

Article original

Détermination des alcaloïdes tropaniques des graines du *Datura stramonium* L. par CPG/SM et CL/SM

Determination of tropane alkaloids in seeds of *Datura stramonium* L. by GC/MS and LC/MS

Ahmed El Bazaoui^{1*}, Hamid Stambouli¹, Moulay Ahmed Bellimam¹, Abdelmajid Soulaymani²

¹ Laboratoire de Recherches et d'Analyses Techniques et Scientifiques de la Gendarmerie Royale, Rabat, Maroc

² Laboratoire de Génétique et Biométrie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, Kénitra, Maroc

Résumé – Introduction : *Datura stramonium* L., du nom local *Chdeq ej-jmel*, est utilisé en médecine traditionnelle marocaine. **Matériels et méthodes :** L'extrait organique issu des graines sèches réduites en poudre de *Datura stramonium* L. récoltées dans la région de Kénitra (ouest marocain) a été analysé par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. **Résultats :** L'analyse a permis l'identification de huit alcaloïdes tropaniques, dont le 6-hydroxyatropine et le 6-hydroxyapopropine qui sont détectés pour la première fois dans les graines de cette espèce. 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. **Discussion et conclusion :** Ces deux agents antimuscariniques sont responsables, selon la dose, de sédation ou de délire hallucinatoires recherchés par les usagers.

Mots clés : *Datura stramonium* L., graines, alcaloïdes tropaniques, CPG-SM, CLHP-SM

Abstract – Introduction: *Datura stramonium* L. (*Chdeq ej-jmel*) is a traditional medicine used in Morocco. **Materials and methods:** Qualitative analyses of the basic extract of tropane alkaloids in seeds of *Datura stramonium* L. collected in the region of Kénitra (west of Morocco) were carried out by GC/MS. **Results and discussion:** Eight tropane alkaloids were identified. Six of these alkaloids were described in previous works, and the other two (6-hydroxyatropine and 6-hydroxyapopropine) are reported for the first time for this species in the present work. On the other hand, analyses by LC/MS confirmed that atropine and scopolamine are the main tropane alkaloids in seeds of *Datura stramonium* L. **Conclusion:** These two drugs are involved in the hallucinogenic and sedative effects of the plant.

Key words: *Datura stramonium* L., seeds, tropane alkaloids, GC-MS, LC-MS

Cet article fait suite à une communication orale présentée au congrès mixte international SFTA-SMTCA-STC (Essaouira, Maroc, 16-18 octobre 2008)

Reçu le 22 février 2009, accepté après modifications le 22 mai 2009

Publication en ligne le 10 juillet 2009

1 Introduction

Datura stramonium L. ou stramoine officinal, est une plante appartenant à la famille des solanacées annuelles. Elle possède une odeur désagréable et vireuse, et est présente dans les cultures céréalières, maraîchères sur sable et sur les terrains vagues incultes. Cette plante commune à l'état sauvage se présente sous forme herbacée avec une tige dressée dichotome portant de grandes feuilles alternes à limbe dentelé. Les fleurs solitaires blanches sont grandes et tubuleuses en forme d'entonnoir. Le fruit est une capsule ovoïde fortement épineuse

renfermant de nombreuses graines de couleur noire plates réniformes de 2 à 3 mm de long [1].

Datura stramonium L., du nom local *Chdeq ej-jmel*, est utilisé en médecine traditionnelle marocaine. Les graines sont souvent utilisées comme aphrodisiaque et sont également indiquées comme sédatif dans les maux de tête et comme narcotique dans l'insomnie, alors que les feuilles et les fleurs sont séchées et fumées ou fumigées dans le traitement de l'asthme [2]. De façon générale, toutes les parties de la plante sont consommées, afin de provoquer une sédation, faire disparaître la fatigue ou plus simplement dans un but de « défonce » ; état où prédomine un délire hallucinatoire. Les fleurs sont utilisées en décoction, elles sont aussi fumées en association avec le cannabis.

