules déficitaires en électrons pour former un complexe immunogène[46].

La formation d'un complexe entraîne une consommation du peptide initial, qui est évaluée par intégration de l'aire du signal du peptide restant. La déplétion peptidique est alors corrélée au potentiel sensibilisant de la molécule. Un seuil de 10% de déplétion a été défini afin de classer la substance comme sensibilisante[46].

1.3. Quelques groupes réactifs liés à l'effet mutagène et cancérigène des colorants pharmaceutiques

❖ Hydrazine

L'hydrazine est mutagène dans de nombreux essais. Plusieurs hydrazines ont provoqué une rupture inorganique de l'ADN par l'oxyhémoglobine in vitro.

La toxicité des dérivés d'hydrazine a été attribuée à la génération d'espèces réactives (catalysées par des systèmes enzymatiques tels que les oxydases à fonctions mixtes dépendantes du cytochrome P450 et les mono-oxygénases de la flavine), à savoir les carbocations et les radicaux centrés sur le carbone, ainsi que les espèces réactives [62].

Pour ces intermédiaires réactifs, l'alkylation d'ADN ainsi que d'autres lésions d'ADN ont été rapportées. Les dérivés alkyle ou aryle-monosubstitués se sont révélés être oxydés métaboliquement à des radicaux carbonés ou arylés par plusieurs systèmes enzymatiques. Dans le métabolisme des hydrazines di substituées, il existe une preuve de la formation d'ions carbonium et de radicaux alkyle par des voies distinctes qui dérivent après l'oxydation des composés azoïques. L'activation non enzymatique des hydrazines, par des substances endogènes telles que des ions métalliques, a également été rapportée pour la production d'espèces de radicaux actifs causant des dommages à l'ADN[62].

❖ Quinones

Sont des composés aromatiques comportant un noyau benzène. Les quinones représentent une classe d'intermédiaires toxicologiques qui peuvent créer une variété d'effets dangereux in vivo, y compris la cytotoxicité aiguë, l'immunotoxicité et la carcinogénèse. Les mécanismes par lesquels les quinones provoquent ces effets peuvent être assez complexes. Ils sont des accepteurs de Michael, et des dommages cellulaires peuvent se produire par l'alkylation de protéines cellulaires cruciales et / ou d'ADN. Alternativement, les quinones sont des molécules hautement redox actives qui peuvent réoxyder le cycle avec leurs radicaux de semiquinone, conduisant à la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS). La production de ROS peut provoquer un stress oxydatif sévère dans les cellules à cause à la formation de macromolécules cellulaires oxydées, La preuve suggère fortement que les nombreux

mécanismes de la toxicité de la quinone peuvent être corrélés avec la pathologie connue du (des) composé (s) parent (s) [85].

❖ **Composé de type amine aromatique**

Les amines aromatiques constituent une classe de composés chimiques qui dérivent d'hydrocarbures de la série aromatique tels que le benzène, le toluène, le naphthalène, l'anthracène et le diphényle, par remplacement d'au moins un atome d'hydrogène par un groupement amino ($-NH_2$). Les amines aromatiques ont des effets pathologiques variés et les divers membres de ce groupe ne partagent pas les mêmes propriétés toxicologiques. Chaque composé doit être évalué indépendamment, mais certaines caractéristiques importantes sont communes à tous, à savoir:

Le cancer des voies urinaires, en particulier de la vessie.

La méthémoglobinémie, qui peut produire des effets nocifs sur les globules rouges.

La sensibilisation, surtout de la peau, mais parfois aussi des voies respiratoires.

❖ **Diazoaromatique**

Les Diazo aromatique sont des composés azoïques biologiquement actifs par le biais de leurs métabolites. La réduction des liaisons azoïques, par l'intermédiaire d'enzymes tel que l'azoreductases dans la microflore intestinale, produit la libération d'amines aromatiques qui sont génotoxiques.

La toxicité des azoïques par exposition aux colorants et à leurs métabolites n'est pas un fait nouveau. Depuis, les travaux effectués sur ces colorants ont démontré que ces composés chimiques présentaient des effets cancérigènes pour l'homme et l'animal.

L'azobenzène utilisé dans cette étude, est reconnu pour être un composé génotoxique au même titre que l'amarante, la tartrazine et le rouge cochenille qui figurent parmi les colorants azoïques les plus dangereux pour l'homme et ont été retirés des listes de colorants alimentaires dans la plupart des pays. Les effets cancérigènes des composés azoïques s'expriment indirectement par leurs dérivés amines. La liaison azo est la portion la plus labile de ces molécules et peut facilement se rompre sous l'action enzymatique (enzyme azo-reductase P 450) des organismes mammifères incluant l'homme, pour se transformer en composé amino cancérigène.

La toxicité des azoïques est accrue par la présence de substituant sur le noyau aromatique notamment des groupes nitro ($-NO_2$) et halogènes [70].

❖ **Composés hydrocarbonés aromatiques halogénés**

Les hydrocarbures aromatiques halogénés sont des composés chimiques qui contiennent un ou plusieurs atomes d'halogène (chlore, fluor, brome, iode) et un ou plusieurs noyaux benzéniques condensés ou non. L'exposition chronique aux hydrocarbures aromatiques halogénés comporte de nombreux risques. D'une façon générale, elle se manifeste par des troubles affectant la fonction de reproduction (notamment des avortements, ou un faible poids à la naissance) ont été rapportés, ainsi que certaines affections malignes.

❖ **Toluène**

Le toluène est un homologue supérieur du benzène, il est reprotoxique : altération de la fécondité à des taux où il n'est pas toxique pour la mère. Chez le rat, Il altère aussi la fertilité des mâles via une altération de la spermatogenèse et/ou du fonctionnement de l'épididyme : réduction de 20 % du nombre de spermatozoïdes. Il passe facilement vers l'embryon, induisant un retard de croissance et de poids à la naissance et des troubles psychomoteurs postnataux qui traduisent la neurotoxicité du toluène pour le cerveau embryonnaire.

❖ **Phenoxy-benzène**

La sous-structure du phénoxy-benzène est une caractéristique structurale qui est commun à un sous-groupe de pyréthroïdes, une série d'insecticides synthétiques dérivés structurellement des pyréthrines naturels. La génotoxicité par induction des micronoyaux a été documentée pour plusieurs pyréthroïdes portant la sous-structure du phénoxy-benzène.

❖ **Composés Type Arylazo**

De nombreux composés arylazo ont été trouvés pour être mutagènes. De même, plusieurs études de cas ont établi un lien azo pigments avec le carcinome des cellules basales.

✓ **Coup d'œil sur les colorants étudiés**

Grace à l'exploitation des données du logiciel QSAR nous avons obtenus les résultats suivants :

La curcumine est un colorant naturel de la classe III de cramer ,sa structures chimiques ne permet aucune forte présomption initiale de la sécurité, il forme des liaisons avec les protéines, les récepteurs aux œstrogène ce qui peut perturber la fonction endocrinienne.il peut

causer des dommages à l'ADN par la formation de liaison de type Michaël d'où la notion de la mutagénicité.

L'érythrosine est un colorant synthétique de la classe III de Cramer, il est génotoxique à cause de sa formation de liaisons avec les protéines et son test de mutagénicité in vivo positif.

L'azurobine, le jaune orangé S, le cochenille sont des colorants de la classe III de Cramer, ils forment des liaisons avec les protéines ainsi que les récepteurs aux œstrogènes ce qui peut perturber la fonction endocrinienne. Ils peuvent causer des dommages à l'ADN par la formation de liaison de type Michael. Donc ils sont génotoxiques.

Le bleu patenté est un colorant synthétique de la classe I de Cramer, sa structure chimique est simple pour laquelle des voies métaboliques efficaces existent par contre il forme des liaisons avec les protéines et l'ADN, son test de mutagénicité in vivo est positif.

Le colorant naturel lactoflavine appartient à la classe I de Cramer, sa structure chimique est simple et pour laquelle des modes efficaces de métabolisme existent, par contre il forme des liaisons avec les protéines. Le test d'Ames est positif, il peut interagir avec l'ADN.

Le jaune de quinoléine est un colorant synthétique de la classe I de Cramer, c'est un liant à l'ADN et aux protéines ce qui suggère sa génotoxicité.

Le bleu brillant, le chlorophylle, le dioxyde de titane et l'oxyde de fer sont des colorants de la classe III de Cramer : de structure chimique complexe pour laquelle il n'y a aucune forte présomption initiale de la sécurité, en parallèle aucune alerte de génotoxicité n'a été détectée.

Le carbonate de calcium appartient à la classe III de Cramer, le test de mutagénicité est positif, donc peut interagir avec l'ADN.

Donc les colorants pour lesquels le logiciel n'a signalé aucune alerte de génotoxicité ou une interaction avec l'ADN sont : le dioxyde de titane, l'oxyde de fer, le chlorophylle, mais des mesures appropriées doivent être prises en établissant leurs quantités dans les formulations, car ils sont classés Cramer III.

Le reste a été identifié comme génotoxique possible : curcumine, lactoflavine, Tartrazine, jaune de quinoléine, jaune orangé, cochenille, azorubine, rouge de cochenille, érythrosine, bleu patenté, indigotine, bleu brillant, caramel, carbonate de calcium. Pour lesquels une éventuelle interaction avec l'ADN peut être détectée. Ces

interactions peuvent provoquer des dommages à l'ADN et entraîner des modifications génétiques, des mutations dont l'expression peut être un cancer. À partir des 16 colorants étudiés, le pourcentage des colorants génotoxiques est de **81,25%**.

Tableau 13 : Pourcentage des colorants génotoxiques et non génotoxiques

colorants génotoxiques	colorants non génotoxiques
0,8125	0,1875

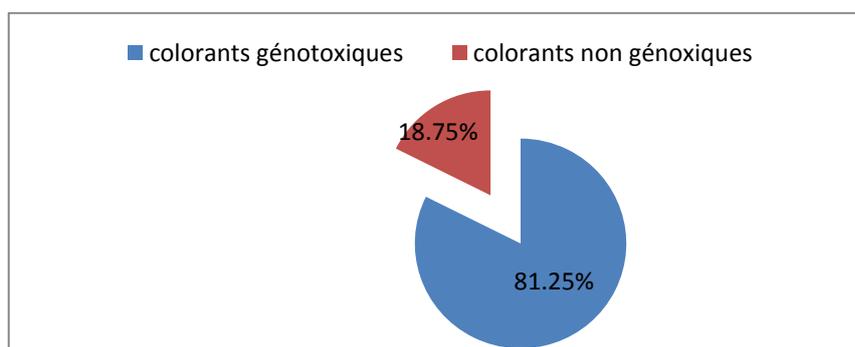


Figure 51 : Pourcentage des colorants génotoxiques et non génotoxiques

2. DISCUSSION

Nous avons mené cette étude dans le but d'évaluer la toxicité des colorants utilisés dans l'industrie pharmaceutique .

