

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA - 1



FACULTÉ DE MÉDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Mémoire de fin d'études

PRESENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**ETUDE CHIMIQUE ET TOXICOLOGIQUE DES ALCALOIDES
TROPANIQUES DU *Datura arborea* SOLANACEAE**

Session : Juin 2016

Présenté par :

- Ddungu Mark Richard
- Saci Soheib

Devant le jury :

Présidente : - Dr. BENAIZ Ouakda Maître assistante en pharmacie galénique

Promotrice : - Dr. ARAR Karima Maître assistante en pharmacognosie

**Examineur : - Dr. AYACHI Nabila Maître assistante en pharmacie galénique
- Dr. DJELLOULI Salim Maître assistant en pharmacologie**

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis comme membre de la profession médicale:

Je prends l'engagement solennel de consacrer ma vie au service de l'humanité;

Je témoignerai à mes maîtres le respect et la reconnaissance qui leur sont dus;

J'exercerai ma profession avec conscience et dignité;

Je considérerai la santé de mon patient comme mon premier souci;

Je respecterai les secrets qui me seront confiés, même après la mort du patient;

Je maintiendrai, dans toute la mesure de mes moyens, l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale;

Mes collègues seront mes sœurs et mes frères;

Je ne permettrai pas que des considérations d'âge, de maladie ou d'infirmité, de croyance, d'origine ethnique, de sexe, de nationalité, d'affiliation politique, de race, d'inclinaison sexuelle, de statut social ou tout autre critère s'interposent entre mon devoir et mon patient;

Je garderai le respect absolu de la vie humaine;

Je n'utiliserai pas mes connaissances médicales pour enfreindre les droits de l'homme et les libertés civiques, même sous la menace;

Je fais ces promesses solennellement, librement et sur l'honneur.

Déclaration Genève, 1948.

DEDICACE

Je dédie ce Mémoire...

À mes chers parents Mr. Mayanja Kagimu Flugensio & Mrs. Namagembe Sarah. Mayanja en témoignage de l'amour qui Dieux le tout puissant l'accord son paradis éternel et À qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, ma gratitude, ni mon infinie reconnaissance pour l'ampleur des sacrifices et des souffrances que vous avez enduré pour mon éducation; pour mon bien être, vous n'avez jamais cessé de lutter. Vos prières et votre présence à mes coté ont été pour moi d'un grand soutien moral tout au long de ma vie.

À mes chères sœurs : Agnes, Bridget, Sarah, Lydia, Christine

À mes chères frères : Martin, William, Bob, Ronald

À Mon collègue: Saci Soheib et à tous mes amis, spécialement Muzamiru, Paul, Hajusu, Mutibwa

À tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer... Qu'ils me pardonnent...

Ddungu Mark Richard

DEDICACE

Je dédie ce Mémoire...

A Mes parents : A Ma mère, qui a oeuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A Mes frères et soeurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. A Ma femme de ma vie pour son soutien indéfectible ,,

*A mon cher frère oussama badis(Que Dieu bénisse son âme)
A mes belles frères..salaheddine, aymen, adlane, lhadi, amar, redha...*

*À mes collègues : Mark, sofiane , khaled, fouad, raouf,,
Et à tous qui me sont chers, à tous qui j'aime et qui m'aiment
Je dédie ce travail...*

Soheib...

REMECIEMENTS

Nous tenons à remercier tout d'abord DIEU, le tout puissant, qui nous a donné la force et le courage d'accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier sincèrement **Docteur ARAR K** notre promotrice pour son encadrement, ses conseils précieux, son aide et ainsi que pour la confiance que elle nous a apporté dans la réalisation de cette mémoire.

Nous tenons à remercier sincèrement **Docteur Aouiz** son aide et ainsi que pour la confiance que elle nous a apporté dans la réalisation de cette mémoire.

On adresse nos remerciements au Directeur Général de la Centre de Recherche Saida, qui nous ont fourni un terrain de stage. On tient à remercier vivement le responsable des laboratoires de la Recherche scientifique et Développement et toute son équipe pour leur accueil, leur soutien, leur encadrement leurs expertises au quotidien, ainsi que leur dévouement et leur esprit d'équipe.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté en acceptant d'évaluer notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Nos remerciements vont également au corps professoral du Département de Pharmacie de l'Université de Blida, pour la qualité et la richesse de leur enseignement, ce qui nous a assuré une formation de qualité et actualisée.

Sans oublier nos parents et amis qui nous sont soutenus et qui nous ont aidées à surmonter à chaque obstacle.

Table des matières

Liste des Tableaux.....	iv
Liste des Figures.....	vi
Liste des abréviations.....	viii

Partie Théorique

Introduction Générale.....	1
Chapitre 1 : Alcaloïdes.....	3
1.1 Historique.....	3
1.2 Définition des Alcaloïdes.....	3
1.3 Etat naturel, distribution et localisation	4
1.3.1 Etat naturel et distribution.....	4
1.3.2 Localisation.....	6
1.4 Classification chimiques des Alcaloïdes.....	6
1.4.1 Classification structurale.....	7
1.4.2 Classification biosynthétique.....	9
1.5 Propriétés Physico-Chimiques des Alcaloïdes.....	12
1.5.1 Propriétés Physiques.....	12
1.5.2 Propriétés Chimiques.....	12
1.6 Caractérisation des Alcaloïdes.....	13
1.7 Extraction des Alcaloïdes.....	15
1.8 Dosage des Alcaloïdes.....	21
1.8.1 Dosage des alcaloïdes totaux.....	21
1.8.2 Dosage d'un groupe d'alcaloïdes ou purifié.....	21
1.9 Action Pharmacologiques des Alcaloïdes.....	21
1.10 Emploi des alcaloïdes.....	22
Chapitre 2 : Alcaloïdes Tropaniques.....	23
2.1 Historique.....	23
2.2 Origine biosynthétique.....	24
2.3 Distribution des alcaloïdes Tropaniques.....	26
2.4 Atropine (D, L-hyoscyne).....	26
2.5 Hyoscyamine.....	31
2.6 Scopolamine.....	32
2.7 Emplois des drogues des alcaloïdes Tropaniques.....	34
Chapitre 3 : Exemple de Drogue à alcaloïdes tropaniques du Datura arborea solanacées.....	35
3.1 Historique.....	35
3.2 Classification systématique.....	36
3.3 Noms communs	37
3.4 Répartition géographique et habitat	37
3.5 Description botanique.....	38

3.6	Composition chimique de la Plante.....	38
3.6.1	Matières banales.....	38
3.6.2	Principes actifs.....	39
3.7	Toxicité de la Plante.....	40
3.7.1	Parties toxiques de la Plante.....	40
3.7.2	Doses toxiques.....	40
3.7.3	Intoxications chez l'être humain.....	40
3.7.4	Intoxications chez les animaux.....	41
3.7.5	Les symptômes d'intoxication.....	41
3.7.6	Traitement des intoxications.....	42
3.8	Utilisations de la Plante.....	42
3.8.1	Usages agricoles.....	42
3.8.2	Usages traditionnelles et médicinales.....	43

Partie Pratique

4.1	Objectif du Travail.....	44
4.2	Matériels.....	44
4.2.1	Matériels végétales.....	44
4.2.2	Appareillage	45
4.2.3	Produits chimiques de laboratoire.....	45
4.2.4	Animaux de laboratoire.....	46
4.3	Méthodes.....	46
4.3.1	Etude botanique.....	46
4.3.1.1	Etude macroscopique de la plante de <i>Datura arborea</i>	46
4.3.1.2	Etude microscopique de la coupe transversale d'une feuille.....	46
4.3.1.3	Etude microscopique de la poudre des feuilles.....	47
4.3.2	Screening Phytochimique.....	47
4.3.3	Essai des alcaloïdes.....	48
4.3.3.1	Perte à la dessiccation et teneur en eau.....	48
4.3.3.2	Extraction des alcaloïdes totaux	49
4.3.3.3	Dosage des alcaloïdes totaux.....	52
4.3.3.4	Réaction spécifique de Vitali – Morin.....	52
4.3.4	Dosage.....	53
4.3.4.1	Chromatographie sur couche mince.....	53
4.3.4.2	Dosage des alcaloïdes par HPLC.....	54
4.3.5	Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait brut de <i>Datura arborea</i>	56
4.4	Résultats et Discussions.....	58
4.4.1	Résultats et discussions d'étude botanique.....	58
4.4.2	Résultats et discussions d'étude microscopique de la coupe transversale d'une feuille.....	59
4.4.3	Résultats et discussions d'étude microscopique de la poudre des feuilles.....	61
4.4.4	Résultats et discussions de perte à la dessiccation et teneur en eau	63
4.4.5	Résultats et discussions de screening Phytochimique.....	64
4.4.6	Résultats et discussions de réaction spécifique de Vitali Morin.....	65

4.4.7	Résultats et discussions de teneur en alcaloïdes totaux.....	66
4.4.8	Résultats et discussions de chromatographie sur couche	68
4.4.9	Résultats et discussions de dosage des alcaloïdes par HPLC.....	69
4.4.10	Résultats et discussions d'évaluation de la toxicité aigüe.....	71
	Conclusion.....	75
	Références bibliographique.....	x
	Annexe.....	xvii

Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition des alcaloïdes chez les végétaux, champignons et Bactéries.....	4
Tableau 2 : Sources de provenance des alcaloïdes chez règne animale.....	5
Tableau 3 : Répartition diversifiée des alcaloïdes chez les végétaux.....	5
Tableau 4 : Rôles des alcaloïdes dans les trois règnes des organismes vivants.....	6
Tableau 5 : Classification des alcaloïdes en fonction de leur structure chimique.....	8
Tableau 6 : Classification biogénétique des alcaloïdes en fonction de leur précurseur de synthèse.....	9
Tableau 7 : Classification des alcaloïdes vrais, basée sur les précurseurs de synthèse.....	10
Tableau 8 : Classification des Proto-alcaloïdes, basée sur les précurseurs de synthèse.....	11
Tableau 9 : Classification des Pseudo-alcaloïdes, basée sur les précurseurs de synthèse.....	11
Tableau 10 : Propriétés physiques des alcaloïdes.....	12
Tableau 11 : Relation entre pH et solubilité des alcaloïdes bases et sels dans différents solvants.....	13
Tableau 12 : Action pharmacologiques des alcaloïdes sur le système Nerveux.....	21
Tableau 13: Pourcentages de l'atropine et de la scopolamine dans les différentes parties de la plante <i>Datura arborea</i> quantifié par la GC/MS (<i>Iranbakhsh et al, 2006</i>).....	26
Tableau 14 : Propriétés Physico-chimiques de l'atropine.....	27
Tableau 15: Principales paramètres pharmacocinétiques des alcaloïdes de <i>Datura arborea</i> chez l'homme (<i>Goullé et al, 2000</i>).....	28
Tableau 16 : Actions pharmacologiques de l'atropine sur le système nerveux autonome.....	30
Tableau 17 : Propriétés physico-chimiques de la scopolamine.....	32
Tableau 18 : Classification systématique de <i>Datura arborea L (APG 3 2003)</i>	36
Tableau 19 : Liste des noms communs à <i>Datura arborea</i> dans le monde.....	37
Tableau 20 : Description botanique les parties aériennes de la Plante <i>Datura arborea</i>	38
Tableau 21 : Le contenu de <i>Datura arborea</i> en atropine et scopolamine (<i>Elisabetta et al. 2001</i>)....	39
Tableau 22 : Les symptômes d'intoxication de la Plante <i>Datura arborea</i>	42
Tableau 23 : Usages traditionnelles et médicinales de la Plante <i>Datura arborea L</i>	43
Tableau 24 : Liste des matériels de laboratoire (usuels, verrerie et gros matériels).....	45
Tableau 25 : Produits chimiques de laboratoire pour analyse et extraction.....	45

Liste des tableaux

Tableau 26 : Valeurs de référence d'analyse d'atropine par HPLC (<i>Ph. Eur, 2014</i>).....	55
Tableau 27 : Résultats de l'étude macroscopique de la Plante <i>Datura arborea</i>	58
Tableau 28 : Résultats de description des éléments présent dans la poudre de <i>Datura arborea L</i> vu au microscope(G×40).....	61
Tableau 29 : Résultats de la perte à la dessiccation et teneur en eau des feuilles et fleurs d'une <i>Datura arborea</i>	63
Tableau 30 : Résultats et interprétation de screening chimique de l'extrait brut des feuilles de <i>Datura arborea</i>	64
Tableau 31 : Résultats de dosage des alcaloïdes totaux.....	66
Tableau 32 : Résultats des rapports frontaux (Rf) définis pour chaque tâche dans les trois extraits.....	68
Tableau 33 : Tableau 32 : Résultats de Temps de rétention d'atropine par rapport à la surface des pics et hauteur.....	69
Tableau 34 : Transformation en pourcentage du nombre des souris mortes après l'administration d'une prise unique de l'extrait brut de <i>Datura arborea L</i>	72
Tableau 35. La conversion en unités probits du pourcentage de mortalité et la correction des pourcentages.....	72

Liste des figures

Figure 1 : Alcaloïdes hétérocycliques à deux atomes d'azote.....	7
Figure 2 : Alcaloïde avec un seul atome d'azote.....	7
Figure 3 : Alcaloïde a azote extracyclique.....	7
Figure 4 : Schéma d'extraction par solvants organiques apolaires.....	18
Figure 5 : Schéma d'extraction par solvants organiques polaires.....	19
Figure 6 : Schéma d'extraction par l'eau acide 1 ^{ère} possibilité.....	20
Figure 7 : Schéma d'extraction par l'eau acide 2 ^{ème} possibilité.....	20
Figure 8: Tropane; (1R, 5S)-8-methyl-8-azabicyclo [3, 2, 1] octane (<i>Lounasmaa et Tamminen, 1993</i>).....	23
Figure 9 : Des esters tropaniques naturelles des alcaloïdes tropaniques (<i>Bruneton, 1999</i>).....	23
Figure 10: La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques du <i>Datura arborea</i> (<i>Deng, 2005</i>).....	25
Figure 11: structure chimique de l'atropine (<i>Pujol et al, 2006</i>).....	27
Figure 12 : Structure physiologie des récepteurs muscariniques impairs (M3) (<i>Billington et Penn, 2002</i>).....	29
Figure 13: Les différents symptômes en relation avec la dose d'atropine en mg.....	31
Figure 14: Structure chimique du (S)-hyoscyamine (<i>Aehle et Drager, 2010</i>).....	31
Figure 15: Structure chimique de la scopolamine (<i>Aehle et Drager, 2010</i>).....	32
Figure 16 : Photos de matériel végétal de feuille et poudre apres broyage.....	44
Figure 17 : Animaux de laboratoire utilisé dans l'étude de toxicité aigüe de l'extrait brut....	46
Figure 18 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux des feuilles de <i>Datura arborea L</i>	50
Figure 19 : Schémas montrant le protocole d'extraction des alcaloïdes totaux à partir de la poudre de <i>Datura arborea L</i>	51
Figure 20 : Photo de cuve de CCM.....	54
Figure 21 : Photo de plaque de silice.....	54
Figure 22 : Photos des parties aériennes du <i>Datura arborea</i> (feuille, fleur, et graines).....	58
Figure 23 : Coupe transversale de la feuille de <i>Datura arborea</i> au microscope (G×40).....	59
Figure 24 : Schéma détaillée d'une structure d'une feuille de <i>Datura arborea</i> (<i>Ph. Eur, 2005</i>).....	60
Figure 25 : Réaction positive de bouchardât des alcaloïdes (precipité brun).....	62

Figure 26 : Photo d'une coloration violette intense des alcaloïdes tropaniques.....	65
Figure 27 : Analyse de la poudre au microscope (G× 40)	65
Figure 28 : Schéma du virage de la phase aqueuse lors du dosage en retour des alcaloïdes.....	67
Figure 29 : Chromatographie sur couche mince de l'extrait chloroformique des feuilles de <i>Datura arborea L.</i>	68
Figure 30 : Profil chromatographique de l'atropine de l'extrait brut des feuilles de <i>Datura arborea</i> <i>L.</i>	70
Figure 31 : Profil chromatographique de l'atropine standard (Témoin).....	70
Figure 32. Droite exprimant le taux de mortalité dans chaque lot (unités probits) en fonction du logarithme de la dose (g/kg).....	73

Liste des abréviations

AMPC: Adénosine Monophosphate Cyclique

AT: Alcaloïdes totaux

ADC: Arginine decarboxylase

CONTAM: Contaminants in the Food Chain

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

CH₃: Méthyl

CHCL₃: Trichloromethane

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

CRD : Centre de Recherche scientifique et Développement

°C: Degré Celsius

DAO : Diamine oxydase

D₁ et D₂ : Récepteur dopaminergique

DAG: Diacyl-glycerol

Ex.: Example

EFSA: European Food Safety Authority

FeCL₃: Trichlorure de Fer

g: Gramme

Gq: G protéine excitatrice.

H-6-H : Hyoscyamine -6- Beta hydroxylase

H₂SO₄ : Acide sulfurique, HCL : Acide Hydrochlorique

H₂O : Eau, HNO₃ : Acide Nitrique, H⁺ : Ions hydrogènes

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Pressure

IP₃: Inositol 1, 4, 5-triphosphate

Kg : Kilogramme

K⁺ : Ions Potassiques

L : Litre, ml : Millilitre

mg : Milligramme

m : Mètre

Liste des abréviations

M1, M2, M3, M5 : Récepteurs Muscariniques

mm: millimètre

M : Molarité

Min: minute

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium, NH₄OH : Hydroxyde d'ammoniaque

Na₂SO₄: Sulfate de sodium

ng: Nanogramme

N : Normalité

ODC : Ornithine décarboxylase

OH⁻ : Ions Hydroxydes

PMT : Putrescine N-méthyl transférase

p-DAMB : Para diméthyle aminobenzaldehyde

Ph. Eur : Pharmacopée Européenne

Rf : Rapport frontaux

RF : Reference

SAM : Substance à activité médicamenteuse

SEM : Erreur standard des moyennes

TR1 : Tropinone réductase 1

5-HT₂, 5HT₁ : Récepteurs sérotoninergiques

UK: United Kingdom

V: Volume

(>): Supérieur, (<): Inférieur

(-): Négatif ou moins, (+): Positif ou Plus

% : Pourcentage

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction Générale

Les alcaloïdes sont des bases organiques. Ils constituent la majorité des principes actifs des plantes médicinales, leur extrême importance est liée à leur toxicité. C'est un groupe hétérogène de substances organiques complexes qui réagissent comme alcalis, ils sont répandues chez de nombreux végétaux, ils peuvent être présents dans toutes les parties de la plante (racines, feuilles, fruits, écorces, graines). Beaucoup d'alcaloïdes sont toxiques, d'autres sont responsables de dépendance (ex. cocaïne), et quelques-uns sont utilisés cliniquement (ex. morphine). Plus de 10 000 alcaloïdes sont maintenant connus, le premier à être découvert étant la nicotine, isolé de l'opium. Les alcaloïdes existent comme sels dans la sève cellulaire. Ils peuvent être extraits de la cellule avec l'eau acidifiée ou l'alcool, ou bien ils sont solubles dans les solvants organiques (ex. chloroforme) quand la plante est rendue alcaline. Les alcaloïdes sont normalement classifiés par rapport au système hétérocyclique qu'ils possèdent, mais certains auteurs préfèrent une classification basée sur leurs origines biosynthétiques d'acides aminés, ex. phénylalanine, tyrosine ou tryptophane. En général, les cochons ont été montrés pour être parmi les espèces les plus sensibles à l'empoisonnement sont celles de *Datura*. Une plus mauvaise évaluation de l'exposition du cas a indiqué des effets pharmacologiques adverses dans l'exposition à la cochonne suite à l'ingestion des graines des espèces de *Datura*, contenant la scopolamine principalement, ne peut pas être entièrement exclue aux limites réglementaires courantes de 3000 mg / kg d'alimentation. Cependant, les normes ont aussi suggéré que ce n'est pas possible que la présence d'impuretés de *Datura arborea* dans les animaux au niveau réglementaire courant de 1000 mg / kg présenterait un risque à la santé animale.

Le mécanisme d'action des alcaloïdes tropaniques est en rapport avec leur antagonisme compétitif aux récepteurs muscariniques de l'acétylcholine, en prévenant la fixation de l'acétylcholine. D'après la spécificité et la sélectivité des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine dans les organes différents, les fonctions des muscles lisses et des cellules de la glande exocrine, aussi bien que le taux du cœur, la respiration et les fonctions dans le système nerveux central sont modulées. Certains alcaloïdes tropaniques tels que l'atropine (le mélange racémique de (-) et (+) hyoscyamine) aussi bien que la scopolamine (principalement comme bromure de butylscopolamine) sont utilisés dans la thérapie humaine et vétérinaire pour une variété d'indications apparentées. Les rapports d'empoisonnement de bétail et des études de l'alimentation expérimentales décrivent comme la plupart des symptômes communs associés à la sécheresse de la muqueuse due à l'exposition aux alcaloïdes tropaniques dans le digestif supérieur et respiratoire étendue, constipation et colique (dans les chevaux), dilatation de l'élève (mydriases), les modifications dans le cœur et les effets nerveux centraux tels que l'agitation, l'irritabilité, l'ataxie, les saisis et la dépression respiratoire. Les alcaloïdes tropaniques sont absorbés suite à l'ingestion aisément orale, mais ont une demi-vie biologique courte et sont rapidement métabolisés ou excrétés. De plus, les signes pharmacologiques typiques précèdent un syndrome toxique, et d'où les animaux exposés ne seraient pas tués. Par conséquent, le Panneau CONTAM a conclu que c'est improbable que des alcaloïdes tropaniques restent dans les aliments comestibles, le lait et les œufs constituent un risque pour les consommateurs.

Introduction Générale

Le contenu de notre mémoire présente une structure axée autour de 2 chapitres principaux ;

1. Le premier chapitre présente le concept des alcaloïdes, leur état naturel, distribution, localisation, propriétés physicochimiques ainsi que leur extraction, caractérisation, dosage et emploi.
2. Enfin, le deuxième chapitre examine la partie pratique qui comprise l'identification macroscopique et microscopique du *Datura arborea L*, analyse phytochimique et essai pharmacognosique de la drogue, extraction des alcaloïdes totaux à partir des feuilles de *datura arborea*, caractérisation des alcaloïdes tropaniques par des réactions spécifiques, leur Identification par CCM ainsi que dosage par HPLC et enfin évaluation de la toxicité de la Drogue in vitro sur des animaux de laboratoire.

PARTIE
THEORIQUE

CHAPITRE 1

ALCALOÏDES

1.1. Historique

La connaissance de la toxicité et des propriétés des plantes et des drogues à alcaloïdes a commencé depuis plusieurs siècles: opium, coca, aconit, belladone, colchique aussi bien que quinquina, ipéca ou curares sont employés depuis plusieurs siècles, voire pour certains depuis plusieurs millénaires, C'est vraisemblablement Derosne qui, en 1803, extrayant un mélange de narcotine et de morphine de l'opium, fut le premier à isoler un alcali végétal, En 1806, Serturmer reconnaît la nature alcaline du principe somnifère de l'opium, principe qu'il dénommera morphine une dizaine d'années plus tard. Peu après, deux pharmaciens français, Pelletier et Caventou; « découvrent » une impressionnante série de composés actifs : entre 1817 et 1820 caféine, émétine de l'Ipéca, strychnine de la noix vomique, quinine et cinchonine de l'écorce de quinquina seront isolées ; un peu plus tard il en sera de même pour laconiine. Les chimistes tentent très tôt d'élucider la structure de ces molécules : ils y parviendront dans les cas les plus simples (*Coniine, Schiff, 1870*), mais pour d'autres il faudra attendre la seconde moitié de notre siècle : l'édifice polycyclique de la strychnine « résiste » près de 130 ans aux investigations des chimistes. Aujourd'hui, les techniques avancées de résonance magnétique nucléaire (proton et carbone) et la spectrométrie de diffraction des rayons X permettent de venir à bout des structures les plus complexes. La synthèse de ces composés a également constitué très tôt un défi pour les chimistes : de la synthèse de la coniine à la fin du siècle dernier à celle de la morphine (1952), ce défi a joué et joue encore un rôle de premier plan dans le développement de la chimie organique. L'isolement, au début des années cinquante, de la réserpine et le succès thérapeutique de celle-ci ont incité les phytochimistes à explorer systématiquement ce vaste domaine des alcaloïdes : le nombre des structures décrites ne cesse de progresser et les données structurales, biosynthétiques, synthétiques ou pharmacologiques sont maintenant tout à fait considérables. Dans quelques cas, des molécules originales ont été introduites en clinique. C'est celui des alcaloïdes binaires des *Catharanthus* dans beaucoup d'autres des analogues structuraux ont été synthétisés et commercialisés (dérives des alcaloïdes de l'ergot de seigle) et des potentialités pharmacologiques intéressantes ont été mises au jour, suscitant des développements dans les directions les plus variées (synthèse, relations structure/activité, étude de récepteurs. etc.) (*Pelletier, S.W, 1998*).

1.2. Définition des alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W.Meisner au début du XIX^e siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des alcalis (de l'arabe al kaly, la soude et du grec eidos, l'aspect) (*Richter.G, 1993*). Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative mais pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont biosynthétiquement formés à partir d'une acide amine. Ces éléments caractérisent ce que l'on peut appeler les

alcaloïdes vrais. Nombre d'auteurs distinguent par ailleurs les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes. D'autre part, un alcaloïde est un composé organique cyclique qui contient de l'azote dans un état de l'oxydation négatif qui est de distribution limité parmi des organismes vivants (*Pelletier, S.W, 1983*). Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques et douées à faible dose de propriétés physiologiques marquées (*Zenk et Juenger, 2007*). Ils portent tous la terminaison « ine » (*Paris et Hurabielle, 1981*). A l'état normal, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates...) ou combinés à des tanins (*Guignard et al, 1985*).

1.3. Etat naturel, distribution et localisation

1.3.1. Etat naturel et distribution

Dans le règne végétal, les alcaloïdes sont peu répandus chez les Champignons, les Ptéridophytes et Gymnospermes. Egalement peu nombreux chez les Monocotylédones mais par contre, ils sont abondants chez les « Dicotylédones » de régions chaudes. Les alcaloïdes sont exceptionnels chez les bactéries (pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*) et assez rares chez les Champignons (psilocine des champignons hallucinogènes de L'Amérique centrale, ergolines des Claviceps et autres Actinornycetes, sporidesmines, roquefortine, etc.). Les Ptéridophytes sont rarement alcalordifères, les Lycopodiacees constituant la principale exception (alcaloïdes dérivés de la lysine): la même remarque s'applique aux Gymnospermes (alcaloïdes des *Cephalotaxus*). Les alcaloïdes sont donc des composés essentiellement présents chez les Angiospermes (*Pelletier, S.W, 1998*). La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces; par exemple: racine (Ipéca), feuille (Coca), fruit (Pavot), écorce (Quinquinas), graine (Colchique) (*Paris et Hurabielle, 1981*). Les alcaloïdes se rencontrent surtout au niveau des épidermes, des laticifères et de façon générale dans tous les tissus en voie de croissance et ils s'accumulent surtout dans les vacuoles. Concernant leur synthèse, celle-ci se fait au niveau du réticulum endoplasmique (*Guignard et al, 1985*).

Tableau 1 : Répartition des alcaloïdes chez les végétaux, champignons et Bactéries

Organismes vivantes	Pourcentage de répartition
Bactéries, champignons	6 %
Monocotylédones	16 %
Dicotylédones	78 %
300 000 espèces d'Angiospermes	10 à 15%

Tableau 2 : Sources de provenance des alcaloïdes chez règne animale

Source de Provenance des Alcaloïdes	Exemple d'alcaloïde
Alcaloïdes issus de l'alimentation (végétale)	Castoramine, dans les nénuphars consommés par les castors.
Alcaloïdes issus métabolisme propre des animaux	Amphibiens (salamandres, crapauds au niveau de la peau), arthropode, hyménoptères, coléoptères, névroptères, myriapodes...
Alcaloïdes issus des fonds marins	Eponges, tuniciers, coraux, Yondelis® comme antitumoral.

Tableau 3 : Répartition diversifiée des alcaloïdes chez les végétaux

Type de distribution	Propriétés	Famille/genre/espèce d'alcaloïde	Exemple d'alcaloïde
Distribution large	-Synthétisent tous la même molécule. - Retrouver dans des familles botaniques qui peuvent être éloignées.	Famille de Rubiacée	Caféine du café
		Famille de Ternstroмиacée	Caféine du thé
		Famille de sterculiacée	Caféine du kolatier
		Famille d'aquifoliacée	Caféine du maté
		Famille de sapindacée	Caféine du guarana
Distribution restreinte	- Au niveau d'une famille, d'un genre, d'une espèce	Famille des Solanacées	Hyoscyamine
		Genre <i>Papaver</i> .	Thébaïne
		Espèce <i>Papaver somniferum</i> .	Morphine

Chez règne humain, il y a condensation in vivo entre une catécholamine (sérotonine, tyramine, dopamine) et un aldéhyde. Formation d'un alcaloïde in situ dans notre organisme.

