

ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES ALCALOÏDES TOTAUX DES GRAINES DE *DATURA STRAMONIUM* L.

BOUZIDI A ^{*1}., MAHDEB N. ^{1,2}, KARA N. ² et BENOUADAH Z. ³

* 1 Département de biochimie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas-Sétif. bouzidiab@yahoo.fr

2 Département d'agronomie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas-Sétif.

3 Département de Biologie et Physiologie animale, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas- Sétif.

Résumé : Le *Datura stramonium* est plante toxique annuelle et est très répandue en Algérie, surtout dans les régions nord. Sa toxicité est due principalement aux alcaloïdes majoritaires, l'atropine et son isomère l'hyoscyamine et la scopolamine.

L'extraction liquide- liquide des alcaloïdes totaux à partir des graines a permis d'obtenir un rendement d'extraction de $0.07 \pm 0,0245\%$. La CCM des alcaloïdes totaux des graines, a pu mettre en évidence seulement la présence des alcaloïdes majoritaires l'atropine et la scopolamine. L'analyse des alcaloïdes des graines par HPLC a confirmé la présence de l'atropine et de la scopolamine, avec des taux respectivement de 4mg et 2mg pour 100g de graines de *Datura stramonium*. En revanche des pics mineurs n'ont pu être identifiés, probablement des pseudo-alcaloïdes.

Mots-clés : *Datura stramonium*, alcaloïdes, atropine, scopolamine, analyse.

Abstract: *Datura stramonium* is an annual toxic plant and is widespread in Algeria, especially in the northern regions. Its toxicity is mainly due to majority alkaloids, atropine and its isomer hyoscyamine and scopolamine.

The liquid-liquid extraction of total alkaloids from the seeds has resulted in an extraction yield of $0.07 \pm 0.0245\%$. TLC of total alkaloids of the seeds, has been able to show only the presence of the majority alkaloids atropine and scopolamine. The analysis of the alkaloids of the seeds by HPLC confirmed the presence of atropine and scopolamine, with rates of 4 mg and 2 mg respectively per 100 g of seeds of *Datura stramonium*. However minor peaks could not be identified, probably pseudo-alkaloids

Keywords: *Datura stramonium*, alkaloids, atropine, scopolamine, analysis

Introduction

Le *Datura stramonium* L. est une plante annuelle appartenant à la famille des solonaceae. C'est une mauvaise herbe et une plante toxique pour l'homme et les animaux. L'usage abusif par les jeunes comme drogue est la cause principale des intoxications chez l'homme (Djibo et Bouzou, 2000; Cohen et al., 2003; Forrester, 2006; Benghezala et al., 2011), mais des cas d'intoxications accidentelles chez les enfants sont aussi rapportés (Salah et Awad, 1984; Bouzidi et al., 2000; Al-Shaikh and Sablay, 2005).

Les intoxications par cette plante chez les animaux, sont considérablement moins fréquentes (Binev et al., 2006), néanmoins des cas d'intoxications par le *Datura* chez les animaux de rente et de compagnie sont signalés (Cooper et Jonhson, 1984 ; Kara et al., 2009). Généralement l'intoxication par le *Datura* est liée à la distribution de foin ou d'ensilage contaminé par la plante (Cheek et Shull, 1984) ou pendant la saison sèche ou les animaux recherchent de l'herbe fraîche.

La toxicité du *Datura stramonium* est attribuée aux alcaloïdes tropaniques (atropine, hyosciamine et scopolamine). Toutes les parties de la plante sont toxiques et renferment

ces alcaloïdes tropaniques (Friedman and Levin, 1989; Miraldi et al., 2001; Berkov et al., 2006; Chollet et al., 2010).

L'objectif de ce travail est l'analyse quantitative et qualitative des alcaloïdes majoritaires des graines du *Datura stramonium*, qui sont parfois accidentellement mouluées avec des graines de maïs ou de soja, destinées à l'alimentation des animaux.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

La plante *Datura stramonium* est récoltée au mois de septembre, période de floraison et fructification, près des cultures maraîchères dans la région de Hammam Ouled Yelles, située à 25 km au sud-ouest de la ville de Sétif (Fig. 1).