* Correspondance : Ahmed El Bazaoui, Tél. +212537642353,
Fax +212537642504, gr.elbazaoui@yahoo.fr

La toxicité du *Datura stramonium* L. est connue depuis longtemps par la population marocaine, son ingestion entraîne l'apparition d'un syndrome anticholinergique ou atropinique avec des manifestations périphériques (mydriase, sécheresse cutanée et muqueuse et tachycardie) et centrales (confusion, agitation, hallucination, convulsion, dépression respiratoire et coma) [3–5]. Ces propriétés sont attribuées à ses alcaloïdes tropaniques qui sont des antagonistes muscariniques qui bloquent les récepteurs muscariniques cholinergiques (action parasympatholytique) [3, 6].

Des études récentes menées par CPG/SM sur la détermination des alcaloïdes tropaniques rentrant dans la composition des graines du *Datura stramonium* L. de différentes régions montrent des différences qualitatives [7–9]. Ces différences sont attribuées à divers facteurs : génétiques, stades de développement et environnements [8, 9]. Très peu d'études se sont intéressées à la détermination des alcaloïdes tropaniques mineurs rentrant dans la composition des graines de cette plante. L'objectif de ce travail est de rendre compte de façon qualitative de cette composition par CPG/SM et CL/SM et de comparer les résultats obtenus par rapport à ceux disponibles dans la littérature.

2 Matériels et méthodes

2.1 Matériel végétal

Les graines du *Datura stramonium* L., ont été collectées dans la région de Kénitra au moment de l'ouverture des premières capsules (stade de maturation du fruit) et ont été ensuite séchées à l'ombre à température ambiante.

2.2 Extraction des alcaloïdes

Cinq grammes de graines du *Datura stramonium* L. en poudre sont macérés dans 25 mL d'un mélange méthanol-acétonitrile (80–20) dans un bain à ultrasons pendant 100 min à 25 °C. Après centrifugation, le surnageant est récupéré, filtré et concentré à sec sous vide à une température de 40 °C. Le résidu sec est solubilisé dans l'acide sulfurique (0,2 M) afin d'épuiser la matière végétale, et ensuite lavé au chloroforme. La phase aqueuse est alcalinisée par une solution d'hydroxyde d'ammonium 25% et doublement extraite au chloroforme. Les phases organiques obtenues sont rassemblées, séchées sur Na₂SO₄, puis concentrées à sec sous vide à 40 °C [10]. Le résidu final est récupéré par 200 µL de méthanol et analysé par CPG/SM et CL/SM.

2.3 Analyses CPG/SM

L'analyse a été conduite sur un chromatographe Varian CP-3800 couplé à un spectromètre de masse saturn 2200 MS/MS, équipé d'un échantillonneur automatique CTC Analytics Combipal. La séparation est réalisée sur une colonne capillaire de type 5% méthyl-phényl siloxane HP-5 (25 m × 0,2 mm × 0,11 µm) alimentée en hélium comme gaz vecteur.

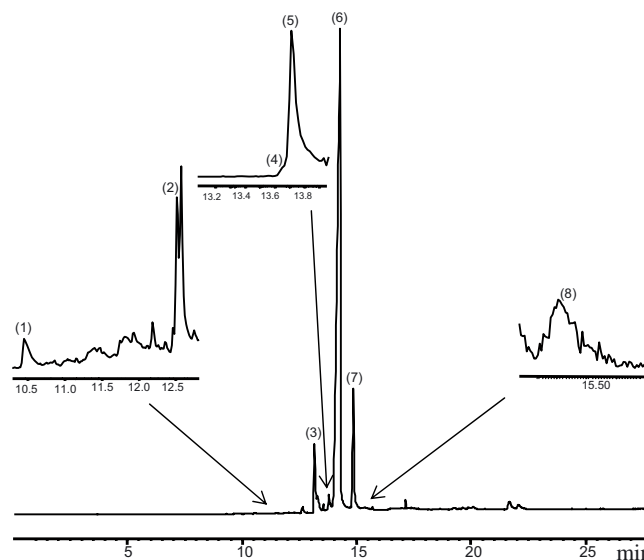


Fig. 1. Chromatogramme analytique CPG/SM de l'extrait basique des graines de *Datura stramonium* L.