1.3.2. Localisation

Chez le végétal, les alcaloïdes existent sous la forme, soluble de sels (citrates, malates, tartrates, méconates, isobutyrate, benzoates) ou sous celle d'une combinaison avec les tanins. La microchimie permet de montrer que les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, tégument des graines, etc. La basicité et les actions antimetabolites de la plupart de ces molécules imposent leur compartimentation : elles sont normalement stockées dans les vacuoles cellulaires, que ces dernières soient spécifiques (dans les laticifères) ou non. Le plus souvent la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de sites précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage. Cependant, les fonctions des alcaloïdes dans règne végétale, animal ainsi que humain sont explorées dans le **tableau 4** au-dessous :

Tableau 4 : Rôles des alcaloïdes dans les trois règnes des organismes vivants

Règne	Fonctions
Règne végétal	<ul style="list-style-type: none"> a. Protection contre les animaux phytophages ou autres prédateurs, servent à la survie b. Produits d'excrétion du métabolisme azoté parfois c. Substances de réserve d. Régulateurs de croissance.
Règne animal	<ul style="list-style-type: none"> a. Faible masse moléculaire donc caractère volatile, signaux chimiques. b. Allohormones : éléments de défense c. Phérohormones : éléments de communication.
Règne humain	<ul style="list-style-type: none"> a. Probablement régulation du métabolisme avec un système d'excrétion

1.4. Classification chimique des Alcaloïdes

On estime actuellement que plus de 8 000 composés naturels ont été identifiés comme alcaloïdes. Tous les ans, une centaine de nouvelles molécules seraient ajoutées par les scientifiques du monde entier. Afin de pouvoir mieux maîtriser cette grande liste, trois types de classification des alcaloïdes ont été proposées suivant :

1. leurs activités biologiques et écologiques
2. leurs structures chimiques

3. leurs voies de biosynthèse

Classification des alcaloïdes selon leur structure chimique comprend deux groupes (Ninomiya et Kiguchi, 1990):

i. Les Alcaloïdes à « azote intracyclique » avec deux sous-groupes :

- Les alcaloïdes hétérocycliques à 2 N

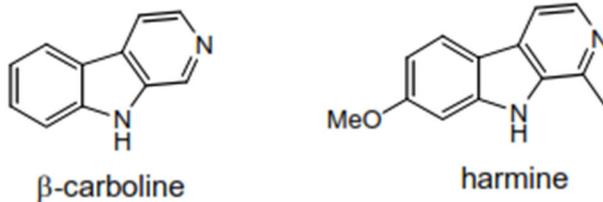


Figure 1 : Alcaloïdes hétérocycliques à deux atomes d'azote

- Les alcaloïdes avec un seul atome d'azote.

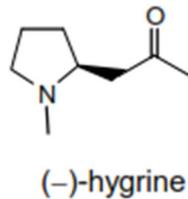


Figure 2 : Alcaloïde avec un seul atome d'azote

ii. Les Alcaloïdes à « azote extracyclique » où, l'azote n'est pas inclus dans un cycle.

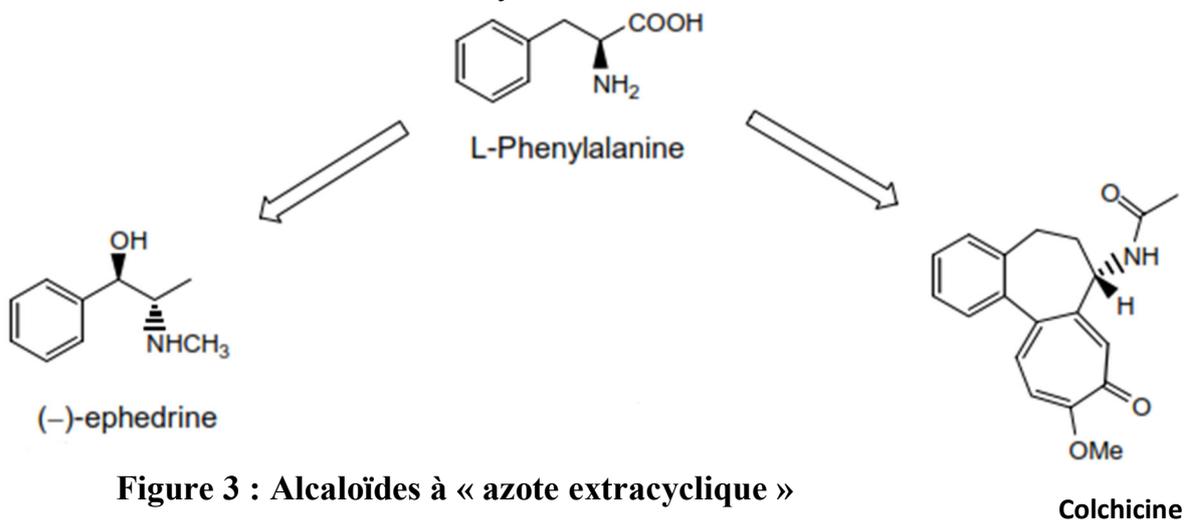


Figure 3 : Alcaloïdes à « azote extracyclique »

1.4.1. Classification structurale

Ils ont longtemps été catégorisés et nommés en fonction du végétal ou de l'animal dont ils étaient isolés. A partir du XXI^e siècle, ils sont catégorisés en fonction de leur structure chimique ce qui est montré dans le **tableau 5** au-dessous :

Tableau 5 : Classification des alcaloïdes en fonction de leur structure chimique

Groupe de structure Chimique		Exemple de la Molécule	Groupe de structure Chimique		Exemple de la Molécule
Azolidines (pyrolidine)		Aniracetam, Anisomycine, Hygrine, Cuscohygrine	Purines		Caféine, Théobromine, Théophylline
Azines		Pipéridine, Pilocarpine, Nicotine, Spartéine	Terpénoïdes		Aconitine, Solanidine
Tropanes		Atropine, Hyoscyamine, Cocaïne, Ecgonine, Scopolamine	Bétaïnes		Muscarine, Choline, Neurine
Quinoléines		Acridine, Méfloquine, Quinine, Strychnine	Pyrazoles		Pilocarpine
Isoquinoline		Quinapril, Debrisoquine, Narcéine, Hydrastine, Berbérine	Phénylethylamines		Méthamphétamine, Mescaline, Ephédrine
Indoles	Classe	Psilocybine, Sérotonine, Pseudophrynamine	Morphinique	Classe	Morphine, Codéine, Thébaïne, Papavérine, Narcotine, Noscapine
	Tryptamines			Naturels	
	Ergolines	Ergométrine, Acide lysergique, Ergosine, Ergovaline		Semi synthétiques	Hydromorphone, Hydrocodone, héroïne
	Bêta-carbolines	Harmine, Yohimbine, Réserpine, Emétine		Synthétiques	Fentanyl, Pethidine, Méthadone, Propoxyphène

1.4.2. Classification biosynthétique

Tableau 6 : Classification biogénétique des alcaloïdes en fonction de leur précurseur de synthèse

	Dérivé d'acide aminé	Hétérocycle azoté	Propriétés
Alcaloïdes vrais	Oui	Oui	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Dérivent d'acides aminés ✓ Comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique ✓ Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses ✓ Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, soit comme N- oxyde.
Proto-alcaloïdes	Oui	Non	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle (<i>Guignard, 2000</i>) ✓ Ils dérivent aussi d'acides aminés.
Pseudo-alcaloïdes	Non		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ils peuvent aussi résulter d'amination, ou de réaction de transamination dans une voie connectée avec les précurseurs ou les postcurseurs d'acides aminés. ✓ Le squelette carboné de base ne dérive pas d'acides aminés. ✓ Ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (<i>Bruneton., 1999</i>).

Tableau 7 : Classification des alcaloïdes vrais, basée sur les précurseurs de synthèse.

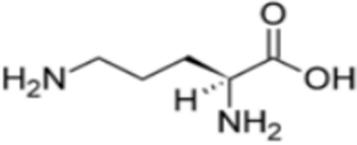
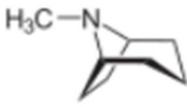
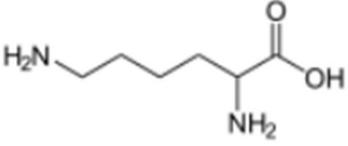
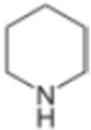
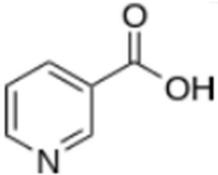
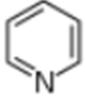
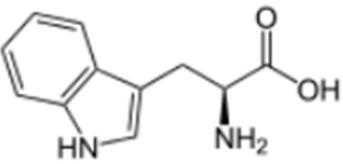
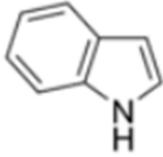
Précurseur	Groupe d'alcaloïdes	Noyau caractéristique	Exemples
L-ornithine 	Alcaloïdes tropaniques	Tropane 	Atropine, Cocaïne, Hyoscyamine, Scopolamine
L-lysine 	Alcaloïdes pipéridiniques	Pipéridine 	Anaférine, Lobélanine, Lobéline, Pipéridine, Pipérine, Sédamine
Acide nicotinique 	Alcaloïdes pyridiniques	Pyridine Pyrrolidine 	Anabesine, Nicotine, Evoline, Cassinine
L-tryptophane 	Alcaloïdes indoliques	Indole 	Psilocine, Sérotonine, Tryptamine

Tableau 8 : Classification des Proto-alcaloïdes, basée sur les précurseurs de synthèse.

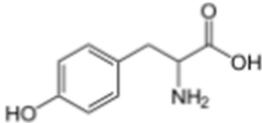
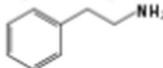
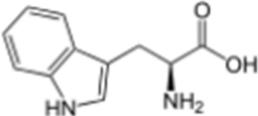
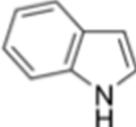
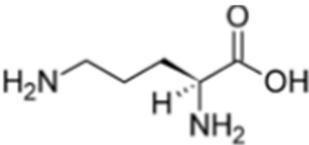
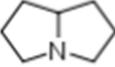
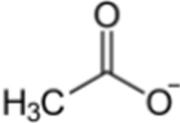
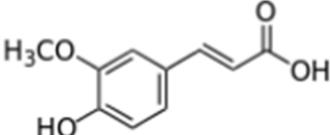
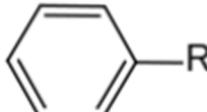
Précurseur	Groupe d'alcaloïdes	Noyau caractéristique	Exemples
L-tyrosine 	Alcaloïdes Phénylethylamines	Phénylethylamines 	Adrénaline, Dopamine, Noradrénaline, Mescaline
L-tryptophane 	Alcaloïdes indoloterpeniques	Indole 	Yohimbine
L-ornithine 	Alcaloïdes pyrrolizidiniques	Pyrrolizidine 	4-hydroxy stachydrine, Stachydrine

Tableau 9 : Classification des Pseudo-alcaloïdes, basée sur les précurseurs de synthèse.

Précurseur	Groupe d'alcaloïdes	Noyau caractéristique	Exemples
Acétate 	Alcaloïdes pipéridiniques	Pipéridine 	Coniine, Conicéine, Pinidine
Acide ferulique 	Alcaloïdes aromatiques	Phényle 	Capsaïcine

1.5. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

1.5.1. Propriétés physiques

Tableau 10 : Propriétés physiques des alcaloïdes

Propriétés physiques	Description
Poids moléculaire	Compris entre 100 et 900 Masses moléculaires faibles et de fonction basique (<i>Facchini et Pierre, 2005</i>).
Aspect et couleur	Les bases oxygénées sont des cristaux blancs sauf berbérine jaune et l'absence d'oxygène dans la molécule rendre les bases à l'état liquide à température ambiante.
Pouvoir rotatoire	Capable de dévier la lumière polarisée donc sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène (<i>Bruneton., 1999</i>).
Points de fusion	Points de fusions nets, décompositions supérieur à 200°C
Gout	Gout amer

1.5.2. Propriétés chimiques :

a. Solubilité

Naturellement dans la plante, c'est sous forme de sels, mais on peut déplacer les sels en bases et vice-versa, pour cela on joue sur le pH. Ils se combinent avec les acides et forment des sels, généralement solubles dans l'eau (*Badiaga, 2012*).

La solubilité des alcaloïdes dans les solvants organiques tels que: l'alcool, l'éther, le benzène et le chloroforme est en général élevée par rapport à la solubilité dans l'eau, puisque la plupart de ces substances sont insolubles ou peu solubles dans l'eau (*Merghem, 2009*).

Tableau 11 : Relation entre pH et solubilité des alcaloïdes bases et sels dans différents solvants

	Solubilité	Exemple
Bases	Insolubles ou très peu solubles	Eau
	Solubles	Solvants organiques apolaire ou peu polaires
	Solubles	Alcool
Sels	Solubles	Eau
	Solubles	Solvants organiques polaire
	Insolubles	Solvants organiques apolaire
	Solubles	Alcool de titre élevé

b. Basicité

Caractère variable selon la disponibilité du doublet libre de l'azote :

- ✓ groupements électroattracteurs adjacents à l'azote : diminue la basicité
- ✓ groupements électro-donneurs adjacents à l'azote : augmente la basicité.
- a. **Facteurs d'instabilité** : alcaloïdes bases en solution, sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène. C'est pourquoi les alcaloïdes se stockent sous forme de sels, préparés à partir d'acides minéraux (chlorhydrates, sulfates, nitrates) ou **d'acides organiques** (tartrates, sulfamates, maléates). Les sels sont généralement hydrosolubles, facilement cristallisables et de bonne conservation (*Ninoni.I.et Kiguchi.T, 1990*).

Ils peuvent être fixés sur certains agents adsorbants tels que les charbons actifs ou les argiles du type bentonite (*Fabre et Truhaut., 1961*).

1.6. Caractérisation des Alcaloïdes**1.6.1. Réaction de détection**

Pour caractériser la présence de la classe d'alcaloïdes, elle se fait sur un extrait total (macération dans l'alcool) ou un extrait enrichi. Consiste en une précipitation en milieu H⁺, en présence de réactifs appropriés.

❖ Principe

Combinaison des alcaloïdes avec des métaux ou des métalloïdes : bismuth, mercure, tungstène, iode. Trois réactifs pour faire ces précipitations en tubes à essai :

- Mayer —————→ Mercure
- Dragendorff —————→ Bismuthate de Potassium
- Bertrand —————→ Tungstène

En milieu acide pour vérifier si oui ou non on a des alcaloïdes. On réalise ces 3 réactifs en parallèle puisqu'ils sont plus ou moins sensibles selon le noyau de l'alcaloïde.

- Solutions d'iodoplatinates alcalins, sert à révéler la plaque de chromatographie.

NB : Il existe des réactions faussement positives avec les protéines, les alpha-pyrones, certaines coumarines, les Hydroxy-6-flavones, les lignanes peuvent interférer.

1.6.2. Réactions d'identité

Réactions de coloration pour permettre de donner des informations sur un type précis d'alcaloïdes. Ne se fait jamais sur un extrait total puisque si on fait une extraction hydro-alcoolique, la coloration deviendra verte-brune.

1.6.3. Profils chromatographiques

Permet de comparer différentes matières premières du point de vue qualitatif et quantitatif. Appréciation qualitative et quantitative d'un mélange d'alcaloïdes ainsi que contrôles de l'identité et de la qualité d'une drogue à alcaloïdes.

1.6.4. Réactions de précipitation

Réalisées sur les sels (milieu aqueux acide).

- Réactif de **Dragendorff** : (tétraiodo-bismuthate de K^+) précipité rouge à orange (Wagner et al, 1984).
- Réactif de **Bouchardât** : (iodo-iodurée) précipité brun (*Paris et Hurabielle, 1981*).
- Réactif de **Mayer** : (mercuri-iodure de K^+) précipité blanc.
- Réactif silicotungstique
- Réactif à l'iodoplatinates alcalin.
- Avec les sels des métaux lourds.
- Avec certains acides (acides picriques).

1.6.5. Réactions de colorations spécifiques des alcaloïdes

- Réaction de Van-Urk : p-diméthylaminobenzaldéhyde (p-DAMB) alcaloïdes indoliques de l'Ergot de Seigle.
- Le sulfate de cérium et d'ammonium : qui différencie les indols (jaunes), les dihydroindols (rouges), les β -anilinoacrylates (bleus), les oxindoles.
- Ninhydrine : pour les arylalkylamines.

- Réaction de Vitali-Morin : (HNO₃ fumant + KOH) pour les esters tropiques.
- Les réactifs au FeCl₃ en milieu chlorhydrique : (tropolone) ou perchlorique (Rauwolfia).

1.6.6. Caractérisation par chromatographie

Les méthodes couramment mises en œuvre sont la CCM et HPLC, en phase normale ou en phase inverse (avec des solvants de type eau-méthanol ou eau-acétonitrile), Le réactif de Dragendorff, la solution iodo-iodurée (ou les vapeurs d'iode), l'Iodo- platinâte de potassium ou le sulfate de cérium et d'ammonium sont couramment utilisés pour la révélation des plaques de CCM. La non-volatilité de la quasi-totalité des alcaloïdes limite l'utilisation de la CPG à quelques cas particuliers. Pour des exemples, on se reportera à la Pharmacopée (drogues officinales) et à la bibliographie spécialisée. Les méthodes utilisées sont :

- CCM → révélation par les réactifs de coloration.
- HPLC → en phase normale ou inverse.
- CPG → en quelques cas particuliers nicotine, spartéine, anabasine.
- Electrophorèse

1.7. Extraction des Alcaloïdes

Les procédés d'extraction des alcaloïdes sont basés sur la solubilité différentielle dans divers solvants (*Bustamante et al, 2006*).

❖ Principe

Fondé sur la solubilité différentielle des alcaloïdes bases et des alcaloïdes sels d'une part dans l'eau et d'autre part dans un solvant organique. On fait des extractions liquide/liquide successives, en présence de solvant non miscibles et en faisant varier le pH.

Précautions maximales pour agiter l'ampoule à décanter dans un extrait végétal, souvent des composés qui n'aiment ni l'eau, ni le solvant organique. Risque d'obtenir une 'mayonnaise'.

❖ Précautions d'emploi

- Extraction sur la drogue de préférence délipidée (éther de pétrole, cyclohexane, heptane) : évite des Co-solubilisations et réduit la formation d'émulsion.
- Ajustement précis des pH en évitant l'apport d'azote (**ex** NH₄OH) pour éviter la formation éventuelle d'artéfacts.
- Contrôles réguliers de l'épuisement des différentes phases, grâce aux réactifs de précipitation (réalisés en milieu H⁺)
- Prise en compte des solubilités particulières de certains alcaloïdes (bases très faibles, alcaloïdes quaternaires, alcaloïdes phénoliques, alcaloïdes volatiles).

1.7.3. Extraction en milieu alcalin (Stas-Otto) (Bruneton, 2009)

1^{er} étape :

- La drogue pulvérisée et délipidée est mélangée à une solution aqueuse alcaline qui déplace les alcaloïdes de leurs combinaisons salines.
- Les bases ainsi libérées sont ensuite solubilisées dans un solvant organique, l'agent d'alcalinisation est très souvent l'ammoniaque. Si la structure des alcaloïdes à extraire comportent un élément fragile, par exemple une fonction ester, l'ammoniaque sera remplacée par un carbonate alcalin.
- On peut, si besoin est, en tirer parti pour fractionner un totum alcaloïdique, le solvant organique peut être un solvant chlore (dichlorométhane, chloroforme), le benzène, le dioxyde d'éthyle, dans l'industrie extractive, des critères de toxicité, de sécurité d'emploi, de prix de revient, de facilité de récupération et de recyclage seront généralement déterminants dans le choix du solvant à utiliser (un mélange de gazole et de kérosène peut constituer un solvant efficace).
- L'extraction peut se faire par simple contact ou et c'est de loin préférable, par contacts multiples dans des installations fonctionnant sur le principe de l'appareil de Soxhlet.
- Industriellement, on utilise ce type d'appareil ou, plus efficacement encore, des extracteurs solide-liquide fonctionnant sur le principe du contre-courant.

2^{emé} étape :

- Le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est séparé du marc et, si nécessaire, concentre partiellement par distillation sous pression réduite, Le solvant est alors agité avec une solution aqueuse acide : les alcaloïdes se solubilisent dans la phase aqueuse sous forme de sels tandis que les impuretés neutres restent dans la phase organique.
- L'opération est répétée autant de fois qu'il est nécessaire jusqu'à ce que la phase organique ne contienne plus d'alcaloïdes.
- Les acides utilisés sont très variables (Chlorhydrique, sulfurique, sulfamique, tartrique, etc.), mais sont toujours employés en solutions très diluées (1-5 %).

3^{emé} étape :

- Les solutions aqueuses de sels d'alcaloïdes, réunies et le cas échéant « lavées » par un solvant apolaire (hexane, oxyde de diéthyle), sont alcalinisées par une base en présence d'un solvant organique non miscible à l'eau. Les alcaloïdes bases précipitent et se dissolvent dans la phase organique.

L'épuisement de la phase aqueuse est poursuivi jusqu'à ce que tous les alcaloïdes soient repassés en phase organique (ce qui peut se vérifier aisément par la négativité de la réaction de Mayer effectuée sur la phase aqueuse), cette étape de purification peut se faire, comme la précédente et selon les quantités mises en jeu, dans une ampoule à décantation ou dans des appareils plus ou moins complexes: perforateurs, extracteurs centrifuges.

- En dernier lieu, le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est décanté, débarrasse des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation sur un sel anhydre (par exemple le sulfate de sodium) et évapore sous pression réduite. Il reste alors un résidu sec, les alcaloïdes totaux (AT).

1.7.4. Extraction en milieu acide (Bruneton, 2009)

Deux cas peuvent se présenter :

- I. Dans le premier la drogue pulvérisée est directement épuisée par de l'eau acidifiée
- II. Dans le second c'est avec une solution alcoolique ou hydro-alcoolique acidifiée qu'est réalisé l'épuisement, dans ce cas de figure l'extraction est suivie d'une distillation sous vide qui élimine l'alcool et laisse une solution aqueuse acide de sels d'alcaloïdes.

Dans les deux cas on a donné une solution aqueuse de sels d'alcaloïdes qu'il faut purifier.

Pour ce faire on peut :

- i. Alcaliniser la solution et extraire les bases par un solvant organique non miscible, on est ramené au cas précédent;
- ii. Fixer sélectivement les alcaloïdes contenus dans la solution sur une résine échangeuse d'ions puis les éluer à l'aide d'un acide fort
- iii. Précipiter les alcaloïdes sous la forme d'iodomercurate. Le complexe forme est récupéré par filtration, solubilise dans un mélange hydro-alcool-acetonique et décompose par passage sur une résine échangeuse d'ions. Cette technique peut être intéressante pour extraire des ammoniums quaternaires.

1.7.5. Isolement des alcaloïdes selon leur basicité

- On va sélectivement extraire d'abord les alcaloïdes sels, puis les neutres ou faiblement basiques, puis les basiques ou quaternaires.
- On enlève d'abord les composés hydrophile en utilisant un solvant apolaire, on récupère un marc (poudre dégraissée). Ces alcaloïdes existent sous forme naturelle sous forme de sels.
- On applique méthanol concentré et l'acide tartrique, on obtient une phase organique acide et une phase aqueuse. La phase organique acide ; on retrouve les alcaloïdes neutres ou faiblement basiques.
- La phase aqueuse de solution tartrique, on rajoute une base (NH_4OH ou Na_2CO_3) : dans la phase organique on récupère les alcaloïdes basiques et dans la phase aqueuse basique on récupère les alcaloïdes quaternaires.

1.7.6. Purification

Support solide ou éluant liquide : chromatographie basse pression (Lobar), moyenne pression (Flash), haute pression (HPLC) ; CCM préparatoire (phase beaucoup plus épaisse, la granulométrie de la silice est plus importante) ; résines cationiques (saturées en Na^+) ou anioniques (R^+ , OH^-) Risque d'adsorption et de perte avec les supports solides.

- Support et éluant liquides : distribution à contre-courant. La phase aqueuse va dans un sens, la phase miscible va dans l'autre sens. On récupère intégralement les alcaloïdes qui se distribuent dans l'une des 2 phases.
- Cristallisation fractionnée