Les graines récupérées des fruits récoltés après maturation, sont débarrassées de toutes les impuretés ; elles sont ensuite lavées à l'eau du robinet, séchées au laboratoire à la température ambiante située entre 25°C et 27°C, à l'abri du soleil et de la lumière pendant dix jours (Fig.2). Un spécimen de la plante est conservé au laboratoire au département de biologie Université de Sétif.



Figure1 : *Datura stramonium* L. en période de floraison et de fructification près d'un champs de culture maraîchère.



Figure 2 : Fruit et graines de *Datura stramonium*

Analyse phytochimique des alcaloïdes totaux des graines

Extraction des alcaloïdes tropaniques totaux

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

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

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

La poudre alcalinisée est placée dans une cartouche en cellulose, celle-ci est placée à son tour dans l'appareil de Soxhlet. Ce dernier est monté sur un ballon contenant 250 ml de

dichlorométhane. Les alcaloïdes en première étape sont extraits à chaud sous reflux par 250 ml de dichlorométhane pendant 3 à 4 heures (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines). A l'issue de cette opération, l'extrait brut est passé à la purification par une extraction trois successives par une solution de 150ml d'acide sulfurique (0.5N), les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, alcalinisées jusqu'à pH 9 par ajout de quelques ml d'ammoniaque (0.5N).

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

Nous récupérons les trois fractions organiques dans un erlen Mayer, qui seront déshydratées par filtration sur papier filtre soutenant du sulfate de sodium anhydre. L'extrait recueilli dans un bêcher taré est évaporé à sec sur plaque chauffante. Après refroidissement, nous pesons à nouveau le becher. Le résidu sec représente les alcaloïdes totaux (Fig. 3)

