

INTERLABOR
BELP AG

ANALYTICS

N° 1
Avril 2017



Pharma 

**Analyse des alcaloïdes
pyrrolizidiniques contenus
dans différentes plantes**



Analyse par LC-MS/MS des alcaloïdes pyrrolizidiniques contenus dans différentes plantes

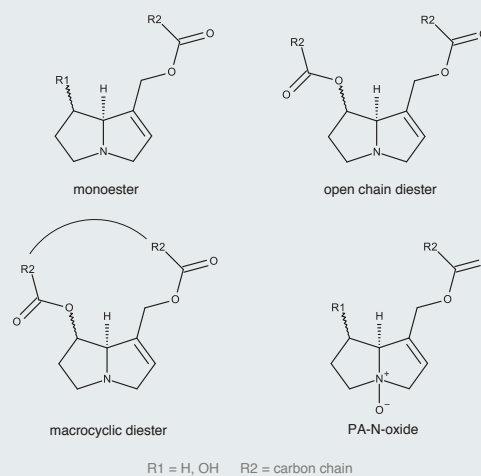
Auteure: Monika Gumpendobler

Les alcaloïdes pyrrolizidiniques sont des dérivés de la pyrrolizidine basique. Ils sont présents dans de nombreuses plantes à fleurs. A l'heure actuelle, on a identifié plus de 600 alcaloïdes pyrrolizidiniques différents dans plus de 6000 espèces de plantes; on en détecte particulièrement souvent dans les astéracées et les boraginacées.

Dans l'organisme humain et animal, les alcaloïdes pyrrolizidiniques sont décomposés par le foie en composés parfois fortement hépatotoxiques. Les diesters macrocycliques présentent la plus forte toxicité. Des lésions hépatiques fatales peuvent se manifester suite à l'ingestion de forts dosages.

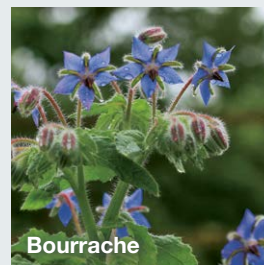
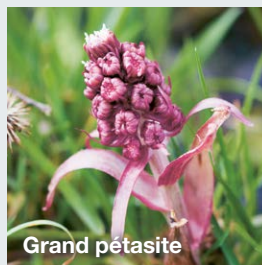
En Europe centrale, il est rare que des humains soient concernés, en revanche il arrive fréquemment que des chevaux s'intoxiquent à cause des alcaloïdes pyrrolizidiniques contenus dans le séneçon de Jacob. Il s'agit d'une plante très frugale qui peuple souvent des prairies cultivées de façon intensive. De plus, les alcaloïdes pyrrolizidiniques sont

Structure basique des alcaloïdes pyrrolizidiniques



présents dans de nombreuses plantes utilisées pour des infusions ou dans un but médicinal. Les espèces indigènes typiques en contenant sont par exemple consoude, tussilage, grand pétasite et bourrache. →

Plantes indigènes contenant de la pyrrolizidine



Plante	Indication	Alcaloïdes pyrrolizidiniques
Consoude (Symphytum officinale)	Contusions, élongations, entorses	Lycopsamine, intermédiaire et leurs acétates
Tussilage (Tussilago farfara)	Toux, action expectorante	Senkirkine, sénécionine
Grand pétasite (Petasites hybridus)	Migraines, crampes, allergies	Sénécionine, intégerrimine
Bourrache (Borago officinalis)	Fièvre, diarrhées, inflammations	Amabiline, intermédiaire, lycopsamine et supinine

Methode

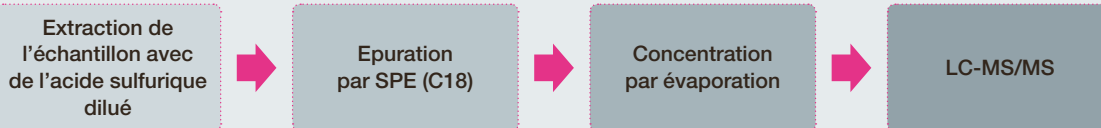
De nombreuses méthodes de GC ont été développées par le passé pour l'analyse des alcaloïdes pyrrolizidiniques. Elles reposent en grande partie sur les travaux effectués par M. Wiedenfeld dans les années quatre-vingt¹⁾. Après extraction et réduction des N-oxydes non-volatiles en amines libres ainsi qu'une ou plusieurs étapes de purification, on procède à la détermination par GC-MS ou GC-NPD.

