

# Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques (AP).

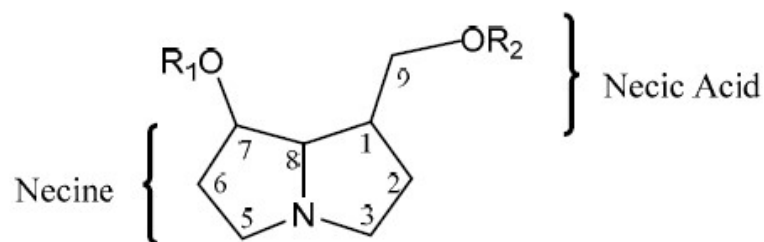
## Table des matières

Présentation des AP .....	3
Les nécines .....	3
L'esterification des nécines .....	4
Biosynthèse des AP .....	5
Stabilité des AP : .....	7
Présence dans les huiles essentielles .....	8
Les plantes productrices d'AP .....	8
Répartition botanique : .....	8
Localisation dans les tissus végétaux : .....	8
Répartition selon les organes : .....	8
Teneur en AP dans différents pollens : .....	10
Tableau des espèces productrices d'AP. ....	10
Les plantes cultivées qui produisent des AP : .....	10
Les adventices productrices d'AP .....	13
Les plantes de proximité productrices d'AP.....	13
Tableau des adventices productrices d'AP.....	13
liste des cultures potentiellement à risque.....	17
Méthodes d'analyses.....	18
Voies de contamination .....	19
Bonnes pratiques et recommandations .....	21
Fiches d'identification .....	23
Intoxications aigües : .....	25

Une toxicité variable :.....	25
Variable selon les alcaloïdes :.....	26
Cytotoxicité comparée .....	27
Genotoxicité : .....	27
Effets carcinogènes (chez l'animal) .....	27
Variable selon les espèces :.....	28
Variables au sein d'une même espèce animale : .....	29
Pharmacocinétique .....	30
Structure et toxicité.....	30
Exposition aux AP .....	31
Epidémiologie.....	32
Détoxification : .....	33
Articles critiquant la toxicité des AP.....	34
Impacts économiques .....	36
Pour la partie production agricole.....	36
Les acheteurs.....	36
Pour la partie transformation.....	36
Pour la partie commercialisation .....	36
Les compléments alimentaires.....	36
La filière des thé et infusions.....	36
Avis d'experts toxicologues :.....	38
Professeur P. Calès .....	38
Professeur F. Nessler.....	40

## Présentation des AP

Entre 600 et 700 alcaloïdes pyrrolizidiniques ont été décrits à ce jour. Ils sont tous constitués de 2 parties, une base nécique ou nécine et un ou deux acide(s) nécique(s).

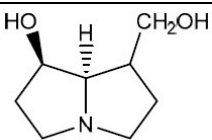
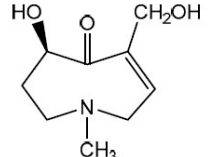


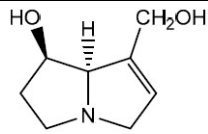
### Les nécines

Selon les différents auteurs, on peut regrouper les PA en plusieurs catégories selon la présence d'une liaison entre l'azote et le carbone 8 et selon la saturation de la liaison entre les carbones 1 & 2.

En raison de la présence de plusieurs carbones asymétriques, il y a de nombreux stéréo-isomères.

La saturation de la liaison 1,2 est indispensable à la toxicité de la molécule (cf plus loin).