L'injecteur fonctionnant en mode sans division (splitless), est fixé à une température isotherme de 270 °C. L'élution des alcaloïdes est assurée au moyen d'un programme de température de 22 minutes (T_{initiale} 60 °C (2 min), rampe de 15 °C/min, T_{finale} 280 °C (5 min)). L'acquisition en spectrométrie de masse est réalisée en mode impact électronique (–70 eV) couvrant une gamme de masse de 35–500 uma. Les températures de la trappe et de la ligne de transfert sont respectivement de 180 °C et 280 °C.

2.4 Analyse CL/SM

La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne Agilent Hypersil C18 (250 mm × 4,6 mm × 5 µm) avec élution en gradient de concentration et de débit d'acétonitrile (A) / tampon formiate d'ammonium pH = 8,2 (B) sous la programmation suivante : $t = 0$ min A/B (20/80) à 0,6 mL/min ; $t = 1$ min A/B (20/80) à 0,6 mL/min ; $t = 21$ min A/B (90/10) à 1 mL/min ; $t = 26$ min A/B (90/10) à 1 mL/min. L'analyse en CL/SM a été conduite en mode électrospray positif ESI+ avec la tension du détecteur à 650 V, la température de la probe à 350 °C, la tension du cône à 30 V, l'acquisition a été effectuée en mode scan 100–600 uma.

3 Résultats et discussions

3.1 Résultats CPG/SM et discussions

Les alcaloïdes tropaniques possèdent en commun un élément structural bicyclique azoté, l'azabicyclo[3,2,1]octane : ce sont des 8-méthyl-8-azabicyclo[3,2,1]octane [11].

L'analyse par CPG/SM a permis la détection de huit alcaloïdes tropaniques dans les graines sèches du *Datura stramonium* L. d'origine marocaine (figure 1 et tableau I), avec la

Tableau I. Alcaloïdes tropaniques identifiés dans l'extrait basique des graines de *Datura stramonium* L.

Alcaloïdes	M ⁺ /ion de base	T _R (min)	Formule brute	Références
3-tigloyloxytropane [1]	223/124	10,475	C ₁₃ H ₂₁ NO ₂	[14]
3-phénylacétoxytropane [2]	259/124	12,514	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	[9, 13]
apoatropine [3]	271/124	13,068	C ₁₇ H ₂₁ NO ₂	[14]
6-hydroxyapoatropine [4]	287/124	13,651	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	[12]
aposcopamine [5]	285/94	13,697	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	[14]
atropine [6]	289/124	13,914	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	[14, 15]
scopolamine [7]	303/138	14,852	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	[14, 15]
6-hydroxyatropine [8]	305/94	15,337	C ₁₇ H ₂₃ NO ₄	[12–14]

Tableau II. Différents alcaloïdes classés par type de substitution sur le noyau tropane.

Type de substitution	Alcaloïdes
3-monosubstitués-tropane	3-atropoyloxytropane (atropine)
	3-apatropoyloxytropane (apoatropine)
	3-phénylacétoxytropane
	3-tigloyloxytropane
3,6-bisubstitués-tropane	3-tropoyloxy-6-hydroxytropane (6-hydroxyatropine)
	3-apatropoyloxy-6-hydroxytropane (6-hydroxyapoatropine)
3-substitués-6,7-époxytropane	3-tropoyloxy-6,7-époxytropane (scopolamine)
	3-apatropoyloxy-6,7-époxytropane (aposcopamine)

prédominance de l'atropine suivie de la scopolamine. L'identification de ces alcaloïdes est effectuée en se basant sur l'interprétation des spectres de masses correspondants et en les comparant avec les données rapportées dans la littérature ainsi qu'avec les spectres de la librairie NIST.

Les alcaloïdes tropaniques détectés dans les graines du *Datura stramonium* L. d'origine marocaine peuvent être répartis selon la position de substitution sur le noyau tropane en 3 types : les 3-monosubstitués-tropanes (atropine, apoatropine, 3-phénylacétoxytropane, 3-tigloyloxytropane), les 3,6-bisubstitués-tropanes (6-hydroxyatropine, 6-hydroxyapoatropine) et les 3-substitués-6,7-époxytropanes (scopolamine et aposcopamine) (tableau II).