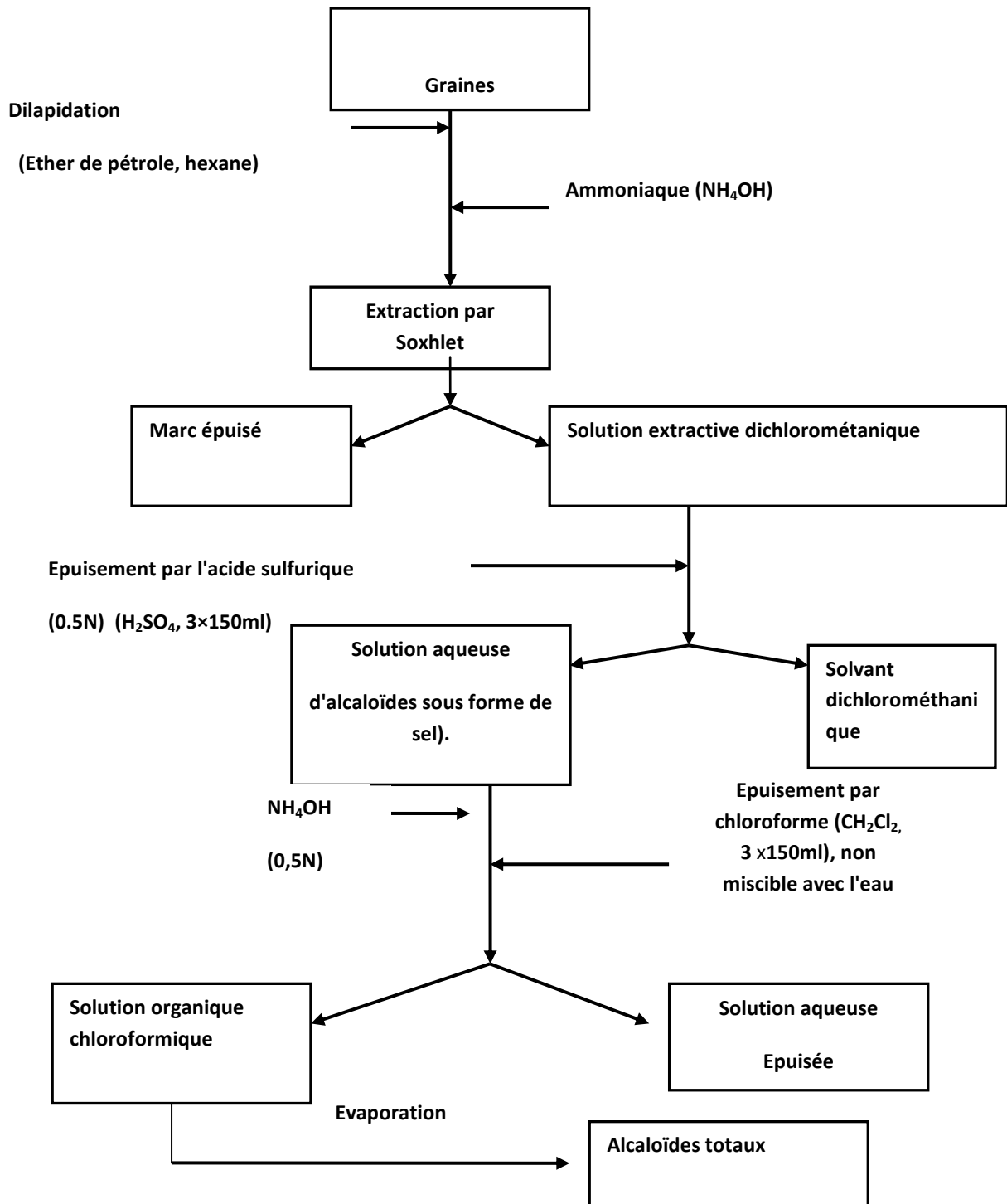


Figure 3 : Extraction des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L (Bruneton, 1999).

Analyse qualitative des alcaloïdes totaux des graines.

Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

Avant l'expérimentation sur les animaux, La chromatographie analytique a été utilisée pour vérifier la présence des alcaloïdes au moins majoritaires atropine et scopolamine dans l'extrait. Des plaques de CCM prêtes à l'emploi, de gel silice 60F – Merck sur support d'aluminium de marque Macherey-Nagel avec des dimensions 20 x 20cm ont été utilisées. La phase mobile utilisée est méthanol/chloroforme/ammoniaque: 80/20/1,5 (V/V/V).

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

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

Après dissolution des témoins et de l'extrait dans du méthanol, nous déposons 10 µl de chaque solution (témoins et extrait) à l'aide d'une micropipette sur la plaque, préalablement activée dans une étuve à 110°C pendant 3 à 5 min, à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base. Chaque dépôt est séché à l'aide d'un sèche-cheveux. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant arrive à 4 cm du bord supérieur de la plaque (la migration d'une quinzaine de cm prend plus ou moins 45mn), les chromatogrammes sont retirés séchés et pulvérisés avec le réactif de Dragendorff jusqu'à l'apparition des spots colorés, selon la méthode légèrement modifiée de Kurt (1971).

Analyse qualitative et quantitative par HPLC des alcaloïdes totaux des graines

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

Une pompe Perkin-Elmer - USA - isocratique, laChrom7100, à gradient quaternaire, une Vanne d'injection, vanne Rhéodyne, munie d'une boucle de 20µl, une colonne de silice C-18 de marque Perkin Elmer -USA-, (taille des particules : 5µm; longueur 125mm; diamètre interne 4mm), un intégrateur informatique, Perkin-Elmer-USA-.

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

L'extrait des alcaloïdes totaux des graines et les standards atropines sulfate et scopolamine hydrochloride sont solubilisés dans du méthanol grade HPLC.

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

Résultats et discussion

La plante de *Datura stramonium* est identifiée sur la base de la description des caractéristiques morphologiques de la plante (Bruneton, 1999 ; Quezal et Santa, 1963).

La plante utilisée, est récoltée dans la région de Sétif près des cultures maraichères, sur un terrain riche en matières organiques et dont le

pH est alcalin. Ces deux paramètres influencent considérablement la production des alcaloïdes dans la plante (Demeyer et Dejaegere, 1997 ; Demeyer et Dejaegere , 1995).

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

La chromatographie sur couche mince de l'extrait a permis de séparer deux substances,

un spot en bas de la plaque situé au même niveau que celui sulfate d'atropine monohydrate (témoin), et deuxième spot dans la partie supérieure situé au même niveau que celui de la scopolamine hydrochloride. Les 2 spots correspondent donc à l'atropine et la scopolamine qui sont les alcaloïdes tropaniques majoritaires, ceci concorde avec plusieurs travaux scientifiques (Aroukou et al., 2003 ; Miraldi et al. 2001; Demeyer et Dejaegere, 1997) (Fig. 4). Les pseudo-alcaloïdes n'ont pu être révélés par la CCM.