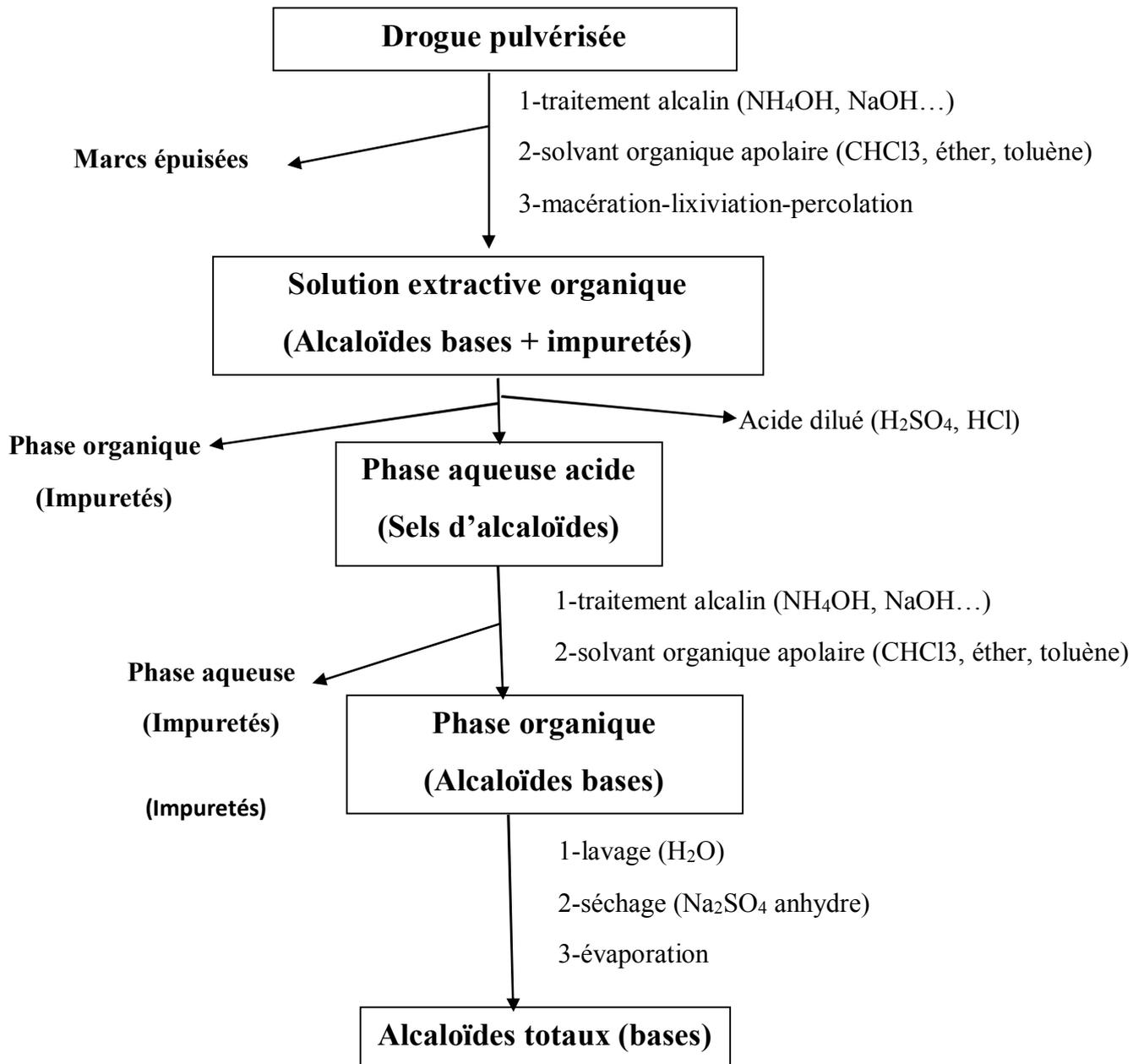


Figure 4 : Schéma d'extraction par solvant organique apolaire en milieu alcalin

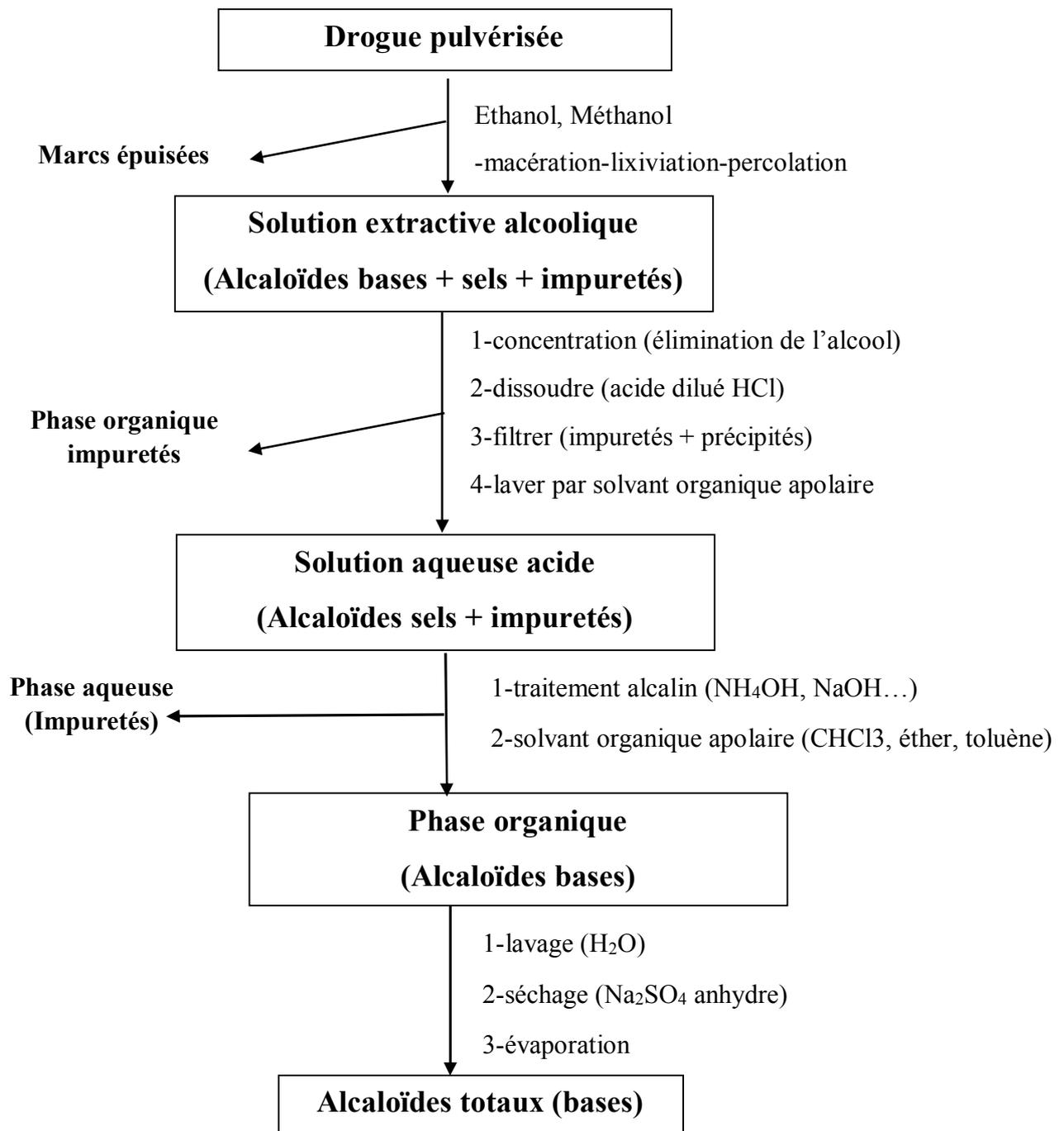


Figure 5 : Schéma d'extraction par solvants organiques polaires

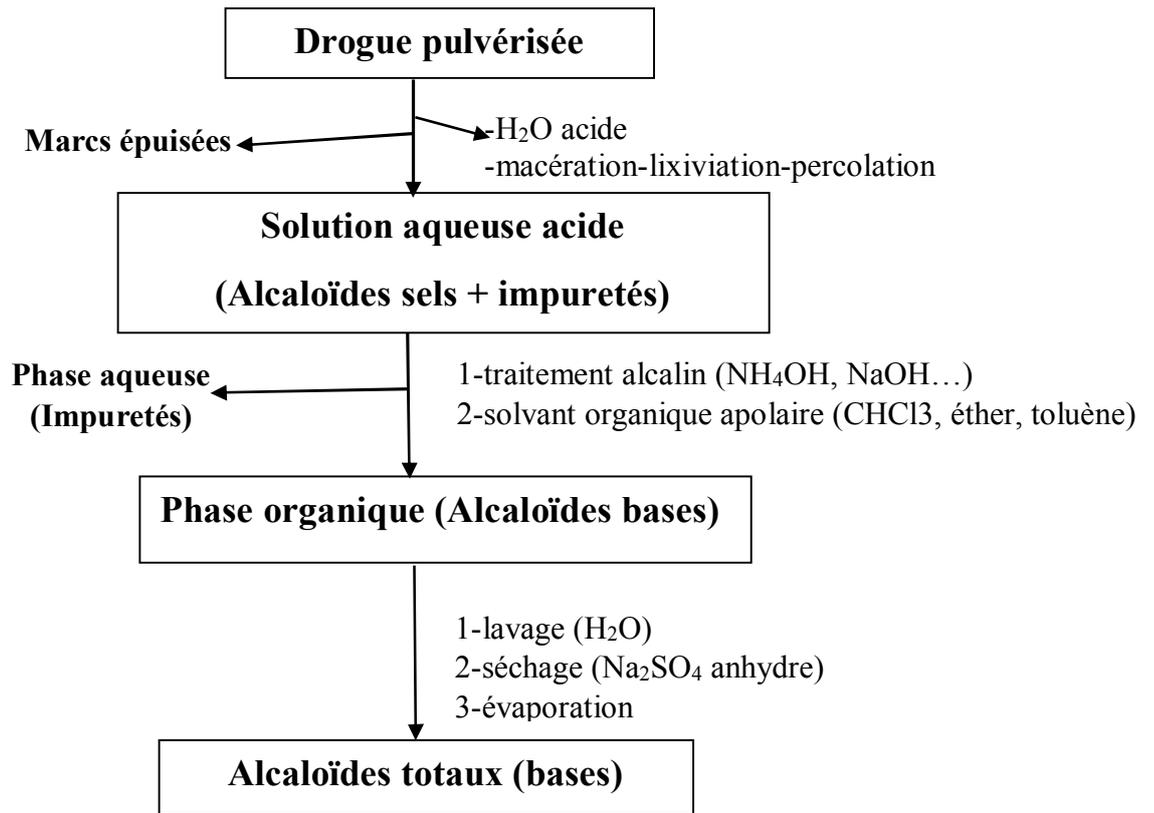


Figure 6 : Schéma d'extraction par l'eau acide 1^{ère} possibilité

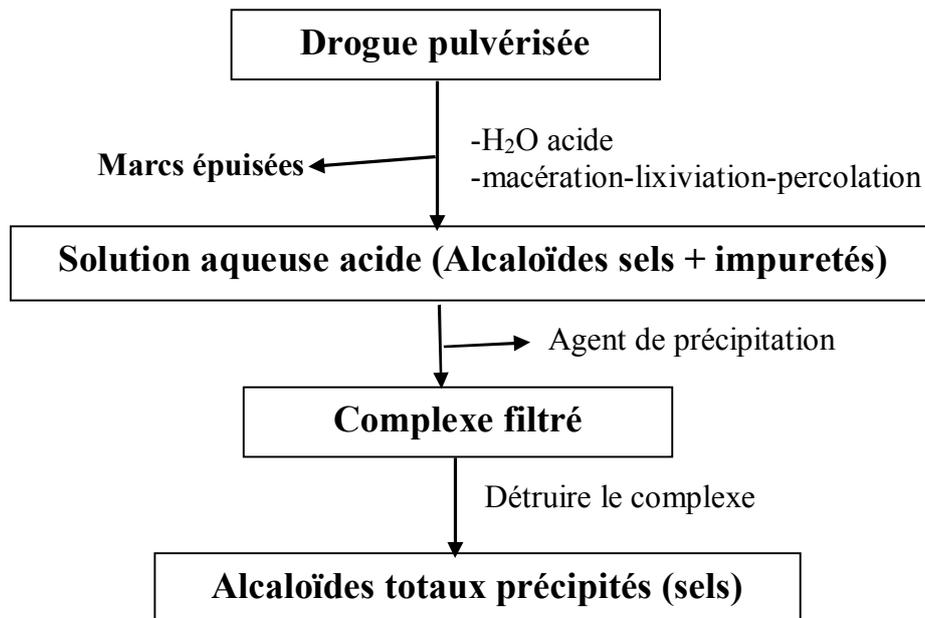


Figure 7 : Schéma d'extraction par l'eau acide 2^{ème} possibilité

1.8. Dosage des alcaloïdes

1.8.1. Dosage des alcaloïdes totaux

Réalisé à partir d'un mélange d'alcaloïdes obtenu après extraction Stas-Otto (vérification de l'épuisement de chaque phase). Deux méthodes principales:

- Dosage pondéral ou gravimétrique : Il suffit de peser ses cristaux avec un avantage d'être facile à mettre en œuvre mais peu précis et valeur par excès donc progressivement abandonnée.
- Dosage volumétrique : les alcaloïdes sont basiques donc on fait un dosage par acidimétrie directe ou en retour (excès d'H⁺) (*Bruneton, 2009*)

1.8.2. Dosage d'un groupe d'alcaloïdes ou d'un alcaloïde purifié

- Spectrophotométrie : l'avantage c'est la grande sensibilité. Ex pour la quinine et la cinchonine (absorbance à 2 longueurs d'ondes différentes)
- Colorimétrie : c'est le cas pour les alcaloïdes de *Rauwolfia*
- Fluorimétrie si les alcaloïdes sont fluorescents
- Densitomètre : on étudie la densité des spots qu'on obtient en CCM : plus le spot est dense, plus il y a d'alcaloïdes
- HPLC : la plus utilisée. Avantage : très grande précision, technique tendant à se généraliser (surtout dans les monographies de la Pharmacopée). C'est la technique la plus précise et la plus sensible. Ex pour la morphine ou la caféine.
- CPG : exemple de la nicotine.

1.9. Action Pharmacologiques des alcaloïdes

Tableau 12 : Action pharmacologiques des alcaloïdes sur le système Nerveux
(*Rehacek.Z et Sajdl.P, 1990*)

Système Nerveux	Mode d'action	Exemple de la drogue
Système Nerveux Autonome	Vasculaires cérébraux	vincamine.
	Sympatholytiques	yohimbine, ergotamine
	Parasympathomimétiques	ésérine, pilocarpine
	Sympathomimétiques	Ephédrine
	Anticholinergiques	atropine, hyoscyamine
	Ganglioplégiques	spartéine, nicotine
	Curarisants	Tubocurarine
	Anesthésiques locaux	Cocaïne
	Anti-tumoraux	vinblastine, ellipticine
	Antipaludiques	Quinine
Système Nerveux Centrale	Dépresseurs	morphine, scopolamine
	Stimulants	strychnine, caféine.

1.10. Emploi des alcaloïdes

- Caféine est utilisée par voie injectable comme analeptique respiratoire dans la prise en charge de l'apnée du nouveau-né prématuré. Elle entre par ailleurs dans la formulation des grands nombres de spécialités pharmaceutiques en association (avec l'aspirine, codéine, le paracétamol, la vitamine C).
- Noscapine est un antitussif prescrit dans le traitement des toux non-productives.
- Papavérine est proposée dans les manifestations spasmodiques douloureuses (Papavérine Renaudin®)
- Codéine est utilisée par voie orale et par voie rectale comme analgésique dans le traitement symptomatique des affections douloureuses, soit seule dans un sirop pour l'enfant de plus d'un an (Codenfant®), soit dans de nombreuses associations (Codoliprane®, Efferalgan codéine®, Dafalgan codéine®) ; antitussif dans le traitement des toux non productives gênantes (Néocodion®).
- L'opium est utilisée pour préparer des formes galénique ; poudre d'opium (titre a 10% de morphine), à partir de laquelle sont préparée la teinture d'opium safranée a propriété analgésiques et surtout la teinture d'opium benzoïque ou élixir parégorique a activité anti diarrhéique et extrait (titré à 20% de morphine). La poudre et l'extrait d'opium rentrent dans la composition de spécialités pharmaceutiques à activités antalgiques ; poudre (Colchimax®, Lamaline gélules®), extrait (Lamaline suppo®).

CHAPITRE 2

ALCALOÏDES TROPANIQUES

2.1. Historique

Les alcaloïdes tropaniques ont en commun un élément structural bicyclique azoté, l'azabicyclo [3, 2, 1] octane (**Fig.8**) (Lounasmaa et Tamminen, 1993). Ce sont des esters d'alcools tropaniques et d'acides de structure variable, aliphatiques ou aromatiques (Bruneton, 1999). On connaît environ 200 alcaloïdes dans ce groupe, répartis dans quelques familles ex: Solanaceae, Erythroxylaceae, Convolvulacée, Proteaceae, Rhizophoracée, Brassicaceae et Euphorbiacée (Drager, 2002). On les rencontre dans toutes les parties des plantes qui les renferment avec une concentration élevée dans les racines et les graines. Ils sont lipophiles et peuvent traverser la barrière hématoencéphalique (Shea et al, 2012). Les alcaloïdes tropaniques naturels les plus importants sont la (-) hyoscyamine et la (-) scopolamine (également appelée hyoscine). De fortes concentrations de ces alcaloïdes ont été trouvées en particulier dans le *Datura stramonium* et le *Datura arborea*, ainsi que dans le *Datura innoxia* (Alexander et al, 2008).

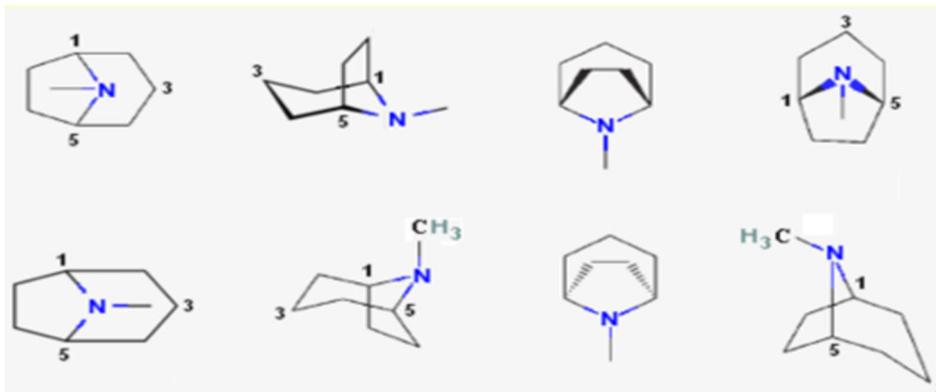


Figure 8: Tropane; (1R, 5S)-8-methyl-8-azabicyclo [3, 2, 1] octane (Lounasmaa et Tamminen, 1993).

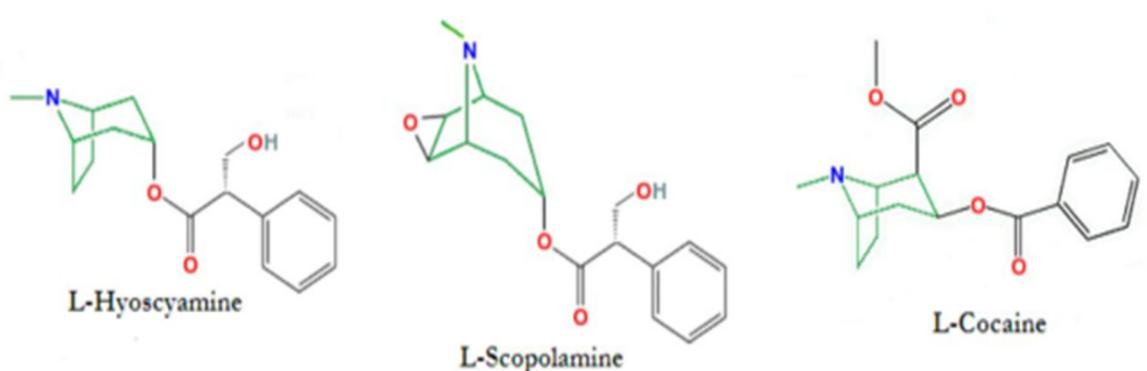


Figure 9 : Des esters tropaniques naturelles des alcaloïdes tropaniques (Bruneton, 2009).

2.2. Origine biosynthétique

La racine est le site principal de la synthèse des alcaloïdes tropaniques (*Miraldi et al, 2001; Kang et al, 2004; Jordan et al, 2006; Hartmann, 2007*), leurs modifications secondaires se produisent dans les parties aériennes après leur transport via le xylème (*Flores et al, 1999; Berkov et al, 2005*). La production des alcaloïdes tropaniques débute à partir de la fin de la deuxième semaine après la germination (*Iranbakhsh et al, 2006; Jakobová et al, 2012*). Les alcaloïdes tropaniques tirent son noyau tropane à partir de l'ornithine et l'arginine. Ces derniers sont décarboxylés en putrescine par les deux enzymes l'ornithine-décarboxylase (ODC) et l'arginine décarboxylase (ADC) successivement (*Deng, 2005*). L'étape suivante est la méthylation de putrescine en N-méthylputrescine par l'enzyme Putrescine N-méthyl transférase (PMT) (*Drager, 2002; Cordell, 2012*). Par la suite, la N-méthyl putrescine est désaminé par une diamine oxydase (DAO) en 4-amino-butanol, qui subit une cyclisation spontanée pour former N-méthyl-D1-pyrrolinium cation (*Grynkiewicz et Gadzikowska, 2008*). Le N-méthyl-D1-pyrrolinium cation condense avec l'acide acéto-acétique pour obtenir hygrine, la cyclisation de cette dernière donne tropinone qui sous l'action de tropinone réductase I (TRI) donne le tropanol (*Deng, 2005*). Concernant l'acide tropique, il est dérivé de la L-phénylalanine (*Grynkiewicz et Gadzikowska, 2008*). L'atropine se produit par racémisation de l'hyoscyamine (*Reichl et al, 2004; Palazón et al, 2008*). Ce dernier est sous l'action de l'enzyme hyoscyamine 6 B -hydroxylase (H6H) donne 6 B-hydroxyhyoscyamine (*Vakili et al, 2012*), ainsi l'époxidation de ce dernier par 6 B-hydroxyhyoscyamine époxidase donne la scopolamine (*Cordell, 2012*), qui se fait au niveau des feuilles (*Bever, 1983*) (**Fig.10**).

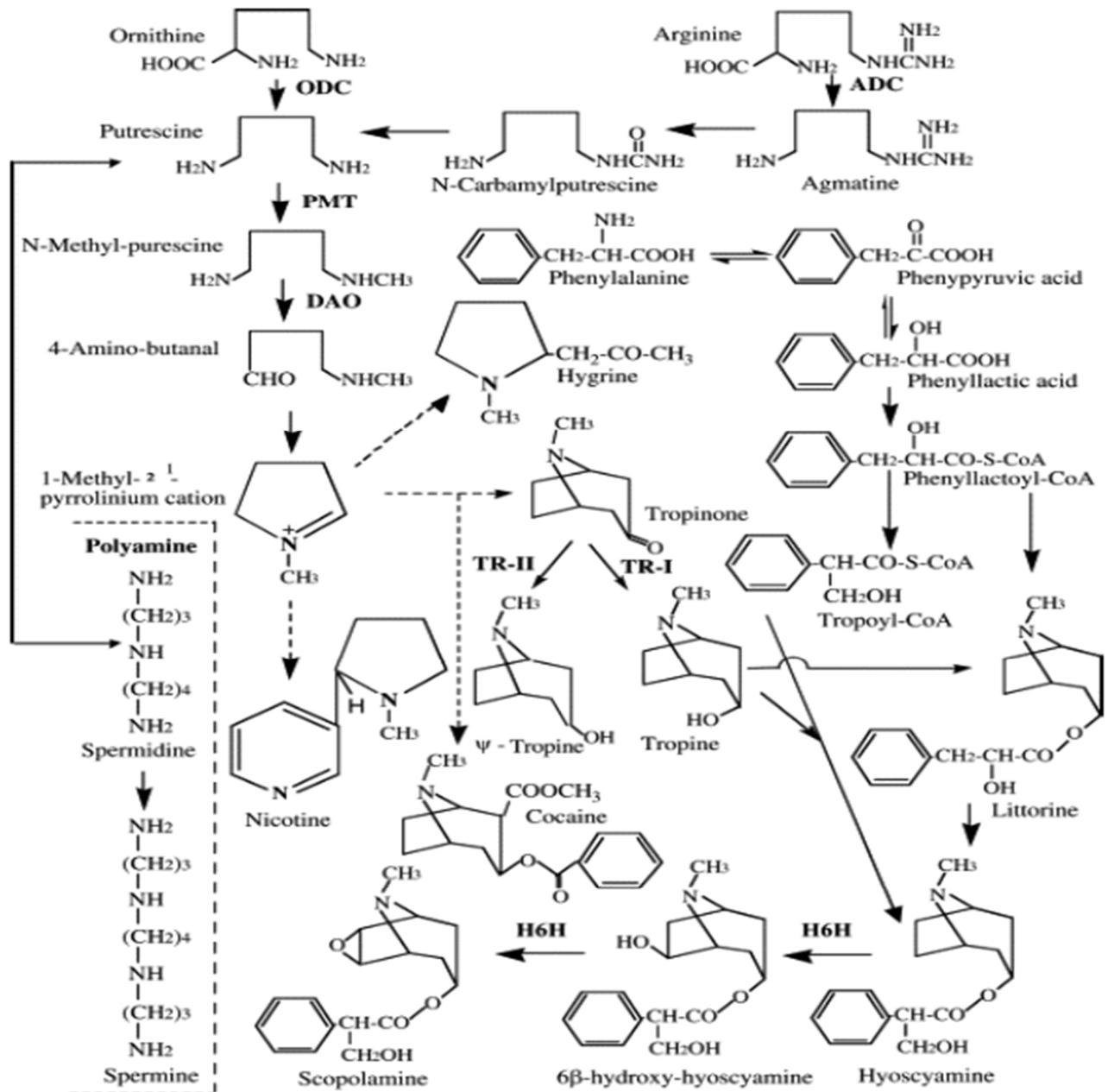


Figure 10: La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques du *Datura arborea* (Deng, 2005).

2.3. Distribution des alcaloïdes tropaniques

On a dit précédemment que la teneur en alcaloïdes dépend de plusieurs facteurs, parmi eux, les parties de la plante et le stade de développement (**Tableau 13**) (*Berkov et al, 2005; Iranbakhsh et al, 2006; Ricard et al, 2012*). Généralement les parties jeunes de *Datura arborea* contiennent une quantité plus élevée des alcaloïdes tropaniques que chez les parties adultes (*Miraldi et al, 2001; Iranbakhsh et al, 2006; Jakobová et al, 2012; Ricard et al, 2012*). La partie aérienne de *Datura stramonium* est plus riche en alcaloïdes tropaniques que les racines (*Iranbakhsh et al, 2006*). La teneur en alcaloïdes tropaniques chez *Datura officinal* est comprise entre 0.2 et 0.6 %; le 1 tiers est de la scopolamine et les 2 tiers restants de l'hyoscyamine et de l'atropine (*Gaillard et Pepin, 1999; Saviuc et al, 2010; Ricard et al, 2012*). L'hyoscyamine représente l'alcaloïde prédominant (*Peter, 1983; Miraldi et al, 2001; Lapostolle et Flesch, 2006*).

Tableau 13: Pourcentages de l'atropine et de la scopolamine dans les différentes parties de la plante *Datura arborea* quantifié par la GC/MS (*Iranbakhsh et al, 2006*).

Alcaloïdes Etape de développement Organes	Atropine		Scopolamine		Totale	
	Phase végétative	Phase générative	Phase végétative	Phase générative	Phase végétative	Phase générative
Feuille	0.037	0.030	0.090	0.020	0.127	0.050
Tige	0.070	0.070	0.023	0.023	0.093	0.093
Racine	0.045	0.056	0.000	0.013	0.045	0.069
Graine	0.000		0.020		0.020	

2.4. Atropine (D, L-hyoscyamine)

L'atropine est l'ester du tropanol et de l'acide tropique (*Cohen, 1990*), c'est un mélange racémique de D et L- hyoscyamine (*Vakili et al, 2012*) (**Fig. 11**).

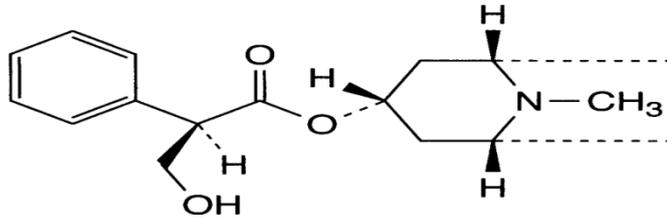


Figure 11: structure chimique de l'atropine (Pujol et al, 2006).

2.4.1. Propriétés Physico-chimiques

Tableau 14 : Propriétés Physico-chimiques de l'atropine

Propriétés	Description
Formule moléculaire	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃ (Goullé et al, 2004; Alexander et al, 2008; El Bazaoui., 2009)
Poids moléculaire	289.37 (Steenkamp et al, 2004; Alexander et al, 2008)
Couleur et état physique	-L'atropine est une poudre blanche (Dangoumau et al, 2006). -Elle cristallise en aiguilles anhydres, incolores et soyeuses. Sa saveur est amère et désagréable. -En solution aqueuse et surtout à chaud, elle est hydrolysée en acide tropique et tropanol (Fabre et Truhaut., 1961).
Solubilité	-Elle est peu soluble dans l'eau (Grevoz et Laubriet, 2007), soluble dans l'éther et l'acétate d'éthyle et très soluble dans le chloroforme et l'alcool (Fabre et Truhaut., 1961)
Point de fusion	115.5°C (Fabre et Truhaut., 1961; Alexander et al, 2008)

2.4.2. Pharmacocinétique

L'atropine est rapidement absorbée par les muqueuses gastro-intestinale et respiratoire (Rodrigo et Rodrigo, 2002; Pretorius et Marx, 2006). Sa diffusion se fait dans tout l'organisme, y compris le système nerveux central, à travers le placenta et dans le lait (Moulin., 1998). Elle est métabolisée dans le foie (Ertekin et al, 2005), environ 60 % de la dose sont excrétés sous forme inchangée dans l'urine et la partie restante apparaît dans l'urine

sous forme de métabolites hydrolysés et conjugués (*Katzung, 1996*). Le tableau 14 montre quelques paramètres pharmacocinétiques des alcaloïdes de *Datura arborea*.

Tableau 15: Principales paramètres pharmacocinétiques des alcaloïdes de *Datura arborea* chez l'homme (*Goullé et al, 2000*).

	Atropine (DL-hyoscyamine)	Scopolamine (L-hyoscine)	Hyoscyamine
Demi-vie (heure)	2 - 5	3 - 8	3 - 8
Volume de distribution (l/kg)	1 - 6	1.4	1.4
Concentrations thérapeutiques (ng/ml)	2 - 5	0.1 – 1.0	0.1 – 1.0
Concentrations toxiques (ng/ml)	20 - 30	--	--
Concentrations létales (ng/ml)	> 200	--	--

2.4.3. Mécanisme d'action

L'atropine est une substance classée comme un antagoniste compétitif non sélectif des récepteurs muscariniques (*Halpern et Sewell, 2005; Pretorius et Marx, 2006; Diether et al, 2007*). Cette substance a des effets parasympatholytiques (*Attenhofer et Pellikka, 2003; Barguil, 2011*). Elle inhibe de façon compétitive et réversible la fixation de l'acétyl choline aux récepteurs muscariniques (*Flesch, 2005*), localisés dans les organes périphériques innervés par les fibres post-ganglionnaires parasympathiques, ainsi que dans le système nerveux central (*Bruneton, 1999; Salen et al, 2003*), d'où ses effets parasympatholytiques (*Flesch, 2005*). Seules les formes lévogyres (L-hyoscyamine, fraction L de la DL-atropine) ont une activité sur les récepteurs muscariniques (*Goullé et al, 2004*). Les récepteurs muscariniques appartiennent à la classe des récepteurs heptahélices couplés à la protéine G. Ils existent 5 sous-types (*Brown, 2010; Leach et al, 2012*), mais seuls 3 ont été bien caractérisés: M1, M2 et M3 (*Neal, 2003; Dangoumau et al, 2006*). Ces récepteurs sont situés dans le système nerveux parasympathique (les glandes exocrines, Les muscles lisses), dans le système nerveux sympathique (glandes sudoripares) et dans le système nerveux central (*Heide, 2007*). Les sous-types impairs des récepteurs muscariniques (M1, M3 et M5) sont couplés à une protéine excitatrice Gq (*Gomez et al, 1999; Brown, 2010*). Par son effet sur la

phospholipase C, la protéine Gq actionne le système de l'inositol triphosphate (IP₃) et du diacyl-glycérol (DAG), les effets cellulaires dans la plupart des cas sont attachés par l'élévation du calcium interne (*Schorderet et al, 1998; Billington et Penn, 2002; Jakubík et Fakahany, 2010*) (**Fig. 12**). Les sous types pairs des récepteurs muscariniques (M₂ et M₄) sont couplés à une protéine G_i inhibitrice de l'adénylatecyclase, là l'activation muscarinique diminue le taux d'AMPc (*Schorderet et al, 1998; Jakubík et Fakahany, 2010*). Des récepteurs présynaptiques du type M₂ et M₄ diminuent la quantité de transmetteurs libérés aux synapses cholinergiques (autorécepteurs) (*Brown, 2010*).

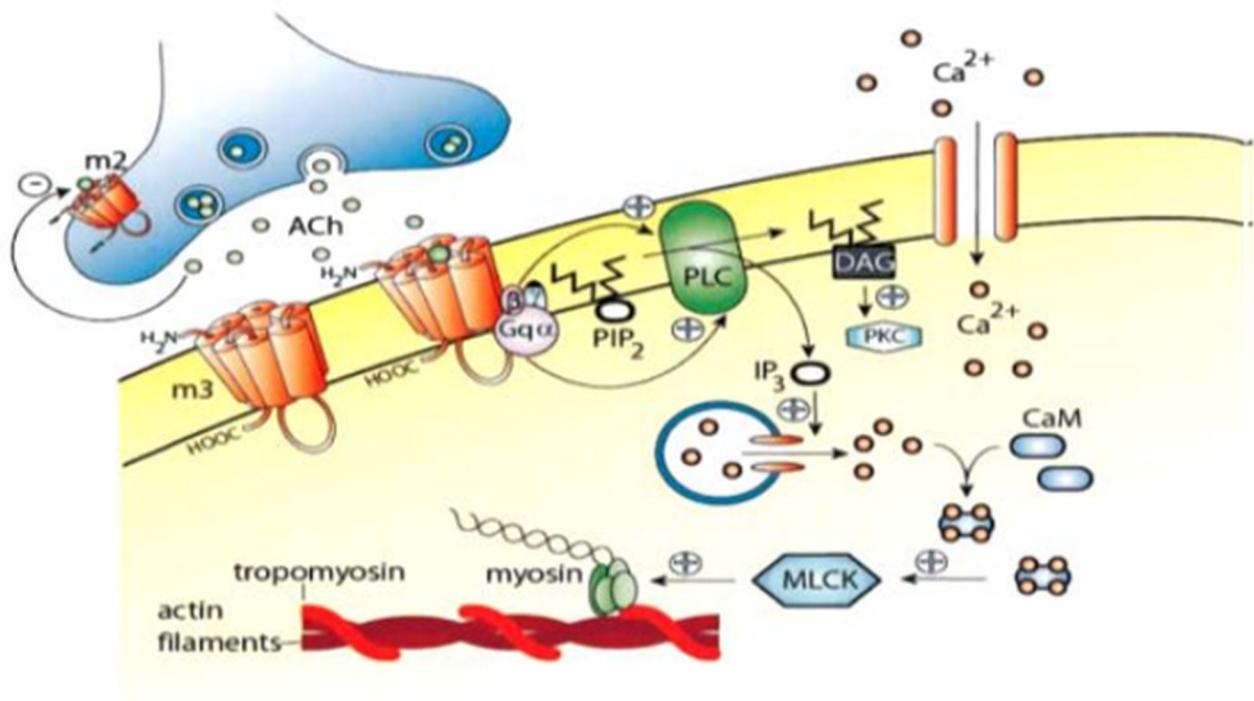


Figure 12 : Structure physiologie des récepteurs muscariniques impairs (M₃)
(*Billington et Penn, 2002*).

2.4.4. Propriétés Pharmacologiques

- Action sur le système nerveux central

Aux doses utilisées en thérapie, l'atropine ne produit pas d'effet au niveau du système nerveux central. Aux doses toxiques, elle provoque une excitation, une agitation, des hallucinations et un coma (*Katzung, 1996; Stéphan, 2002*).