A partir des 16 colorants utilisés dans la formulation des médicaments destinés à traiter plusieurs types de maladies aiguës et chroniques, les niveaux de consommation sont plus élevés chez les patients souffrants de maladies chroniques, tel que l'hypertension artérielle, les troubles de rythme cardiaque, les troubles de coagulation sanguine, les maladies neurologiques et psychiatriques ,etc... Et même les femmes sous pilules contraceptives, ce qui les oblige à être exposés aux colorants pour une longue durée voir avis.

Le taux des colorants étudiés qui sont génotoxiques et cancérigènes possibles est de **81.25%**. Ces colorants toxiques exercent leur effets malgré les petites doses utilisées dans les formulations, on parle donc de l'effet de cumulation des doses.

Prenant les cas de figures suivants :

➤ **Amlor** :(amlodipine) qui est un inhibiteur calcique utilisé pour traiter l'hypertension artérielle et l'angor, sa posologie initial habituelle est d'une gélule par jour mais peut être augmenté en fonction de la réponse du patient, il contient les trois colorants: jaune de quinoléine, l'oxyde de fer noire et le dioxyde de titane.

Ces trois colorants sont toxiques selon Cramer dont le jaune de quinoléine est mutagène.

➤ **Amarel** :(Gliméperide) est un sulfamide hypoglycémiant de la classe des antidiabétiques oraux disponible aux différents dosages le 1,2,3,4 et 6 mg chaque dose est d'une couleur différente ,d'où l'utilisation d'une gamme de colorants : Le jaune orangé S, l'indigotine et l'oxyde de fer .

Ces médicaments consommés en chronique exposent les patients aux risques de toxicité des colorants par l'effet de cumulation des doses.

On peut rencontrer le cas des patients poly médicamentés qui reçoivent un cocktail de colorants toxiques quotidiennement ,ou bien le même type de colorants a partir des différents médicaments, ce qui va augmenter la dose absorbé, et multiplier le risque de cancérogénicité

La DJA ne tient pas, et ne peut pas tenir compte de l'effet cocktail dû aux nombreux colorants ingérés. Il faut savoir aussi que sur les notices on ne déclare que très rarement le pourcentage de tel ou tel colorant utilisé dans le produit concerné, car il s'agit en fait d'un secret « soumis à la plus grande confidentialité » et bien gardé du public.

Le danger des colorants pharmaceutiques peut toucher le fœtus lors de sa formation,

aujourd'hui des bébés naissent avec des traces de produits chimiques dans leur sang (rapports de Greenpeace / WWF), il est alors grand temps de tirer la sonnette d'alarme et de tout faire pour préserver la santé des prochaines générations, car elles représentent notre avenir.

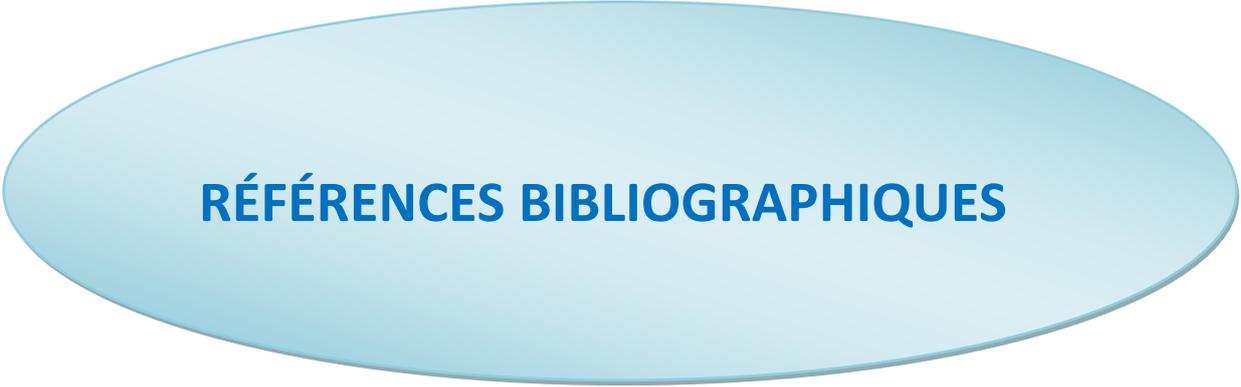
Nous avons le droit de savoir ce que contiennent nos médicaments, de prendre un médicament garanti et de refuser tout médicament qui pourrait être nocif pour notre santé ou celle de nos enfants d'où l'importance ici de la célèbre citation : « il vaut mieux prévenir que guérir ».

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les colorants sont des excipients importants dans les formulations pharmaceutiques, ils peuvent être utilisés pour l'amélioration de l'aspect esthétique, la différenciation des produits, et encore le plus important : La réduction des erreurs de médication. La liste des colorants approuvés est limitée, leur sécurité peut être assurée par l'application d'une réglementation stricte. La toxicité d'un colorant donné sera toujours liée à sa dose. Même si il est connu comme «non toxique», il est en fait toxique pour l'homme à certaines doses. L'augmentation du nombre de problèmes de sécurité au cours des dernières décennies a entraîné un besoin important pour le développement et l'approbation de nouveaux colorants «non toxiques». Des colorants peuvent-être plus acceptables par les consommateurs, seraient ceux d'origine naturelle tels que les caroténoïdes. Toutefois, l'inconvénient de ces colorants est qu'ils sont instables, leur pouvoir colorant est généralement plus faible, et ils peuvent montrer de nombreuses incompatibilités.

En outre, le manque d'information et de gestion pourrait être amélioré par la compilation d'une base de données pour identifier les problèmes des produits pharmaceutiques liés aux colorants, règlements et stratégies de la sécurité. Au terme de ce travail et compte-tenu des résultats obtenus, et à fin de limiter le risque de toxicité des colorants, nous avons proposé les recommandations suivantes :

- Les colorants doivent bénéficier des mêmes contrôles appliqués sur les impuretés génotoxiques et lorsqu'un colorant s'avère nocif : il doit être retiré des listes autorisées ou bien subir un abaissement de sa dose utilisé de manière à ne pas exposer les patients aux risques.
- Des mesures strictes doivent être prises par les autorités algérienne voir l'interdiction de la production et l'importation des produits contenant des colorants génotoxiques.
- Le remplacement des colorants synthétiques par des colorants naturels
- L'utilisation des paramètres autre que la couleur dans le but de l'identification : formes, griffe, etc...
- les colorants ne soient utilisés que lorsque leur présence est vraiment indispensable.
- La déclaration des doses de colorants utilisés dans la formulation de chaque médicament pour pouvoir évaluer et contrôler la dose journalière consommée.
- Renforcer la recherche scientifique dans ce domaine : il est résumé que les polymères avec des colorants alimentaires liés par covalence présentent des caractéristiques améliorées corrélant aux problèmes mentionnés. L'augmentation de la masse molaire inhibe l'adsorption par le système gastro-intrinsèque, qui abaisse ou élimine les effets toxiques.
- L'introduction des méthodes in silico certifiées en industrie pharmaceutique pour minimiser le cout et gagner le temps.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

OUVRAGES

- [1]. Ames BN, Durston WE, Yamasaki E and Lee FD. Carcinogens are mutagens a simple tests combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc Natl Acad Sci U S A. 1973 ,Pages 345-378
- [2]. Anderson. D, Factors contributing to biomarker responses in exposed workers. Mutat Res. 1999 , pages 180- 163
- [3]. Andriano. M,« propriétés cancérigènes des colorants alimentaires rouges : l'amarante le rouge ponceau SX et le rouge ponceau 4R , 1970, pages 61-65 et aussi dans : Drake J. P : The amarante bebate flavours food additives , 1975, page 116
- [4]. Benaissa Asma,Etude de la faisabilité d'élimination de certains colorants textiles par certains matériaux déchets d'origine naturelle, Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Chimie.Université Abou Bakr Balkaid, Tlemcen 2001.
- [5]. Chebli Derradji, Traitement des eaux usées industrielles: Dégradation des colorants azoïques par un procédé intégré couplant un procédé d'oxydation avancée et un traitement biologique » 2012. Mémoire Doctorat En Sciences
- [6]. Cramer GM, Ford RA & Hall R. Estimation du risque de toxicité - une approche d'arbre de décision. De la nourriture et Cosmétique Toxicology. 1978. pages255-276
- [7]. Feingold,behavioral B, disturbances learing disabilites and food additives. Tech. 1975. pages 264-267
- [8]. Felton & Mc Ginity, JW. des revêtements polymères aqueuses pour des formes galéniques pharmaceutiques ; Influence des agents colorants sur les propriétés des systèmes de revêtement polymérique). CRC Press : Nyamweya, NN, & Hoag, SW, 2008. pages 404-456
- [9]. Fernandez B, Figueiro Eet Girard J.P. étude de quelques additifs alimentaires en tant que facteurs étiologiques de l'urticaire chronique et de l'œdème angioneurotique rev.franç. Allerdo. 1977 pages 127-131.

[10]. Forster R, Green MH and Priestley A. Optimal levels of S9 fraction in the Ames and fluctuation tests apparent importance of diffusion of metabolites from top agar. Carcinogenesis. 1980. Pages 65-70

[11]. Gales V, Preda N. Popa L et G, sandrea D et Simu. Recherche toxicologique sur le colorant amarante. 1972. Pages 167-173.

[12]. Galtier P. Guide des arômes, colorants, additifs alimentaires Jean pierre Edition. Paris 1976.

[13]. GAO H, KATZENELLENBOGEN JA, GARG R, HANSCH C. Comparative QSAR analysis of estrogen receptor ligands. Chem Revue, 1999. Pages 723-744

[14]. Ghautier, J. A. Kiger J.G et Pellerin,F.« Les Colorants Naturels et de Synthèse à Usage Pharmaceutique et Alimentaire». Mises au point de chimie analytique . Paris

[15]. Girard J.P et Bodmer R Et dans : Moneret Vautrin D.A et Grillat J.P l'allergie alimentaire concours Med, 1978, pages 464-465. allergie Med et Hyg . (Genève) 1979.

[16]. Gouget Corinne. Additifs alimentaires danger. Edition paris chariot d'or, 2008.

[17]. Grâce Frimpong MRS . Enquête sur la pertinence de HIBISCUS SABDARIFFA CALICE extrait comme agent de coloration pour les sirops pédiatriques. 2008. Page 44.

[18]. HADDAD Djamel et MOKHETARI Said, « Elimination de polluants sur une argile anionique modifiée » . Mémoire d'ingénieur université USTO . 2010 pages 52-56

[19]. Hélène Barbier Du Vimont Edition , Livre « Les additifs alimentaires. Ce que cachent les étiquettes Trédaniel Poche, 2008, ISBN 978-2-84445-860-

[20]. Kebiche Ounissa. adsorbabilité et ionique de quelques colorants cationiques présents dans les effluents liquides de la teinture de l'unité couverte de Ain. DJASSER .thèse de Magistère. Université Mentouri Constantine 1996.