On connaît actuellement le point commun à toutes ces méthodes, à savoir que l'étape de réduction n'est, en général, que difficilement reproductible, et que la détermination par GC de cet analyte très basique est problématique.

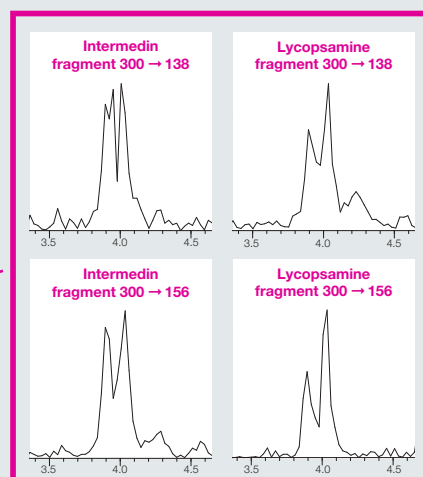
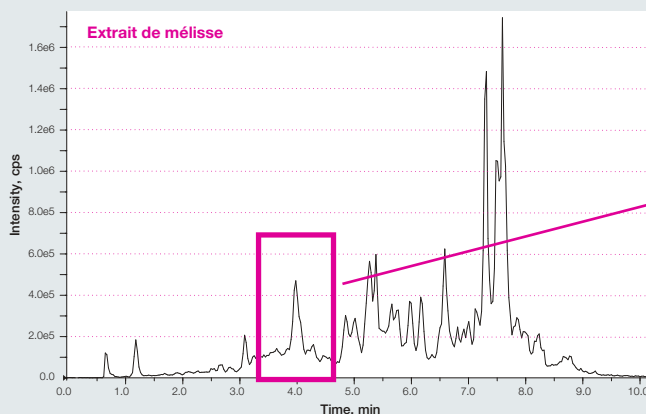
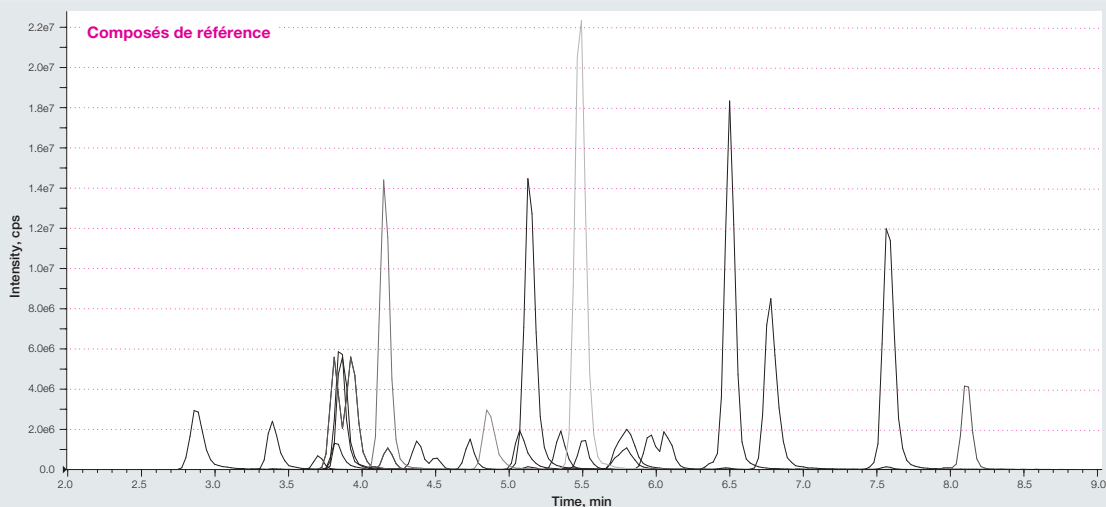
L'analyse par HPLC-MS permet de contourner la majorité de ces difficultés. Il est donc désormais possible de déterminer directement les N-oxydes, ce qui représente une simplification considérable. En 2014, l'institut fédéral allemand d'évaluation des risques (Bundesinstitut für Risikobewertung: BfR) a publié une méthode permettant la détermination fiable des alcaloïdes pyrrolizidiniques et de leurs N-oxydes dans les plantes²⁾.