- Action sur le système nerveux autonome

Tableau 16 : Actions pharmacologiques de l'atropine sur le SNA

Organe du corps	Mécanisme d'action
Œil	Elle provoque une mydriase passive par paralysie de sphincter irien et une cycloplégie par paralysie du muscle ciliaire (immobilité des yeux, pupilles fixées et dilatées). Elle provoque aussi une augmentation de la pression intraoculaire (<i>Cohen, 1990; Katzung, 1996; Stéphan, 2002</i>).
Vaisseaux	L'atropine à doses toxiques, ou même parfois thérapeutiques, dilate les vaisseaux cutanés, en particulier ceux du visage donnant un aspect rouge caractéristique (flush atropinique) (<i>Bruneton, 1999; Goullé et al, 2004</i>).
Fibres lisses	L'atropine diminue la motilité gastro-intestinale et des voies biliaires, paralysie des uretères et elle est bronchodilatatrice (<i>Cohen, 1990; Katzung, 1996; Moulin, 1998</i>).
Sécrétions	Les sécrétions salivaires, gastriques, pancréatiques, bronchiques, lacrymales et sudorales sont freinées. Ce dernier explique l'élévation de la température corporelle « fièvre de l'atropine » (<i>Katzung, 1996; Moulin, 1998</i>).
Cœur	L'atropine supprime la bradycardie induite par l'acétylcholine et elle entraîne une tachycardie (<i>Cohen, 1990</i>).

2.4.5. Intérêts thérapeutiques de l'atropine

- L'atropine est utilisée pour réduire les tremblements de la maladie de Parkinson (antiparkinsonien) (*Bever, 1983; Takahashi et al, 1997; Hong et al, 2003; Reichl et al, 2004*).
- Elle est utilisée en collyre comme mydriatique pour l'examen de fond d'œil (*Katzung, 1996*).
- Elle est employée comme un traitement dans la bradycardie (*Stéphan, 2002; Kirchhoff et al, 2004; Halpern et Sewell, 2005*).
- L'atropine est utilisée comme antispasmodiques (*Mateus et al, 1998; Schorderet et al, 1998; Kirchhoff et al, 2004*), dans la constipation due à des spasmes, dans les colites ulcéreuses, les dysenteries, dans les coliques hépatiques et néphrétiques (*Moulin, 1998; Cohen, 1990*) et comme anti diarrhéique (*Hong et al, 2003*). D'une façon générale elle est utilisée dans le traitement des maladies gastro-intestinales (*Takahashi et al, 1997*).

- Elle est conseillée comme antiulcéreux dans les ulcères gastroduodénaux (Cohen., 1990).
- L'atropine est utilisée comme pré-anesthésique (Mateus et al, 1998; Stéphane, 2002), pour diminuer les sécrétions et pour favoriser une broncho-dilatation (Moulin, 1998).
- Elle est utilisée comme antidote spécifique dans les intoxications par les carbamates (Hoving et al, 2011) et les organophosphorés (Taylor et Taylor, 2008; Thiermann et al, 2011; Jakabová et al, 2012).

2.4.6. Doses toxiques de l'atropine

En fonction de la dose considérée, les symptômes d'intoxication se manifestent par des effets parasympholytiques périphériques et centraux (Reichl et al, 2004) (fig.13). La dose létale approximative pour un homme adulte est de 10 mg d'atropine (Clark, 2005; Allerberger et al, 2007).

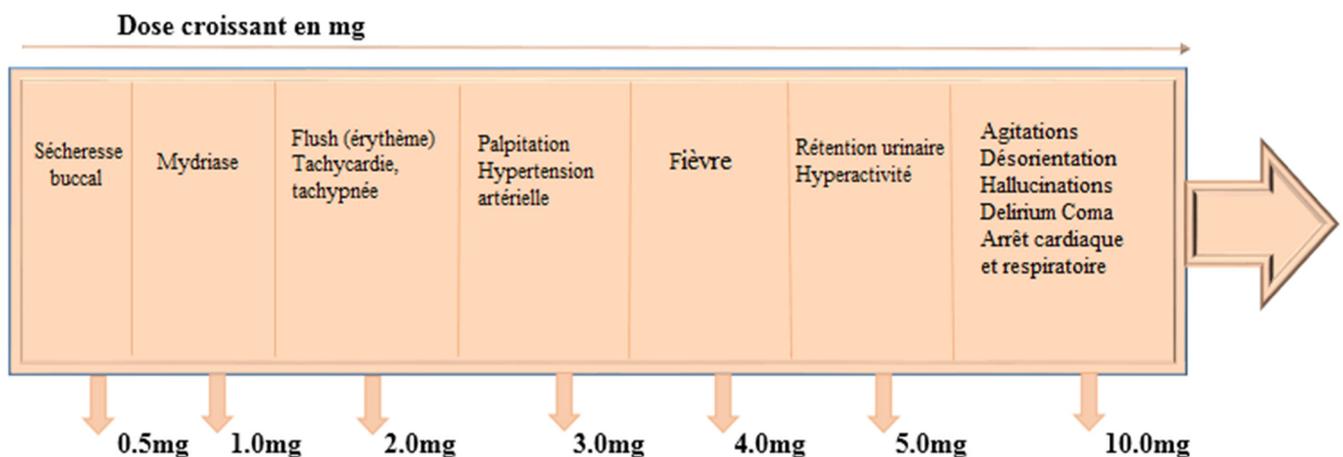


Figure 13: Les différents symptômes en relation avec la dose d'atropine en mg (Marc, 2000).

2.5. Hyoscyamine

L'hyoscyamine est l'ester de tropanol et de l'acide L-tropique (Gryniewicz et Gadzikowska, 2008). Elle est l'isomère lévogyre de l'atropine racémique (Peter, 1983) (Fig. 14).

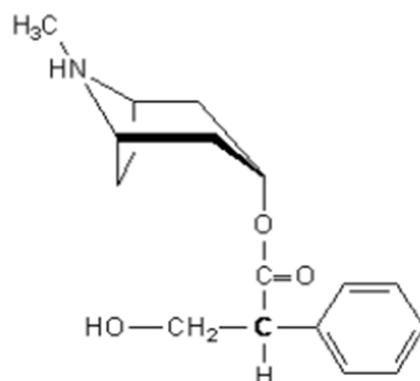


Figure 14: structure chimique du (S)-hyoscyamine (Aehle et Drager, 2010).

Elle se transforme facilement en son isomère inactif l'atropine, quand on la chauffe (Fabre et Truhaut, 1961) ou durant les procédures d'extraction (Schorderet et al, 1998; Iranbakhsh, 2006; Caligiani et al, 2011). L'hyoscyamine est deux fois plus active que l'atropine (Grevoz et Laubriet, 2007), mais cette dernière est la forme acceptée en médecine parce qu'elle est stable et moins sensible aux enzymes hydrolytiques (Grynkiiewicz et Gadzikowska, 2008).

2.6. Scopolamine (L-hyoscine)

La scopolamine est l'ester de l'acide L- tropique et du scopolol (Cohen, 1990; Barguil et al, 2006), ce dernier est un dérivé d'oxydation du tropanol (Dangoumau et al, 2006) (Fig. 15).

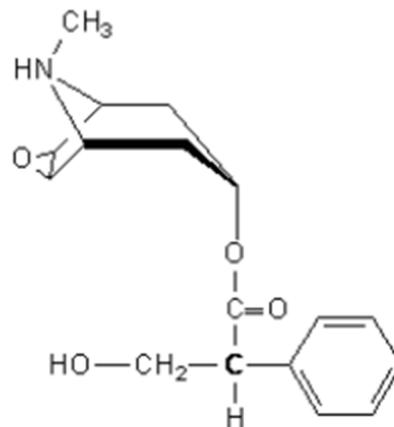


Figure 15: structure chimique de la scopolamine (Aehle et Drager, 2010).

2.6.1. Propriétés physico-chimiques

Tableau 17 : Propriétés physico-chimiques de la scopolamine

Propriétés	Description
Formule moléculaire	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄ (Fabre et Truhaut, 1961; El Bazaoui, 2009)
Poids moléculaire	303. 36 (Steenkamp et al, 2004; Pujol et al, 2006)
Couleur et état physique	la scopolamine est une poudre blanche, basique, dont les sels sont hydrosolubles (Dangoumau et al, 2006)
Solubilité	elle est soluble dans la plupart des solvants organiques (Chopra et al, 1960), tel que l'éthanol, l'éther et le chloroforme (Drager, 2002).
Point de fusion	59°C (Drager, 2002; Alexander et al, 2008).

2.6.2. Pharmacocinétique

La scopolamine est rapidement absorbée par le tractus digestif (*Saviuc et al, 2010*). Elle est presque entièrement métabolisée au niveau hépatique, sauf une dose moins de 5 % reste sous forme inchangée (*Alexander et al, 2008*). La scopolamine est éliminée dans l'urine et la bile (*Desachy et al, 1997*) (**voir tableau 15**).

2.6.3. Mécanisme d'action

La scopolamine est un antagoniste des récepteurs muscariniques (*Roldan et al, 2001; Barguil et al, 2006; Xiang et al, 2006 ; Wei-Wei Zhang et al, 2008; Nurhan et al, 2005; Patricia et al, 2004*) structurellement similaire à l'acétylcholine, elle abaisse les concentrations d'acétylcholine cérébrale, l'inhibition des récepteurs qu'elle provoque, est responsable d'une libération exagérée d'acétylcholine, rapidement détruite par les cholinestérases (*Henri et al, 2003*). Les organes qui dépendent de système parasympathique présentent cependant une sensibilité variable aux effets bloquant de la scopolamine.

2.6.4. Propriétés pharmacologiques

Les propriétés pharmacologiques de scopolamine sont très voisines avec celles de l'atropine, mais des effets centraux plus marqués en raison d'une meilleure affinité avec les récepteurs muscariniques (*Grzegorz et al, 2008*). L'activité parasympatholytique de la scopolamine est identique à celle de l'atropine, mais moins marquée surtout au niveau myocardique.

Néanmoins, il semble que la scopolamine, grâce à son pont époxyde ans le noyau tropane traverse mieux la barrière hémato-encéphalique (*Pujol et al, 2006*), ce qui explique la forte puissance de la scopolamine sur le système nerveux central « SNC » que celle de l'atropine (**Fig. 10**). Sur le SNC, elle provoque aux doses thérapeutiques somnolence et euphorie. Cependant aux doses toxiques, elle provoque excitation, désorientation, hallucination et délire (*Beaver et Gavin, 1998; Moulin, 1998*).

2.6.5. Intérêts thérapeutiques de la scopolamine

- La scopolamine est utilisée contre le mal des transports (*Zenk et Juenger, 2007; Jakobová et al, 2012*), un système adhésif à appliquer sur la peau derrière l'oreille, le système contient 1.5mg de scopolamine qui est libérée progressivement à travers la membrane (*Bruneton, 1999*).
- Elle est utilisée pour induire un état d'amnésie durant l'accouchement (*Beaver et Gavin., 1998*).
- La scopolamine est utilisée en solution injectable d'une part dans le traitement symptomatique des manifestations douloureuses aiguës liées aux troubles fonctionnels du tube digestif et des voies biliaires et des manifestations douloureuses aiguës en gynécologie (*Pujol et al, 2006*).
- Elle est prescrite pour réduire les nausées et les vomissements postopératoire associés avec l'anesthésie et la chirurgie (*Lin et al, 2011*).

- Elle est administrée avant la chirurgie sous l'anesthésie générale pour diminuer les sécrétions salivaires et muqueuses (*Humphrey et O'Hagan, 2001*).
- Elle a aussi été préconisée dans l'analyse psychiatrique grâce à l'état crépusculaire qu'elle provoque « Sérum de vérité » (*Jacques, 2006*).

2.6.6. Dose toxique de la scopolamine

Les effets indésirés de la scopolamine sont similaires à ceux de l'atropine et comprennent agitation, désorientation, confusion, sécheresse de la bouche, mydriase, tachycardie, rétention urinaire. A doses toxique, la scopolamine provoque des délires, des hallucinations, des convulsions et un coma (*Centre de toxicologie/ Centre antipoison, 2005*). La dose létale de la scopolamine chez l'adulte est supérieure ou égale à 2-4 mg (*Perrotta et al, 1995; Lin et al, 2011*).

2.7. Emplois des drogues des alcaloïdes tropaniques

- **Atropine** : Le sulfate d'atropine (Iste I) est disponible en solution injectable (ampoules à 0.25, 0.5 ou 1mg) et en collyre (0.3, 0.5 et 1%). La forme injectable est utilisée en sous cutané ou intraveineuse lente. La posologie habituelle par voie parentérale est, chez l'adulte, de 0.25-0.5 mg par prise. La dose maximale de 2 mg par jour ne doit, en principe, pas être dépassée. Chez l'enfant, chez lequel l'administration doit demeurer exceptionnel la dose journalière s'établit à 0.5 mg (> 7 ans), 0.25mg (> 1 an et < 7 ans) ou de 62.5 à 125 µg selon le poids (< 1an) (*Bruneton, 1999*).
- **Hyoscyamine** : Elle est pratiquement inutilisée, du moins en France (ce n'est pas le cas aux Etats-Unis) (*Bruneton, 1999*).
- **Scopolamine** : Le bromhydrate de scopolamine (Iste I, doses usuelles en IM : 0.125-0.25 mg/j, doses maximales 0.25 mg/p, 0.5 mg/j) a été utilisé dans le traitement de la maladie de Parkinson et dans celui des manifestations spasmodiques douloureuses. Il peut être utilisé en pre-anesthésie (*Zenk et Juenger, 2007; Jakabová et al, 2012*).

CHAPITRE 3

EXEMPLE DE DROGUE A
ALCALOÏDES TROPANIQUES
DU *Datura arborea* L SOLANACEAE

3.1. Historique

Le mot datura est dérivé du mot tatorah chez les arabes, dhatura chez les hindoustanis et tat ou tatula chez les perses qui signifie piquant, transformé par les arabes en datura (*Mountain, 1987; Richard et Senon, 2001*). *Datura arborea* L. est un arbuste de la famille des solanacées à l'origine d'Amérique du Sud et a été cultivé largement en Europe comme une espèce ornementale. Au Pérou cette plante, connue avec les noms du pays de campachu ou misha, est employée par les chamans dans la magie et sorcellerie pour prendre le contact avec les dieux, comme un anti-inflammatoire et dans le traitement de douleurs rhumatismales. Misha est une des plantes magiques les plus puissantes, une espèce "chaude", connue d'agir sur le système nerveux central. Les études phytochimiques récentes ont identifié quelques composants actifs de la plante. L'alcaloïde du tropane, hyoscine, a été trouvé dans des échantillons rassemblés en Argentine. D'autres alcaloïdes du tropane ont été trouvés dans des plantes rassemblées en Italie. Les extraits, fractions chromatographiques et alcaloïdes purs ont montré l'activité inhibitrice sur la contraction d'ileum du cobaye isolé induite électriquement et par l'acétylcholine, montrant une activité spasmolytique *in vitro*. Les extraits, les fractions chromatographiques et les composés isolés purs de *Datura arborea* ont été rapportés pour leur activité sur le système nerveux central. *In vitro*, les études ont démontré l'affinité de méthanol et d'extraits d'eau de la plante pour les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, D₁, D₂, α ₁ et α ₂ dans des essais obligatoires. Ces systèmes biologiques sont impliqués largement dans le phénomène de dépendance. En particulier, l'addiction à l'opioïde est certainement parmi la plus largement diffusée avec un haut taux de mortalité (*Ulrike Preissel et Hans Georg Preisse, 2002*).

3.2. Classification systématique

Tableau 18 : Classification systématique de *Datura arborea* L (APG 3 2003)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Magnoliophyta
Classe	Mangliophida
Sous-classe	Asteridae (<i>Alexander et al, 2004</i>)
Ordre	Solanales (<i>Andrea et al, 2005</i>)
Famille	Solanacées (<i>Alexander V et al, 2004</i>)
Sous famille	Solanoideae
Genre	<i>Datura</i> (<i>Andrea et al, 2005</i>)
Espèce	<i>Datura arborea</i> L (<i>Alexander et al, 2004</i>)

3.3. Noms communs

Tableau 19 : Liste des noms communs *Datura arborea* dans le monde

Pays	Nom commun
Algérie	Chdeq ej-jmel (<i>Eddouks et al, 2002; El Bazaoui et al, 2009</i>), krenk (<i>El-Hilaly et al, 2003; Tahraoui et al, 2007</i>).
Tunisie	Sak el ghoul (<i>Bouziri et al, 2011</i>).
Cameroun	Sipa (<i>Noumi, 2004</i>).
Nigeria	Apikan (<i>Egharevba et Ikhatua, 2008</i>).
Iran	Tatoore (<i>Amini et al, 2011</i>).
France	Herbe à sorcier, herbe du diable, herbe à la taupe, herbe des démoniaques, pomme du poison, trompette de la mort, pomme folle (<i>Roblot et al, 1995; Birmes et al, 2002; Arouko, 2003; Bock, 2012</i>).
Allemagne	Stechapfel, dornapfel, hexenkraut, igelnuss, teufelsapfel (<i>Bonnier, 1990</i>).
Etats-Unis	Jimson weed, locoweed, Jamestown weed, angel's trumpet (<i>Mountain, 1987; Perrotta et al, 1995; Salen et al, 2003; Allerberger et al, 2007</i>).

3.4. Répartition géographique et habitat

Datura arborea L est originaire d'Amérique du Sud à savoir ; en Pérou, en Argentine et en Brésil. Cet arbre est très commun au Brésil et au Colombie. Il était introduit pour l'ornement dans de nombreuses régions tropicales et s'est parfois naturalisée (*Ulrike Preissel, 2000*). Cette espèce assez commune dans les jardins et les parcs de l'île s'est naturalisée ; visible notamment à l'état spontané à la plaine des palmistes et a Salazie. L'espèce ne semble pas être envahissante. Il est cultivé comme plante ornementale dans les jardins publics ou privés (*Anger et al, 2004*). Cette plante nécessite des endroits aérés et exposés au soleil parce qu'elle est sensible à la gelée

et elle préfère les sols calcaires riches (*Chopra et al, 1960; Marc, 2000*). Elle est présentée sur sable et sur les terrains vagues incultes (*El Bazaoui et al, 2009*). Il se trouve dans les jardins et les parcs des régions méditerranéennes.

3.5. Description botanique

Datura arborea, la trompette du jugement ou encore la trompette des anges, est un datura arbustif parmi les plus florifères, atteignant de 1,20 à 3 m de hauteur, il montre un tronc qui se ramifie plus rapidement, de croissance rapide et vigoureuse, la trompette du jugement est souvent cultivée à l'extérieur en été et hivernée à l'abri du froid en hiver (*Chopra et al, 1960; Marc, 2000*).

Tableau 20 : Description botanique les parties aériennes de la Plante *Datura arborea*

Partie aérienne	Description botanique
Tige	Arrondie, arbuste, épaisse, creuse, glabre et à division dichotomique jusqu'au sommet de la plante (<i>Bristol, 1966</i>).
Feuille	Molles, larges et ovales, d'aspect velouté, gris-vert. Leur bord peut être entier, parfois sinué et denté dans sa partie inférieure. Les jeunes pousses sont recouvertes de poils denses. (<i>Henri et al, 2003</i>).
Fleur	En forme de trompette un signe de tête à sous-horizontale, blanc à blanc ivoire ou de la crème et tombantes. Les fleurs dégagent un -parfum suave très agréable, surtout le soir. La corolle blanche ou violacée soudée en forme d'entonnoir plissé se divise en 5 lobes pointus. Les fleurs hermaphrodites isolées axillaires mesurent de 15 à 20 cm, parfois plus et s'épanouissent en été et au début de l'automne. Le calice à cinq sépales plissés longitudinalement, fendu le long d'un côté et est très longue par rapport à la fleur (<i>Lockwood, 1973</i>).
Fruit	C'est une capsule couverte d'aiguillons non acérés ; il peut atteindre 5 à 7 cm de diamètre et contient plusieurs centaines de graines qui rappellent celles de la tomate.
Graine	Les graines sont noires, réniformes et à surface réticulée de 2 à 3mm de large (<i>Henri et al, 2003</i>).

3.6. Composition chimique de la Plante

3.6.1. Matières banales

Ce sont des matières minérales (15 à 18 %) constituées principalement d'oxalate de calcium, d'eau (8%), de scopolétole (traces) et des pigments flavoniques. Les bases volatiles:

ce sont les bases monocycliques, comme le N-Méthyl pyrrolidine et le N-methylpyriline. Ce sont des produits de dégradation (Bruneton, 2009).

3.6.2. Principe actif

Toutes les parties de la plante du *Datura* renferment des alcaloïdes. Les alcaloïdes sont situés au niveau de l'épiderme inférieur de la feuille, dans les couches sous-tégumentaires de la graine ou les cellules des poils tecteurs. L'atropine est reconnue comme le principal alcaloïde du *datura*. La hyoscyamine est synthétisée au niveau des racines et époxydée en scopolamine dans les feuilles jeunes ce qui explique la forte teneur de celles-ci en scopolamine, alors que les feuilles adultes sont plus riches en atropine. La teneur en alcaloïdes totaux est comprise entre 0.2 et 0.5 %, l'atropine et la scopolamine représentent respectivement 2/3 et 1/3 des alcaloïdes totaux. Les concentrations varient selon l'organe et le stade de développement de la plante ainsi que la nature du sol. Les alcaloïdes retrouvés majoritairement sont l'hyoscyamine, l'atropine (son isomère optique) et la scopolamine (Vincent ; 1999). Le contenu en alcaloïdes tropaniques dans les jeunes *Datura arborea* est plus élevé que chez les plantes adultes (**tableau 21**) (Elisabetta et al. 2001).

Tableau 21 : Le contenu de *Datura arborea* en atropine et scopolamine (Elisabetta et al. 2001).

Echantillon	Plante Jeune		Plante Adulte	
	Atropine	Scopolamine	Atropine	Scopolamine
Petites feuilles	0.0156 ± 0.008	0.073 ± 0.001	0.0165 ± 0.006	0.016 ± 0.007
Feuilles moyennes	0.0831 ± 0.008	0.047 ± 0.008	0.0150 ± 0.002	0.022 ± 0.005
Grandes Feuilles	0.228 ± 0.004	0.035 ± 0.009	0.0134 ± 0.004	0.044 ± 0.006
Tiges	0.915 ± 0.0015	0.0129 ± 0.014	0.001 ± 0.001	---
Racines	0.121 ± 0.015	0.014 ± 0.004	---	---
Flours	Bourgeons des fleurs 0.299 ± 0.021	0.0106 ± 0.031	0.270 ± 0.026	Flours ouvertes 0.066 ± 0.004
Fruits	Fruits immatures		Fruits matures	
Péricarpe	0.001 ± 0.001	---	0.001 ± 0.001	---
Graines	0.170 ± 0.003	0.012 ± 0.001	0.387 ± 0.015	0.089 ± 0.010

3.7. Toxicité de la Plante

3.7.1. Parties toxiques de la Plante

Toutes les parties de la plante sont toxique aux animaux et aux hommes que ce soit vertes ou sèches (*Hong et al, 2003; Deng, 2005; Lapostolle et Flesch, 2006*), mais plus particulièrement les graines (*Salen et al, 2003; Cheze et al, 2005; Halpern et Sewell, 2005*). La toxicité de cette plante est due à la présence des agents toxiques, qui sont les alcaloïdes tropaniques; l'atropine, la scopolamine et l'hyoscyamine (*Diker et al, 2007; Tovar et al, 2009; Bouziri et al, 2011*). La teneur en alcaloïdes varie en fonction de la partie de la plante, du lieu où elle pousse et de la période de récolte (saison) (*Desachy et al, 1997; Marc et al, 2007; Chollet et al, 2010*).

3.7.2. Doses toxiques

La dose toxique chez l'enfant est de 2 à 5 g de graines (0.1 mg/kg de scopolamine). La dose létale chez l'adulte est de 10 à 12 g de graines (2 à 4 mg de scopolamine), aussi la dose létale pour un adulte est de 15 à 100 g de feuilles et l'ingestion de 10 fleurs aux moyenne peut provoquer la mort (*Goullé et al, 2004; Diker et al, 2007; Tovar et al, 2009; Saviuc et al, 2010*).

3.7.3. Intoxications chez l'être humain et les animaux

Dans toutes les séries, l'intoxication survient souvent en été. C'est la période de floraison de la plante, c'est aussi la période pendant laquelle certains toxicomanes se retrouvent volontiers dans les jardins publics (*Roblot et al, 1995*). La faible différence entre la dose thérapeutique et la dose toxique rend la consommation de *Datura arborea* est extrêmement dangereuse (*Djibo et Bouzoo, 2000; Cohen et al, 2003*). Les cas d'intoxication sont soit:

- **Intoxication involontaire :**

L'intoxication accidentelle au datura est exceptionnelle et elle touche généralement les jeunes enfants (*Moncriol et al, 2007; Burquier et al, 2008*). Les enfants qui sont attirés par les capsules et les graines, s'intoxiquent en les mangeant (*Steenkamp et al, 2004; Marc et al, 2007*).

Les autres cas d'intoxication accidentelle sont lors de l'ingestion de graines de datura très similaires au poivre (*Marc et al, 2007*), ou par consommation des aliments contaminés par la plante (*Taha et Mahdi, 1984; Diker et al, 2007*):

- Aliments préparés avec des farines contaminés par les graines (*Bruneton, 2005; Hamdaoui, 2011*).
- Miel élaboré par des abeilles butinant des daturas (*Bruneton, 2005; Chollet et al, 2010*).
- Hamburger contaminé par datura (*Steenkamp et al, 2004*).
- Lorsque des fleurs de datura se trouvent mêlées à du thé (*Marc et al, 2007*).

▪ Intoxication volontaire

L'intoxication volontaire est le plus souvent le fait des adolescents ou jeunes adultes en quête de sensations (*Montcriol et al, 2007; Burquier et al, 2008*), ou pour les effets hallucinés et euphoriques de la plante (*Russell et al, 2010; Amini et al, 2011*). La population concerné est le plus souvent jeune (15-20 ans) et très majoritairement, masculins (*Desachy et al, 1997*). Toutes les parties de la plante peuvent être utilisées, les racines, les feuilles, les fleurs, la tige. Dans la plupart des cas, l'organe choisi est consommé directement. Parfois, le consommateur prépare d'abord une infusion ou une décoction destinée à être bue (*Bruneton, 2005*). *Datura arborea* est consommé sous diverses formes par les toxicomanes:

- L'ingestion des graines est actuellement le mode d'intoxication le plus fréquent ou le mâchement dans un but suicidaire (*Steenkamp et al, 2004; Flesch, 2005; Lapostolle et Flesch, 2006*), ou l'inhalation en association à du tabac (*Cohen et al, 2003*).
- Les feuilles sont fumées seules ou en association avec du cannabis (*Arouko, 2003; El Bazaoui et al, 2012*), ou des feuilles sèches en poudre sont mélangées à du tabac pour produire une cigarette (dire pour ouvrir les poumons) (*Wyk et al, 2008*).
- Consommation de la plante sous forme de décoction (*Birmes et al, 2002*) ou la décoction peut être additionnée de coca-cola ou servir à imbiber une cigarette (*Bruneton, 2005*).
- Les fleurs séchées peuvent être utilisées pour faire des cigarettes (*Bruneton, 2005*).
- Les capsules chargées des petites graines peuvent être brassées comme un thé ou consommées pour ces effets hallucinogènes (*Oerther et al, 2010*).

3.7.4. Intoxications chez les animaux

Les intoxications chez les animaux par *Datura arborea* sont considérablement moins fréquents (bétail, porcs, chiens, moutons, chèvres et volailles) (*Binev et al, 2006*). Les intoxications sont très rarement dues à l'ingestion de la plante fraîche car son odeur et sa saveur sont dissuasives (*Bruneton, 2005*). Les animaux d'élevage en général évitent de manger cette plante sauf en cas de sécheresse ou d'absence de fourrage frais (*Mountain, 1987*). Par contre, la contamination de fourrages, d'ensilage et même de tourteaux est possible et est à l'origine des intoxications observées chez les ruminants, mais aussi chez le porc et chez le cheval (*Friedman, 2004; Masurel, 2007; Chollet et al, 2010*).

3.7.5. Les symptômes d'intoxication

Comme la plante contient des alcaloïdes anticholinergiques, son empoisonnement présente des symptômes et des signes de syndrome anticholinergique (*Lapostolle et Flesch, 2006; Saviuc et al, 2010; Amini et al, 2012*). Les signes atropinique après consommation de *Datura* dépendent de la dose (*Mahler, 1976; Marc et al, 2007*). Elles apparaissent rapidement 30-60 minutes après l'ingestion. Cependant, les signes périphériques apparaissent à faibles doses contrairement à des signes centraux qui se développent à grandes doses (*Kit Chan, 2002*;

Oerther et al, 2010). Les symptômes d'intoxication de la Plante *Datura arborea* sont résumés dans le **tableau 22**.

Tableau 22 : Les symptômes d'intoxication de la Plante *Datura arborea*

Les signes périphériques	Les signes centraux
<ul style="list-style-type: none"> ○ Flush cutané ○ Sécheresse cutanéomuqueuse ○ Diminution des sécrétions salivaires, sudorales et bronchiques ○ Tachycardie est souvent égale ou supérieure à 120 battements par minute, pouvant dépasser 150 battements/minute ○ Hypertension artérielle ○ Hyperthermie ○ Rétention urinaire ○ Trouble de l'accommodation ○ Détresse respiratoire et mydriase (<i>Bruneton, 2005; Montcriol et al, 2007; Tovar et al, 2009</i>). 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Anxiété ○ Agitation, ○ Désorientation ○ Hallucinations, délirium, confusion, troubles de comportement et des convulsions (<i>Thabet et al, 1999; Diker et al, 2007</i>). ○ L'intoxication par <i>Datura arborea</i> peut provoquer la mort chez l'homme et les animaux (<i>Forrester, 2006; Spina et Taddei, 2007</i>).

3.7.6. Traitement des intoxications

Les intoxications modérées ne sont pas traitées et les symptômes régressent spontanément (*Bruneton, 2005*). Le traitement reste symptomatique et se conduit en milieu hospitalier en raison du risque auto ou hétéro agressif (*Montcriol et al, 2007*). Il est basé sur la surveillance en particulier le maintien des fonctions vitales (*Marc, 2000; Cohen et al, 2003*). Il comprend:

- Décontamination gastro-intestinale pour enlever les restes de la plante par lavage gastrique et charbon activée à travers la bouche ou tube pour attacher le matériel non absorbé (*Mahler, 1976; Thabet et al, 1999; Cohen et al, 2003; Forrester, 2006*).
- L'utilisation d'un anxiolytique non anticholinergique (*Birmes et al, 2002*), de "benzodiazépines" dans un but sédatif, l'hydratation et l'utilisation de physostigmine dans les cas modérés ou graves (*Goullé et al, 2004; Saviuc et al, 2010*).