[21]. Lemikchi Wahiba ,Elimination de la pollution des eaux industrielles par différents procédés d'oxydation et de Co-précipitation, thèse de doctorat. université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou 2012.

[22]. M. Hedayatuallah. le livre : " les colorants synthétiques ".

[23]. Magnen. J “ce qu il faut savoir des colorant alimentaires”: le centre de recherche et d'information sur la composition des aliments (C.R.I.A.).

[24]. Mielynska D, Braszcynska Z, Siwinska E, Smolik E, Bubak A and Sokal JA. Exposure of coke-oven workers to polycyclic aromatic hydrocarbons based on biological monitoring results.1997

[25]. Miller, E.C. et Miller, J.A. Cancer, 1981, Pages 232

[26]. Moneret Vautrin D.A, Grillat J.P et Demange G. Allergie et intolérance à la tartrazine , colorant alimentaire et médicamenteux : à propos de deux observation Mes et Nut , et dans : Moneret vautrin D.A et Aubert B le risque de sensibilisat. 1980. Pages 171-174

[27]. Moneret vautrin D.A, le système immunologique du tube digestif Rev .Franç. allergol. 1974. Pages 37-45

[28]. Naciri. Cours sur Toxicologie. Université Mohammed Faculté des Sciences de Rabat, Laboratoire de Zoologie et de Biologie générale.

[29]. Nadjia Lamri. Elimination du colorant orange II en solution aqueuse, par voie photochimique et par adsorption, mémoire de magister, université Mentouri, Constantine, 2010.

[30]. Oser BL .Hal, Critères utilisés par le groupe d'experts de la FEMA pour l'évaluation de GRAS substances aromatisantes .Food and Cosmetics Toxicology.pages 457-466. 1977

[31]. Oubagh.Anour ,décontamination des eaux contenant les colorants textiles et les adjuvants par des métaux naturels et synthétique, mémoire de magister. université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou 2011.

[32]. Pellegrin A et Gounelle de Fontanel.H,un colorant alimentaire à proscrire : la tartrazine E102 en raison de ses propriétés allergisantes Bull .Acad. Nat. Med ;,et aussi : Moneret Y sur une étude expérimentale de l'allergie à la tartrazine. 1978. Pages36-40

[33]. Russel WMS, Burch RL. The principles of human experimental technique (1959). Universities Federation for Animal Welfare (UFAW). special edition 1992. page 238.

[34]. Shtenberg A and Gravilenko. influence du colorant alimentaire sur la fonction de reproduction et sur le développement de la descendance dans les essais sur les rats blancs 1970. Pages 66-73

[35]. Snyder.R ,Ewing.D. and Hendry.L DNA intercalative potential of marketed drugs testing positive in in vitro cytogenetics assays. Mutat. Res. 2006. Pages 47-59.

[36]. Sram RJ and Binkova B,. Molecular epidemiology studies on occupational and environmental exposure to mutagens and carcinogens, 1997-1999. Environ Health Perspect. (2000) . p 98-103

[37]. Sram. RJ, Chromosomal aberrations in environmentally exposed population in relation to metabolic and DNA repair genes polymorphisms. Mutat Res. (2007) .

[38]. Truhaut, R. Problèmes toxicologiques posés par l'emploi d'additifs et d'adjuvants dans les préparations pharmaceutiques.,XXIIe journées pharmaceutiques françaises S.E.P.E.S. édition., France . 1972

[39]. Truhaut. R, Sur l'action cancérogène de certaines matières colorantes . Importance en hygiène alimentaire ; en thérapeutique et en hygiène générale . Ann. pharm. franç. 1955. pages. 36-51.

- [40]. US Food and Drug Administration, ministère de la Santé et des Services humaine . Aliments et médicaments. Chapitre I.Subchapter A. (2012).page 40
- [41]. Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets., 2009, n°07-0667/1A
- [42]. Vodicka P, Stetina R, Koskinen M, Soucek P, Vodickova L, Hlavac P, Kuricova M, Necasova R and Hemminki K. New aspects in the biomonitoring of occupational exposure to styrene. Int Arch Occup Environ Health. (2002) .Page 19-33
- [43]. Zawlotzki, Elodie Guivarch. traitement des polluants organiques en milieux aqueux par des colorants synthétiques thèse de doctora , l'université de Marne la vallée. 2004.
- [44]. Zollinger. H Chimie Couleur : Synthèses, les propriétés et les applications des colorants organiques et des pigments, Wiley-VCH. 2003.page 55

ARTICLES

- [45]. Ames.BN, Carcinogens are mutagens their detection and classification. Environ Health Perspect.1973 Pages 200-204
- [46]. Ahlfors SR, Sterner O, Hansson C Reactivity of contact allergenic haptens to amino acid residues in a model carrier peptide, and characterization of formed peptide-hapten adducts. Skin Pharmacology and applied Skin Physiology2003. pages 59-68.
- [47]. ALANKO K, KESKINEN H, BJORKSTEN F,OJANEN S. Immediate type hypersensitivity to reactive dyes. Clin Allergy. 1978. Pages 25-31
- [48]. Benigni R, Bossa C, Jeliaskova N, Netzeva .Le rule base mutagène et la cancérogénicité - un module de Toxtree. Rapport technique du CCR, EUR 23241 . 2008. pages 102 -130
- [49]. Boyle E, Johnson H, Kelly A, MacDonnell R. Congenital anomalies and proximity to landfill sites Med.j 2004.Pages 79-81

- [50]. canada, Santé. ligne directrice de l'ICH M7 de l'ICH Publication autorisée par le ministre de la Santé. Date d'adoption : 21-1-2016; Date d'entrée en vigueur : 2016/01/21.
- [51]. Cimino.MC, Comparative overview of current international strategies and guidelines for genetic toxicology testing for regulatory purposes. Environ Mol Mutagen. 2006
- [52]. Collins et G.C, .Max Vaughlin J. and gray. teratology studies on food colorings part 1-embryotoxicity of amaranth (FD & C red n°2) in rats food cosmet.toxicol. 1972. Pages 619-624
- [53]. CRAMER. CJ ;Essentials of computational chemistry: theories and models. Wiley. deuxième édition. 2004,pages 90-99
- [54]. Daniel J.W. Enzyme Reduction of azofood colorings , food cosmet. toxicol. 1967. Pages 533-534.
- [55]. Daniel J.W. The excretion and metabolism of edible food colors .toxicol .appl.pharmacol. 1962. pages 572-594.
- [56]. Dermatoses and respiratory diseases from reactive dyes. Contact Dermatitis,ESTLANDERT. 1988, page 18
- [57]. Devillers j , Marchand – Geneste N , Carpy A Porcher JM. SAR and QSAR modeling of endocrine disruptors. SAR and QSAR Environmental research. 2006, Pages 393-412
- [58]. Directives et Règlements de l'Union Européenne relatifs aux additifs alimentaires reglement:231/2012. 2012
- [59]. DOCKER A, WATTIE JM, TOPPING MD, LUCZYNSKA CM ET AL. Clinical and immunological investigations of respiratory disease in workers using reactive dyes. Br J Ind Med. 1987. pp. pp. 44 (8) : 534-41. 21
- [60]. European Union, Commission Directive 95/45/EC of 26 July 1995 laying down specific. 1995.

- [61]. Food and Drug Administration. U.S, Ministère de la Santé et des Services sociaux. 2012. P 56-60
- [62]. Gamberini, M., Cidade, M. R., Valotta, L. A., Armelin, M. C. S., and Leite Contribution of hydrazines-derived alkyl radicals to cytotoxicity and transformation induced in normal c-myc-overexpressing mouse fibroblasts. *Carcinogea*. 1998
- [63]. . GOMEZ E., PILLON A., FENET H., ROSAIN D., DUCHESNE M. J., NICOLAS J. C., and CASELLAS C. Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines:, UV screens, and musks. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2005
- [64]. Gounelle de fontanel. H, prenons parti additifs alimentaires et allergie *Med.Et Nut.* 1981. page 17
- [65]. Gouvernement du Canada. CommunicationCentre de recherche. 2009 page 103
- [66]. Grace Frimpong.MRS, Investigating the suitability of HIBISCUS SABDARIFFA CALYX extract as Coloring agent for Pediatric syrups. July, 2008.page 200
- [67]. Greene N, Judson PN, Langowski J, Marchant CA. Knowledge-based expert systems for toxicity and metabolism prediction: DEREK, StAR and METEOR. *SAR QSAR Environ Re.* 1999. Pages 299-314.
- [68]. Guengerich. FP, Metabolism of chemical carcinogens. *Carcinogenesis.* (2000).P 78-80
- [69]. Hayashi M, Kamata E, Hirose A, et al. In silico assessment of chemical mutagenesis in comparison with results of Salmonella microsome assay on 909 chemicals. *Mutat Re.* 2005.
- [70]. Hess S.M and Fitzhugh O.G. Absorbion and excretion of certain triphenyl méthane colors in rats and dogs , *J.pharmacol Exp. Therap* ; 1955, 114, 38-42 et dans : OMS IARC monographs on the carcinogenic risk of chemicals to man. 1978.

[71]. Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA and Orsiere T. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: A review of the literature. *Mutat Res.* (2007) . JACOBS. MN, In silico tools to aid risk assessment of endocrine disrupting chemicals. *Toxicology.* 2004. page 205 : 43-53.

[72]. Juhlin L, Michaelson G and Zellerhom. urticaria and asthma induced by food and drug additives *L.Allerg .clin . Immunol.* page 50 , 92-98

[73]. KARELSON M.,. *Molecular Descriptors in Qsar/Qspr.* JohnWiley & Sons Inc., New York

[74]. Kleijnen. J AJM, Roos , P de Vries, Effet de la couleur des médicaments: systématique examen de l'effet perçu des médicaments et de leur efficacité *British Medical Journal,* 1996. page 313.

[75]. Land Hooson. J, Gangolli S.D, Grprotein binding by food in relation to the production of subcutaneous sarcoma.

[76]. LE CAMEL, UN COLORANT PAS SI ANODIN OMNIPRÉSENT DANS NOTRE ALIMENTATION. publique, Institut Scientifique de Santé. 21 août 2014.

[77]. Lewis A, Kazantis N, Fishtik I, et al. Integrating process safety with molecular modelling based risk assessment of chemicals within REACH regulatory frame work: benefit and future challenges. *J Hasard Mat.* 2007. pages 592-602.

[78]. Lockey. S.D, allergic réaction due to FD and C yellow n°5 tartrazine an aniline dye used as a coloring and identifying agent in varions stéroïde *Ann.allergy.* 1959. pages 719-721.

[79]. Maron BN, DM and Ames. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res.* (1983) Pages 201- 222

[80]. Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I and Kirsch-Volders M. Chromosomal changes induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie.* (2006) .