 <p>Platynecine</p>	Liaison 1,2 saturée (ou 1,2 dihydro AP)
 <p>Otonecine</p>	Pas de liaison entre l'azote et le carbone 8



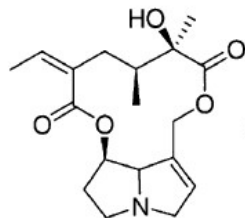
Retronecine

AP type

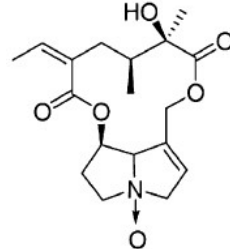
Les AP peuvent exister sous deux formes :

La forme où l'azote est saturé : on parle d'azote tertiaire (= AP III<sup>aire</sup>)

La forme où l'azote est oxydé : de forme Noxyde = AP N<sup>ox</sup>.



Senecionine



Senecionine N-oxide

Dans les plantes, les AP sont majoritairement sous forme N<sup>ox</sup> à quelques exceptions près.

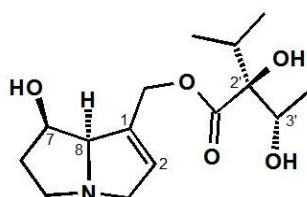
Parmi les exceptions, les graines de plusieurs espèces de *Crotalaria* [49] et les feuilles de *Crassocephalum crepidioides* chez qui les Ap sont majoritairement sous forme tertiaire ([50]). Dans les pousses de seneçon jacobée de chimiotype jacobine, les Ap sont présents à 50% sous forme Nox.

Les AP III<sup>aire</sup> sont chargés positivement dans les conditions physiologiques alors que les Nox sont neutres et se comportent comme des sels, très polaires, très hydrosolubles. Il a été montré que les transporteurs dans les membranes des cellules des plantes ont une plus forte affinité pour les Nox que pour les PA III.

### L'esterification des nécines

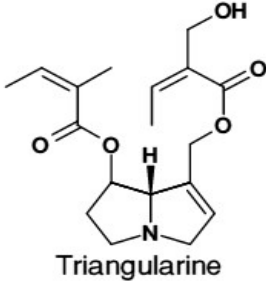

Les nécines peuvent être estérifiées sur l'alcool en C9, sur l'alcool en C7 ou sur les deux.

Les acides mis en jeu sont soit des mono acides, soit des diacides.



Lycopsamine

Mono ester en C9 : un seul acide

 <p>Triangularine</p>	di ester en C1 et C9 : deux acides
 <p>Senecionine</p>	di ester cyclique en C1 et C9 : un diacide

### Biosynthèse des AP<sup>1</sup>

Les AP sont des alcaloïdes dérivés d'un acide diaminé, l'ornithine. A partir de l'ornithine, les plantes peuvent synthétiser différentes PolyAmines dont la putrescine et la spermidine.

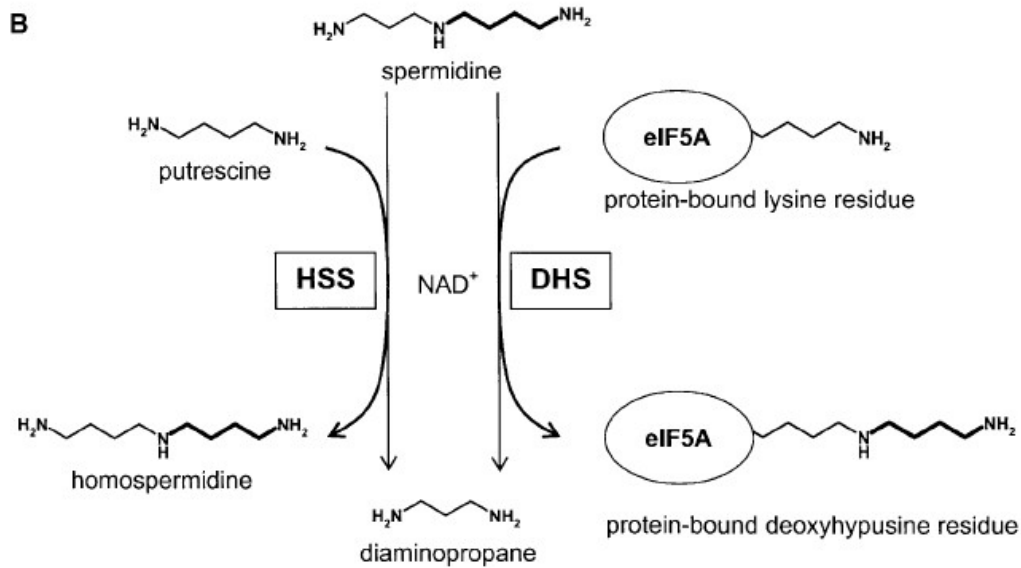
Grâce à une enzyme (la DHS = deoxyhypusine synthase), la spermidine va apporter un reste amino butyl à une protéine, la eIF5A (eukaryotic translation initiation factor 5A) qui joue un rôle essentiel dans la multiplication cellulaire des végétaux supérieurs.