3.8. Utilisations de la Plante

3.8.1. Usages agricoles

- La culture de cette plante fonctionne comme un insectifuge, qui protège les plantes contre les insectes voisins (*Sanjita et al, 2012*).

- La plante est utilisée comme antifongique contre plusieurs types de champignons, comme nématocide (Marc, 2000) et comme antiparasites de moutons et de poulets (Viegi et al, 2003).

3.8.2. Usages traditionnelles et médicinales

Tableau 23 : Usages traditionnelles et médicinales de la Plante *Datura arborea* L.

Usages médicinales	Usages traditionnelles
<ul style="list-style-type: none"> ○ L'extrait méthanoïque de la partie aérienne de la plante possède une activité antibactérienne (Eftekhar et al, 2005). ○ La plante est utilisée pour traiter la diarrhée, les crampes intestinales et la nycturie (Chan, 2002). ○ La teinture est utilisée contre la toux spasmodique et la laryngite chronique (Schauenberg et Paris, 2006). ○ Les fleurs sont anesthésiantes dans les cas de carie dentaire (Bremness, 2005). ○ Les graines sont souvent utilisées comme aphrodisiaque (Gaire, 2005; El Bazaoui et al, 2009). ○ L'extrait aqueux des graines est utilisé dans le traitement des douleurs gastrique et l'indigestion (Gidado et al, 2007). ○ L'extrait de la plante est utile pour le traitement des empoisonnements par les organophosphorés (Devi et al, 2011). ○ La partie aérienne de la plante est utilisée pour traiter l'hypertension et la maladie cardiaque (Eddouks et al, 2002). ○ Propriété anti-inflammatoire, antioxydant, anti-rhumatoïde et hypoglycémique. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Il a été largement utilisé dans les pratiques chamaniques ou la sorcellerie. (Arouko, 2003). ○ Elle était employée pour soigner la folie (La Rousse, 2001). ○ Les Mayas soignaient les ulcères et les hémorroïdes par l'application directe d'une préparation à base d'huile obtenue à partir des feuilles de la plante (Marc, 2000). ○ En Amérique du Sud, des décoctions de graines sont utilisés comme agent incapacitant pour les viols et les vols (Gaillard et Pepin., 1999). ○ En Inde, le jus de la racine est utilisé localement dans les morsures de chien (Sharma et al, 2001). ○ En Chine, les anciens ont utilisés la plante pour traiter les symptômes de la grippe et soulager la douleur associée à l'accouchement (Shea et al, 2012). ○ En Nigeria, les feuilles et les graines écrasées sont mélangées avec de l'huile de palme et appliqué à des cas graves de morsures et piqûres d'insectes (Egharevba et Ikhatua., 2008). ○ Cette plante est fréquemment utilisée comme un traitement anti asthmatique; en fumigation du feuilles roulées en cigarette ou hachées et mêlées à du tabac (Spichiger et al, 2002; Pretorius et Marx, 2006). ○ En Chine, à partir d'agglutinines à base de la plante ce fait le dépistage des carcinomes hépatocellulaires (Marc, 2000).

PARTIE PRATIQUE

4.1. Objectif du Travail

- Identification macroscopique et microscopique du *Datura arborea* L à savoir ; étude aspect, couleur, taille, odeur des feuilles, fleur, fruit et graines de la plante.
- Screening phytochimique et essais de la drogue pour apprécier les constituants en principe actifs de la drogue.
- Extraction des alcaloïdes totaux à partir des feuilles de *Datura arborea* en utilisant l'extraction en milieu alcalin (Stas Otto).
- Caractérisation des alcaloïdes tropaniques par des réactions spécifiques à savoir réaction spécifique de Vitali- Morin.
- Identification des alcaloïdes par CCM pour qualifier le contenu en alcaloïdes tropaniques et dosage par HPLC pour mieux apprécier la qualité ainsi que la quantité en alcaloïdes tropaniques.
- Evaluation de la toxicité de la Drogue in vitro sur des animaux de laboratoire en utilisant la méthode décrite par Tahraoui et ses collaborateurs en 2010.

4.2. Matériels

4.2.1. Matériel végétal

La drogue formée essentiellement par 1400g de feuilles fraîches de *Datura arborea* L. a été récoltée de la région d'Alger (jardin d'essai hama) le 13 Mars 2016. Le climat de la région est méditerranéen et les sols sont riches au calcium. Les feuilles de notre drogue avaient l'aspect mou, ovale, large, gris vert et porte l'asymétrie à la base qui est une caractéristique spécifique aux feuilles de *Datura arborea* L. On a fait le séchage à l'étuve à température de 100 – 105°C pour obtenir les feuilles sèches qui on a broyé à obtenir la poudre fine de couleur gris-claire.



Photo 1: Feuille fraîche



Photo 2: Feuille sèche



Photo 3: Poudre fine gris-claire

Figure 16 : Photos de matériel végétal de feuille et poudre après broyage

4.2.2. Appareillage

Tableau 24 : Liste des matériels de laboratoire (usuels, verrerie et gros matériels)

Verrerie et gros matériels	Verrerie et autres équipements
<ul style="list-style-type: none"> ○ Appareil du Soxhlet – Model 655 ○ Balances de précision – Kern Abs ○ Étuve de séchage – Raypa max 250°C ○ Ampoule à décanter ○ Cuve CCM ○ Plaques au gel de silice ○ Lampe Ultraviolet - VL-6.LC 230v 50/60Hz ○ Pulvérisateurs ○ Appareil HPLC - Empower™ 3 software ○ Microscope optique ○ Lame ○ Cage souris ○ Appareil photo ○ Bain marie 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ballons ○ Bêchers de 250ml ○ Baguettes de verre ○ Burettes de 20ml ○ Cristallisoirs ○ Entonnoirs ○ Fiole jaugée de 500ml ○ Erlenmeyer rodé de 500ml ○ Tubes à essais ○ Pipettes Pasteur de 5,0ml ○ Pipettes graduées ○ Eprouvettes graduées de 500ml ○ Thermomètre ○ Spatule ○ Flacon en verre ○ Mortier ○ Baguette d'agitation ○ Papiers filtres -102

4.2.3. Produits chimiques de laboratoire

Tableau 25 : Produits chimiques de laboratoire pour analyse et extraction

Réactifs chimiques	Solvants
<ul style="list-style-type: none"> ○ Réactif Bouchardât ○ Réactif stiasny ○ Réactif chlorure ferrique ○ Réactif du Gazet ○ Atropine sulfate pure 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Eau distillée ○ Solution d'acide sulfurique concentré ○ Acide Nitrique ○ Ether de Pétrol ○ Chloroforme ○ Solution d'ammoniaque concentrée ○ Méthanol ○ Acétone ○ Eau injectable ○ Dichlorométhane

4.2.4. Animaux de laboratoire

Les souris utilisées dans l'évaluation de la toxicité aiguë des alcaloïdes sont des deux sexes mâles et femelle, de variété hamster proviennent du centre de recherche et de développement Saidal d'Alger. Leurs poids moyen est de $26,86 \pm 2,07$ g (femelles) et $25,81 \pm 2,15$ g (mâles). L'élevage de ces animaux a été effectué dans l'animalerie du CRD pendant 15 jours pour assurer la bonne santé des animaux. Une partie d'essai a été réalisé au niveau du laboratoire de pharmacognosie université de Blida et au CRD. La température dans le laboratoire était $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Les animaux sont logés, dans des cages spécialisées, avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. La litière utilisée est la sciure pour assurer le bon état hygiénique des animaux.



Figure 17 : Animaux de laboratoire utilisé dans l'étude de toxicité aiguë de l'extrait brut

4.3. Méthodes

4.3.1. Etude botanique

4.3.1.1. Etude macroscopique de la plante de *Datura arborea*

Examiner à l'œil nu ou bien avec une loupe binoculaire les caractères organoleptique de différente partie de la plante ; aspect, couleur, odeur et la taille de la feuille, fleur, tige.

4.3.1.2. Etude microscopique de la coupe transversale d'une feuille

Les coupes transversales sont colorées par la technique de la double coloration verte d'iode – carmin aluné.

❖ Mode opératoire

- Sur une coupe aussi fine que possible, on fait agir successivement des solutions d'hypochlorite de sodium et d'hydroxyde de sodium diluées. Les contenus cellulaires sont détruits, les parois cellulaires sont respectées et en faisant agir si successivement le vert d'iode et carmin aluné.
- L'observation microscopique des coupes se fait à 2 grossissements : faible puis gros. Le faible grossissement renseigne sur la structure générale de la préparation. Le grand grossissement permet d'observer plus en détail des régions limitées de la préparation.

- Les résultats de l'observation sont relevés sous la forme d'un schéma d'ensemble réalisé avec les signes conventionnels donnés.

4.3.1.3. Etude microscopique de la poudre

❖ **Mode opératoire** (Montage d'une poudre)

- Avec la pointe d'une spatule, prélever une petite quantité de poudre et la délayer dans un réactif d'éclaircissement « Gazet », sur la lame, jusqu'à ce que la poudre soit mouillée.

Le réactif du Gazet sert à l'éclaircissement des éléments de la poudre en détruisant totalement ou partiellement certains éléments végétaux (amidon) inclus ou non dans les cellules de parenchymes. Les parois cellulaires sont plus nettes et plus faciles à observer, en particulier les éléments sclérifiées, cellules ou fibres et les cuticules.

- Recouvrir d'une lamelle en appuyant légèrement avec le doigt.
- Attendre quelques minutes jusqu'à stabilisation du montage puis observer à faible et grand grossissement pour observer les éléments caractéristiques de la drogue
- Les résultats de l'observation sont relevés sous la forme d'un dessin des éléments caractéristiques

4.3.2. Screening Phytochimique

4.3.2.1. Caractérisation des polyphénols

Dans un tube à essais de 16 ml, introduire 200 mg environ de poudre végétale, puis ajouter un mélange d'eau distillée 2 ml et d'acétone 6 ml. Placer au bain marie (60°C max), pendant 5 min environ, en agitant de temps en temps. Éviter une trop forte évaporation de l'acétone. Filtrer sur papier filtre et ensuite recueillir le filtrat dans un tube à essais de 16 ml. Au filtrat, ajouter 1 ou 2 gouttes de perchlorure ferrique (FeCl₃) à 10%. Observer le précipité noir-vert intense (*Bruneton, 2009*).

4.3.2.2. Caractérisation des flavonoïdes réaction à la cyanidine

Dans un tube à essais de 16 ml, introduire 300 mg environ poudre de drogue à analyser et 5 ml environ d'éthanol. Porter au bain-marie à 65°C, pendant 10 minutes et puis filtrer à chaud l'alcoolat sur papier-filtre plissé dans 1 tube à essais de 16 ml. Dans le tube à essais où se trouve le filtrat alcoolique, ajouter 1 ml d'eau distillée, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et 1ml de rognure de magnésium. Tenir le tube avec une pince en bois, plongé dans un béccher (250 ml) rempli d'eau froide, afin d'éviter l'élévation de température.

La coloration qui se développe lentement, est caractéristique du flavonoïde majoritaire (*Bruneton, 2009*).

4.3.2.3. Caractérisation des tanins

1 g de feuilles du *Datura arborea* pulvérisées, auxquelles on rajoute 10 ml d'eau distillé bouillante, on filtre, au filtrat on rajoute quelques gouttes de réactif de stiasny et porte le tout à ébullition pendant 30 min (Bruneton, 2009).

L'apparition d'un précipité rouge brun indique la présence des tanins condensés

4.3.2.4. Caractérisation des alcaloïdes

1g de la plante séchée et broyée sont mélangés avec 10 ml d'HCl à 1% dans un récipient. Après une demi-heure de macération, on filtre le mélange, on additionne au filtrat quelques gouttes de réactifs de bouchardât (Bruneton, 2009).

L'apparition d'un précipité brun indique la présence des alcaloïdes.

4.3.2.5. Caractérisation des saponosides

Dans un Erlenmeyer à col rodé renfermant 80ml d'eau distillée on introduit 2g de graines pulvérisées. On maintient l'ébullition modérée pendant 30 min puis on filtre le mélange. Après refroidissement on met quelques millilitres du filtrat dans un tube à essai, on agite le tube dans le sens de la longueur. La formation d'une mousse qui dure, quelques instants indique la présence des saponines (Bruneton, 2009).

4.3.3. Essais des alcaloïdes totaux

4.3.3.1. Perte à la dessiccation et teneur en eau

❖ Principe

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage m/m. Chauffées pendant un temps suffisant à 100-105°C, les drogues convenablement divisées subissent une perte de masse qui correspond sensiblement à la quantité d'eau qu'elles contenaient. Méthode gravimétrique limitée aux drogues ne contenant pas de principes volatils.

❖ Mode opératoire

- Introduire dans un cristalliseur préalablement séché à l'étuve (voir salle des balances), refroidi dans un dessiccateur et taré, 1,000 g de feuilles fraîches suivant monographie) environ de drogue pulvérisée exactement pesée.
- Porter à l'étuve à 100-105°C pendant une nuit. Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser.
- Répéter l'opération jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Calculer alors la teneur en eau pour 100 g de drogue (Ph. Eur, 2011).

Expression de résultat :

La valeur de la perte à la dessiccation est calculée par la formule suivante:

$$X (\%) = \frac{(VV - VA) \times 100}{PE}$$

Avec:

VV: Poids du verre de montre (vide + échantillon) avant dessiccation, (g);

VA: Poids du verre de montre (vide + échantillon) après dessiccation, (g);

PE: Prise d'essai, (g).

Limites d'acceptabilité: la valeur de la perte à la dessiccation ne doit pas être supérieure à 5,0 % selon la pharmacopée Européenne.

4.3.3.2. Extraction des alcaloïdes totaux

❖ Principe

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir de poudre sont obtenues par une extraction liquide-liquide, basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin (*Bruneton, 2009*).

❖ Mode opératoire

- 1000g de feuilles de la plante, sont finement broyées par un broyeur après séchage dans l'étuve à 180°C pendant 2 heures.
- 10.0g de la poudre obtenue est macéré par 200 ml d'éther de pétrole et sous agitation mécanique, à température ambiante pendant 2 heures.
- Après filtration, le marc est alcalinisé par une solution 20 ml d'ammoniaque (0.5N) pendant au moins 8 heures à température ambiante.
- 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 150 ml de chloroforme.
- Les alcaloïdes en première étape sont extraits à chaud sous reflux par 150 ml de chloroforme pendant 3 à 4 heures (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total de poudre).
- A l'issue de cette opération, l'extrait brut est passé à la purification par une extraction successive par une solution de 150ml d'acide sulfurique (0.5N), les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, alcalinisées jusqu'à pH 10 par ajout de quelques ml d'ammoniaque (0.5N).
- Nous épuisons ensuite trois fois la solution par 150ml de dichlorométhane, en agitant doucement l'ampoule à chaque fois.
- Nous récupérons les trois fractions organiques dans un erlenmeyer, 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 bêcher.
- Le résidu sec représente les alcaloïdes totaux (*Bruneton, 2009*).

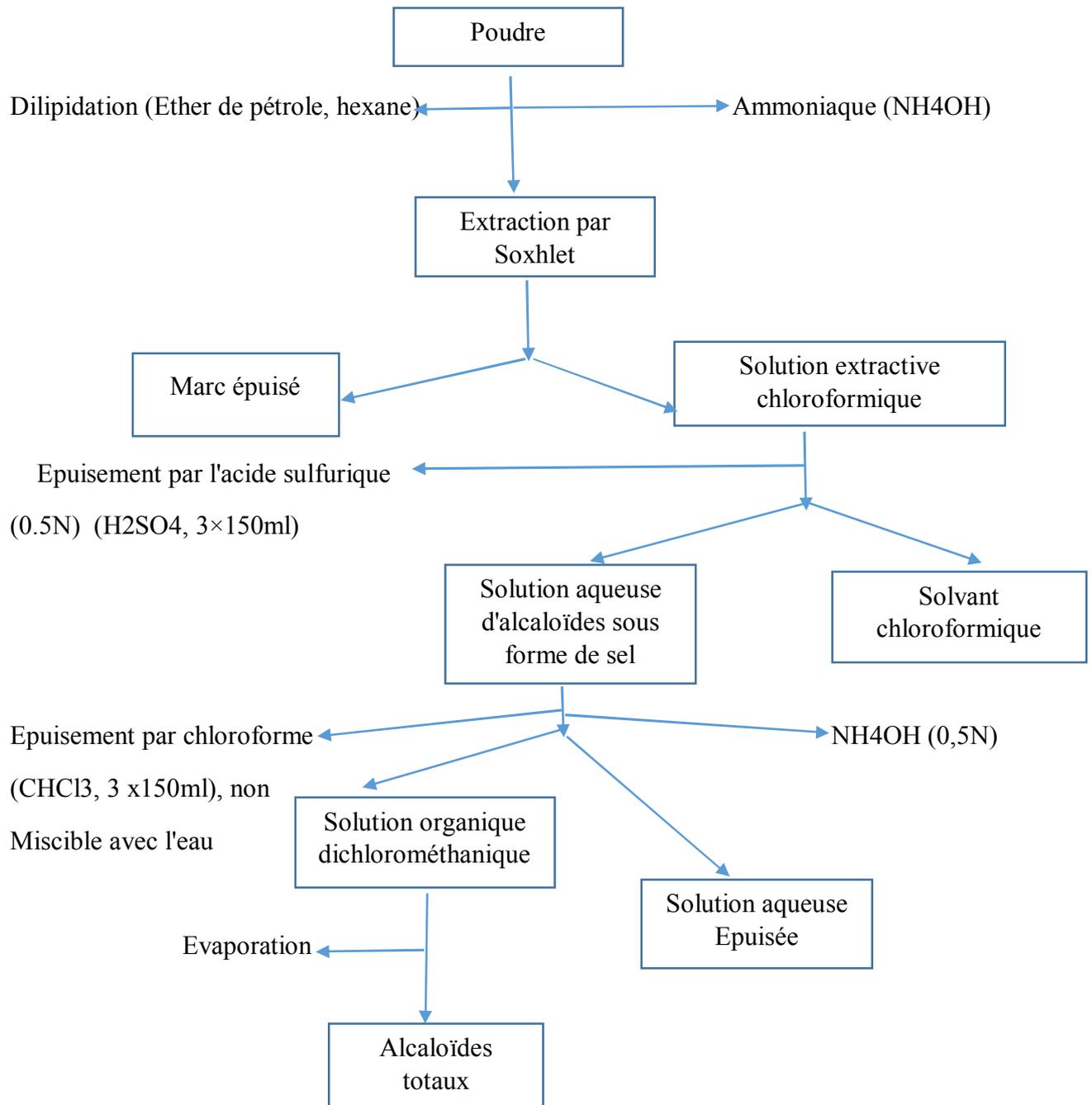


Figure 18 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux des feuilles de *Datura arborea L*

Partie Pratique

Matériels et Méthodes



Filtration de la drogue sur papier filtre

Agitation lente de la solution de la drogue avec un barreau magnétique



Placement de la poudre alcalinisée dans une cartouche en cellulose



Extraction dans l'appareil de Soxhlet



Adjustment de pH de l'extrait brut a pH 10



Residu de l'extrait brut après évaporation



Figure 19 : Schémas montrant le protocole d'extraction des alcaloïdes totaux à partir de la poudre de *Datura arborea L*

4.3.3.3. Dosage des alcaloïdes totaux

❖ Protocole

- Dissolvez le résidu après extraction (4.3.3.2) obtenu dans quelques millilitres de dichlorométhane (environ 3 ml).
- Ajoutez précisément (utilisez la pipette jaugée 2 traits de 10ml) 20ml d'acide sulfurique à 0,01M (Attention à la concentration !).
- Éliminez le dichlorométhane au bain marie à 65°C.
- Titrez l'excès d'acide par la solution d'hydroxyde de sodium 0,02 M
- Ajoutez 1 ou 2 cristaux de rouge de méthyle R (comme indicateur coloré) dans le ballon de 250 ml renfermant l'extrait.
- Remplissez précisément la burette avec la solution de NaOH à 0.02 M. Faites couler goutte à goutte la solution de soude dans l'extrait acide jusqu'au changement de couleur de l'indicateur coloré.

Calculez la teneur pour cent en alcaloïdes totaux, exprimés en atropine, à l'aide de l'expression :

$$\text{La teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en atropine} = \frac{57,88 \times (20-n)}{(100 - d) \times m}$$

d = perte à la dessiccation, exprimée en pour cent,

n = nombre de millilitres d'hydroxyde de sodium 0,02 M utilisés,

m = masse de la prise d'essai, en grammes (*Bruneton, 2009*).

4.3.3.4. Réaction spécifique de Vitali – Morin

❖ Principe

Réaction colorée spécifique des alcaloïdes tropaniques basée sur la caractérisation des esters de l'acide tropique.

❖ Mode opératoire

- Ajouter 0,5ml d'acide nitrique à l'extrait obtenu précédemment, et déposer la solution résultante, à l'aide d'une pipette pasteur sur un verre de montre déjà placé sur bain de sable, jusqu'à évaporation complète.
- Dès que la solution est entièrement évaporée, enlevez le verre de montre du bain de sable (à l'aide d'une spatule) et laissez le revenir à température ambiante.
- Ajoutez ensuite 1ml d'acétone anhydre et goutte-à-goutte, une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 30 g/l. Il se développe une intense coloration violette, persistante en présence d'acétone, caractéristique des alcaloïdes tropaniques (*Bruneton, 2009*).

4.3.4. Dosage

4.3.4.1. Chromatographie sur couche mince

❖ Principe

La chromatographie sur couche mince est une technique courante d'identification des principes actifs. Elle est basée sur la différence d'affinités (au sens d'interactions intermoléculaires) d'un constituant d'un mélange entre une phase solide (silice le plus souvent, mais aussi alumine ou cellulose) et une phase mobile dite l'éluant, constitué d'un solvant ou d'un mélange de solvants

❖ Mode opératoire

1. Préparation de la cuve.

- Verser l'éluant (20ml chloroforme + 78,5ml méthanol + 1,5ml ammoniacale).
- Fermer la cuve.
- Laisser saturer l'éluant pendant au moins 30 min (variable selon la température de la pièce).

On pourra faciliter la saturation en plaçant un papier filtre imbibé d'éluant dans la cuve le long de la paroi.

2. Préparation de l'échantillon.

- Dissoudre les alcaloïdes totaux à 1 pour cent dans le chloroforme.

3. Préparation de la plaque.

- Tracé d'une ligne de dépôt (~1 cm du bord)
- La distance de migration est tracée à 10 cm
- Déposer à l'aide d'un capillaire les échantillons (débris de feuilles, drogue de feuille, drogue de fleur et sulfate d'atropine monohydrate comme témoin) en gardant une distance d'au moins 7-8 mm entre chaque dépôt. Ne pas faire de dépôts à moins de 5 mm du bord. Le diamètre des dépôts ne doit pas excéder 3 mm. Sécher rapidement à l'aide d'un sèche-cheveux.

4. Elution.

- Placer la plaque dans la cuve en ouvrant et fermant celle-ci le plus rapidement possible.
- Laisser diffuser l'éluant le long de la plaque jusqu'à ~10 Cm du haut de la plaque.
- Sortir la plaque.
- Repérer le niveau maximum atteint par l'éluant.
- Sécher au sèche-cheveux.

5. Révélation.

- La révélation peut être effectuée à l'aide de réactifs spécifiques à savoir réactif Bouchardât après l'avoir observé à l'aide d'une lampe UV (port de lunettes de protection recommandé) en notant les couleurs des taches observées.

6. Lecture des résultats

Procéder enfin au calcul des rapports frontaux (Rf) définis pour chaque tâche comme le rapport de la distance parcourue par un dépôt (prendre le centre de la tache) sur la distance parcourue par l'éluant depuis la ligne de base. Les Rf sont reproductibles avec une tolérance de $\pm 5\%$ (*Ph. Eur, 2011*).

Calcul de rapport frontaux (Rf) = $\frac{\text{Distance parcourue par un dépôt}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$



Figure 20 : Photo de Cuve de CCM



Figure 21 : Photo de Plaque de silice

4.3.4.2. Dosage des alcaloïdes par HPLC

❖ Principe

Analyse qualitative et quantitative par HPLC des alcaloïdes totaux des feuilles, utilisée pour le contrôle analytique munie d'un détecteur UV ainsi que constituée des éléments suivants: Une pompe Perkin-Elmer, la Chrom7100, à gradient quaternaire, une Vanne d'injection, vanne rhéodyne, munie d'une boucle de 20 μ l, une colonne de silice C-18 (taille des particules : 5 μ m; longueur 125mm; diamètre interne 4mm), un intégrateur informatique.

❖ **Protocole****1. Solution à examiner**

Dissolvez 24mg d'atropine dans la phase mobile A et complétez à 100,0ml avec la phase mobile A.

2. Solution témoin (a)

Prélevez 1,0ml de solution à examiner et complétez a 100,0ml avec la phase mobile A.
Prélevez 1,0ml de cette solution et complétez a 10,0ml avec la phase mobile A.

3. Solution témoin (b)

Dissolvez 5mg d'impureté B d'atropine SCR dans la solution à examiner et complétez à 20,0ml avec la solution à examiner. Prélever 5,0ml de cette solution et complétez a 25,0ml avec la phase mobile A.

4. Solution témoin (c)

Dissolvez 5mg d'acide tropique R d'impureté C dans la phase mobile A et complétez a 10,0ml avec la phase mobile A. Prélevez 1,0ml de cette solution et complétez a 10,0ml avec la phase A.

5. Colonne : Dimension : L= 0,1m, θ = 4,6mm

Phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (3 μ m)

6. Phase mobile

- Phase mobile A : Dissolvez 3,5mg de dodéosulfate de sodium R dans 606ml d'une solution de phosphate monopotassique R a 7,0g/l ajustée a PH 3,3 avec une solution d'acide phosphorique R a 5,8g/l et mélangé avec 320ml d'acetonitrile R1.
- Phase mobile B : acetonitrile R1 (*Ph. Eur, 2014*).

Tableau 26 : Valeurs de référence d'analyse d'atropine par HPLC (*Ph. Eur, 2014*)

Intervalle (min)	Phase mobile A (Pour cent v/v)	Phase mobile B (Pour cent v/v)
0-2	95	5
2-20	95→70	5→30

Débit : 1ml/min

Détection : Spectrophotométrie à 210nm

Injection : 10 μ l

4.3.5. Évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait brut de *Datura arborea L*

La toxicité aiguë de l'extrait brut de *Datura arborea L* a été estimée en utilisant la méthode décrite par Tahraoui et ses collaborateurs (2010), qui consiste à traiter les souris, par une dose unique de l'extrait brut de *Datura arborea L* (solubilisé dans de l'eau distillée et ajusté à 10ml/kg par dose). Les souris au nombre de 70 ont été séparé en 7 lots chaque formé de 10 souris dont 6 lots pour l'étude et 1 lot utilisée comme témoin (recevant de l'eau distillée). L'administration a été effectuée par injection à la voie péritonéale aux doses suivantes (0, 0.1, 0.5, 1, 3, 6 et 12g/kg du poids corporel). Après l'administration de l'extrait, les souris sont surveillées en permanence dans la première, 6ème et 24ème heure après le traitement, pour toute mortalité ou changement de comportement. Ces signes de la toxicité ont été suivis quotidiennement pendant 4 jours. Dans le 5ème jour, le nombre des animaux morts est calculé et transformé en pourcentage, alors que les animaux restant vivants sont sacrifiés.

La DL50, exprimée en mg/kg du poids corporel, est déterminée par la méthode graphique de Miller et Trainer, (1944) décrite par Randhawa en 2009 et par la méthode de calcul de Dragstedt et Lang, (1957) cité par El Allaoui et ses collaborateurs (2011).

a) Méthode graphique (Miller et Trainer 1944)

Dans cette méthode, les pourcentages de la mortalité des souris doivent être convertis en unités probits. La DL50 est donc déterminée à partir de la droite exprimant le taux de mortalité des souris (en unités probits) en fonction du logarithme de la dose administrée (mg/kg de poids Corporel). La DL50 représente l'abscisse du point correspondant à 5 unités probits. Pour calculer l'écartype de la DL50, il suffit de déterminer les doses correspondantes aux 16% et 84% de mortalité, et de faire soustraire la première dose de la deuxième selon l'équation suivante :

$$\text{Approx. SEM de la } DL_{50} = \frac{(DL_{84} - DL_{16})}{\sqrt{2N}}$$

N : Nombre des animaux.

b) Méthode de calcul (Dragstedt et Lang 1957)

Dragstedt et Lang stipulent deux postulats : « Tout animal ayant survécu à une dose administrée donnée aurait survécu à toute dose inférieure à celle-ci, et tout animal ayant succombé à une dose déterminée aurait succombé à n'importe laquelle des doses supérieures. Alors, on peut, pour chaque dose, rassembler tous les morts déjà observés aux doses inférieures et tous les vivants observés aux doses supérieures ». Donc, nous pouvons calculer la DL50 d'après la formule suivante :

$$DL50 = \frac{50 (X1 - X2) + X1Y2 - Y1X2}{Y2 - Y1}$$

Dont la quelle:

X1:dose inferieure en cadrant la DL50

X2:dose supérieure en cadrant la DL50

Y1:Pourcentage de mortalité correspondant à X1

Y2:Pourcentage de mortalité correspondant à X2

4.4. Résultats et discussions

4.4.1. Résultats d'étude botanique

Tableau 27 : Résultats d'étude macroscopique de *Datura arborea* Solanaceae

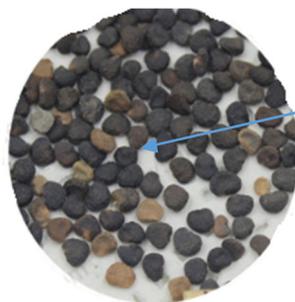
Partie de la Plante	Observation
Tige	Solide, élevez, couvert de feuilles et lisse, un vert jaunâtre pâle en couleur.
Feuilles	Grandes et anguleuses, irrégulières à la base, avec une marge ondulée et grossièrement-dentée, et se brancher des veines très a développé carrément.
Fleurs	En forme de trompette un signe de tête à sous-horizontal, blanc à blanc ivoire ou de la crème et tombantes mesurant 15 à 20 cm.
Fruit	Capsule non-épineuse
Graines	Les graines sont noires, réniformes et à surface réticulée de 2 à 3mm de large.