- [81]. Measures, European Union. Commission regulation (EC) No. 884/2007 on emergency. 2007
- [82]. Miller, J.A. et Miller, E.C. Origins of human cancer; Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor,.1977, page 605.
- [83]. Moneret vautrín D.A et Grillat J.P. Allergie digestive ,épidémiologie , diagnostic et traitement Med et Nut. 1979. Page 301-308
- [84]. Natarajan R, AT and Nilsson. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells of copper smelter workers, with special regard to arsenic exposure. Int Arch Occup Environ Health. (2007) .
- [85]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine 8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA. 23
- [86]. Natural Colorants for Food and Nutraceutical. Delgado-Vargas, F., Paredes-López, O. 2003.
- [87]. Norppa M, H and Fenech. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis. (2007)
- [88]. Papić S kopričanac N, Bošić, A.L.C. Removal of reactive dyes from wastewater using Fe (III) coagulant, color, Technol pages 352-358. (2000).
- [89]. Picotier. Baley, McCurdy et Banker,.Pharmaceutical Dosage Forms- Comprimés. deuxième. pages 116 ,117. Vol. 1.
- [90]. Podczek . F, & Jones. Partie A: Polymer Chemistry.capsules pharmaceutiques. deuxième. (2004). Pages 238-239.
- [91]. Raer. R.C. Leider M. and Mayer R.L. possible excematous cross hypersensitivity between paraphylene diamine and azodye , certified for uses in food drugs and cosmetics Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948. pages 489-494.

[92]. Recherche Produits page de recherche du service du repertoire toxicologique.acces par nom ou mieux par numero cas CSST >. (Commission de la Santé et de la Sécurité du travail, Canada)

[93]. recueil international de législation sanitaire. 1969.

[94]. Rofe. P. Azodyes and heinz bodies , brit. J .industr.Med. 1957. pages 275 -280.

[95]. Rosenkranz HS, Cunningham AR and Zhang YP, et al. Development, characterization and application of predictive-toxicology models. SAR QSAR Environ Res. 1999. Pages 277-98.

[96]. Rowe. RC. L'opacité des revêtements de film de comprimés. J Pharm Pharmacol,PubMed. 1984. pages 569-572.

[97]. Roxon J. Ryan A.J. et Wright S.E. Reduction of water soluble azodyes by intestinal bacteria Food cosme. 1967. pages 367-369.

[98]. SHILM, FANG H, TONG W, WU J, PERKINS R, et coll. QSAR Models using a large divers set of estrogens J Chem Inf Comput Sci. 2001. pp. 41 : 186-195.

[99]. Smith CJ, Bombick DW, Ryan BA, Morgan WT and Doolittle DJ. Urinary mutagenicity nonsmokers following exposure to fresh diluted sidestream cigarette smoke. Mutat Res. (2000) .page 203

[100]. Technologie., Science Citoyen > Dossier Additifs alimentaires Science Citoyen est réalisé avec le soutien de l'Université de Strasbourg et l'appui de la Région Alsace et de la Délégation Régionale française.

[101]. Teschke K, Hertzman C, Van Netten C, Lee E, Morrison B, Cornista A, Lau G and Hundal A. Potential exposure of cooks to airborne mutagens and carcinogens. Environ Res. (1989) .Page 200

[102]. Cook et all , Rodent leydig cell tumorigenesis : A Review of the physiology , pathology , Mechanisms and relevance to humans. Toxicol 1999 . pages 169-261

[103]. U.E. Règlement CE 889/2008 sur la production biologique, l'étiquetage et les contrôles et 10-2012.

[104]. Union Fédérale des Consommateurs (UFC–QueChoisir) › Liste des additifs alimentaire L'UFC est une association française pour la défense des intérêts des consommateurs, indépendante de l'Etat, des syndicats, des producteurs et des distributeurs depuis 1951

[105]. US Food and Drug Administration). U.S. Food and Drug Administration, 2015. Declaration of Presence of FD&C Yellow No. 5. 2015.

[106]. Viraraghavan .Y. Fu., T " Fungal de colorizationof dye wastewater : a review" Bioresarches technology. 2001. Pages 251-262.

[107]. walker. R, The metabolism of azocompounds : a review of the littérature Food cosmet . toxicol. 1970. pages 659-676.

SITES INTERNET

[108]. Allallergy.net Additives &Preservatives [.https://www.Tartrazine Site+Allallergy.net+Databases+BA+Additives+Preservatives+12-2012.](https://www.Tartrazine Site+Allallergy.net+Databases+BA+Additives+Preservatives+12-2012)

[109]. Allallergy.net Additives &Preservatives <http://carbonate de calcium/allallergy.net/allergenfind.cfm>

[110]. Base de données des additifs : [https://Site+du+Base+de+donne+des+additifs+Grimm Hans-12-2012.](https://Site+du+Base+de+donne+des+additifs+Grimm Hans-12-2012)

[111]. Leadscope toxicity database_chemoinformatics plateforme for drugs discovery <https://www.leadscope.com/Ffaq/Leadscope Model Applier and the ICH M7 FAQs 21-October-2013.pdf>

[112]. Le Guide des Additifs Alimentaires :[https://www.additifs alimentaires.net.4Le+Guide+des+Additifs+Alimentaires/Site+priv%C3%A9+d%27informations+compil/es+sur+les+additifs/instar+de+www.additifs-alimentaires.net.&oq=www.additifs-alimentaires.net.](https://www.additifs alimentaires.net.4Le+Guide+des+Additifs+Alimentaires/Site+priv%C3%A9+d%27informations+compil/es+sur+les+additifs/instar+de+www.additifs-alimentaires.net.&oq=www.additifs-alimentaires.net)



ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I : Quelques notices utilisées.....	I
ANNEXE II : Directive concernant les colorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires.....	IV
ANNEXE III : Liste des colorants alimentaires autorisés	VIII
ANNEXE IV: Liste des colorants approuvés par l'UE, les États-Unis, le Canada et le Japon.....	X
ANNEXE V : Directive établissant des critères de pureté spécifiques pour les colorants pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires.....	XII
ANNEXE VI: Spécification générales relatives aux laques aluminiques à partir de matière colorant.....	XIV
ANNEXE VII : Questions de l'arbre de décision Cramer: le schéma d'origine (Q1-33) et le régime étendu (Q40-44) telle que transposée dans le logiciel Toxtree.....	XVI

ANNEXE I : QUELQUES NOTICES UTILISÉES

Laboratoire EL KENDI

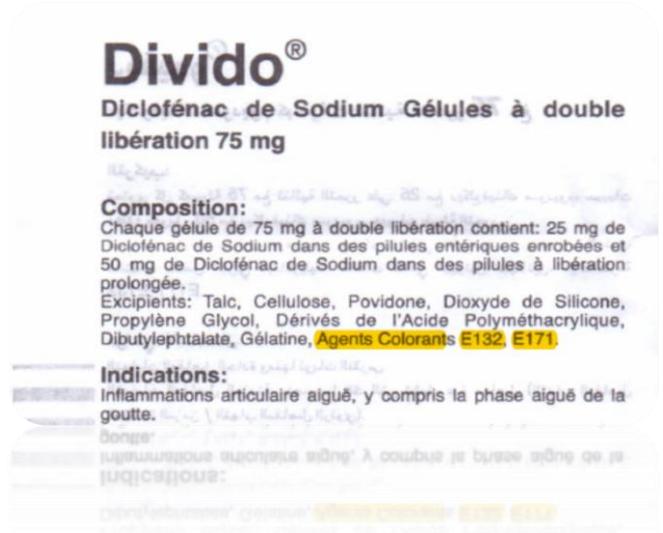
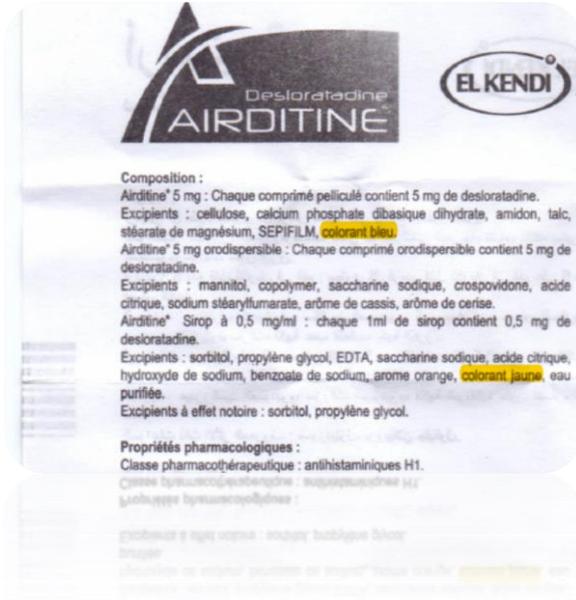


Figure 01 : Airditine® Desloratadine

Figure 02 : Divido® Diclofenac de Na

Laboratoire BEKER

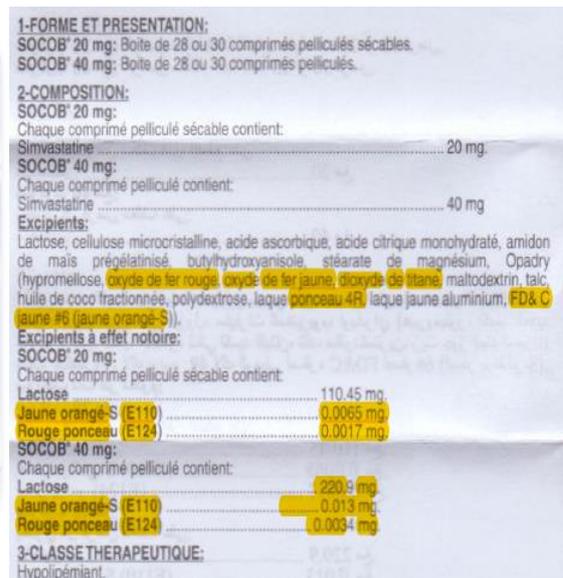
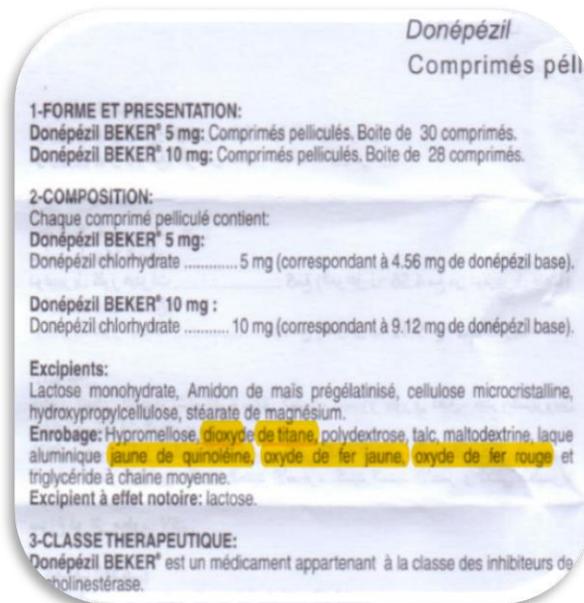


Figure 03 :Donépézil® Donépézil chlohydrate

Figure 04 : Socob®Simastatine

Laboratoire Merinal

ALDOMET® 250
Méthyl dopa 250 mg, comprimé pelliculé

Veuillez lire avec attention cette notice avant de prendre votre médicament, même s'il ne s'agit que d'un renouvellement d'ordonnance. En effet, certaines des informations figurant dans la version précédente de la notice pourront avoir été mises à jour. N'oubliez pas que votre médecin ne vous a prescrit ce médicament qu'à vous. Ne le donnez à personne d'autre.