D'après la littérature, six de ces alcaloïdes (aposcopamine, apoatropine, atropine, scopolamine, 3-tigloyloxytropane et 3-phénylacétoxytropane) ont été décrits dans les graines du *Datura stramonium* L. d'origine bulgare [7–9]. Cependant cette composition en alcaloïdes tropaniques présente de grandes différences avec les résultats obtenus pour les graines du *Datura stramonium* L. d'origine égyptienne [9]. Le seul alcaloïde retrouvé en commun dans les graines de la plante provenant de ces trois origines est l'apoatropine. La composition des graines de la plante d'origine égyptienne est constituée principalement d'alcaloïdes tropaniques précurseurs des alcaloïdes présents dans les graines du *Datura stramonium* L. d'origine bulgare et marocaine. Ces différences sont attribuées à divers facteurs : génétiques, stades de développement et environnements [8,9]. Le tableau III récapitule les résultats obtenus pour la composition en alcaloïdes tropaniques des graines de la plante provenant des trois régions (Bulgarie, Egypte et Maroc).

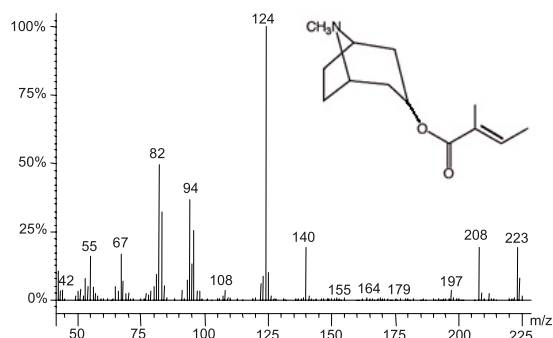
Dans ce travail, le 6-hydroxyatropine (alcaloïde 8) et son dérivé *apo* le 6-hydroxyapoatropine (alcaloïde 4) sont détectés pour la première fois dans les graines du *Datura stramonium* L. Ces deux alcaloïdes ont été rapportés dans les graines d'autres espèces de *Datura*, le *Datura ceratocaula* (alcaloïdes 4 et 8) [12] et le *Datura innoxia* (alcaloïde 8) [13].

La présence de ces deux nouveaux alcaloïdes tropaniques a été confirmée après acétylation de l'extrait organique où l'on a obtenu le 6-hydroxyapoatropine acétylé (6-acétoxyapoatropine) avec un ion parent $m/z = 329$ (figure 3) et le 6-hydroxyatropine monoacétylé (6-acétoxyatropine) avec un ion parent $m/z = 347$ (figure 4) et doublement acétylé (6-acétoxyatropineacétylé) avec un ion parent $m/z = 389$ (figure 5).

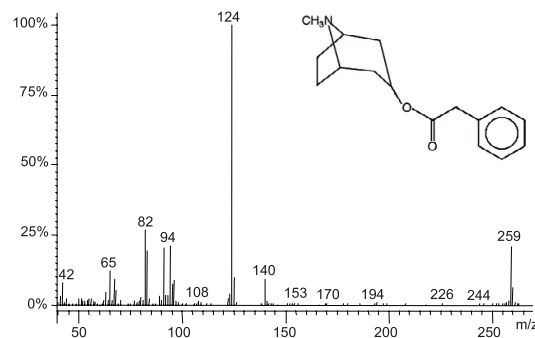
3.2 Résultats CL/SM et discussions

L'analyse CL/SM de l'extrait organique des graines du *Datura stramonium* L. a conduit à un profil chromatographique constitué principalement de 2 pics. Le premier obtenu à un temps de rétention de 12,25 min, est identifié par son spectre de masse qui présente un ion de base à 304 [M+H]⁺ correspondant à la scopolamine et un ion à 345 à son adduit avec l'acétonitrile. Le deuxième pic obtenu à un temps de rétention de 15,32 min avec un spectre de masse présentant un ion à 290 [M+H]⁺ correspond à l'atropine et un ion à 331 à son adduit avec l'acétonitrile (figure 6). Ces deux produits représentent les alcaloïdes majoritaires de la plante *Datura stramonium* L., confirmant ainsi les résultats obtenus par CPG/SM.