Feuille molle, ovale, large et porte l'asymétrie a la base



Fleur de couleur blanc en forme de trompette



Graines noires

Figure 22 : Photos des parties aériennes du *Datura arborea* (Feuille, Fleur et graines)

4.4.2. Résultats d'étude microscopique de la coupe transversale d'une feuille de *Datura arborea*

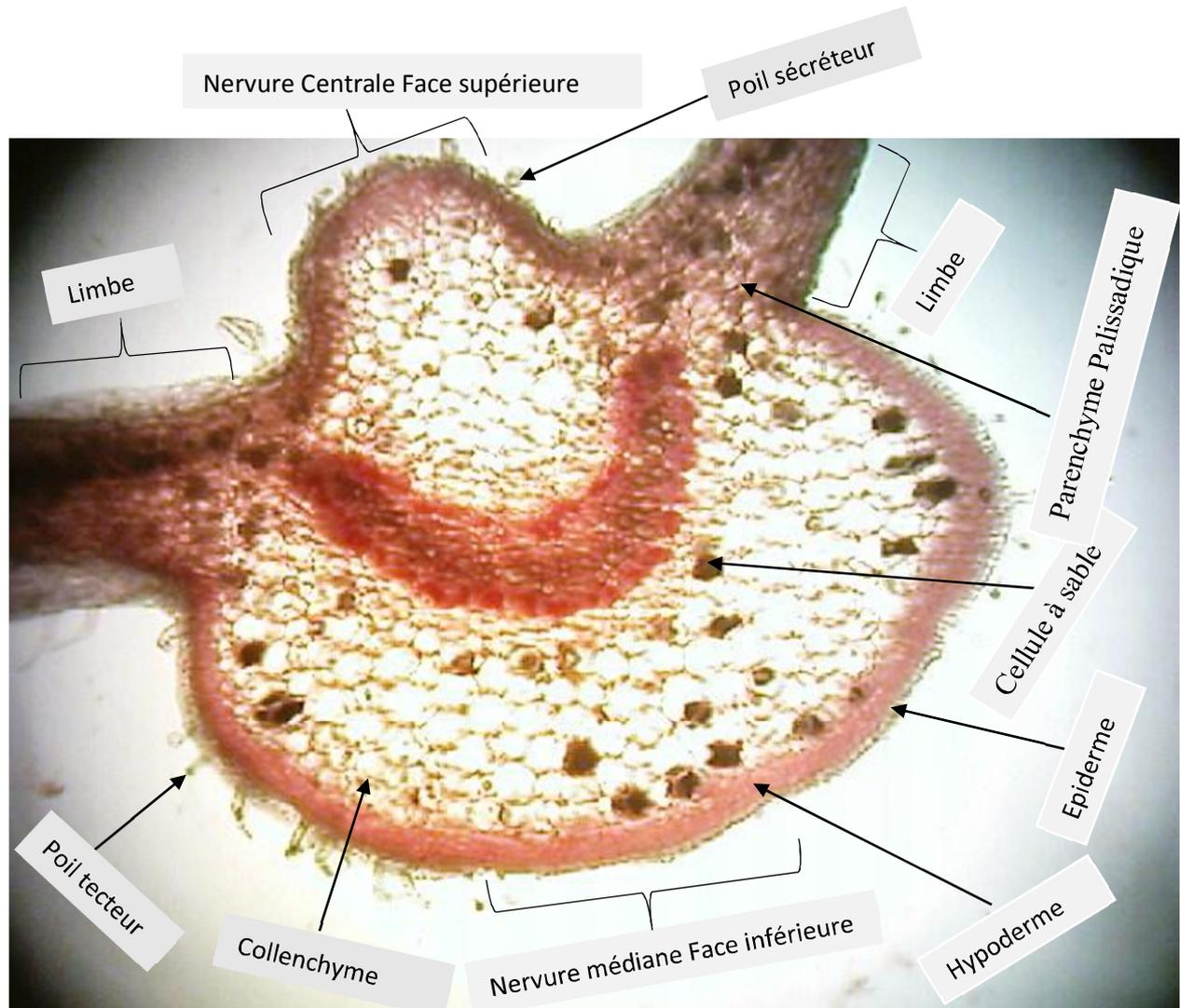


Figure 23 : Coupe transversale de la feuille de *Datura arborea* au microscope (G×40)

1. Les parois cellulosesques se colorent en rose, les parois lignifiées ou sclérifiées apparaissent en vert.
2. La nervure centrale est saillante sur les deux faces surtout à la face inférieure, par contre elle forme une petite pointe triangulaire à la face supérieure.
3. La nervure médiane est formé d'un seul faisceau libéral ligneux entouré par un liber interne.
4. Présence de cellule à sable dans la nervure médiane et de cristaux d'oxalate de calcium dans le limbe.
5. Les poils tecteurs sont grossièrement ponctués retrouvés surtout sur la nervure médiane.
6. Les poils sécréteurs sont de pieds unicellulaire et tête pluricellulaire.

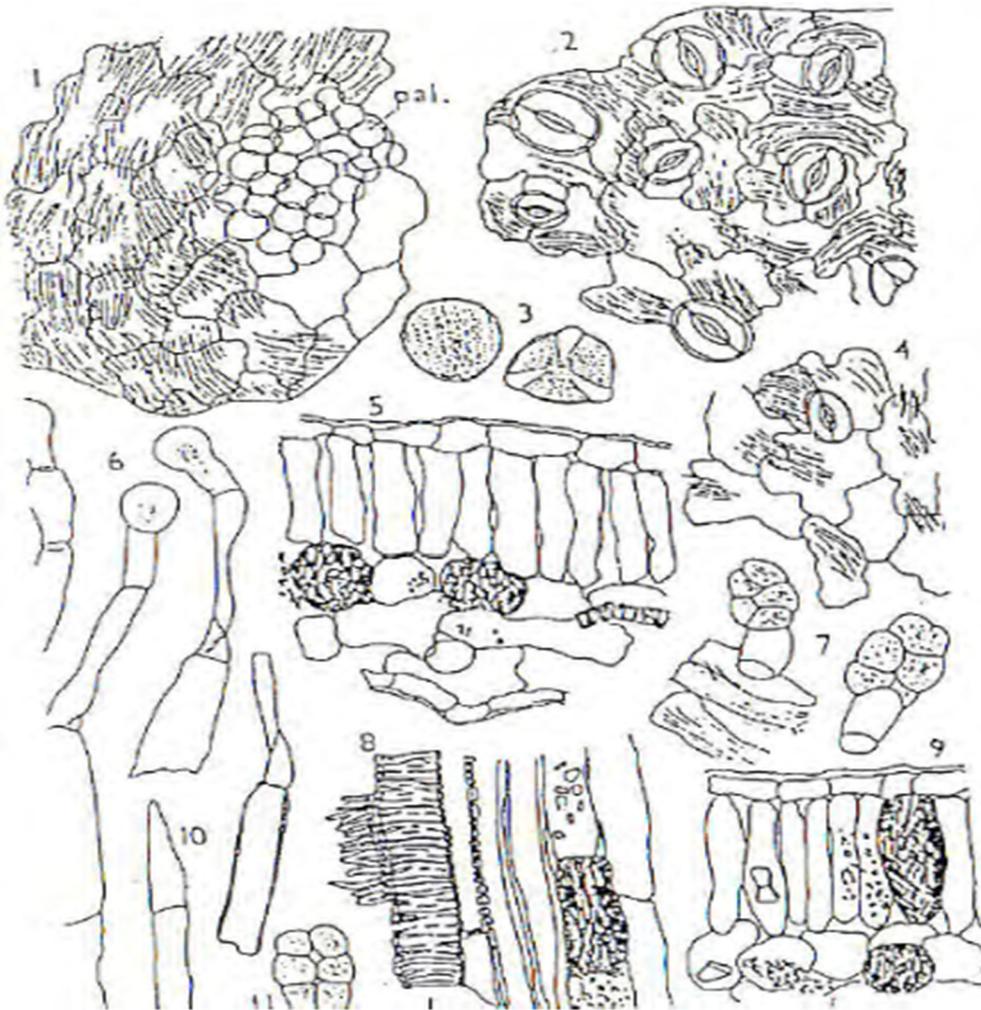


Figure 24 : Schéma détaillée d'une structure d'une feuille de *Datura arborea*

1. Epiderme pilifère supérieure constitué de cellules à paroi sinueuse, et surmonté d'une cuticule finement striée
2. et 4. Epiderme pilifère et stomatifère inférieure, constitué de cellules à paroi sinueuse, et surmonté d'une cuticule finement striée
3. grain de pollen
5. et 9. Section transversale de limbe, présentant de haut en bas : cuticule striée, épiderme, mésophylle hétérogène présentant une assise de cellules palissadiques et un parenchyme lacuneux renfermant quelques cellules à sable
6. Poil sécréteur à pied pluricellulaire unisériel et tête unicellulaire globuleuse
7. et 11. Poil sécréteur à pied unicellulaire et tête pluricellulaire, caractéristique de la famille
8. Vaisseau conducteur annelé et spiralé voir canaliculé
10. Poil tecteur pluricellulaire unisériel.

4.4.3. Résultats d'étude microscopique de la poudre des feuilles

Les résultats des éléments présents dans la poudre sont présentés dans le tableau 28 :

Tableau 28 : Analyse microscopique de la poudre de *Datura arborea* L au microscope optique (G×40)

Elément	Observation
Fragment de limbe	Formés de cellules épidermiques à parois sinueuses, à cuticule striée.
Fragments de semences	Jaune-brun, formés de cellules du tégument irrégulièrement sclérifiées et ponctuées.
Fragments de la corolle	A épidermes papillés ou portant de nombreux poils tecteurs ou glanduleux.
Poils tecteurs	Pluricellulaires unisériés, à paroi épaisse, grossièrement ponctué, extrémité pointu.
Poils glanduleux	A tête pluricellulaire et à pied unicellulaire.
Stomates	Nombreux stomates, présents surtout sur l'épiderme inférieur (anisocytiques et aussi quelques anomocytiques) des cellules du parenchyme.
Vaisseaux	Epaissis annelés, réticulés et spiralés.
Cellules arrondies	Contenant des microcristaux cunéiformes d'oxalate de calcium.

Partie Pratique

Resultats et Discussions

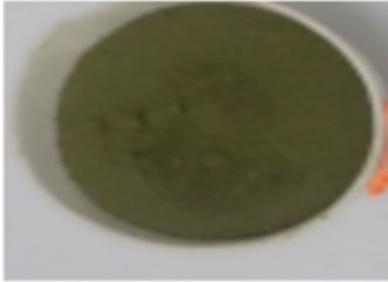


Photo 1 : Poudre vert claire a l'œil nu

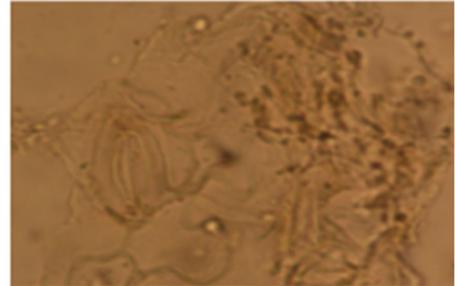


Photo 2 : Stomates anisocytiques (G×40)

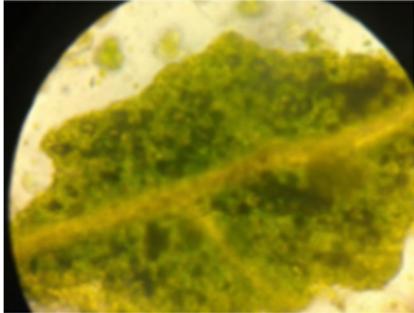


Photo 3 : Fragment de limbe (G×40)

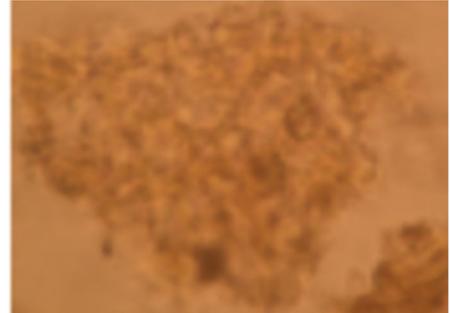


Photo 4 : Microcristaux d'oxalate de calcium (G×40)



Photo 5 : Cellules à sable (G× 40)

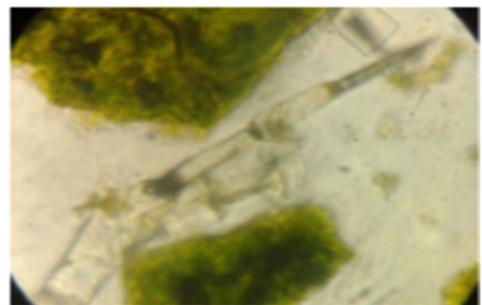


Photo 6 : Poil tecteur unicellulaire unisérié (G×40)

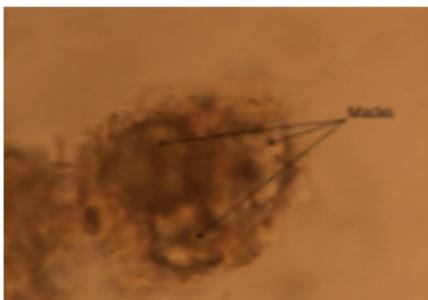


Photo 7 : Macule d'oxalate de calcium (G×40)

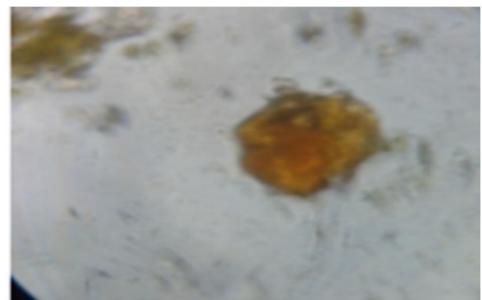


Photo 8 : Fragment de semences (G×40)

Figure 25 : Analyse de la poudre au microscope optique (G× 40)

4.4.4. Résultats et discussions de perte à la dessiccation et teneur en eau

Les résultats de la perte à la dessiccation et teneur en eau sont présentés dans le **tableau 29** au-dessous :

Tableau 29 : Résultats de la perte à la dessiccation et teneur en eau des feuilles et fleurs d'une *Datura arborea*.

Drogue	VV(g)	VA(g)	Teneur en eau(g)	X (%)	RF Ph. Eur, 8.0 Edition d(%)
Feuilles	1183.18	1128.22	54.96	4.8	5
Fleurs	238.18	229.18	9.00	4.5	5

Avec

X (%) = Perte à la dessiccation en pour cent

VV: Poids du cristalliseur vide + échantillon avant dessiccation en (g)

VA: Poids du cristalliseur vide + échantillon après dessiccation en (g)

Poids du cristalliseur vide = 38.18g

PE: Prise d'essai de feuille = 1145g

Donc, la valeur de la perte à la dessiccation est calculée par la formule suivante:

$$X (\%) = \frac{(VV - VA) \times 100}{PE}$$

○ **La perte à la dessiccation de feuilles**

$$X (\%) = \frac{(1183.18 - 1128.22) \times 100}{1145}$$

$$\frac{54.96 \times 100}{1145} = 4.8 \%$$

La perte à la dessiccation de feuilles X (%) = 4.8 %

○ **La perte à la dessiccation des fleurs**

PE : Prise d'essai de fleur = 200 g

$$X (\%) = \frac{(238.18 - 229.18) \times 100}{200}$$

$$\frac{9.00 \times 100}{200} = 4.5 \%$$

La perte à la dessiccation de fleurs X (%) = 4.5 %

❖ **Discussions**

La valeur de la perte à la dessiccation de la drogue des fleurs de *Datura arborea L* est 4.5 % et celle des feuilles 4.8 % inférieure à 5,0 % qui est la norme indiquée selon la pharmacopée Européenne. Il signifie que la proportion de tous les produits volatils susceptibles d'être éliminés dans des conditions spécifiques c'est-à-dire eau (le plus souvent), eau « d'humidité de proportions variables, eau d'hydratation et les Solvants organiques est 4.5 g dans 100g des fleurs fraîches contrairement à celles des feuilles qui est 4.8g contenu dans 100g des feuilles fraîches. Donc, signifie une bonne conservation des drogues.

4.4.5. Résultats et discussions de Screening Phytochimique

L'étude de la composition chimique des feuilles de *Datura arborea* révèle la présence des alcaloïdes et des polyphénols. D'un autre côté, nous avons noté l'absence des flavonoïdes, saponosides et des tanins. Les résultats de Screening Phytochimique sont présentés dans le tableau 30 :

Tableau 30 : Résultats et interprétation de screening des principes actifs dans les feuilles de *Datura arborea*

Test	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Saponosides	Tanins	Polyphénols
Observation	++++	-	-	-	++

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



Figure 26 : Réaction positive de bouchardât des alcaloïdes (precipité brun)

❖ Discussions

La plante de *Datura arborea* L 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 d'Alger Jardin d'essai, sur un terrain riche en matières organiques et dont le pH est alcalin. Ces deux paramètres influencent considérablement la production des métabolites secondaires dans la plante (Demeyer et Dejaegere, 1997; Demeyer et Dejaegere, 1995). Cette plante de la famille des solanacées est largement distribuée, facilement accessible et connue pour ses propriétés pharmacologiques antiasthmatique, sédatives et antirhumatismal (Devi et al, 2012; Gaire et Subedi, 2013), mais aussi pour ses propriétés toxique, surtout hallucinogènes (Djibo et Bouzou, 2000). La toxicité de *Datura arborea* L est due à la présence des alcaloïdes tropaniques majoritaires l'atropine et la scopolamine (Diker et al, 2007; Tovar et al, 2009; Bouziri et al, 2011). Qualitativement au vu des résultats, le criblage phytochimique nous révèle la présence majoritaire des alcaloïdes dans les feuilles de *Datura arborea* L. Cependant les tests révèlent une très faible présence des polyphénols dans les feuilles. Mais contrairement aux flavonoïdes, saponosides et tanins, leur présence dans les feuilles de la plante est nulle. La composition phytochimique de la plante dépend d'une région à un autre ou la plante est cultivée. Compte tenu des résultats globalement positifs des tests, nous avons réalisés des extractions sur les feuilles et fleurs pour obtenir des alcaloïdes on a intéressé dans la partie pratique.

4.4.6. Résultats de réaction spécifique de Vitali - Morin

Développement d'une intense coloration violette, persistante en présence d'acétone, caractéristique des alcaloïdes tropaniques.



Figure 27 : Photo d'une coloration violette intense des alcaloïdes tropaniques

4.4.7. Résultats et discussions de teneur en alcaloïdes totaux

Tableau 31 : Résultats de teneur en alcaloïdes totaux

Drogue	n = volume NaOH utilisé en (ml)	m = masse de la prise d'essai en (g)	Teneur (%) en alcaloïdes totaux exprimés en atropine
Feuille	16	10.0	0,24
Fleur	17	10.0	0,18

La teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en atropine = $\frac{57,88 \times (20-n)}{(100 - d) \times m}$

- La teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en atropine dans feuilles :

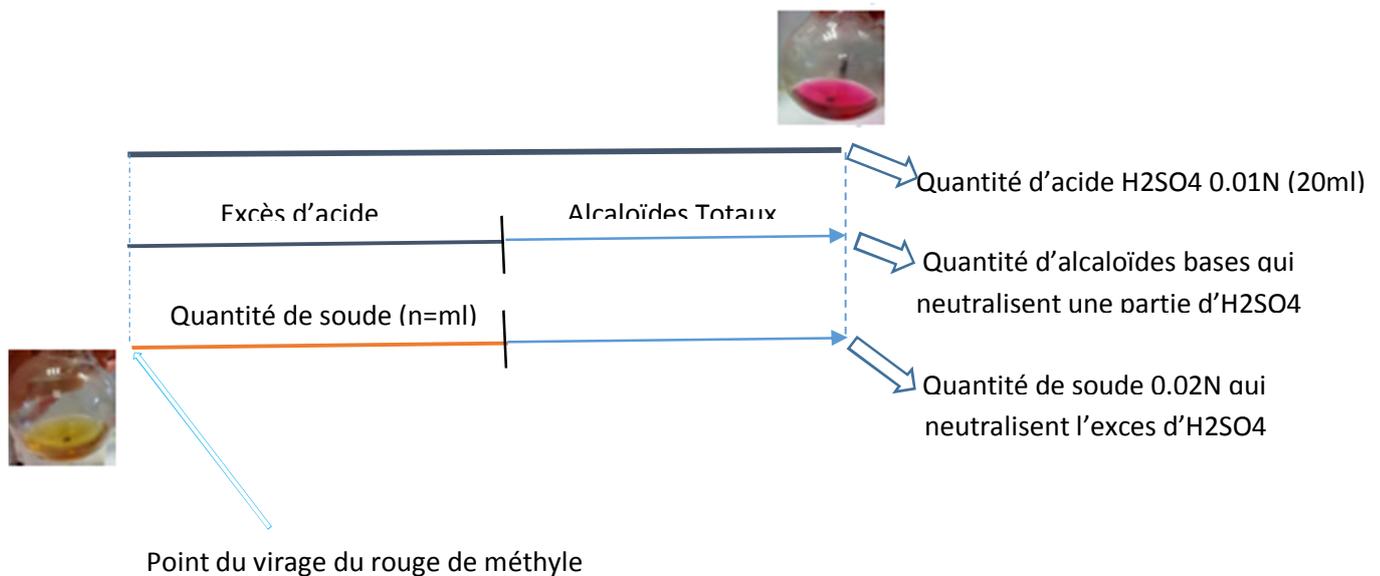
$$= \frac{57,88 \times (20-16)}{(100 - 4.8) \times 10.0} = \frac{57,88 \times 4}{952} = 0.24 \%$$

La teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en atropine dans feuilles est 0.24%.

- La teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en atropine dans fleurs :

$$= \frac{57,88 \times (20-17)}{(100 - 4.5) \times 10.0} = \frac{57,88 \times 3}{955} = 0.18 \%$$

La teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en atropine dans feuilles est 0.18 %.



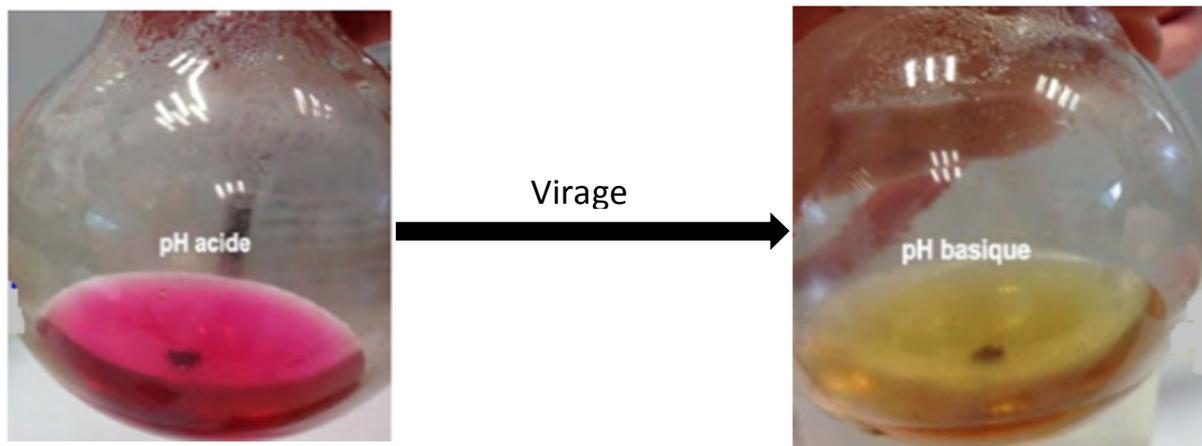


Figure 28: Schéma du virage de la phase aqueuse lors du dosage en retour des alcaloïdes

❖ Discussions

Lors l'extraction, la délipidation par addition 200 ml d'éther de pétrole permettre l'élimination des lipides et après filtration, l'alcalinisation de marc par une solution 20 ml d'ammoniaque (0.5N) pendant au moins 8 heures à température ambiante permettre ainsi aux alcaloïdes, de passer de la forme sel en forme basique. Lors du dosage en retour des alcaloïdes il y a changement de couleur de l'indicateur coloré d'une coloration rose (milieu acide) au jaune (milieu alcalin) car les alcaloïdes au milieu acide se trouve sous forme sel polaire et on addition d'une base d'hydroxyde, la dernier goutte en excès vire le milieu de rose au jaune et les alcaloïdes se trouve sous forme base polaire.

La présence d'alcaloïdes apres extraction au niveau des feuilles est bien visible à l'exception des fleurs ou le rendement est un peu faible. Le bon rendement observé pour les feuilles est dû en grande partie en graisses accumulée suite à une mauvaise opération au cours de délipidation or l'âge mature de la plante à contribuer à ce processus ou les fleurs étaient encore jeunes pour élaborer les processus de métabolisme secondaire. L'extraction liquide - liquide des alcaloïdes tropaniques totaux à partir des feuilles a permis d'obtenir un extrait de couleur brun jaunâtre avec un rendement d'extraction de 0.24 g/100g de feuilles et 0.18 g/100g de fleurs. Cependant, pour des contraintes de temps et disponibilité des tests (technique) nous avons souhaité anticiper et réaliser les premiers fractionnements à partir des extraits bruts des feuilles, disponible en quantité suffisante. Donc, La teneur en alcaloïdes varie en fonction de la partie de la plante, de son stade de développement, du lieu où elle pousse et de la période de récolte (Desachy et al, 1997; Marc et al, 2007; Chollet et al, 2010). L'extraction des alcaloïdes totaux des feuilles a permis d'obtenir un rendement faible d'environ 0.24 %, mais légèrement supérieur à celle des fleurs avec un rendement de 0.18%. Cette différence est probablement due aux conditions de l'environnement où elle a poussée. Ce rendement est en accord avec les données bibliographiques (Miraldi et al, 2001).

4.4.8. Résultats et discussions de chromatographie sur couche mince

Les résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait méthanolique sont reportés dans le **tableau** suivant et les chromatogrammes sont illustrés dans les figures ci-dessous.

Calcul de rapport frontaux (Rf) = $\frac{\text{Distance parcourue par un dépôt}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$

Tableau 32 : Résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait chloroformique des feuilles de *Datura arborea* L dans le système CMA : Chloroforme - Méthanol -Ammoniaque (7 :12 :3)

	Extrait	RF	Couleur	254nm	365nm
Atropine		0,30 – 0,35		visible	Bleu
Scopolamine		0,80 – 0,90		visible	–
Apo-atropine		0,45 – 0,50		visible	–
	Extrait feuille	0,34	Rouge orange	3 taches bleu fluorescentes	Une tache bleue
	Extrait debrit	0,53	Rouge orange		
	Extrait fleur	0,83	Rouge orange		

Les colorations rouge orange de la tâche à RF 0,34 nous oriente sur la présence d'un alcaloïde qui est l'atropine par comparaison de leur rapport frontal (atropine RF= 0,30 – 0,35).

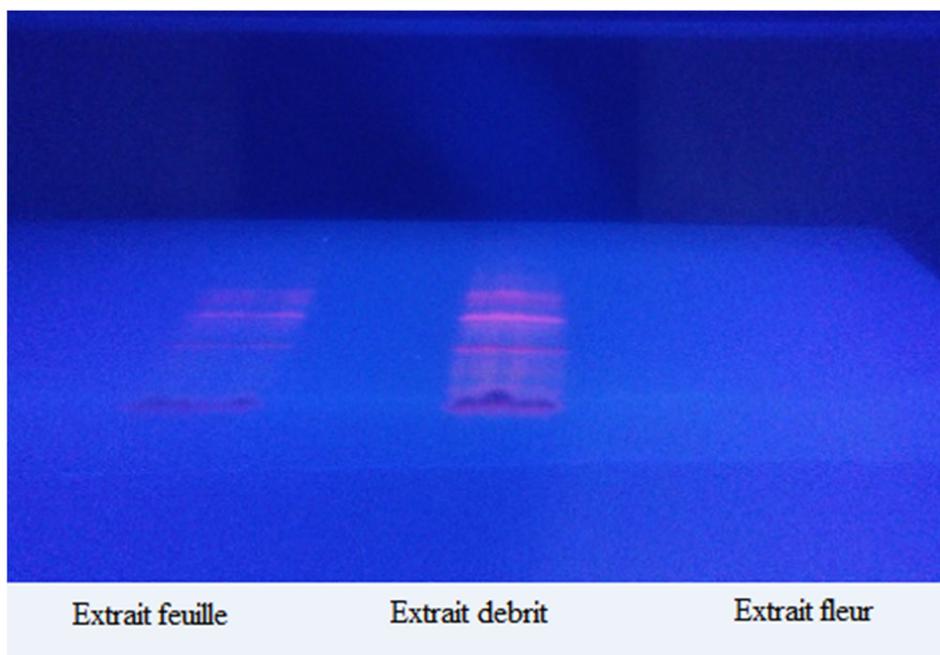


Figure 29 : chromatographie sur couche mince de l'extrait chloroformique sous la lampe 365nm

❖ Discussions

L'apparition de bandes orangées ou brunes sur fond jaune est caractéristique des composés alcaloïdiques. Les bandes des chromatogrammes obtenues avec la solution à examiner sont semblables quant à leur position (atropine dans le tiers inférieur et scopolamine dans le tiers supérieur des chromatogrammes) et leur coloration à celles des chromatogrammes obtenues avec la solution témoin. De faibles bandes secondaires peuvent apparaître, en particulier au 3/4 du chromatogramme. La C.C.M de l'extrait chloroformique de *Datura arborea* avec le système acétone/eau/ammoniaque comme phase mobile a permis d'identifier plusieurs extinctions de fluorescence au niveau de notre extrait dont deux sont majoritaires avec un Rf de 0.34 et 0.83. Cette chromatographie (témoin + extrait) nous a permis de révéler la présence de l'atropine (Rf = 0.34 identique au Rf du témoin) et de la scopolamine (Rf = 0.83 identique au Rf du témoin). L'analyse de l'extrait des alcaloïdes totaux des feuilles de *Datura arborea L.* par CCM sur gel de silice a permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes majoritaires correspondant à l'atropine, dont le tâche est clairement plus important que l'autre et la scopolamine dont le tâche est moins important que celui de l'atropine. Ce résultat est compatible avec les données bibliographiques (*Iranbakhsh et al, 2006*).