QU'EST-CE QU'ALDOMET ?
ALDOMET (Méthyl dopa) est un comprimé pelliculé.
Chaque comprimé pelliculé contient 250 mg de méthyl dopa, qui est le principe actif du médicament.
De plus, ALDOMET contient les ingrédients inactifs suivants :
Éthylcellulose, acide citrique anhydride, édétate disodique de calcium, gomme guar, dioxyde de silice colloïde, cellulose en poudre, stéarate de magnésium, cellulose d'hydroxypropylméthyl 2910 (6 CPS), **dioxyde de titane**, talc, laque d'aluminium D & C jaune N° 10, **oxyde ferrique rouge**, propylène glycol, cire de Carnauba, q.s.p. un comprimé pelliculé.

ALDOMET 250 mg est disponible en boîtes de 30 comprimés pelliculés.
ALDOMET est un médicament qui appartient au groupe de substances appelées agents sympatholytiques à action centrale.

DÉTENTEUR DE LA DÉCISION D'ENREGISTREMENT :

Figure 05 : Aldomet ®Méthyl dopa

Laboratoire Sanofi

AMAREL 1 mg, comprimé
- La substance active est le glimépiride
- Les autres composants : Lactose monohydraté, carboxyméthylamidon povidone 25000 cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, **oxyde de fer rouge**.

AMAREL 2 mg, comprimé
- La substance active est le glimépiride
- Les autres composants : Lactose monohydraté, carboxyméthylamidon, povidone 25000, cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, **oxyde de fer jaune, laque aluminique d'indigotine**.

AMAREL 3 mg, comprimé
- La substance active est le glimépiride
- Les autres composants : Lactose monohydraté, carboxyméthylamidon, povidone 25000, cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, **oxyde de fer jaune**.

AMAREL 4 mg, comprimé
- La substance active est le glimépiride
- Les autres composants : Lactose monohydraté, carboxyméthylamidon, povidone 25000, cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, **laque aluminique d'indigotine**.

AMAREL 6 mg, comprimés
- La substance active est le glimépiride
- Les autres composants: lactose monohydraté, carboxyméthylamidon sodique, povidone 25000, cellulose microcristalline, stéarate de magnésium, **laque aluminique de jaune orangé S (E110)**.

Figure 06 : Amarel ®Glimépiride

Laboratoire Bayer

6. INFORMATIONS SUPPLEMENTAIRES :

Que contient Jasmine

La substance active est drospirénone et éthinyloestradiol

Chaque comprimé contient 3 milligrammes de drospirénone et 0.030 milligrammes éthinyloestradiol

Les autres composants (excipients) sont :

Lactose monohydraté, amidon de maïs, amidon prégélatinisé (de l'amidon de maïs) povidone K25, stéarates de magnésium (Ph. Eur), hypromélose, macrogol 6000, Talc, dioxyde de titane (E171), oxyde de fer, jaune (E172)

Forme de Jasmine et contenu de la boîte

Chaque blister de Jasmine contient 21 comprimés pelliculés de couleur jaune claire. Les comprimés Jasmine sont des comprimés pelliculés, le noyau du comprimé est pelliculé, les comprimés sont de couleur jaune clair, rond biconvexes, une face porte la mention " DO " hexagonal

Jasmine est disponible en boîtes de 1, 3 et 6 plaquettes chacune contenant 21 comprimés.

Figure 07 : Jasmine® Ethinyloestradiol /Drospirénone

Laboratoire Biopharm

 **RYNZA®**
Poudre pour solution buvable.

 **FORME ET PRESENTATION :**
Poudre pour solution buvable
Boîte de 5 sachets.

 **COMPOSITION :**
Chaque sachet de 5 g contient :

Paracétamol	750 mg
Maléate de phéniramine	20 mg
Phényléphrine hydrochloride	10 mg
Caféine	30 mg

Excipients : acide citrique anhydre, saccharine sodique, citrate de sodium, saccharose, jaune orangé S (E110), arôme orange.
Excipients à effet notoire : saccharose, jaune orangé S (E110).

 **CLASSE THERAPEUTIQUE :**
RYNZA® agit en exerçant 4 actions pharmacologiques :

- Paracétamol: analgésique et antipyrétique.
- Caféine: Stimulant central.
- Maléate de phéniramine: antihistaminique qui réduit les rhinorrhées et larmoiements.
- Phényléphrine hydrochloride: sympathomimétique, décongestionnant nasal par voie systémique.

Figure 08 : Rynza ®

ANNEXE II : DIRECTIVE CONCERNANT LES COLORANTS DESTINÉS A ÊTRE EMPLOYÉS DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES

10. 9. 94

Journal officiel des Communautés européennes

N° L 237/13

DIRECTIVE 94/36/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL

du 30 juin 1994

concernant les colorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires

LE PARLEMENT EUROPÉEN ET LE CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE,

vu le traité instituant la Communauté européenne, et notamment son article 100 A,

vu la directive 89/107/CEE du Conseil, du 21 décembre 1988, relative au rapprochement des législations des États membres concernant les additifs pouvant être employés dans les denrées destinées à l'alimentation humaine ⁽¹⁾, et notamment son article 3 paragraphe 2,

vu la proposition de la Commission ⁽²⁾,

vu l'avis du Comité économique et social ⁽³⁾,

statuant conformément à la procédure visée à l'article 189 B du traité ⁽⁴⁾,

considérant que les différences existant entre les législations nationales concernant les conditions d'emploi des colorants alimentaires entravent la libre circulation des denrées alimentaires et qu'il peut en résulter une situation de concurrence déloyale;

considérant que toute réglementation relative aux additifs alimentaires et à leurs conditions d'emploi doit avoir pour premier motif la nécessité de protéger et d'informer les consommateurs;

considérant qu'un additif alimentaire ne peut être employé que s'il est prouvé que son emploi est techniquement nécessaire et ne nuit pas à la santé;

considérant que les colorants sont utilisés pour rétablir l'aspect initial des denrées alimentaires dont la couleur a été altérée par la transformation, le stockage, l'emballage et la distribution et dont l'attrait visuel se trouve ainsi diminué;

considérant que les colorants sont utilisés pour donner une apparence plus attrayante aux denrées alimentaires et qu'ils servent aussi à identifier des arômes normalement associés à certaines denrées alimentaires et à donner une coloration à des denrées qui n'en auraient pas par elles-mêmes;

considérant qu'il est nécessaire d'inclure dans le texte de la présente directive certains colorants destinés au marquage de salubrité de la viande, sous la responsabilité du vétérinaire officiel, conformément aux exigences de la directive 91/497/CEE ⁽⁵⁾, et notamment du chapitre XI de son annexe I;

considérant que seuls les colorants autorisés par la présente directive devraient être employés pour la décoration des œufs ou pour leur estampillage, comme prévu par le règlement (CEE) n° 1274/91 ⁽⁶⁾;

considérant que les colorants sont employés en vue de renforcer les colorants naturellement présents dans les denrées alimentaires;

considérant qu'il est généralement admis que les denrées alimentaires non transformées ainsi que certaines autres denrées alimentaires de base doivent être exemptes d'additifs alimentaires;

considérant que, eu égard aux données scientifiques et toxicologiques les plus récentes sur ces substances, certaines d'entre elles ne doivent être autorisées que pour des denrées alimentaires déterminées et sous certaines conditions d'emploi;

considérant qu'il est nécessaire d'établir des règles strictes pour l'emploi des additifs alimentaires dans les aliments pour les nourrissons et les enfants en bas âge;

considérant que le comité scientifique de l'alimentation humaine a été consulté au sujet des substances qui ne font pas encore l'objet de dispositions communautaires;

considérant qu'il est souhaitable, lorsqu'il s'agit de décider si une denrée alimentaire particulière relève d'une certaine catégorie, de suivre la procédure de consultation du comité permanent des denrées alimentaires;

considérant que la présente directive remplace en partie la directive du Conseil, du 23 octobre 1962, relative au rapprochement des réglementations des États membres concernant les matières colorantes pouvant être employées dans les denrées destinées à l'alimentation humaine ⁽⁷⁾;

⁽¹⁾ JO n° L 40 du 11. 2. 1989, p. 27. Directive modifiée par la directive 94/34/CE (voir page 1 du présent Journal officiel).

⁽²⁾ JO n° C 12 du 18. 1. 1992, p. 7.

⁽³⁾ JO n° C 313 du 30. 11. 1992, p. 1.

⁽⁴⁾ Avis du Parlement européen du 10 mars 1993 (JO n° C 115 du 26. 4. 1993, p. 105), confirmé le 2 décembre 1993 (JO n° C 342 du 20. 12. 1993), position commune du Conseil du 9 mars 1994 (non encore parue au Journal officiel) et décision du Parlement européen du 9 mars 1994 (JO n° C 91 du 28. 3. 1994, p. 79).

⁽⁵⁾ JO n° L 268 du 24. 9. 1991, p. 69. Directive modifiée par la directive 92/5/CEE (JO n° L 57 du 2. 3. 1992, p. 1).

⁽⁶⁾ Règlement (CEE) n° 1274/91 de la Commission, du 15 mai 1991, établissant les modalités d'application du règlement (CEE) n° 1907/90 du Conseil concernant certaines normes de commercialisation applicables aux œufs (JO n° L 121 du 16. 5. 1991, p. 11). Règlement modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 1259/94 (JO n° L 137 du 1. 6. 1994, p. 54).

⁽⁷⁾ JO n° 115 du 11. 11. 1962, p. 2645/62. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 85/7/CEE (JO n° L 2 du 3. 1. 1985, p. 22).

considérant que seront proposées, selon la procédure prévue à l'article 11 de la directive 89/107/CEE, la modification des critères de pureté existants concernant les matières colorantes ainsi que de nouvelles spécifications relatives aux colorants pour lesquels il n'existe pas de critères de pureté;

considérant que, pour protéger les consommateurs, la Communauté doit encourager la recherche sur les effets potentiels (dont les effets cumulatifs et synergiques) des colorants alimentaires sur la santé humaine, en particulier de ceux dont l'innocuité est controversée,

ONT ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

1. La présente directive est une directive spécifique faisant partie de la directive globale au sens de l'article 3 de la directive 89/107/CEE.

2. Aux fins de la présente directive, on entend par «colorants» des substances qui ajoutent ou redonnent de la couleur à des denrées alimentaires; il peut s'agir de constituants naturels de denrées alimentaires ou d'autres sources naturelles, qui ne sont pas normalement consommés comme aliments en soi et ne sont pas habituellement utilisés comme ingrédients caractéristiques dans l'alimentation.