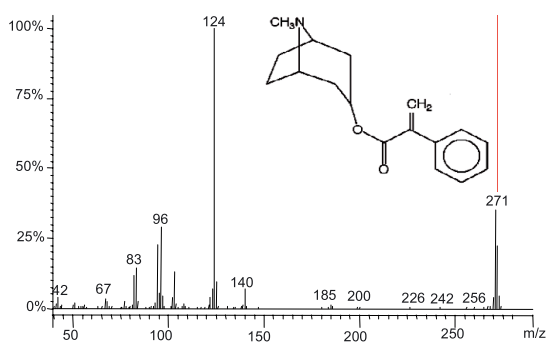
Comparativement aux données rapportées dans la littérature sur la composition en alcaloïdes tropaniques du *Datura*



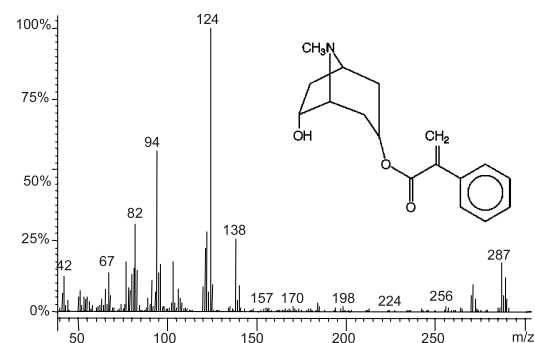
Spectre de masse du 3-Tigloyloxytropane [1]



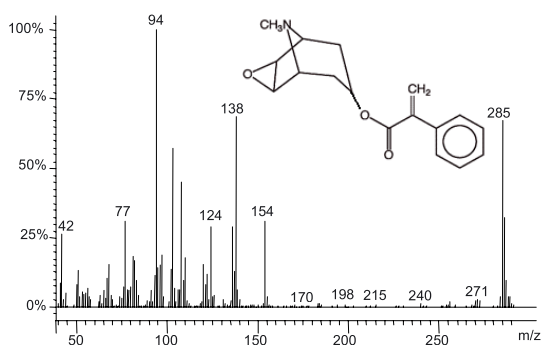
Spectre de masse du 3-Phénylacétoxytropane [2]



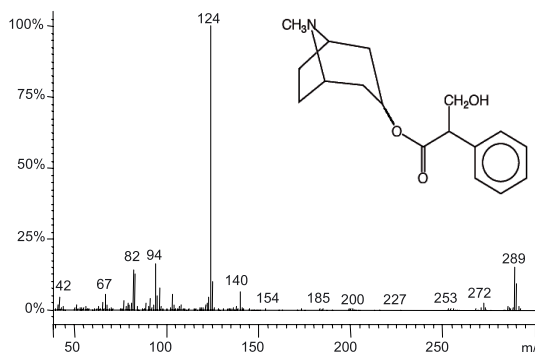
Spectre de masse d'apoatropine [3]



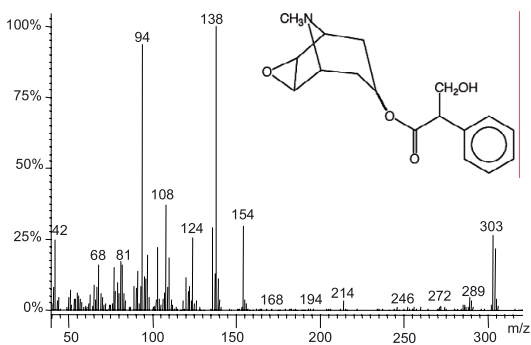
Spectre de masse d'hydroxyapoatropine [4]