4.4.9. Résultats et discussions de dosage des alcaloïdes tropaniques par HPLC

L'extrait brut des feuilles de *Datura arborea L* est analysés afin de comparer les profils chromatographiques et d'obtenir une information sur la composition de cet extrait en alcaloïdes en comparaison avec les différents standards.

Tableau 33 : Résultats de Temps de rétention d'atropine par rapport à la surface des pics et hauteur

Solution	Temps de Rétention d'atropine	Area	%Area	Hauteur
Standard	11.689	3155614	100.00	78445
Extrait brut	12.237	708752	4.39	111590

Les résultats de la séparation d'extrait de feuilles de *Datura arborea L* par la chromatographie liquide à haute performance HPLC sont illustrés par les spectres suivants:

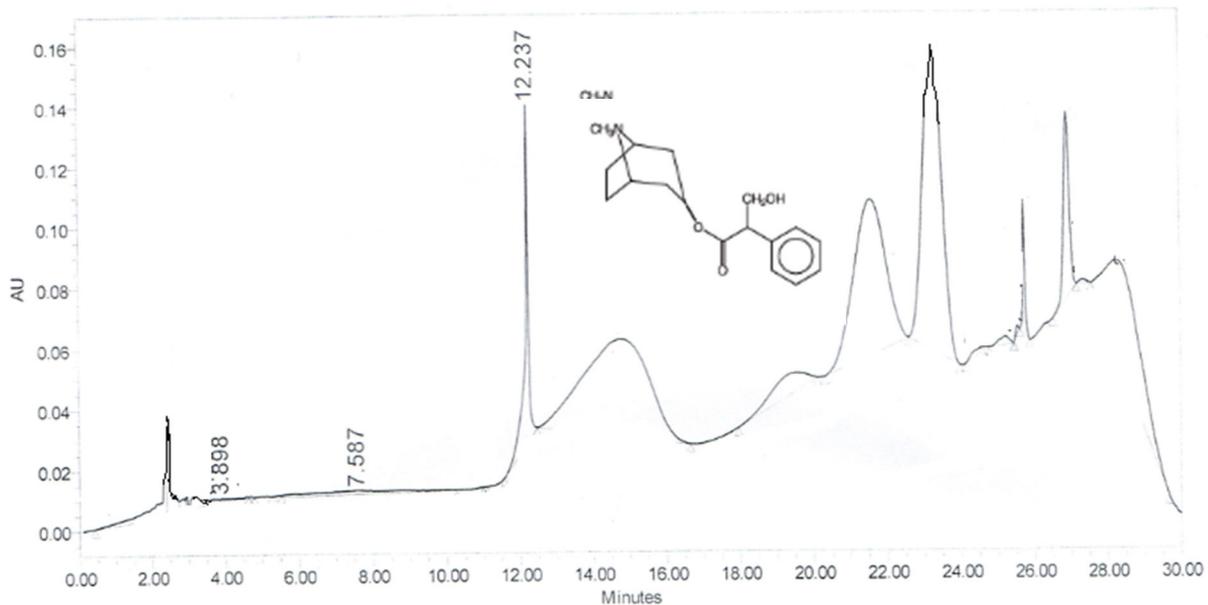


Figure 30 : Profil chromatographique de l'atropine de l'extrait brut des feuilles de *Datura arborea L*

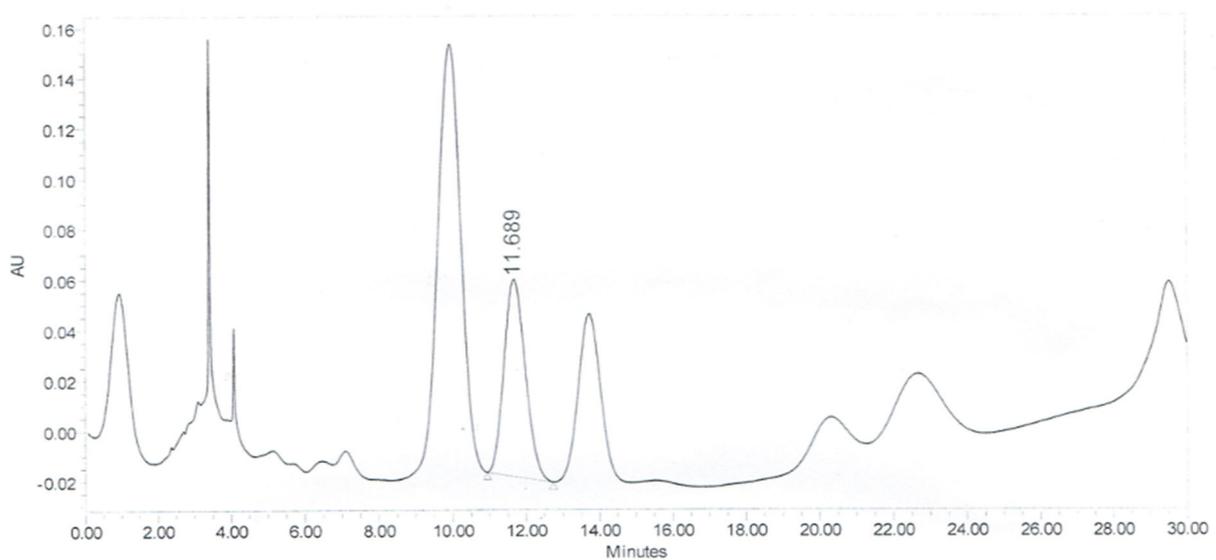


Figure 31 : Profil chromatographique de l'atropine standard (Témoin)

$$\text{Teneur en atropine dans l'extrait brut} = \frac{708752}{3155614} \times 0,239 = 0,0536 \text{ mg d'atropine}$$

1g des feuilles de *Datura* → 0,0536mg d'atropine

100g des feuilles de *Datura* → (0,0536 × 100) mg d'atropine = 5,36mg/100g des feuilles

Donc, Teneur en atropine dans l'extrait brut des feuilles de *Datura arborea* est 5,36mg/100g des feuilles.

❖ Discussions

Le premier pic apparaissant sur le chromatogramme est souvent celui du solvant, dont le temps de rétention correspond au « volume mort » séparant la chambre d'injection du détecteur. Les pics suivants, dont les temps de rétention caractérisent les substances présentes dans la solution à analyser, mettent un certain temps à sortir. Il a été remarqué, que les temps de rétention des composés variaient considérablement selon le mode de filtrage de l'éluant sans oxygène dissout. Cette observation mériterait d'être confirmée par des mesures répétées, effectuées avec un éluant filtré selon les deux procédés disponibles (trompe à vide et pompe électrique). Un élément important du chromatogramme est la surface des pics, qui est proportionnelle à la quantité de chacun des produits qu'elle représente, et donc à leur concentration dans la solution injectée. L'identification des composés de l'extrait des alcaloïdes totaux majoritaires des feuilles de *Datura arborea 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 d'atropine qui est l'alcaloïde majoritaire avec un temps de rétention 12.237 min et un taux de 5.36mg/100g de feuilles par rapport un temps de rétention relative de 11.689min d'atropine témoin. Des pics mineurs ont été aussi enregistrés avec des temps retentions allant de 3.508min à 7.587min, probablement sont des pseudo-alcaloïdes. Les taux de l'atropine 5.36mg/100g de feuilles est déterminé dans l'extrait selon la courbe d'étalonnage (la surface des pics en fonction de la concentration des standards). Ces résultats concordent avec ceux rapportés par (Aroukou et al. 2003) et (Miraldi et al, 2001).

4.4.10. Résultats et discussions d'évaluation de la toxicité aiguë

Les signes cliniques et de mortalité apparus chez les souris ont été suivis continuellement pendant une heure après l'administration de l'extrait brut. Cette observation a été étendue le long de la durée d'étude de la toxicité aiguë (4 jours), pour déceler les effets retardés de l'extrait brut. Le témoin (0g/kg) traité par l'eau distillée, n'a montré aucun signe de toxicité immédiat ou de mortalité. Cependant, la prise des différentes doses de l'extrait brut des feuilles de *Datura arborea L.* a provoquée des changements plus ou moins graves dans l'activité physique et le comportement des souris qui peuvent aller jusqu'à la mort.

a) Détermination de la DL50

Afin de déterminer la DL50 de l'extrait brut de *Datura arborea*, cinq doses ont été choisies y compris la DL0 et la DL100. La première dose est définie comme étant la plus faible dose dans laquelle tous les animaux survivent, alors que la deuxième est la plus forte dose qui conduit à la mort de tous les animaux de l'expérience. Le taux de mortalité observé au cours de ces expériences (exprimé en pourcentage) est reporté dans le **tableau 34**.

Tableau 34 : Transformation en pourcentage du nombre des souris mortes après l'administration d'une prise unique de l'extrait brut de *Datura arborea L.*

Lot	Dose (g/kg)	% de mortalité	Période de survie
C	0	0	4 jours
2	0.1	0	4 jours
3	0.5	0	4 jours
4	1	10 +	1 jour
5	3	40 +	4h
6	6	80 +	1 h
7	12	100 +	Sur place

C = Lot de contrôle

Deux méthodes ont été utilisées pour la détermination de la DL50 de l'extrait brut des feuilles de *Datura arborea L.* : La méthode de Miller et Trainer dite méthode graphique, et la méthode de Dragstedt et Lang ou méthode de calcul.

b) Méthode graphique

Cette méthode consiste à convertir les pourcentages des animaux morts en unités probits (Tableau 35)

Tableau 35. La conversion en unités probits du pourcentage de mortalité en fonction du logarithme la dose administrée (exprimés en g/kg du poids corporel)

Dose (g/kg)	Log dose	% de mortalité	% Corrigées	Probits
0.5	-0,3	0	2,5	3,02
1	0	10	10	3,74
3	0,47	40	40	4,75
6	0,78	80	80	5,82
12	1,08	100	98,5	6,94

La droite qui donne la mortalité (exprimés en unités probits) en fonction du logarithme la dose administrée (exprimés en g/kg du poids corporel) a été tracée, et la détermination de la DL50 est effectuée en utilisant l'équation de la droite de régression (**Figure 32**) : elle représente l'abscisse du point correspondant à 5 unités probits (50% de mortalité).

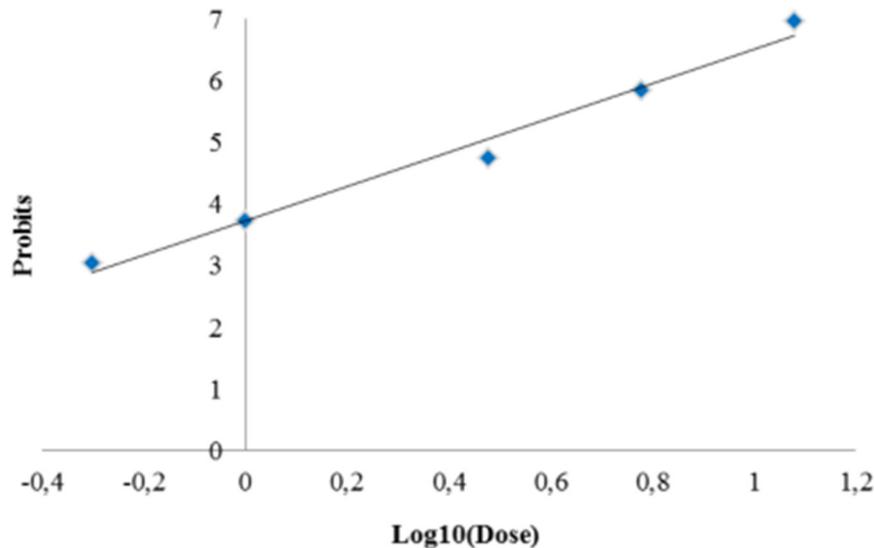


Figure 32. Droite exprimant le taux de mortalité dans chaque lot (unités probits) en fonction du logarithme de la dose (g/kg).

Donc, la DL50 exprimée en Moyenne \pm SEM, est : $DL_{50} = 2.8585 \pm 1.1786$ g/kg.

Avec un intervalle de confiance de 1.6799 à 4.0371g/kg du poids corporel.

c) Méthode de calcul

Le calcul de la DL50 en utilisant la formule suivante :

$$DL_{50} = \frac{50 (X_1 - X_2) + X_1 Y_2 - Y_1 X_2}{Y_2 - Y_1}$$

Dont : $X_1 = 1$, $X_2 = 6$, $Y_1 = 10$, $Y_2 = 80$

$$DL_{50} = \frac{(50 \times (1 - 6)) + (1 \times 80) - (10 \times 6)}{(80 - 10)}$$

$$DL_{50} = \frac{(-250 + 80 - 60)}{70} = \frac{230}{70} = 3,285 \text{ g/kg}$$

$$DL_{50} = 3,285 \text{ g/kg}$$

Donc, on a estimé que la DL50 est égale à 3,285 g/kg. Le calcul de la DL50 par la méthode de Dragstedt et Lang nous donne une valeur appartenant à l'intervalle de confiance trouvé graphiquement par la méthode de Miller et Trainer, ce qui confirme l'intégralité de nos résultats.

❖ Discussions

L'évaluation de la toxicité aiguë consiste à mesurer et enregistrer les différents effets adverses qui sont, immédiatement, apparus après l'administration d'une seule dose de la substance testée (*Le Blanc, 2010*). En effet, dans notre travail, nous avons remarqué que les animaux qui reçoivent une dose supérieure à 1g/kg montrent des changements de comportements et des signes d'intoxication plus ou moins graves (bradycardie, difficulté de respiration, tremblements, etc.) et entrent dans un état narcotique avec des périodes d'excitation occasionnelles ce qui conduit, finalement, à leur mort. A l'issue du test d'évaluation de la toxicité aiguë, la DL50 est estimée par 3,285 g/kg en cas d'administration intra-péritonéale de l'extrait brut. Selon l'échelle de la toxicité des substances chimiques par voie intra-péritonéale pour les rongeurs d'après Hodge et Sterner (*Frank, 1992*), la valeur de la DL50 (3,285 g/kg) permet de classer cet extrait comme une substance légèrement toxique. En tenant compte du rendement de l'extrait brut (20.18%), il apparaît que la DL50 de la plante est supérieure à 14.16g des feuilles de *Datura arborea* par kilogramme du poids corporel, ce qui donne une bonne marge de sécurité pour l'utilisation traditionnelle de cette plante. En comparant ces résultats avec d'autres travaux, la valeur de DL50 estimée dans la présente étude est très proche de celle éditée par Lamchouri et ses collaborateurs en 2002, qu'ils ont trouvée une DL50 égale à 2.7g/kg chez les souris traitées oralement par l'extrait aqueux. Différemment, Muhi-eldeen et ses collaborateurs (2008) ont déterminé la DL50 de l'extrait des alcaloïdes totaux, en utilisant 200, 300, 350, 400, 450, 500, et 550mg/kg par voie intra-péritonéale. Elle a été égale à 420mg/kg. Cette valeur est nettement inférieure à celle trouvée dans notre expérience. Toutefois, il faut noter que pour ces auteurs, la technique d'extraction diffère totalement de la nôtre, le type d'animaux choisi (souris), la méthode de détermination de la DL50 ainsi que la variabilité génétique des feuilles entre la Jordanie et l'Algérie.

CONCLUSION

Conclusion

Selon la bibliographie, la plante *Datura arborea* est l'une des plantes toxiques pour l'homme et les animaux. Sa toxicité est due aux alcaloïdes tropaniques que renferme la plante dans toutes ses parties. Ce travail a été entrepris afin de participer à une meilleure connaissance de la composition chimique en alcaloïdes de cette espèce et de pouvoir la situer par rapport à celles décrites dans d'autres pays du pourtour méditerranéen. 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. Les alcaloïdes présents dans l'espèce *Datura arborea* ont été largement étudiés. De notre étude il ressort, comme cela a déjà été démontré par d'autres auteurs que les teneurs varient en fonction de la partie de la plante, du lieu et de la période de récolte. Cette étude a été plus spécifiquement entreprise pour comparer les teneurs des alcaloïdes avec celles de l'espèce *Datura stramonium*. Nous avons pu démontrer dans cette espèce la présence de concentrations importantes d'atropine pouvant entraîner au final le même type d'intoxication que des autres espèces de genre *Datura* de la même famille de Solanaceae. Il convient donc d'attirer l'attention des autorités pour que ce type de plantation soit limité dans les parcs publics ou que l'accès à ces plantations soit restreint afin d'éviter des intoxications accidentelles par des enfants ou volontaires par des toxicomanes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Alabaster V.A**, 1997. Discovery & development of selective M3 antagonists for clinical use. *Life Sciences*, Vol. 60, Nos. 13/14, pp.1053-1060.
2. **Alberto Kurzbaum, Claudia Simslo, Iadmilla Kvasha, Arnon Blum**, 2001. Toxic delirium due to *Datura Stramonium*. *IMAJ*. Vol 3. 3:538-539.
3. **Alexander Jan, Diane Benford, Andrew Cockburn, Jean-Pierre Cravedi, Eugenia Dogliotti, Alessandro Di Domenico, Maria Luisa Fernández-Cruz, Peter Fürst, Johanna Fink-Gremmels, Corrado Lodovico Galli, Philippe Grandjean, Jadwiga Gzyl, Gerhard Heinemeyer, Niklas Johansson, Antonio Mutti, Josef Schlatter, Rolaf van Leeuwen, Carlos Van Peteghem and Philippe Verger**, 2008. Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.
4. **Al-Shaikh AM, Sablay ZM**, 2005. Hallucinogenic plant poisoning in children. *Saudi Med J* 26 (1):118-21.
5. **Ameenah Gurib-Fakim**, 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1–93.
6. **Andrea Brock, Stefan Bieri, Philippe Christen, Birgit Dräger**, 2005. Calystegines in wild and cultivated *Erythroxylum* species. *Phytochemistry* 66, 1231–1240.
7. **Anger JP, Villain M, Baert A, Kintz P**. Le *Datura* : une plante abandonnée de la pharmacopée mais qui semble aujourd’hui de plus en plus plébiscitée par les jeunes. *J Med Lég Droit Méd*. 2005; 48: 185–197
8. **Ann M Lee, David B Jacoby, Allison D Fryer**, 2001. Selective muscarinic receptor antagonists for airway diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, 1:223–229.
9. **Bellakhdar J**. La pharmacopée marocaine traditionnelle (médecine arabe ancienne et savoirs populaires). Saint- Etienne: Ibis Press 1997: 494–496.
10. **Bhushan.R, Martens.j, Meenkshi Arora**, 2001. Direct resolution of ephedrine and Atropine into their enantiomers by impregnated LTC. *Biomed. Chromatogr*. 15: 151–154.
11. **Binev R. Valchev I., Niklov. J**, 2006. Clinical and pathological studies of Jimsonweed Poisoning in Horses. *Trakia Journal of Science*, Vol.4, N°.3, pp56-63.
12. **Birgit Dräger**, 2002. Analysis of tropane and related alkaloids. *Journal of Chromatography A*, 978.1–35.
13. **Blake Froberg, Danyal Ibrahim, Brent Furbee**, 2007. Plant Poisoning. *Emerg Med Clin N Am* 25.375–433.
14. **Bouzidi A, Mahdeb N, Allouche L, Houcher B**, 2002. Etudes épidémiologiques sur les plantes toxiques dans les régions de Sétif et Bordj Bou Arreridj. Algérie. *Bulletin d’Information Toxicologique*. Institut national de santé publique du Québec. Vol. 18. N 2. pp.5-10
15. **Brian A, McGraw. Jack G. Woolley**, 1982. Biosynthesis of tropane ester alkaloids in *DATURA*. *Phytochemistry*, Vol. 21, No. 1 I, pp. 2653-265.
16. **Bruneton J**, 2001. *Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. 2ème édition. Tec et Doc. Paris, pp. 481-512.

Références bibliographiques

17. **Bruneton, J**, 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition. Paris, pp. 647-673.
18. **Centre de toxicologie/ centre antipoison X.X.X**, 2005. Les dangers des systèmes Thérapeutiques transdermiques. Bulletin d'information toxicologique. Vol. 21. N 1.
19. **Chanton. R, Paniel. J**, 1966. Biologie animale; Anatomie et physiologie animals II fonction de nutrition. Edition Doin Deren et Cie, pp.127.
20. **Charriere S, Rognant N, Chiche F, Cremer A, Deray G, Priou M**, 2008. Insuffisance rénale chronique et maladie cardiovasculaire. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie Volume 58, Pages 40-52.
21. **Chih-Kai Liang, Tin-Yun Ho, Tsai-Chung Li, Wen-Ming Hsu, Te-Mao Li, Yu-Chen Leed, Wai-Jane Ho., Juei-Tang Cheng, Chung-Yuh Tzeng, I-Ting Liuc, Shih-Liang Chang**, 2008. A combined therapy using stimulating auricular acupoints enhances lower-level atropine eye drops when used for myopia control in school-aged children evaluated by a pilot randomized controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*. 16, 305—310.
22. **Christine H. Attenhofer Jost, Patricia A. Pellikka**, 2003. Atropine for inconclusive exercise tests: a beautiful solution or just cosmetics. *American Heart Journal* Volume 145, Issue 6, Pages 938-940
23. **Christopher J Langmead, Jeannette Watson, Charlie Reavill**, 2008. Muscarinic acetylcholine receptors as CNS drug targets. *Pharmacology & Therapeutics* 117. 232–243
24. **Desachy A, François B, Vignon P, Roustan R., Gay**, 1996. Une intoxication rare au *Datura stramonium* A propos deux cas. *Réan Urg.* 1996; 6(1): 51-53.
25. **Diker D, D. Markovitz, M. Rothman, U. Sendovski**, 2006. Coma as a presenting sign of *Datura stramonium* seed tea poisoning. *European Journal of Internal Medicine* 18, 336– 338.
26. **Djibo.A, Brah Bouzou. S**, 2000. Intoxication aiguë "Sobi-Lobi" (*Datura*). A propos de quatre cas au Niger.
27. **Djilani B. A, Legseir**, 2004. Extraction of atropine by ultrasounds in different solvent systems. *Fitoterapia* 76, 148–152.
28. **Dogliotti, Alessandro Di Domenico, Maria Luisa Fernández-Cruz, Peter Fürst, Johanna Fink-Gremmels, Corrado Lodovico Galli, Philippe Grandjean, Jadwiga Gzyl, Gerhard Heinemeyer, Niklas Johansson, Antonio Mutti, Josef Schlatter, Rolaf van Leeuwen, Carlos Van Peteghem and PhilippeVerger**, 2008. Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.
29. **Donald A. Mahler**, 1976. Anticholinergic Poisoning from Jimson Weed. Annual ACEP/EDNA Scientific Assembly in Las Vegas, Nevada. Vol.5 Number 6.
30. **Dugan G. M., M. R. Gumbmann, Mendel Friedman**, 1989. Toxicological evaluation of Jimson weed (*Datura stramonium*) seed. *FD Chem.Toxic.* Vol.27, No.8, pp.501-510.

Références bibliographiques

31. **Elisabetta Miraldi, Alessandra Masti, Sara Ferri, Ida Barni Comparini**, 2001. Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia* 72. 644-648.
32. **Flesch F**, 2005. Intoxications d'origine végétale. *EMC-Médecine* 2, 532-546.
33. **Forrester MB**, 2006. Jimsonweed exposures in Texas, 1998-2004. *J Toxicol Environ Health A*. 69(19):1757-62.
34. **Frank C.LU**, 1992. Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris pp. 73- 202.
35. **Fredrik Palm., Per-Ola Carlsson**, 2005. Thick ascending tubular cells in the loop of Henle: Regulation of electrolyte homeostasis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 37, 1554-1559.
36. **Friess S, R. C. Durant, L. J. Reber, W. C. Thommesen**, 1961. Further Toxicologic Properties of Aromatic Esters in the Tropine and Ψ Tropine Series. *Toxicology and applied Pharmacology* 3, 224-235
37. **Goullé Jean-Pierre., Pepin Gilbert., Lacroix Christia**, 2004. Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de toxicologie analytique*. ISSN 0768-598X. Vol. 16, no 1.
38. **Grzegorz Gryniewicz, Maria Gadzikowska**, 2008. Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. *Pharmacological Reports*. 60, 439-463.
39. **Gustavo J. Rodrigo, Carlos Rodrigo**, 2002. The Role of Anticholinergic in Acute Asthma Treatment. *American College of Chest Physicians*. *Chest*; 121; 1977-1987.
40. **Gzyl, Gerhard Heinemeyer, Niklas Johansson., Antonio Mutti, Josef Schlatter, Rolaf van Leeuwen, Carlos Van Peteghem and Philippe Verger**, 2008. Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.
41. **Harbouche H**, 2004. Etudes Botaniques Et Physiologiques De L'espèce *Datura stramonium* L. Dans La Région De Sétif. Thèse de Magister, pp.11-85-94.
42. **Henri Arouko, Marie-Dominique Matray, Coralie Braganca, Jea-Pierre mpaka, Laure chinello, Françoise Castaing, Christine BARTOU, Daniel POISOT**, 2003. L'intoxication volontaire par l'ingestion de *Datura stramonium*. *Ann. Med. Interne*, 2003.154, Hors- Série I, pp.1S 46-1S50.
43. **Hossein Mirjalili**, 2008. Application of Metabolic Engineering to the Production of Scopolamine. *Molecules*, 13, 1722-1742; DOI: 10.3390/molecules13081722.
44. **Jacques Dangoumau**, 2006. *Pharmacologie Générale*. Edition 2006, pp. 100-248. Jason D. Clark (2005). *Jimson Weed Toxicity*. *Air Medical Journal* 24:6.
45. **Javier Palazón, Arturo Navarro-Ocaña, Liliana Hernandez-Vazquez, Mohammad Hossein Mirjalili**, 2008. Application of Metabolic Engineering to the Production of Scopolamine. *Molecules*, 13, 1722-1742; DOI: 10.3390/molecules13081722.

Références bibliographiques

46. **João C.M. Barreira, sabel C.F.R. Ferreira, Beatriz P.P. Oliveira, José Alberto Pereira**, 2008. Antioxidant activity and bioactive compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2230–2235.
47. **Jochen Beyer, Olaf H. Drummer, Hans H. Maurer**, 2008. Analysis of toxic alkaloids in body samples. *Forensic Science International* xxx, xxx–xxx (in press).
48. **Johanna Fink-Gremmels, Corrado Lodovico Galli, Philippe Grandjean, Jadwiga Gzyl, Gerhard Heinemeyer, Niklas Johansson, Antonio Mutti, Josef Schlatter, Rolaf van Leeuwen, Carlos Van Peteghem and Philippe Verger**, 2008. Tropane alkaloids (from *Datura* sp.) as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal* 691, 1-55.
49. **John H. Halpern**, 2004. Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United States. *Pharmacology & Therapeutics* 102, 131– 138.
50. **John H. Halpern., R. Andrew Sewell**, 2005. Hallucinogenic botanicals of America: A growing need for focused drug education and research. *Life Sciences* 78, 519 – 526.
51. **Jörg Ziegler, Peter J. Facchini**, 2008. Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 59: 735-769
52. **Joshua S. Rotenberg et Jonathan Newmark**, 2003. Nerve Agent Attacks on Children: Diagnosis and Management. *Pediatrics official journal of the American Academy of pediatrics*. Vol. 112 No. 3.
53. **Kara Nabila**, 2008. Toxicité du *Datura stramonium* chez les animaux d'élevage : Enquête et expérimentation sur les animaux de laboratoire. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. pp. 63.
54. **Kenneth J. Broadley, David R. Kelly**, 2001. Muscatine Receptor Agonists and Antagonists. *Molecules* 6, 142-193. Knight A. P., R. G. Walter, 2003. Plants Affecting the Digestive System. *International Veterinary Information Service* (www.ivis.org), Ithaca, New York, US
55. **Laura Mattioli, Antonio Bracci, Federica Titomanlio, Marina Perfumi, and Vincenzo De Feo**, 2012. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012: Effects of *Brugmansia arborea* Extract and Its Secondary Metabolites on Morphine Tolerance and Dependence in Mice, Article ID 741925, 10 pages doi:10.1155/2012/741925
56. **Mahdeb N**, 2002. Etudes toxiques du *Datura stramonium* L. Effet de l'extrait des feuilles sur le cerveau et le foie des rats. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. pp. 77-78.
57. **Mateus Lidia, Samir Cherkaoui, Philippe Christen., Jean-Luc Veuthey**, 1999. Enantioseparation of atropine by capillary electrophoresis using sulfated b-cyclodextrin: application to a plant extract. *Journal of Chromatography A*, 868. 285–294.