Sont des colorants au sens de la présente directive les préparations obtenues à partir de denrées alimentaires et d'autres matériaux de base naturels par extraction physique et/ou chimique conduisant à une extraction sélective des pigments par rapport aux constituants nutritifs ou aromatiques.

3. Toutefois, les substances indiquées ci-dessous ne sont pas considérées comme des colorants aux fins de la présente directive:

- les denrées alimentaires, séchées ou concentrées, et les arômes entrant dans la fabrication de denrées alimentaires composées, en raison de leurs propriétés aromatiques, sapides ou nutritives, tout en ayant un effet colorant secondaire, notamment le paprika, le curcuma et le safran,
- les colorants utilisés pour la coloration des parties extérieures non comestibles de denrées alimentaires, telles que les croûtes de fromage et les boyaux de charcuterie.

Article 2

1. Seules les substances énumérées à l'annexe I peuvent être utilisées comme colorants dans les denrées alimentaires.

2. Les colorants ne peuvent être utilisés que dans les denrées alimentaires énumérées aux annexes III, IV et V et dans les conditions qui y sont spécifiées; les colorants

peuvent être utilisés dans ces mêmes denrées alimentaires lorsqu'ils sont destinés à des usages particuliers conformément à la directive 89/398/CEE ⁽¹⁾.

3. Il ne peut être employé de colorants dans les denrées alimentaires énumérées à l'annexe II, sauf lorsque cela est spécifiquement prévu par les dispositions des annexes III, IV ou V.

4. Les colorants autorisés uniquement pour certaines utilisations sont énumérés à l'annexe IV.

5. Les colorants généralement autorisés dans les denrées alimentaires, ainsi que leurs conditions d'emploi, sont énumérés à l'annexe V.

6. Les quantités maximales indiquées dans les annexes:

- concernent des denrées alimentaires prêtes à être consommées, préparées selon les instructions du fabricant,
- désignent les quantités de principe colorant contenues dans la préparation colorante.

7. Dans les annexes de la présente directive, l'expression «*quantum satis*» indique qu'aucune quantité maximale n'est spécifiée. Toutefois, les matières colorantes sont employées conformément aux bonnes pratiques de fabrication, en quantité ne dépassant pas la quantité nécessaire pour obtenir l'effet désiré et à condition de ne pas induire le consommateur en erreur.

8. Aux fins du marquage de salubrité prévu par la directive 91/497/CEE et d'autres marquages requis pour les produits à base de viande, seuls peuvent être utilisés les colorants E 155 brun HT, E 133 bleu brillant FCF ou E 129 rouge allura AC ou encore un mélange approprié de E 133 bleu brillant FCF et de E 129 rouge allura AC.

9. Seuls les colorants énumérés à l'annexe I peuvent être utilisés pour la coloration décorative des coquilles d'œuf ou pour leur estampillage, comme le prévoit le règlement (CEE) n° 1274/91.

10. Seuls les colorants énumérés à l'annexe I, à l'exception du E 123, E 127, E 128, E 154, E 160b, E 161g, E 173 et E 180, peuvent être vendus directement aux consommateurs.

11. Au sens de la présente directive, les denrées alimentaires non transformées sont celles qui n'ont subi aucun traitement entraînant un changement substantiel de leur état original. Toutefois, elles peuvent par exemple avoir été divisées, séparées, tranchées, désossées, hachées, écorchées, épluchées, pelées, moulues, coupées, lavées, parées, surgelées, congelées, réfrigérées, broyées ou décorées, conditionnées ou non.

⁽¹⁾ JO n° L 186 du 30. 6. 1989, p. 27.

Article 3

Sans préjudice d'autres dispositions communautaires, la présence d'un colorant dans une denrée alimentaire est autorisée:

— dans une denrée alimentaire composée, pour autant que cette denrée ne figure pas à l'annexe II, dans la mesure où ce colorant est autorisé dans l'un des ingrédients qui constituent la denrée alimentaire composée

ou

— si cette denrée alimentaire est destinée uniquement à la préparation d'une denrée alimentaire composée conforme aux dispositions de la présente directive.

Article 4

Il peut être décidé, selon la procédure prévue à l'article 5, si une denrée alimentaire particulière relève de l'une des catégories de denrées alimentaires mentionnées dans les annexes et si des substances sont des colorants au sens de l'article 1^{er}.

Article 5

1. Lorsque la procédure prévue au présent article doit être appliquée, la Commission est assistée par le comité permanent des denrées alimentaires, institué par la décision 69/414/CEE ⁽¹⁾, ci-après dénommé «comité».

2. Le président saisit le comité de sa propre initiative ou à la demande du représentant d'un État membre.

3. Le représentant de la Commission soumet au comité un projet des mesures à prendre. Le comité émet son avis sur ce projet, dans un délai que le président peut fixer en fonction de l'urgence de la question. L'avis est émis à la majorité prévue à l'article 148 paragraphe 2 du traité pour l'adoption des décisions que le Conseil est appelé à prendre sur proposition de la Commission. Lors des votes au sein du comité, les voix des représentants des États membres sont affectées de la pondération définie à l'article précité. Le président ne prend pas part au vote.

4. a) La Commission arrête les mesures envisagées lorsqu'elles sont conformes à l'avis du comité.

b) Si les mesures envisagées ne sont pas conformes à l'avis du comité, ou en l'absence d'avis, la Commission soumet sans tarder au Conseil une propo-

sition relative aux mesures à prendre. Le Conseil statue à la majorité qualifiée.

Si, à l'expiration d'un délai de trois mois à compter de la saisine du Conseil, celui-ci n'a pas statué, les mesures proposées sont arrêtées par la Commission.

Article 6

Les États membres instaurent, dans un délai de trois ans à compter de l'adoption de la présente directive, des systèmes de contrôle de la consommation et de l'emploi des colorants et rendent compte de leurs constatations à la Commission.

La Commission fait rapport au Parlement européen, dans un délai de cinq ans à compter de l'adoption de la présente directive, sur les changements intervenus en ce qui concerne le marché des colorants, leurs niveaux d'emploi et de consommation.

Conformément aux critères généraux de l'annexe II point 4 de la directive 89/107/CEE, dans un délai de cinq ans à compter de l'adoption de la présente directive, la Commission réexamine les conditions d'emploi qui y figurent et propose des modifications, le cas échéant.

Article 7

Les dispositions des articles 1^{er} à 7, de l'article 8 paragraphe 1 deuxième tiret et paragraphe 2 et des articles 9 à 15 de la directive du Conseil du 23 octobre 1962 sur les matières colorantes pouvant être employées dans les denrées destinées à l'alimentation humaine sont abrogées.

Les références faites aux dispositions abrogées s'entendent comme faites aux dispositions correspondantes de la présente directive.

Article 8

À la date d'entrée en vigueur de la présente directive, la Commission lancera, de concert avec le Parlement européen, les ministères nationaux, les industries alimentaires, le commerce de détail alimentaire et les associations de consommateurs, une campagne d'information des consommateurs sur les procédures d'évaluation et d'autorisation des colorants agréés ainsi que sur la signification du système de numérotation «E».

Article 9

1. Les États membres mettent en vigueur, au plus tard le 31 décembre 1995, les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive. Ces dispositions visent à:

⁽¹⁾ JO n° L 291 du 19. 11. 1969, p. 9.

- autoriser, au plus tard le 31 décembre 1995, la commercialisation et l'emploi des produits conformes à la présente directive,
- interdire, au plus tard le 30 juin 1996, la commercialisation et l'emploi des produits non conformes à la présente directive; les produits mis sur le marché ou étiquetés avant cette date qui ne satisfont pas aux exigences de la présente directive peuvent toutefois être commercialisés jusqu'à épuisement des stocks.

Les États membres en informent immédiatement la Commission.

2. Lorsque les États membres adoptent les dispositions visées au paragraphe 1, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.

Article 10

La présente directive entre en vigueur le jour de sa publication au *Journal officiel des Communautés européennes*.

Article 11

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 30 juin 1994.

Par le Parlement européen

Le président

E. KLEPSCH

Par le Conseil

Le président

A. BALTAS

ANNEXE III : LISTE DES COLORANTS ALIMENTAIRES AUTORISÉS

10. 9. 94

Journal officiel des Communautés européennes

N° L 237/17

ANNEXE I

LISTE DES COLORANTS ALIMENTAIRES AUTORISÉS

N.B.: Les laques aluminiques préparées à partir de ces matières colorantes sont également autorisées.

N° CE	Dénomination usuelle	Numéro d'index (1) ou description
E 100	Curcumine	75300
E 101	i) Riboflavine ii) Phosphate-5' de riboflavine	
E 102	Tartrazine	19140
E 104	Jaune de quinoléine	47005
E 110	<i>Sunset yellow</i> FCF Jaune orange S	15985
E 120	Cochenille, acide carminique, carmins	75470
E 122	Azorubine, carmoisine	14720
E 123	Amarante	16185
E 124	Ponceau 4R, rouge cochenille A	16255
E 127	Erythrosine	45430
E 128	Rouge 2G	18050
E 129	Rouge allura AC	16035
E 131	Bleu patenté V	42051
E 132	Indigotine, carmin d'indigo	73015
E 133	Bleu brillant FCF	42090
E 140	Chlorophylles et chlorophyllines: i) Chlorophylles ii) Chlorophyllines	75810 75815
E 141	Complexes cuivre-chlorophylles et chlorophyllines i) Complexes cuivre-chlorophylles ii) Complexes cuivre-chlorophyllines	75815
E 142	Vert S	44090
E 150a	Caramel ordinaire (?)	
E 150b	Caramel de sulfite caustique	
E 150c	Caramel ammoniacal	
E 150d	Caramel au sulfite d'ammonium	
E 151	Noir brillant BN, noir PN	28440
E 153	Charbon végétal médicinal	
E 154	Brun FK	
E 155	Brun HT	20285

N° CE	Dénomination usuelle	Numéro d'index ⁽¹⁾ ou description
E 160a	Caroténoïdes	
	i) Caroténoïdes mélangés	75130
	ii) Bêta-carotène	40800
E 160b	Rouge, bixine, norbixine	75120
E 160c	Extrait de paprika, capsanthine, capsorubine	
E 160d	Lycopène	
E 160e	β -apocaroténal-8' (C 30)	40820
E 160f	Ester éthylique de l'acide β -apocaroténique-8' (C 30)	40825
E 161b	Lutéine	
E 161g	Canthaxantine	
E 162	Rouge de betterave, bétanine	
E 163	Anthocyanes	Obtenus par des procédés physiques à partir de fruits et de légumes
E 170	Carbonate de calcium	77220
E 171	Dioxyde de titane	77891
E 172	Oxyde et hydroxyde de fer	77491 77492 77499
E 173	Aluminium	
E 174	Argent	
E 175	Or	
E 180	Lithol-rubine BK	

⁽¹⁾ Les numéros du «Colour index» sont ceux de la troisième édition de 1982, volumes 1-7, 1315. De même pour les modifications 37-40 (125), 41-44 (127-50), 45-48 (130), 49-52 (132-50), 53-56 (135).