Figure 4 : Séparation par chromatographie sur couche mince des alcaloïdes tropaniques majoritaires (atropine et scopolamine) des graines de *Datura stramonium* L.

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



L'identification des composés de l'extrait des alcaloïdes totaux majoritaires des graines de *Datura stramonium* L. par HPLC s'est faite sur la base de la comparaison de leurs temps de rétention avec ceux obtenus pour les mêmes composés standard. Cette comparaison, nous a permis de confirmer la présence de deux

alcaloïdes majoritaires, scopolamine avec un temps de rétention 9.05 min, et l'atropine avec un temps de rétention 16.41 min (Fig. 5). avec un taux respectivement 4mg/100g de graines et 2mg/100mg de graines, soit 2/3 d'atropine et 1/3 de scopolamine ; ces résultats concordent avec ceux rapportés par Aroukou et al., (2003)

et Miraldi et *al.*, (2001). Des pics mineurs ont été aussi enregistrés avec des temps retentions allant de 3.34 min à 7.47min, probablement sont des pseudo-alcaloïdes. Les taux de l'atropine et la scopolamine respectivement

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

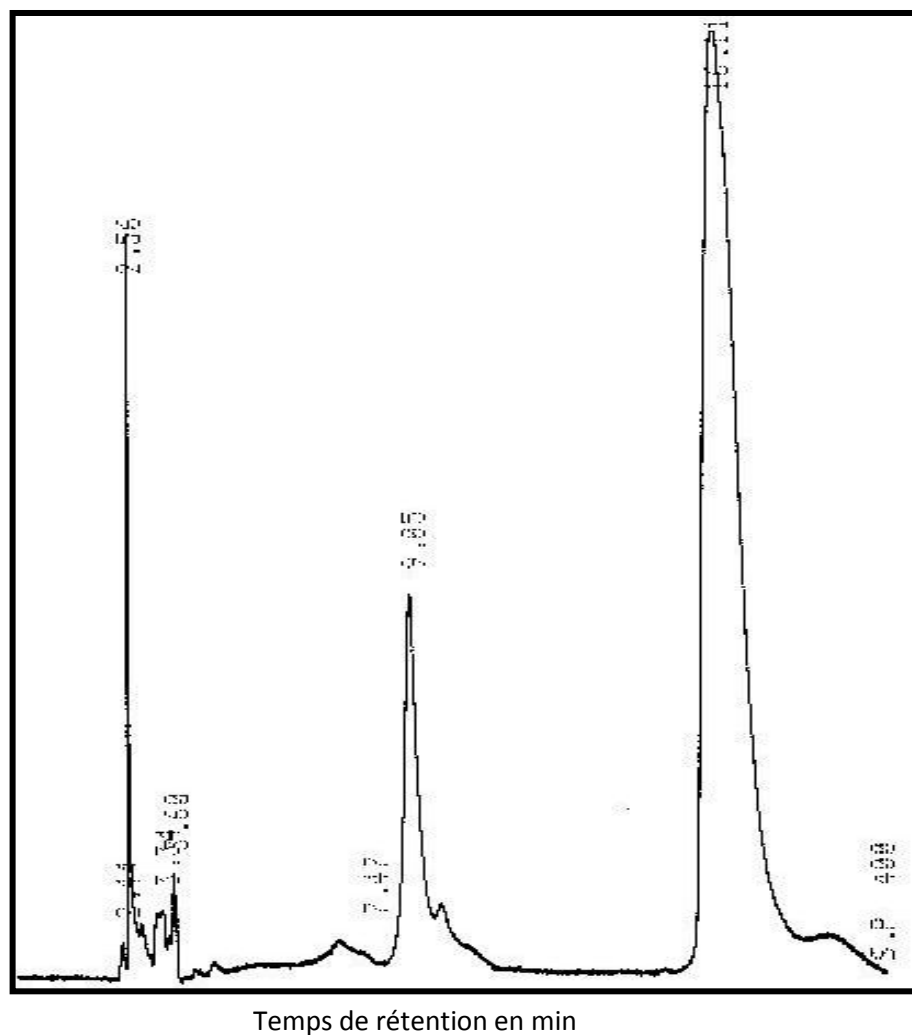


Figure 5 : Chromatogramme en HPLC des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*

Conclusion

Le *Datura stramonium* est une plante toxique connue depuis l'antiquité. Sa toxicité est due aux alcaloïdes tropaniques que renferme la plante dans toutes ses parties. L'analyse des

alcaloïdes totaux par HPLC a pu mettre en évidence la présence des deux alcaloïdes majoritaires l'atropine et la scopolamine, avec une nette prédominance de l'atropine.