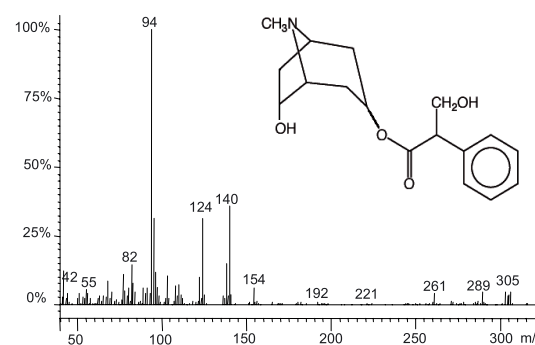
Spectre de masse d'aposcopolamine [5]



Spectre de masse d'atropine [6]



Spectre de masse de la scopolamine [7]



Spectre de masse d'hydroxyatropine [8]

Fig. 2. Spectres de masse des alcaloïdes identifiés dans les graines du *Datura Stramonium* L.

Tableau III. Comparaison entre la composition en alcaloïdes tropaniques des graines des trois origines (marocaine, égyptienne et bulgare).

Alcaloïdes	M+ / ion de base	Graines du <i>Datura stramonium</i> L.				
		OB ^(a) (7)	OB ^(a) (8)	OB ^(a) (9)	OE ^(b) (9)	OM ^(c)
tropinone	139/82	-	-	-	+	-
tropine	141/82	-	+	-	+	-
pseudotropine	141/82	-	-	-	+	-
3,6-dihydroxytropane	157/94	-	-	-	+	-
apoptropine [3]	271/124	+	+	+	+	+
3-tigloyloxytropane [1]	223/124	+	-	+	-	+
3-phénylacétoxytropane [2]	259/124	+	+	-	-	+
aposcopolamine [5]	285/94	+	+	+	-	+
6-hydroxyapoptropine [4]	287/94	-	-	-	-	+
atropine [6]	289/124	+	+	+	-	+
littorine	289/94	-	+	-	-	-
scopolamine [7]	303/94	+	+	+	-	+
6-hydroxyatropine [8]	305/94	-	-	-	-	+

(a) : origine bulgare ; (b) : origine égyptienne ; (c) : origine marocaine.

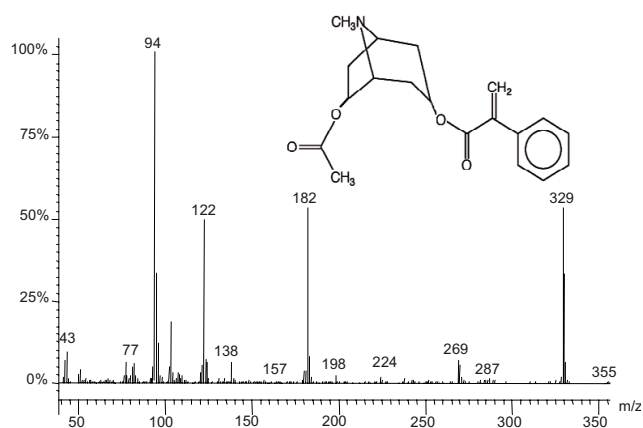


Fig. 3. Spectre de masse du 6-acétoxyapoptropine.

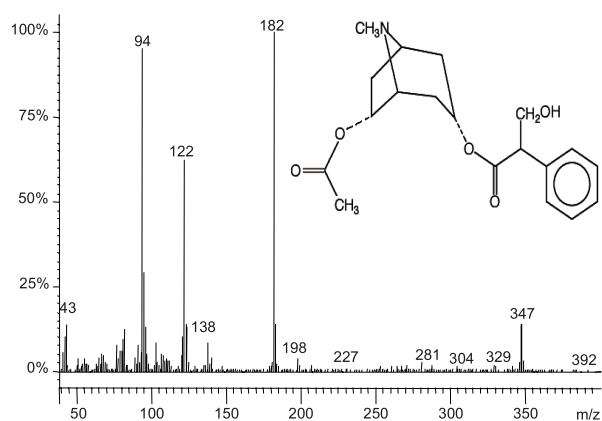


Fig. 4. Spectre de masse du 6-acétyatropine.