⁽²⁾ Le terme «caramel» se réfère à des produits de couleur brune plus ou moins intense, destinés à la coloration. Il ne s'agit pas du produit aromatique sucré obtenu en chauffant des sucres et destiné à aromatiser des aliments (confiserie, pâtisserie, boissons alcoolisées).

ANNEXE IV: LISTE DES COLORANTS APPROUVÉS PAR L'UE, LES ÉTATS-UNIS , LE CANADA ET LE JAPON

Color name	Approved in
Acid Fuchsine	US, CA
Acid Red	JP
Alba Red	US
Alizarin Cyanine Green	US, CA
Alizarin Violet	US
Alizurool Purple SS	US
Allura Red AC E129	EU, US,
Allura Red AC	EU, US
Alphazurine FG	US
Amaranth E123	EU, JP
Brilliant Black BN E151	EU
Brilliant Blue FCF E133	EU, US, CA
Brown HT E155	EU
Carmoisine E122	EU, US
Copper Phthalocyanine	US
Dibromofluorescein	US
Diiodofluorescein	US
Eosine	US, CA
Erythrosine E127	EU, US, CA, JP
Fast Green FCF	US, CA, JP
Flaming Red	US, CA
Fluorescein	US
Green S E142	EU
Helindone Pink CN	US, CA
Indigo	US
Indigotine E132	EU, US, CA, JP
Lithol Rubin B	US, CA
Lithol Rubin B Ca	US, CA
Naphthol Yellow S	US

Orange II	US
Patent Blue V E131	EU
Phloxine B	US, CA, JP
Ponceau 4R E124	EU, CA, JP
Ponceau SX	US, CA
Pyranine Concentrated	US
Quinizarine Green SS	US
Quinoline Yellow E104	EU, US
Resorcin Brown	US
Rose Bengal	JP
Sunset Yellow FCF E110	EU, US, CA, JP
Tartrazine E102	EU, US, CA, JP
Tetrabromo Fluorescein	US
Tetrachlorotetra-Bromofluorescein	US
Toney Red	US
Uranine	US

UE = Union européenne; États-Unis = États-Unis; CA = Canada; JP = Japon.

Les colorants approuvés énumérés par la

ANNEXE V: DIRECTIVE ÉTABLISSANT DES CRITÈRES DE PURETÉ SPÉCIFIQUES POUR LES COLORANTS ALIMENTAIRES

L 6/20

FR

Journal officiel de l'Union européenne

10.1.2009

DIRECTIVES

DIRECTIVE 2008/128/CE DE LA COMMISSION

du 22 décembre 2008

établissant des critères de pureté spécifiques pour les colorants pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires

(version codifiée)

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 89/107/CEE du Conseil du 21 décembre 1988 relative au rapprochement des législations des États membres concernant les additifs pouvant être employés dans les denrées destinées à l'alimentation humaine⁽¹⁾, et notamment son article 3, paragraphe 3, point a),

considérant ce qui suit:

- (1) La directive 95/45/CE de la Commission du 26 juillet 1995 établissant des critères de pureté spécifiques pour les colorants pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires⁽²⁾ a été modifiée à plusieurs reprises et de façon substantielle⁽³⁾. Il convient, dans un souci de clarté et de rationalité, de procéder à la codification de ladite directive.
- (2) Il est nécessaire d'établir des critères de pureté pour tous les colorants mentionnés dans la directive 94/36/CE du Parlement européen et du Conseil du 30 juin 1994 concernant les colorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires⁽⁴⁾.
- (3) Il est nécessaire de tenir compte des spécifications et des techniques d'analyse relatives aux colorants figurant dans le Codex Alimentarius établi par le comité mixte FAO/OMS d'experts en matière d'additifs alimentaires (CMEAA).
- (4) Les additifs alimentaires issus de méthodes de production ou de matières premières significativement différentes de celles évaluées par le comité scientifique de l'alimentation humaine ou différentes de celles mentionnées dans la présente directive doivent être soumis à l'Autorité européenne de sécurité des aliments en vue d'une évaluation de leur sécurité, en accordant une attention particulière aux critères de pureté.
- (5) Les mesures prévues à la présente directive sont conformes à l'avis du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale.

- (6) La présente directive ne doit pas porter atteinte aux obligations des États membres concernant les délais de transposition en droit national des directives indiqués à l'annexe II, partie B.

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

Les critères de pureté visés à l'article 3, paragraphe 3, point a), de la directive 89/107/CEE, qui sont applicables aux colorants mentionnés dans la directive 94/36/CE, figurent à l'annexe I de la présente directive.

Article 2

La directive 95/45/CE, telle que modifiée par les directives visées à l'annexe II, partie A, est abrogée, sans préjudice des obligations des États membres en ce qui concerne les délais de transposition en droit national des directives indiqués à l'annexe II, partie B.

Les références faites à la directive abrogée s'entendent comme faites à la présente directive et sont à lire selon le tableau de correspondance figurant à l'annexe III.

Article 3

La présente directive entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 22 décembre 2008.

Par la Commission

Le président

José Manuel BARROSO

⁽¹⁾ JO L 40 du 11.2.1989, p. 27.

⁽²⁾ JO L 226 du 22.9.1995, p. 1.

⁽³⁾ Voir annexe II, partie A.

⁽⁴⁾ JO L 237 du 10.9.1994, p. 13.

ANNEXE VI : SPÉCIFICATIONS GÉNÉRALES RELATIVES AUX LAQUES ALUMINIQUES A PARTIR DE MATIÈRES COLORANTES

10.1.2009

FR

Journal officiel de l'Union européenne

L 6/21

ANNEXE I

A. SPÉCIFICATIONS GÉNÉRALES RELATIVES AUX LAQUES ALUMINIQUES PRÉPARÉES À PARTIR DE MATIÈRES COLORANTES

Définition	Les laques aluminiques sont préparées en faisant réagir des matières colorantes répondant aux critères de pureté indiqués dans les monographies correspondantes avec de l'alumine en milieu aqueux. L'alumine est généralement la matière non séchée obtenue extemporanément par réaction de sulfate ou de chlorure d'aluminium sur du carbonate ou bicarbonate de sodium ou de calcium ou de l'ammoniaque. Après formation des laques, le produit est filtré, lavé à l'eau et séché. Le produit fini peut également contenir de l'alumine qui n'a pas réagi.
Matières insolubles dans HCl	Pas plus de 0,5 %
Matières extractibles à l'éther	Pas plus de 0,2 % (en milieu neutre)
	Les critères de pureté spécifiques correspondant aux différentes matières colorantes sont applicables.

B. CRITÈRES DE PURETÉ SPÉCIFIQUES

E 100 CURCUMINE

Synonymes	Jaune naturel CI n° 3, jaune de curcuma, diféroylméthane
Définition	La curcumine est extraite par solvant du turméról, c'est-à-dire des rhizomes broyés de souches naturelles de <i>Curcuma longa</i> L. L'extrait est purifié par cristallisation en vue d'obtenir de la poudre de curcumine concentrée. Le produit est essentiellement composé de curcumine, c'est-à-dire de principe colorant [bis-(hydroxy-4-méthoxy-3-phényl)-1,7-heptadiène-1,6-dione-3,5] et de ses deux dérivés déméthoxy en différentes proportions. Il peut également comprendre de faibles quantités d'huiles et de résines naturellement présentes dans le curcuma. Seuls les solvants suivants peuvent être utilisés pour l'extraction: acétate d'éthyle, acétone, dioxyde de carbone, dichlorométhane, n-butanol, méthanol, éthanol, hexane.
Classe	Dicinnamoylméthane
Numéro d'index	75300
Einecs	207-280-5
Dénomination	I Bis-(hydroxy-4-méthoxy-3-phényl)-1,7-heptadiène-1,6-dione-3,5 II (Hydroxy-4-phényl)-1-(hydroxy-4-méthoxy-3-phényl)-7-heptadiène-1,6-dione-3,5 III Bis-(hydroxy-4-phényl)-1,7-heptadiène-1,6-dione-3,5
Formule chimique	I C ₂₁ H ₂₀ O ₆ II C ₂₀ H ₁₈ O ₅ III C ₁₉ H ₁₆ O ₄
Poids moléculaire	I: 368,39 II: 338,39 III: 308,39
Composition	Pas moins de 90 % de matières colorantes totales E _{1 cm} ^{1 %} 1 607 à environ 426 nm dans l'éthanol
Description	Poudre cristalline jaune orangé
Identification	
A. Spectrométrie	Absorption maximale dans l'éthanol à environ 426 nm E _{1 cm} ^{1 %} environ 1 565 nm
B. Intervalle de fusion	179 °C-182°C

Pureté	
Résidus de solvants	Acétate d'éthyle Acétone Méthanol Éthanol Hexane n-butanol Dichlorométhane: pas plus de 10 mg/kg
	} pas plus de 50 mg/kg, seuls ou en association
Arsenic	Pas plus de 3 mg/kg
Plomb	Pas plus de 10 mg/kg
Mercuré	Pas plus de 1 mg/kg
Cadmium	Pas plus de 1 mg/kg
Métaux lourds (exprimés en plomb)	Pas plus de 40 mg/kg
E 101 (i) RIBOFLAVINE	
Synonymes	Lactoflavine
Classe	Isoalloxazine
Einescs	201-507-1
Dénomination chimique	Diméthyl-7,8-(D-ribo-tétrahydroxy-2,3,4,5-pentyl)-benzo(g)ptéridine-dione-2,4(3H,10H) Diméthyl-7,8-(D-ribityl-1')-10-isoalloxazine
Formule chimique	$C_{17}H_{20}N_4O_6$
Poids moléculaire	376,37
Composition	Pas moins de 98 % calculés sur la base de la forme anhydre $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 328 à environ 444 nm dans une solution aqueuse Poudre cristalline jaune à jaune orangé ayant une légère odeur
Description	
Identification	
A. Spectrométrie	Rapport DO_{375}/DO_{267} compris entre 0,31 et 0,33 Rapport DO_{444}/DO_{267} compris entre 0,36 et 0,39 Absorption maximale dans l'eau à environ 444 nm
	} dans une solution aqueuse
B. Pouvoir rotatoire spécifique	$[\alpha]_D^{20}$ - 115° à - 140° dans une solution de soude caustique à 0,05 N
Pureté	
Perte par déshydratation	Pas plus de 1,5 % après séchage à 105 °C pendant 4 heures
Cendres sulfuriques	Pas plus de 0,1 %
Amines aromatiques primaires	Pas plus de 100 mg/kg (exprimées en aniline)
Arsenic	Pas plus de 3 mg/kg
Plomb	Pas plus de 10 mg/kg
Mercuré	Pas plus de 1 mg/kg
Cadmium	Pas plus de 1 mg/kg
Métaux lourds (exprimés en plomb)	Pas plus de 40 mg/kg
E 101 (ii) RIBOFLAVINE-5'-PHOSPHATE	
Synonymes	Riboflavine-5'-phosphate de sodium
Définition	Les présentes spécifications s'appliquent à la riboflavine 5'-phosphate associée à de faibles quantités de riboflavine libre et de riboflavine diphosphate