Références bibliographiques

- Al-Shaikh A.M. & Sablay Z.M., "Hallucinogenic plant poisoning in children, *Saudi medical journal*, **6**, 2005, 118-121.
- Aroukou H, Matray MD, Bragança C, Mpaka JP, CHinello L, Casting F, Bartou C, Poisot D., "L'intoxication volontaire par ingestion de *Datura stramonium*. Une autre cause d'hospitalisation des jeunes en quête de sensations fortes", *Annales de Médecine Interne*, **Hors-Série: I**, 2003, 1S46-1S50.
- Ben Ghezala H., Kouraichi N., Brahmi N., El Ghord H., Thabet H. et Amamou, M., "Intoxication aiguë par les plantes", *Journal européen des urgences*, **21**, 2011, 266.
- Berkov S., Zayed R. & Doncheva T., "Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*", *Fitoterapia*, **77**, 2006, 179-182.
- Binev R., Valchev I. & Niklov J., "Hematological studies on Jimson weed (*Datura stramonium*) intoxication in horses", *Trakia Journal of Science*, **4**, 2006, 43-48.
- Bouzidi A., Mahdeb N., Allouche L. & Houcher B., "Etudes épidémiologiques sur les plantes toxiques dans les régions de Sétif et Bordj Bou Arreridj. Algérie", *Bulletin d'information Toxicologique*, **18**, 2002, 5-10.
- Bruneton J., "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales", 3ème Edition, Lavoisier, Paris, 1999.
- Cheeke P. R., & Shull L. R. "Natural toxicants in feeds and poisonous plants". Westport, Connecticut ,AVI Publishing Company, 1985.
- Chollet S, Papet Y, Mura P. & Brunet B., "Détermination des teneurs en atropine et scopolamine de différentes espèces sauvages et ornementales du genre *Datura*", *Annales De Toxicologie Analytique*, **22**, 2010, 173-179.
- Cohen S., Berny C., Meyran S., Mialon A., & Manchon M., " Intoxication volontaire par une tisane de feuilles de *Datura*", *Annales De Toxicologie Analytique*, **15**, 2003, 287-291.
- Cooper M.R., Johnson A.W., "*Poisonous plants in Britain and their effects on animal and man*", London, Her Majesty's stationery Office, 1984.
- Demeyer K., & Dejaegere R., "Nitrogen and alkaloid accumulation and partitioning in *Datura stramonium* L. ", *Journal of Herbs, Spices & Medicinal plants*, **5**, 1997, 15-23.
- Demeyer K., & Dejaegere R., "The effect of total mineral dose and pH on alkaloids accumulation in *Datura stramonium* L.", *Journal of Herbs, Spices & Medicinal plants*, **3**, 1995, 35-44. .Djibo A. & Bouzou, S.B., "Acute intoxication with "sobi-lobi" (*Datura*). Four cases in Niger", *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **4**, 2000, 294-297.
- Forrester M.B., "Jimsonweed (*Datura stramonium*) exposures in Texas, 1998-2004", *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **69**, 2006, 1757-1762.
- Friedman M. & Levin C.E., "Composition of Jimson Weed (*Datura stramonium*) Seeds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **37**, 1989, 998-1005.
- Kara N., Bouzidi A., Mahdeb N., & Djellal F., "Bilan de l'intoxication des animaux d'élevage par le *Datura stramonium* dans la région de Sétif Algérie, *LRRD*, **21**, 2009. 11 p.

Miraldi E., Masti A., Ferri S. & Barni C.I.
"Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*, *Fitoterapia*, **72**, 2001, 644-648.

Quezal P, et Santa S. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S, Paris, 1963.

Salah A.T. and Awad H.M., "Datura intoxication in Riyadh, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **78**, 1984, 1134-135