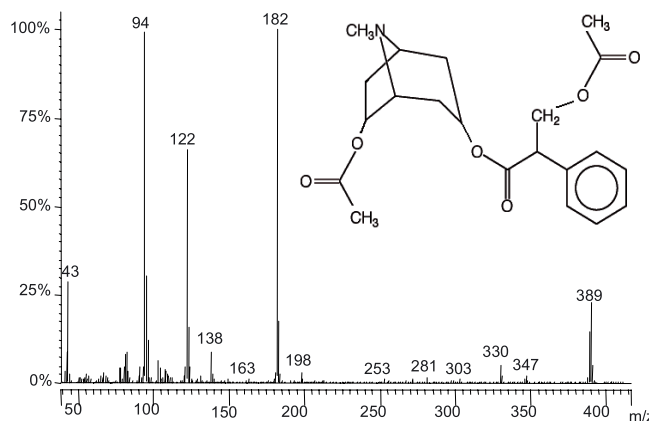


Fig. 5. Spectre de masse du 3(3'-acétoxytropoyloxy)-6-acétoxytropane.

stramonium L., les résultats obtenus dans ce travail (prédominance de l'atropine et de la scopolamine) sont en accord avec ceux obtenus en Bulgarie [8,9], en Italie [17] et en Afrique du Sud [18]. En revanche, ces résultats montrent des différences

avec ceux rapportés pour les graines de la plante d'origine irannienne qui sont dépourvues d'atropine [19], et celles d'origine égyptienne où l'on note l'absence d'atropine et de scopolamine [9].

4 Conclusion

Le présent travail conduit en CPG/SM sur l'extrait organique des graines du *Datura stramonium* L. a permis de mettre en évidence la présence de huit alcaloïdes tropaniques, dont le 6-hydroxyatropine et son dérivé *apo* le 6-hydroxyapoptropine qui sont détectés pour la première fois dans les graines de cette espèce. La présence de ces deux alcaloïdes a été rapportée dans les graines d'autres espèces de *Datura* (*Datura ceratocaula* et *Datura innoxia*). Par ailleurs, il a été confirmé par CL/SM que les alcaloïdes majeurs des graines de cette plante sont l'atropine suivie de la scopolamine.