Chez les plantes productrices d'AP, l'enzyme DHS serait devenue incapable de faire ce transfert vers la eIF5A mais le ferait vers une molécule de putrescine pour donner une molécule d'homospéridine. Cette forme modifiée de DHS est appelée HSS (HomoSpermidineSynthetase).

<sup>1</sup> Anke et al. ;2004 ; Polyphyletic Origin of Pyrrolizidine Alkaloids within the Asteraceae. Evidence from Differential Tissue Expression of Homospéridine Synthase ; Plant Physiology, December 2004, Vol. 136, pp. 4037–4047

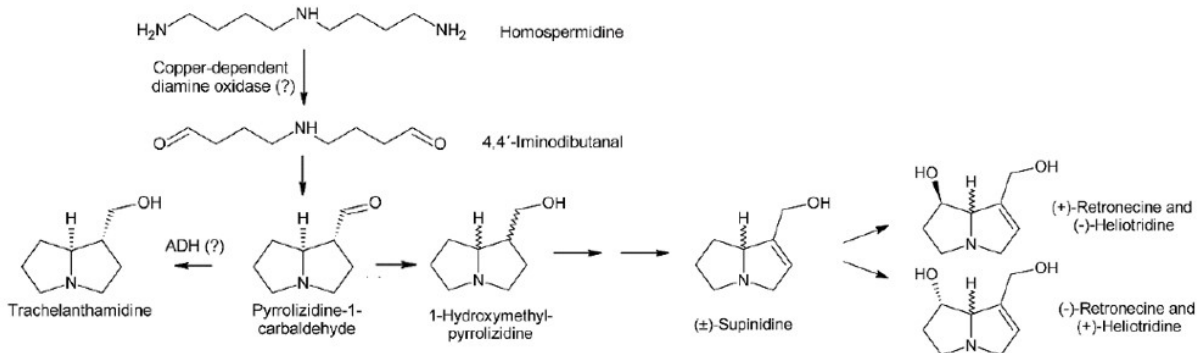
Schramm et al. ; 2019 ; Pyrrolizidine Alkaloids: Biosynthesis, Biological Activities and Occurrence in Crop Plants ; Molecules 2019, 24, 498; doi:10.3390/molecules24030498

Frölich et al. ; 2007 ; Tissue distribution, core biosynthesis and diversification of pyrrolizidine alkaloids of the lycopsamine type un three Boraginaceae species.; Phytochemistry 68 (2007) 1026-1037.



Cette enzyme HSS est apparue sous différentes formes dans différents groupes de végétaux supérieurs mais pas dans tous, ce qui explique que seulement certaines plantes sont productrices d'AP.

A partir de l'homospermidine, les plantes synthétisent le pyrrolizidine-1-carbaldehyde à partir duquel vont se former les différentes bases néciques.