Classe	Isoalloxazine
Einecs	204-988-6
Dénomination chimique	Sel monosodique de (2R,3R,4S)-(dihydro-3',10'-diméthyl-7',8'-dioxo-2',4'-benzo[g]ptéridinyl-10'- dinyl-5-trihydroxy-2,3,4-pentyle phosphate; sel monosodique de l'ester 5'-monophosphate de la riboflavine
Formule chimique	Pour la forme dihydrate: $C_{17}H_{20}N_4NaO_9P \cdot 2H_2O$ Pour la forme anhydre: $C_{17}H_{20}N_4NaO_9P$
Poids moléculaire	541,36
Composition	Pas moins de 95 % de matières colorantes totales, exprimées en $C_{17}H_{20}N_4NaO_9P \cdot 2H_2O$ $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ 250 à environ 375 nm dans une solution aqueuse
Description	Poudre cristalline hygroscopique jaune à orangée ayant une légère odeur et une saveur amère
Identification	
A. Spectrométrie	Rapport DO_{375}/DO_{267} compris entre 0,30 et 0,34 Rapport DO_{444}/DO_{267} compris entre 0,35 et 0,40 Absorption maximale dans l'eau à environ 444 nm
B. Pouvoir rotatoire spécifique	$[\alpha]_{D_{20}} + 38^\circ$ à $+ 42^\circ$
Pureté	
Perte par déshydratation	Pas plus de 8,0 % (à 100 °C pendant 5 heures sous vide et sur P_2O_5) pour la forme dihydrate
Cendres sulfuriques	Pas plus de 25 %
Phosphate inorganique	Pas plus de 1,0 % (exprimé en PO_4 sur la base de la forme anhydre)
Matières colorantes accessoires	Riboflavine (libre): Pas plus de 6 % Riboflavine diphosphate: Pas plus de 6 %
Amines aromatiques primaires	Pas plus de 70 mg/kg (exprimées en aniline)
Arsenic	Pas plus de 3 mg/kg
Plomb	Pas plus de 10 mg/kg
Mercur	Pas plus de 1 mg/kg
Cadmium	Pas plus de 1 mg/kg
Métaux lourds (exprimés en plomb)	Pas plus de 40 mg/kg
E 102 TARTRAZINE	
Synonymes	Colorant alimentaire jaune CI n° 4
Définition	La tartrazine est essentiellement constituée de sel trisodique d'hydroxy-5-(sulfo-4-phényl)-1-(sulfo-4-phénylazo)-4-H-pyrazole-carboxylate-3 et de matières colorantes accessoires associées à du chlorure et/ou du sulfate de sodium constituant les principaux composants non colorés. La tartrazine décrite est le sel de sodium. Les sels de calcium et de potassium sont également autorisés.
Classe	Monoazoïque
Numéro d'index	19140
Einecs	217-699-5
Dénomination chimique	Sel trisodique d'hydroxy-5-(sulfo-4-phényl)-1-(sulfo-4-phénylazo)-4-H-pyrazole-carboxylate-3
Formule chimique	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

ANNEXE VII: QUESTIONS DE L'ARBRE DE DÉCISION CRAMER (Q1-33) ET (Q40-44) TELLE QUE TRANSPROJEEE DANS LOGICIEL TOXTREE.

Question n°	Titre de question	Si OUI, attribuer l'étiquette	Si OUI, passez à la règle	Si NON, attribuer l'étiquette	Si NON, passez à la règle
1	constituant normal du corps	(classe I)			2
2	Contient des groupes fonctionnels associés à la toxicité accrue	(classe III)			3
3	Contient des éléments autres que C, H, O, N, S divalent		4		43
4	Des éléments non mentionnés dans Q3 se produisent seulement en tant que Na, K, Ca, Mg, sel N, sulfamate, sulfonate, sulfate, chlorhydrate ...		40	(classe III)	
40	Peut-être organophosphorés ou organophosphorothionates nuisibles ...		(classe III)		41
41	Élimine les phosphates	(classe I)			7
7	Hétérocyclique		8		16
8	Lactone ou diester cyclique		9		10
9	Lactone, fusionnée à un autre cycle, ou à 5 ou 6 chaînons α , β -insaturée lactone?	(classe III)			[Ouvrir la chaîne]
[Ouvrir la chaîne]	[Ouvrir la chaîne]		20		[Hétérocyclique]
20	Aliphatique avec certains groupes fonctionnels (voir l'explication)		21		22
21	3 ou plus groupes fonctionnels différents	(classe III)			44
44	α libre, β -insaturé	(classe			18

	hétéroatome ...	III)			
18	Un de la liste (voir l'explication)	Intermédiaire (classe II),		(classe I)	
22	composante commune de la nourriture	Intermédiaire (classe II),			33
33	A nombre suffisant de groupes sulfonates ou Sulfamate	(classe I)		(classe III)	
[Heterocycli c]	[Heterocyclic]		10		23
11	Formé d'un noyau hétérocyclique avec des substituants complexes.		33		12
12	Hétéromatiques		13		22
13	Est-ce que l'anneau porte des substituants?		14	(classe III)	
14	Plus d'un cycle aromatique		15		22
15	aisément hydrolysée		[Heterocycli c]		33
[Heterocycli c]	[Heterocyclic]		22		16
16	terpène commune	(classe I)			17
17	Aisément hydrolysé à un terpène commun		[Terpène]		19
[Terpène]	terpène commune		18		19
19	Ouvrir la chaîne		20		23
23	Aromatique		27		24
27	Anneaux avec des substituants		28	(classe III)	
28	Plus d'un cycle aromatique		29		30
29	aisément hydrolysé		[Aromatique]		33
[Aromatique]	[Aromatique]		30		19
30	Cycle aromatique avec des substituants complexes		31		[Aromatique]
31	La substance est un acétal acyclique ou ester de substances définies dans Q30?		[Aromatique]		32

[Aromatique]	[Aromatique]		18		19
32	Contient uniquement les groupes fonctionnels énumérés dans Q30 ou Q31 et ceux qui sont énumérés ci-dessous.	Intermédiaire (classe II),			22
24	Avec des substituants simples monocarboyclique		18		25
25	Cyclopropane, ...	Intermédiaire (classe II),			26
26	Monocycloalkanone ou un bicyclocompound	Intermédiaire (classe II),			22
43	soufre bivalent Peut-être nocif (non détecté via Q3) ...	(classe III)			5
5	hydrocarbure aliphatique Simplement ramifié ou un hydrate de carbone commun	(classe I)			6
6	dérivé de benzène avec certains substituants	(classe III)			42
42	analogique Peut-être nocif du benzène ...	(classe III)			7

Résumé :

Les colorants sont des composés utilisés pour colorer de façon durable la matière à laquelle ils sont mélangés ou sur laquelle ils sont appliqués. Plusieurs colorants sont naturels et sans danger. Mais la plupart de ceux qui sont les plus utilisés sont des produits chimiques de synthèse. Parmi eux, sont les colorants azoïques dont le premier, la tartrazine suivis des colorants rouges (amarante, érythrosine, rouge de cochenille...) qui sont à l'origine des grands syndromes modernes dont le cancer n'est pas le moindre.

Ils sont utilisés dans la formulation pharmaceutique pour conférer une apparence distinctive aux produits, la liste des colorants approuvés est limitée, leur sécurité est assurée par une réglementation complexe impliquée.

L'objectif de ce travail est d'étudier les colorants utilisés dans l'industrie pharmaceutique en Algérie, et démontrer leur toxicité. Les résultats de cette étude ont montrés un taux **81,25 %** des colorants qui sont génotoxiques.

Mots clés :Colorant , Génotoxicité , Industrie pharmaceutique , Réglementation

Abstract :

The dyes are compounds used for coloring in a sustainable way the material to which they are mixed or on which they are applied. Several colorants are natural and safe. But most of those who are the most used are of synthetic chemicals. Among them are the azo dyes, the first of which, the tartrazine followed by red dyes (Amaranth, Erythrosine, red of cochineal...) which are at the origin of the great modern syndromes in which the cancer is not the slightest.

They are used in pharmaceutical formulation to confer a distinctive appearance of the products, the list of dyes approved is limited, their safety is ensured by complex regulation involved.

The objective of this work is to study the dyes used in the pharmaceutical industry in Algeria, and demonstrate their toxicity. The results of this study have shown a rate **81,25 %** of dyes which are genotoxic.

Key words :Dyes, Genotoxicity , Pharmaceutical industry, Regulation

ALEM Rokaya

Adresse email : Alem.rokaya@yahoo.com

TOBAL Meriem

Adresse email : Merioumafreesdom@gmail.com

Résumé :

Les colorants sont des composés utilisés pour colorer de façon durable la matière à laquelle ils sont mélangés ou sur laquelle ils sont appliqués. Plusieurs colorants sont naturels et sans danger. Mais la plupart de ceux qui sont les plus utilisés sont des produits chimiques de synthèse. Parmi eux, sont les colorants azoïques dont le premier, la tartrazine suivis des colorants rouges (amarante, érythrosine, rouge de cochenille...) qui sont à l'origine des grands syndromes modernes dont le cancer n'est pas le moindre.

Ils sont utilisés dans la formulation pharmaceutique pour conférer une apparence distinctive aux produits, la liste des colorants approuvés est limitée, leur sécurité est assurée par réglementation complexe impliqué.

L'objectif de ce travail est d'étudier les colorants utilisés dans l'industrie pharmaceutique en Algérie, et démontrer leur toxicité. Les résultats de cette étude ont montrées un taux **81,25 %** des colorants qui sont génotoxiques.

Mots clés :Colorant , Génotoxicité , Industrie pharmaceutique , Réglementation

Abstract :

The dyes are compounds used for coloring in a sustainable way the material to which they are mixed or on which they are applied. Several colorants are natural and safe. But most of those who are the most used are of synthetic chemicals. Among them are the azo dyes, the first of which, the tartrazine followed by red dyes (Amaranth, Erythrosine, red of cochineal...) which are at the origin of the great modern syndromes in which the cancer is not the slightest.

They are used in pharmaceutical formulation to confer a distinctive appearance of the products, the list of dyes approved is limited, their safety is ensured by complex regulation involved.

The objective of this work is to study the dyes used in the pharmaceutical industry in Algeria, and demonstrate their toxicity. The results of this study have shown a rate **81,25 %** of dyes which are genotoxic.

Key words :Dyes, Genotoxicity , Pharmaceutical industry, Regulation