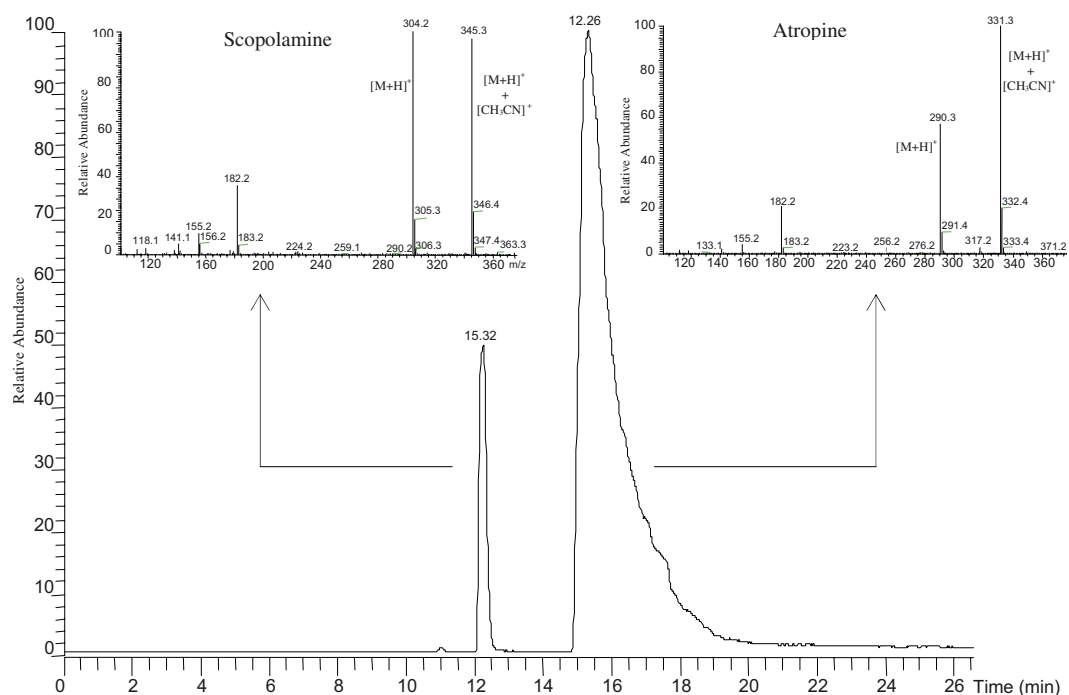


Fig. 6. Chromatogramme analytique LC/SM de l'extrait basique des graines de *Datura stramonium* L.

Références

- Taleb A. Flore illustrée des principales mauvaises herbes des cultures du Gharb. Thèse. 1995 : 294–295.
- Bellakhdar J. La pharmacopée marocaine traditionnelle (médecine arabe ancienne et savoirs populaires). Saint-Etienne : Ibis Press 1997 : 494–496.
- Kintz P, Villain M, Barguil Y, Charlot JY, Cirimele V. Testing for atropine and scopolamine in hair by LC/MS/MS after *Datura innoxia* abuse. *J Anal Toxicol.* 2006; 30: 454–457.
- 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.
- Djibou A, Brah Bouzou S. Intoxication aigüe au “sobi-lobi” (*Datura*). À propos de quatre cas au Niger. *Bull Sco Pathol Exot.* 2000; 93: 294–297.
- Gouille JP, Pépin G, Dumestre-Toulet V, Lacroix C. Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, *datura*, jusquiame et mandragore. *Ann Toxicol Anal.* 2004; 16: 22–34.
- Philipov S, Berkov S. GC-MS Investigation of tropane alkaloids in *Datura stramonium*. *Z Naturforsch.* 2002; 57: 559–561.
- Berkov S, Doncheva T, Philipov S, Alexandrov K. Ontogenetic variation of the tropane alkaloids in *Datura stramonium*. *Biochem Syst Ecol.* 2005; 33: 1017–1029.
- Berkov S, Zayed R, Doncheva T. Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*. *Fitoterapia.* 2006; 77: 179–182.
- Djilani A, Legseir B. Extraction of atropine by ultrasounds in different solvent systems. *Fitoterapia.* 2005; 76: 148–152.
- Bruneton J. Alcaloides tropaniques. In : Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Paris : Lavoisier; 1999 : 647.
- Berkov S. Alkaloids of *Datura ceratocaula*. *Z Naturforsch.* 2003; 58: 455–458.
- Berkov S, Zayed R. Comparison of tropane alkaloid spectra between *Datura innoxia* grown in Egypt and Bulgaria. *Z Naturforsch.* 2004; 59: 184–186.
- Zayed R, Wink M. Induction of tropane alkaloid formation in transformed root cultures of *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). *Z Naturforsch.* 2004; 59: 863–867.
- Munoz O, Casale JF. Tropane alkaloids from *Latua pubiflora*. *Z Naturforsch.* 2003; 58: 626–628.
- Berkov S, Pavlov A, Kovatcheva P, Stanimirova P, Philipov S. Alkaloid spectrum in diploid and tetraploid hairy root cultures of *Datura stramonium*. *Z Naturforsch.* 2003; 58: 42–46.
- Miraldi E, Mastib A, Ferria S, Barni Comparini I. Distribution of hyoscyamine and scopolamine in *Datura stramonium*. *Fitoterapia.* 2001; 72: 644–648.
- Steenkamp PA, Harding NM, Van Heerden FR, Van Wyk BE. Fatal *Datura* poisoning: identification of atropine and scopolamine by high performance liquid chromatography/photodiode array/mass spectrometry. *Forensic Sci Int.* 2004; 145: 31–39.
- Iranbakhsh A, Oshaghi MA, Majd A. Distribution of atropine and scopolamine in different organs and stages of development in *Datura stramonium* L. (Solanaceae). Structure and ultrastructure of biosynthesizing cells. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica.* 2006; 48: 13–18.