Références bibliographiques

58. **Mathieu J-B.** Le Datura : De la drogue à la drogue. Bordeaux II, Thèse Pharmacie 2005: 128, N°11.
59. **Mendel Friedman,** 2004. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicum esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *Journal of Chromatography A*, 1054, 2004. 143-155.
60. **Michael J. Burns, Christopher H. Linde, Andis Graudins, Robert M. Brown, Kenneth E. Fletcher.** (1999) A Comparison of Physostigmine and Benzodiazepines for the Treatment of Anticholinergic Poisoning. *Annals of emergency medicine*. Volume 35, Pages 374-381.
61. **Montcriol. A, N. Kenane, G. Delortb, Y. Asencio, B. Palmier,** 2007. Intoxication volontaire par **Datura stramonium**: une cause de mydriase mal connue. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 26, 810–813.
62. **Oliver-Bever.B,** 1982. Medicinal plants in tropical west Africa II. Plants acting on the nervous system. *Journal of Ethnopharmacology*, 7- 1-93.
63. **Philip Salem, Richard Shih, Paul Sierzenski, Jame Reed,** 2002. Effect of physostigminee and gastric lavage in a Datura Stramonium –induced anticholinergic poisoning epidemic.
64. **Philipov S, Berkov S,** 2002. Investigation of Tropane Alkaloids in Datura stramonium. *Z. Naturforsch* 57c, 559-561.
65. **Piva G, Morlacchini M, Pietri A. Fusari, A, Corradi, A, Piva, A,** 1997. Toxicity of dietary scopolamine and hyoscyamine in pigs. *Livestock Production Science* 51, 1997. 29-39.
66. **Pretorius E., Max J,** 2006. Datura stramonium in asthma treatment and possible effects on prenatal development. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 21. 331-337.
67. **Quezel P, Santa S,** 1963. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris, p.823.
68. **Rates S.M.K,** 2000. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39, 603–613.
69. **Raymond Gilles, Michel Anctil, Fernand Baguet, Mirielle, Guy Charantier, André Péqueux, Jean-Christophe Plumier et Phillip Sébert,** 2004. *Physiologie animale*. ISBN-2- 8041-4893-9.
70. **Repéssé. X, Geeraerts T, Pottecher J, B. Vigué, D. Benhamou, J.Duranteau,** 2007. Coma avec mydriase bilatérale au décours de l'utilisation d'un patch de scopolamine en réanimation. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 26, 1070–1072. .
71. **Roblot F, Montaz L, Delcousta M, Gaboriaun E, Chvagnat J, Morichaud G, Pourrat O, Scepi M, Patte D,** 1994. *Rev Méd Interne* 16, 187-190.
72. **Ruprecht J, B. Dworacekj,** 1990. Syndrome anticholinergique central en période postopératoire Syndrome. *Ann Fr Anesth Réanim*, 9: 295-304.
73. **Sean P. Spina, Taddei,** 2007. Teenagers with Jimson weed (*Datura stramonium*) Poisoning. *Can J Emerg Med*; 9 (6):467-9.

Références bibliographiques

74. **Seddigheh Razani-Boroujerdi, Muskaan Behl, Fletcher F Hahn, Juan Carlos Pena- Philippides, Julie Hutt, Mohan L. Sopori**, 2007. Role of muscarinic receptors in the regulation of immune and inflammatory responses. *Journal of Neuroimmunology* 194. 83–88.
75. **Sharma N, Trivedi PC**, 2002. Screening of leaf extracts of some plants for their nematocidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. *Asian J. Exp. Sci.* 16:21-28.
76. **Sheng-Hong Xu, Kentaro Ono, Eiko Honda, Kiyotoshi Inenaga.**, 2002. Noncholinergic Actions of Atropine on GABAergic Synaptic Transmission in the Subformical Organ of Rat Slice Preparations. *Toxicology and Applied Pharmacology* 178, 180–185.
77. **Steenkamp P. A., N. M. Harding., F. R. van Heerden, B. E. van Wyk**, 2004. Fatal *Datura* poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry. *Forensic Science International* 145, 3139.
78. **Steven N, Neil P**, 2005. Jimson Weed intoxication in five Adolescents. *Wisconsin Medical journal.* Vol 104, N°, 7.
79. **Strahil Berkov, Tsvetelina Donheva, Stefan Philipov, Kiril Alexandrov**, 2005. Ontogenetic Variation of the tropane alkaloids in *Datura stramonium*. *Biochemical Systematics and Ecology* 33, 1017-1029.
80. **Takashi Hashimoto, Dae-Jin Yun, Yasuyuki Yamada**, 1993. Production of tropane alkalids in genetically engineered root cultures. *Phytochemistry*, vol. 32, No. 3, pp. 713- 71.
81. **Tanczos AC, Palmer RA, Potter BS, Saldanha JW, Howlin BJ**, 2004. Antagonist binding in the rat muscarinic receptor a study by docking and X-ray crystallography. *Comput Biol Chem.* 28(5-6):375-85. **Tattersfield A. E**, 1982. Bronchodilator drugs. *Pharmac. Ther.* Vol.17, pp. 299 -313.
82. **Thøger Rasmussen, Anders Fink-Jensen**, 2001. Intravenous Scopolamine Is Potently Self- Administered in Drug-Naive Mice. *Neuropsychopharmacology* 2000–VOL. 22, NO.1.
83. **Tomasz Mroczek, Kazimierz Glowniak, Joanna Kowalska**, 2005. Solid-Liquid extraction and cation-exchange solid-phase extraction using a mixed polymeric sorbent of *Datura* and related alkaloids. *Journal of Chromatography A*, 1107. 9–18.
84. **Vincenzo Belliaa, Salvatore Battagliaa, Maria Gabriella Materab, Mario Cazzola**, 2005. The use of bronchodilators in the treatment of airway obstruction in elderly patients. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 19, 311–319.
85. **Vitale AA, Acher A, Pomilio AB**, 1995. Alkaloids of *Datura ferox* from Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 49:81-89.
86. **Wei-Wei Zhang, Ming-Ke Song, Yong-Yao Cui, HaoWang, Liang Zhu, Yin-Yao Niu, Li-Min Yang, Yang Lu, Hong-Zhuan Chen**, 2008. Differential neuropsychopharmacological influences of naturally occurring tropane alkaloids anisodamine versus scopolamine. *Neuroscience Letters* 443, 241–245.

Références bibliographiques

- 87. William Charles Evans**, 2002. Trease and Evans Pharmacognosy. Edition, 15th. ed. ISBN, 0702026174. pp. 338-344.
- 88. William H, Cheryl M., Jill E, Michels**, 2007. Herbal Drugs of Abuse: An Emerging Problem. Emergency Medicine Clinics of North America. Vol. 25, pp. 435-457.
- 89. William J. Griffin., G. David Lin**, 1999. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloid. Phytochemistry 53. 623-637.
- 90. Xian-Wen Li., Bo-Lun Yang, Ying-Ying Wu, Hong-Ye Lin**, 2005. Determination of Atropine in Injection with β -Cyclodextrin Modified Ion Sensitive Field Effect Transistor Sensor. Sensors, 5, 604-612.
- 91. Xiao-Hui Xiang, Hui-Ling Wang, Wei-Ran Wu, Yuan Guo, Dong-Yuan Cao, Hui Sheng Wang, Yan Zhao**, 2006. Ethological analysis of scopolamine treatment or pretreatment in morphine dependent rats. Physiology & Behavior. Vol.88. pp183–190.
- 92. Yaser Bitar, Ulrike Holzgrabe**, 2006. Impurity profiling of atropine sulfate by microemulsion electrokinetic chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 44, 623–633.

ANNEXES

ANNEXE I**LISTE DE REACTIFS UTILISEES AU COURS DE LA PARTIE EXPERIMENTLE****1. Réactif de Bouchardât**

Iode.....	38.10g
Iodure de sodium.....	200g
Eau distillée.....	100ml

2. Réactif de stiasny

Formol 30% / HCL concentre.....	10/5
---------------------------------	------

3. Réaction à la cyanidine

Alcool chlorhydrique (eau + HCL + EtOH v/v/v).....	5ml
Alcool isoamylique.....	1ml

4. Extraction

Ether de Petrol.....	200ml
Ammoniaque (0.5N).....	20ml
Acide sulfurique pure (95-97%) à 0.5N.....	450ml
Chloroforme.....	450ml
Hydroxyde de sodium (0.02M).....	25ml

5. Chromatographie sur couche mince (CCM)

- **Phase mobile**

Chloroforme.....	20ml
Méthanol.....	78.5ml
Ammoniaque.....	1.5ml

- **Témoin**

Sulfate d'atropine monohydrate.....	1mg/1ml
-------------------------------------	---------

- **Réactif**

Solution d'iodobismuthate de potassium.....	10ml
---	------

ANNEXE II

Profils chromatographiques des alcaloïdes identifiés dans les feuilles du *Datura arborea L.*

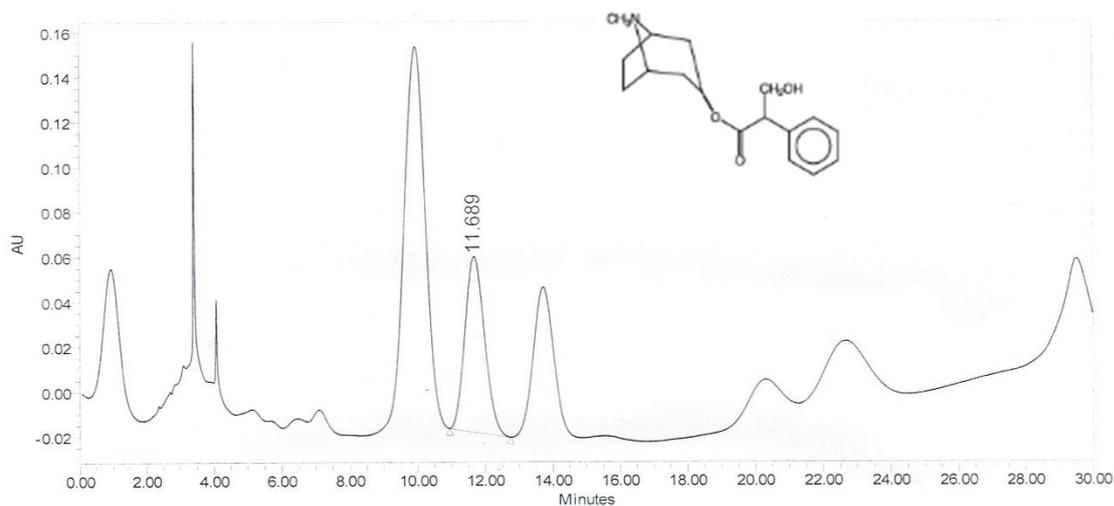
CRD Saidal

Empower™ 3
SOFTWARE

Default Individual Report

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Etalon	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	ATP MS
Vial:	50	Acq. Method Set:	atropine MS
Injection #:	2	Processing Method:	atro ms
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	2998 Ch1 210nm@1.2nm
Run Time:	30.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 Ch1 210nm@1.2nm
Date Acquired:	20/4/2016 4:16:02 PM CET		
Date Processed:	24/4/2016 10:21:10 AM CET		



	RT	Area	% Area	Height
1	11.689	3155614	100.00	78445

Reported by User: System
 Report Method: Default Individual Report
 Report Method ID: 1006
 Page: 1 of 1

Project Name: atropine
 Date Printed: 24/4/2016
 10:24:36 AM Africa/Algiers

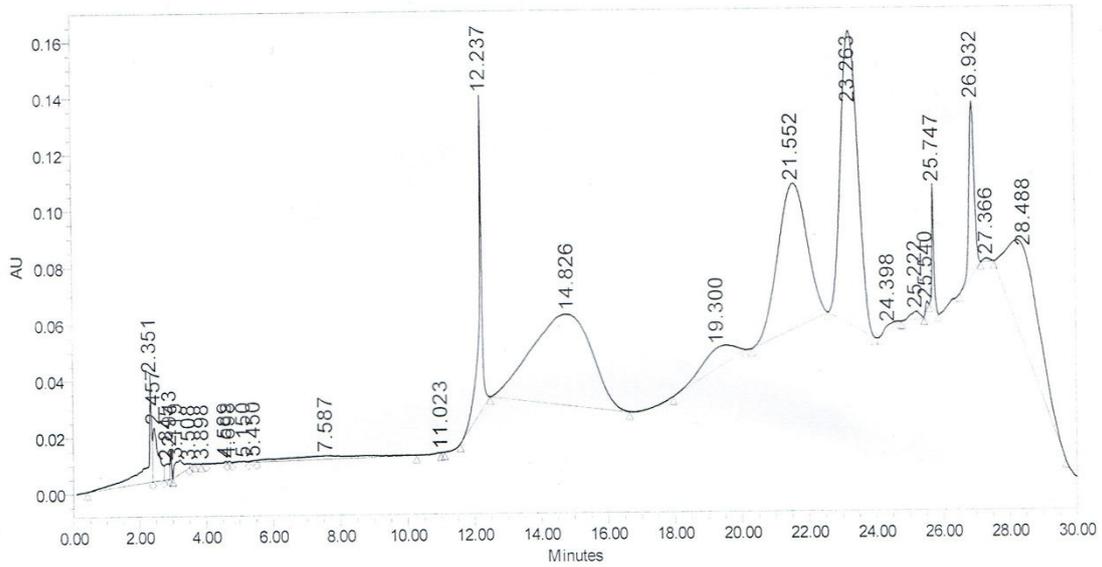
Profil chromatographique d'atropine

Empower 3
SOFTWARE

Default Individual Report

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	ech	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	ATP MS
Vial:	51	Acq. Method Set:	atropine MS
Injection #:	2	Processing Method:	atro ms
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	2998 Ch1 210nm@1.2nm
Run Time:	30.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 Ch1 210nm@1.2nm
Date Acquired:	20/4/2016 5:48:27 PM CET		
Date Processed:	24/4/2016 10:20:42 AM CET		



	RT	Area	% Area	Height
1	2.351	381843	2.37	37853
2	2.457	226209	1.40	19097
3	2.845	52707	0.33	5732
4	2.943	31726	0.20	10541
5	3.119	103239	0.64	5155
6	3.508	7199	0.04	1457
7	3.898	1959	0.01	378

Reported by User: System
 Report Method: Default Individual Report
 Report Method IL 1006
 Page: 1 of 2

Project Name: atropine
 Date Printed:
 24/4/2016
 10:23:53 AM Africa/Algiers

Profils chromatographiques des différents produits obtenu par HPLC

	RT	Area	% Area	Height
8	4.589	7938	0.05	684
9	4.698	4371	0.03	717
10	5.150	11271	0.07	519
11	5.450	7196	0.04	645
12	7.587	212008	1.31	1316
13	11.023	610	0.00	171
14	12.237	708752	4.39	11159C
15	14.826	4024309	24.94	32425
16	19.300	463416	2.87	7223
17	21.552	3092116	19.17	51596
18	23.263	3667170	22.73	104120
19	24.398	44125	0.27	2043
20	25.222	53255	0.33	2757
21	25.540	15069	0.09	3210
22	25.747	168892	1.05	44242
23	26.932	659924	4.09	61292
24	27.366	15439	0.10	1175
25	28.488	2172950	13.47	34713

ANNEXE III

Distribution des alcaloïdes dans le règne végétal (*Jack G Woolley, 2001*)

Family	Alkaloid	Plant genus ^a	Biological activity ^b
Agaricaceae	Bufotenine	<i>Amanita</i> (m)	Hallucinogen
	Muscarine	<i>Amanita</i> (m)	Acetylcholine-like
	Psilocybine [XXII]	<i>Psilocybe</i> (m)	Hallucinogen
Amaryllidaceae	Lycorine	<i>Amaryllis</i> (b)	
	Galanthamine	<i>Galanthus</i> (b) <i>Narcissus</i> (b)	Alzheimer disease
Apocynaceae	Alstonine	<i>Alstonia</i> (bk)	Antimalarial
	Aspidospermine	<i>Aspidosperma</i> (bk)	Respiratory stimulant
	Yohimbine [XXI]	<i>Yohimbe</i> (bk)	Aphrodisiac
	Conessine	<i>Holarrhena</i> (bk)	Antidysenteric
	Ellipticine	<i>Ochrosia</i> (bk)	Anticancer
	Akuammigine	<i>Picalima</i> (s)	Antimalarial
	Reserpine [XX]	<i>Rauwolfia</i> (rh)	Tranquillizer
	Serpentine [XXIV]		
	Vinblastine [XXV]	<i>Catharanthus</i> (l)	Anticancer
Vincristine			
Aristolochiaceae	Aristolochic acid	<i>Aristolochia</i> (rh)	Tumour-inducing
Berberidaceae	Berberine [XXIX]	<i>Berberis</i> (bk)	Antibacterial
		<i>Mahonia</i> (bk)	Antimalarial
Boraginaceae	Indicine <i>N</i> -oxide	<i>Heliotropium</i> (l)	Anticancer
Cactaceae	Mescaline [XXX]	<i>Lophophora</i> (l)	Hallucinogen
Campanulaceae	Cathine	<i>Catha</i> (l)	CNS stimulant
	Ephedrine		
Celastraceae	Maytansine	<i>Maytenus</i>	Anticancer
Chenopodiaceae	Anabasine	<i>Anabasis</i> (l)	Insecticidal
Clavicipitaceae	Ergometrine	<i>Claviceps</i> (fb)	Postpartum haemorrhage
	Ergotamine		Migraine
Convolvulaceae	Calystegines [XLII]	<i>Calystegia</i> (r)	Antiviral
	Agroclavine	<i>Ipomoea</i> (l)	Hallucinogen
Ephedraceae	Ephedrine	<i>Ephedra</i> (hb)	CNS stimulant
Equisitaceae	Palustrine [XXXIII]	<i>Equisetum</i> (l)	
Erythroxylaceae	Cocaine	<i>Coca</i> (l)	Local anaesthetic
Graminae	Loliine	<i>Lolium</i> (l)	
Leguminosae	Castanospermine	<i>Castanosperma</i> (s)	Antiviral, 'locoism' (stock)
	Cytisine	<i>Cytisus</i> (hb)	Very toxic
		<i>Anagyris</i> (hb)	Teratogenic
			Diuretic
	Sparteine		
	Swainsonine	<i>Swainsona</i>	Glycosidase inhibitor 'locoism' (stock)
	Monocrotaline	<i>Crotalaria</i> (l)	Hepatotoxic, tumour-inducing
Physostigmine	<i>Physostigma</i> (s)	Ophthalmology Cholinesterase inhibitor	
Liliaceae	Colchicine	<i>Colchicum</i> (c)	Induces polyploidy
	Cevadine	<i>Schoenocaulon</i> (s)	Insecticidal
	Rubijervine	<i>Veratrum</i> (r)	Antihypertension

Family	Alkaloid	Plant genus ^a	Biological activity ^b
Loganiaceae	Strychnine	<i>Strychnos</i> (s)	Very poisonous
Lycopodiaceae	Lycopodine [XXXII]	<i>Lycopodium</i> (l)	
Menispermaceae	Tubocurarine	<i>Chondrodendron</i> (bk)	Neuromuscular blocking agent, muscle relaxant
Moraceae	Calystegines	<i>Morus</i> (l)	Antiviral, oral hyperglycaemic agent
Orchidaceae	Dendrobine	<i>Dendrobium</i> (hb)	
Palmae	Arecoline	<i>Areca</i> (s)	Anthelmintic
Papaveraceae	Chelerythrine	<i>Dicentra</i>	Diuretic
	Codeine	<i>Papaver</i> (lt)	Analgesic
	Morphine [XXXI]		Analgesic, narcotic
	Narcotine [XXVII]		Cough suppressant
	Papaverine [XXVI]		Anti-impotence vasodilator
	Thebaine		
Ranunculaceae	Aconitine	<i>Aconitum</i> (hb)	Diaphoretic, rheumatism, neuralgia (topical)
	Ajaconine	<i>Delphinium</i> (hb)	
Rubiaceae	Emetine [XXVII]	<i>Cephaelis</i> (rh) <i>Psychotria</i> (r)	Amoebic dysentery
	Quinine	<i>Cinchona</i> (bk)	Antimalarial
	Quinidine		Antiarrhythmia (heart)
Rutaceae	Harmaline	<i>Peganum</i> (sd)	Anthelmintic
	Pilocarpine	<i>Pilocarpus</i> (l)	Glaucoma, ophthalmology
	Canthin-6-one	<i>Pentacercus</i>	Antibacterial
Solanaceae	Capsaicin	<i>Capsicum</i> (fr)	Hot taste
	Hyoscine [XLI]	<i>Atropa</i> (hb)	Travel sickness, amnesia
	Hyoscyamine [XXXIX]	<i>Datura</i> (hb) <i>Hyoscyamus</i> (hb) <i>Duboisia</i> (hb) <i>Mandragora</i> (r)	Antagonist of acetylcholine Preoperative treatment
	Tigloidine	<i>Duboisia</i> (hb)	Parkinson disease
	Solanidine	<i>Solanum</i> (tb)	Toxic
	Nicotine	<i>Nicotiana</i> (l)	Insecticidal, smoking
Taxaceae	Paclitaxel	<i>Taxus</i> (l)	Anticancer drugs
	Baccatin		Anticancer drugs

Part of plant used: (l), leaves; (s), seeds; (hb), herbs; (bk), bark; (rh), rhizome; (tb), tuber (green); (fr), fruits; (lt), latex; (r), roots; (c), corm; (fb), fruiting body; (b), bulb; (m), mushroom.

ANNEXE IV

Plantes toxiques à alcaloïdes et leur distribution géographique (*Jack G Woolley, 2001*)

Genus ^a	Species	Typical alkaloid ^b	Toxicity ^c	Location
<i>Amsinkia</i> (B)	<i>intermedia</i>	Lycopsamine (P)	Hepatotoxic	NW USA
<i>Echium</i> (B)	<i>lycopsis</i>	Echimidine (P)	Hepatotoxic	SE Australia
<i>Heliotropium</i> (B)	<i>lasiocarpum</i>	Heliotrine (P)	Hepatotoxic	C Asia
	<i>europaeum</i>		Hepatotoxic (s)	Australia
<i>Trichodesma</i> (B)	<i>incanum</i>	Trichodesmine (P)	Hepatotoxic (h)	C Asia
<i>Senecio</i> (C)	<i>jacobaea</i>	Senecionine [XLVI]	Pictou disease (c,h,p)	Canada
		Seneciphylline (P)	Winton disease (c,h,p)	N Zealand
	<i>latifolius</i> <i>burchelli</i>	Seneciphylline (P)	Molteno horse disease	S Africa
<i>Alexa</i> (L)	<i>leiopetala</i>	Alexine (P)	Hepatotoxicity (c)	
<i>Astragalus</i> (L)	<i>lentiginosa</i>	Swainsonine [XLVIII]	Locoism (c,h)	USA
<i>Castanosperma</i> (L)	<i>australe</i>	Australine (P)	Hepatotoxicity	Australia
		Castanospermine [XLIX]	Pompe disease	Australia
<i>Crotalaria</i> (L)	<i>sagitalis</i>	Monocrotaline [XLV]	Missouri bottom disease (h)	USA
<i>Crotalaria</i> (L)	<i>spectabilis</i>	Monocrotaline [XLV]		
<i>Crotalaria</i> (L)	<i>dura</i>	Dicrotaline (P)	Hepatotoxic	S Africa
<i>Crotalaria</i> (L)	<i>retusa</i>		Walkabout disease (c)	N Australia
<i>Oxytropis</i> (L)	sp.	Swainsonine [XLVIII]	Locoism (c)	USA
<i>Oxytropis</i>	<i>kansuensis</i>	Swainsonine [XLVIII]	Locoism	China
<i>Solanum</i> (S)	<i>dimidiatum</i>	Calystegines [XLII]	Crazy cow syndrome	USA
<i>Solanum</i> (S)	<i>kwebense</i>	Calystegines (as [XLII])	Maldonksiekte	S Africa
<i>Swainsona</i> (L)	<i>canescens</i>	Swainsonine [XLVIII]	Locoism (c)	Australia
<i>Ipomoea</i> (C)	sp.	Swainsonine [XLVIII]	Weir vine disease (c, h, s)	Australia

^a (B), Boraginaceae; (C), Compositae; (L), Leguminosae; (C), Convolvulaceae, (S) Solanaceae.

^b (P), Pyrrolizidine.

^c (c), cows; (h), horses; (p), pigs; (s), sheep.

ANNEXE V

Préparation des réactifs chimiques

❖ Préparation d'ammoniaque 0,5N

$$N_1 V_1 = N_2 V_2 \quad \text{eq} = \text{Équivalents}$$

$$V_2 = 20\text{ml} \quad N_2 = 0.5\text{N}$$

$$\frac{\text{Masse}}{\text{Masse molaire}} \cdot \text{eq. (V1)} = N_2 V_2$$

$$\frac{0.91 \times 1000 \times 3(V_1)}{17.03} = 0.5 \times 20$$

$$\text{Volume } V_1 = \frac{0.5 \times 20 \times 17.03}{0.91 \times 3 \times 1000}$$

$$V_1 = 16.03\text{ml d'ammoniaque}$$

- **Dilution d'échantillon**

$$(20\text{ml} - 16.03\text{ml}) = 3.97\text{ml d'eau}$$

20ml d'ammoniaque (0.5N) = 16.03ml d' NH_3 pure + 3.97ml d'eau distillée

❖ Préparation d'acide sulfurique 0,5N

Acide sulfurique pure 95 - 97% et on prépare 450ml de 0,5N :

$$N_1 = \frac{\text{eq} \times \text{densité flacon} \times \text{pureté}\% \times 10}{\text{Masse molaire}}$$

Normalité flacon

$$N_1 V_1 = N_2 V_2 \quad N_1 = 0.5\text{N} \quad V_2 = 450\text{ml}$$

$$\frac{2 \times 1.84 \times 96 \times 10}{98.08} = 36.01$$

$$36.01 \times V = 0.5 \times 450$$

V x 6.25ml d'acide pure

- **Dilution d'échantillon**

$$(450\text{ml} - 6.25\text{ml}) = 443.75\text{ml d'eau}$$

Résumé

Datura arborea L est une plante du genre *Datura* fait partie de la famille des solanacées, vaste de plusieurs milliers d'espèces. Ce genre se caractérise par une production importante d'alcaloïdes tropaniques : hyoscyamine, atropine et scopolamine. L'objectif de cette étude est d'apprécier la dangerosité de certaines espèces ornementales par rapport aux espèces sauvages en déterminant leurs concentrations respectives en atropine et scopolamine. L'extrait organique issu des feuilles sèches réduites en poudre de *Datura arborea L.* récoltées dans la région d'Alger (Parc de Jardin d'essai) a été analysé par chromatographie sur couche mince. Par ailleurs, les analyses en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse ont confirmé que l'atropine et la scopolamine sont les alcaloïdes majoritaires. Ces deux agents antimuscariniques sont responsables, selon la dose, de sédation ou de délires hallucinatoires recherchés par les usagers. Ces résultats montrent que la plante *Datura arborea L* peut être dangereuse puisque les concentrations en alcaloïdes tropaniques y sont importantes majoritairement atropine. L'ingestion d'une quantité relativement faible de feuilles de *Datura arborea* pourrait entraîner l'apparition de symptômes anticholinergiques. Il semblerait donc utile d'intervenir auprès des responsables communaux pour empêcher la plantation de ces espèces dans les espaces publics.

Mots clés: Alcaloïdes, alcaloïdes tropaniques, atropine, *Datura arborea L.*, famille des solanacées

Abstract

Datura arborea L. is a plant belonging to one of the genera of the wide family of Solanaceae. This genus is characterized by the production of tropane alkaloids: atropine, hyoscyamine and scopolamine. The aim of this study was to appreciate the potential danger represented by ornamental species of *Datura* by determining the concentrations of alkaloids present in the plant. Qualitative analysis of the basic extract of tropane alkaloids in the leaves of *Datura arborea L.* collected in the region of Alger (Jardin d'essai) were carried out by CCM. On the other hand, analysis by HPLC confirmed that atropine and scopolamine are the main tropane alkaloids in the leaves of *Datura arborea L.* These two drugs are involved in the hallucinogenic and sedative effects of the plant. This study demonstrates that *Datura arborea L.* can be dangerous because it exhibits high concentrations of tropane alkaloids mainly atropine. Ingestion of a small quantity of *Datura arborea* leaves can lead to serious anticholinergic symptoms. It should be useful to alert authorities on the danger of these ornamental species and prevent their plantation in public spaces.

Key words: Alkaloids, tropane alkaloids, atropine, *Datura. arborea L.*, *Solanaceae* family

Résumé

Datura arborea L est une plante du genre *Datura* fait partie de la famille de Solanaceae, vaste de plusieurs milliers d'espèces. Ce genre se caractérise par une production importante d'alcaloïdes tropaniques : hyoscyamine, atropine et scopolamine. L'objectif de cette étude est d'apprécier la dangerosité de certaines espèces ornementales par rapport aux espèces sauvages en déterminant leurs concentrations respectives en atropine et scopolamine. L'extrait organique issu des feuilles sèches réduites en poudre de *Datura arborea L*. récoltées dans la région d'Alger (Parc de Jardin d'essai) a été analysé par chromatographie sur couche mince. Par ailleurs, les analyses en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse ont confirmé que l'atropine et la scopolamine sont les alcaloïdes majoritaires. Ces deux agents antimuscariniques sont responsables, selon la dose, de sédation ou de délires hallucinatoires recherchés par les usagers. Ces résultats montrent que la plante *Datura arborea L* peut être dangereuse puisque les concentrations en alcaloïdes tropaniques y sont importantes majoritairement atropine. L'ingestion d'une quantité relativement faible de feuilles de *Datura arborea* pourrait entraîner l'apparition de symptômes anticholinergiques. Il semblerait donc utile d'intervenir auprès des responsables communaux pour empêcher la plantation de ces espèces dans les espaces publics.

Mots clés: Alcaloïdes, alcaloïdes tropaniques, atropine, *Datura arborea L.*, famille des solanacées

Abstract

Datura arborea L. is a plant belonging to one of the genera of the wide family of Solanaceae. This genus is characterized by the production of tropane alkaloids: atropine, hyoscyamine and scopolamine. The aim of this study was to appreciate the potential danger represented by ornamental species of *Datura* by determining the concentrations of alkaloids present in the plant. Qualitative analysis of the basic extract of tropane alkaloids in the leaves of *Datura arborea L.* collected in the region of Alger (Jardin d'essai) were carried out by CCM. On the other hand, analysis by HPLC confirmed that atropine and scopolamine are the main tropane alkaloids in the leaves of *Datura arborea L.* These two drugs are involved in the hallucinogenic and sedative effects of the plant. This study demonstrates that *Datura arborea L.* can be dangerous because it exhibits high concentrations of tropane alkaloids mainly atropine. Ingestion of a small quantity of *Datura arborea* leaves can lead to serious anticholinergic symptoms. It should be useful to alert authorities on the danger of these ornamental species and prevent their plantation in public spaces.

Key words: Alkaloids, tropane alkaloids, atropine, *Datura. arborea L*, *Solanaceae* family

NOM : **DDUNGU**

PRENOM : **MARK RICHARD**

ADRESSE ELECTRONIQUE : Pharm1234d@gmail.com

NOM : **SACI**

PRENOM : **SOHEIB**

ADRESSE ELECTRONIQUE : Saci sohaib@yahoo.fr

Proposé par:

Dr. ARAR Karima Maître assistante en pharmacognosie