La biosynthèse n'a pas lieu dans les mêmes organes ni les mêmes tissus selon les familles voire les espèces :

Chez les Astéracées :

- Chez les senecioneae (*S. jacobée* et *S. vernalis*), la HSS est localisée dans la racine dans 2 types de cellules : des cellules spécialisées de l'endoderme et du parenchyme adjacent au phloème. Les AP diffusent alors par le phloème vers reste de la plante, en particulier vers les organes reproducteurs.
- Chez *Eupatorium cannabinum* [tribue des Eupatorieae], la HSS est exclusivement localisée dans le parenchyme cortical de la racine, au niveau du cytosol des cellules. Elle est exprimée pendant la

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

phase de croissance de la plante mais disparaît lors de la formation des boutons floraux et des fruits (pendant la phase de croissance mais arrête lors de la formation des boutons puis des fruits [Plant Physiology, December 2004, Vol. 136, pp. 4037–4047]

Chez les boraginacées, Frölich (2007)<sup>2</sup> donne les localisations suivantes pour les organes producteurs des AP de 3 espèces :

- *Heliotropium indicum* : dans les bourgeons et rien dans racines
- *Cynoglossum officinale* : dans les bourgeons
- *Symphytum officinale* : que par les racines

### Stabilité des AP :

Selon différentes études, les AP sont thermostables : ils résistent à la cuisson (pain, gâteaux), à la stérilisation UHT (lait) et peuvent être chauffés à plus de 250°C sans altération (conditions de leur analyse par chromatographie en phase gazeuse).

Ils résistent<sup>3</sup> aussi au moins 6 mois lors du stockage (menthe poivrée, foin contenant du séneçon jacobée). Les AP et les APNox se comportent différemment dans les différentes matrices lors du stockage à 20°C pendant 182 jours. Alors que les analytes restent stables en solution méthanolique et qu'il n'y a pas de changements dans les tisanes de menthe poivrée et le fourrage lyophilisés, les APNox diminuent rapidement dans le miel lors du stockage. Comme les quantités de PA n'augmentent pas, on en conclut qu'il n s'agit pas d'une réduction des APNox en PA .

Les différences observées dans les vitesses de dégradation suggèrent une dégradation dépendant de la structure.

La conclusion est qu'une fois les AP présents dans un produit, il est difficile de les faire disparaître et donc qu'il faut agir avant.

<sup>2</sup> Frölich C., Obr D., Hartmann T. ; Tissue distribution, core biosynthesis and diversification of pyrrolizidine alkaloids of the lycopsamine type in three Boraginaceae species.; *Phytochemistry* 68 (2007) 1026-1037.

<sup>3</sup> Candrian, U et al., Stability of pyrrolizidine alkaloids in hay and silage. *J Agric Food Chem* 1984, 32 (4), 935-7.  
 Ronczka, S.; et al., Investigation on the degradation of pyrrolizidine alkaloids in Eastern Groundsel (*Senecio vernalis*) during ensilage. *Proc Soc Nutr Physiol* 2012, 21, 68.  
 Becerra-Jimenez, J.; et al, Toxic pyrrolizidinalkaloids as undesired contaminants in food and feed: Degradation of the PAs from *Senecio jacobaea* in silage. *Pharmazie* 2013, 68 (7), 636-639.  
 Crews, C.; et al. Loss of Pyrrolizidine Alkaloids on Decomposition of Ragwort (*Senecio jacobaea*) as Measured by LC-TOF-MS. *J Agric Food Chem* 2009, 57 (9), 3669-3673.  
 Hough, R. L. et al.C., Degradation of yew, ragwort and rhododendron toxins during composting. *Sci Total Environ* 2010, 408 (19), 4128-4137.  
 Gottschalk, C. et al., Pyrrolizidine alkaloids in natural and experimental grass silages and implications for feed safety. *Anim Feed Sci Technol* 2015, 207, 253-261.

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

## Présence dans les huiles essentielles

Lors d'un essai réalisé en 2017 en analysant par GCMS de l'huile essentielle obtenue au laboratoire par distillation d'un échantillon de séneçon commun, nous n'avons pas trouvé de présence d'AP.