Après extraction des matières végétales broyées, l'extrait est purifié par extraction en phase solide et analysé par HPLC-MS/MS après enrichissement. Cette méthode permet la détermination de bon nombre d'alcaloïdes pyrrolizidiniques. →

Schéma d'analyse selon la méthode du BFR



Chromatogramme d'une solution de référence contenant 28 alcaloïdes pyrrolizidiniques



Resultats

Les méthodes existantes permettent la détermination des alcaloïdes pyrrolizidiniques contenus dans de nombreuses préparations (infusions, médicaments, extraits CO₂ de plantes fraîches, etc). Les limites de détection sont comprises entre 1 et 20 µg/kg selon l'échantillon et le type d'alcaloïde pyrrolizidinique. Toutefois, le procédé présuppose la disponibilité des substances de référence. C'est à l'heure actuelle le facteur limitant, car seule une trentaine d'alcaloïdes pyrrolizidiniques est disponible dans le commerce sous forme de substance pure.

Un spectre HPLC de 28 composés de référence est illustré dans la partie supérieure du chromatogramme (voir page précédente), la monocrotaline étant élue la première avec un temps de rétention de 2,9 minutes et le lasiocarpine-N-Oxyde en tant que dernier composé avec un temps de rétention de 8,1 minutes²⁾. Le spectre HPLC d'un extrait de mélisse dans lequel les deux composés intermédiaires (0.004 µg/kg) ainsi que lycopsamine (0.004 µg/kg) ont pu être identifiés en tant qu'exemple actuel (partie inférieure du chromatogramme). Les composés isomères intermédiaires et lycopsamine ont été clairement identifiés via les deux fragments caractéristiques m/z = 138 et 156. Les signaux correspondants sont reproduits dans le chromatogramme. Les résultats obtenus permettent de conclure à la présence de consoude.

Perspectives et conclusions

Différents acteurs émettent depuis longtemps des recommandations d'ordre général en ce qui concerne l'exposition maximale aux alcaloïdes pyrrolizidiniques. D'innombrables études ont été effectuées dans ce cadre au cours des dernières années. Elles ont entre autres permis de constater la présence d'alcaloïdes pyrrolizidiniques dans de nombreuses

préparations à base de plantes qui n'en biosynthétisent pas. On part du principe que cela est dû à des contaminations par des mauvaises herbes du genre Senecio (sénéçon). Etant donné qu'une très petite quantité de mauvaises herbes peut provoquer une concentration significative d'un point de vue toxicologique, l'institut fédéral allemand a fixé la limite de 1 µg d'alcaloïdes pyrrolizidiniques, rapporté à la dose journalière maximale, pour les herbes médicinales³⁾.

Partant du principe qu'une dose journalière maximale de 10 g de médicaments est consommée, le seuil de détermination requis pour la somme d'alcaloïdes pyrrolizidiniques est de 100 µg/kg. Selon la quantité d'alcaloïdes pyrrolizidiniques contenue dans un échantillon, la limite de détermination doit être abaissée en conséquence. Dans la plupart des cas, une plante ne contient pas plus de cinq alcaloïdes pyrrolizidiniques en quantités significatives. C'est pourquoi la méthode existante est suffisamment sensible, même dans des cas de figure défavorables, pour rechercher des alcaloïdes pyrrolizidiniques dans un médicament à base de plantes. □

Auteure



Monika Gumpendobler
Responsable de
l'analyse traces

Scientifique
expérimentée dans
l'analyse de traces

- 1) Wiedenfeld et al., *Planta Medica*, 1981, Vol. 41
- 2) Protocole AP-infusions-2.0/2014 de l'institut fédéral allemand d'évaluation des risques
- 3) Communication du 1^{er} mars 2016 par l'institut fédéral allemand des médicaments et des dispositifs médicaux

INTERLABOR BELP AG



Interlabor Belp AG

Aemmenmattstrasse 16
3123 Belp, Suisse
Tél. +41 (0)31 818 77 77
Fax +41 (0)31 818 77 78
www.interlabor.ch
info@interlabor.ch

Heures d'ouverture

Du lundi au vendredi
07.30 – 12.00 heures
13.30 – 17.00 heures