Donc, si à partir d'une plante riche en AP, on retrouve pas d'AP dans son HE, il paraît logique d'affirmer qu'on ne va pas en retrouver dans une HE obtenue à partir d'une plante qui n'en produit pas, même si la parcelle d'origine est contaminée par des adventices à AP.

## Les plantes productrices d'AP

### Répartition botanique :

Les AP se retrouvent seulement dans quelques familles de végétaux supérieurs :

- Les Boraginacées (toutes les espèces)
- Les Astéracées : seulement les tribus des Sénécionées et des Eupatoriées
- Les Orchidées : plusieurs dizaines d'espèces
- Les Fabacées : uniquement le genre *Crotalaria*.

Selon les plantes et les parties de plantes productrices d'AP, la teneur en AP peut beaucoup varier.

### Localisation dans les tissus végétaux :

Chez *Heliotropium indicum* on retrouve des AP dans tous les tissus mais avec une distribution très hétérogènes : 70% dans les inflorescences et seulement 3% dans les tiges, 7% dans les feuilles et 19% dans les racines. Dans une autre espèce d'Héliotrope, les jeunes feuilles, les jeunes inflorescences et les plantules la teneur en AP peut atteindre 5 à 6% de la matière sèche.

Chez *Cynoglossum officinale*, il y a 190 fois plus d'AP dans les plus jeunes feuilles de la rosette que dans les feuilles âgées.

Selon Haberer et al. (2002)<sup>4</sup>, chez *Pulmonaria obscura*, il n'y a que des traces (< 0,4 ppb MS) d'AP dans les feuilles et les inflorescences alors que les parties souterraines en contiennent entre 26 et 158 ppm, soit plus de 1000 fois plus.

### Répartition selon les organes :

Cheng et al (2017)<sup>5</sup> décrivent la composition en AP dans les racines et dans les parties aériennes d'une douzaine de populations de séneçon commun

<sup>4</sup> Haberer, W.; Witte, L.; Hartmann, T.; Dobler, S. Pyrrolizidine alkaloids in *Pulmonaria obscura*. *Planta Med.* **2002**, *68*, 480–482

<sup>5</sup> (Cheng et al. (2017), Pyrrolizidine alkaloid variation in *Senecio vulgaris* populations from native and invasive ranges. *PeerJ* 5:e3686; DOI 10.7717)



en µg/g MS (ppm)	racines		Parties aériennes	
	min	max	min	max
Senecionine	2,8	397,6	1,2	84,7
Senecionine Nox	1049	<b>2675,2</b>	2,9	<b>1231,7</b>
integerrimine	0,7	65,9	0,1	16,6
integerrimine Nox	1,7	998,6	< LOD	242,2
sencivernine	< LOD	18	< LOD	3
sencivernine Nox	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
retrorsine	< LOD	35,9	< LOD	63,2
retrorsine Nox	< LOD	208,8	< LOD	582,4
usuramine	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
usuramine Nox	< LOD	3,4	< LOD	12,6
seneciphylline	0,4	63,6	0,3	83,5
seneciphylline Nox	0,9	376,1	0,1	<b>1020,1</b>
spartioïdine	< LOD	6,3	< LOD	17,5
spartioïdine Nox	< LOD	57	0,4	212
Riddelliine	< LOD	3,4	< LOD	5,1
Riddelliine Nox	< LOD	14,4	< LOD	46,1
total	18,4	4180,6	16,3	2781,3

Colegate et al (2012)<sup>6</sup> indiquent que dans le cultivar Tropic Sun de *Crotalaria juncea* les AP sont très majoritairement sous forme Nox dans les racines, les tiges et les feuilles avec une teneur de 0.05, 0.12, and 0.01% respectivement, alors que les graines renferment majoritairement des AP sous forme NIIIaire dans les graines et à hauteur de 0,15%.

### Teneur en AP dans différents pollens :

Boppré et al. (2005)<sup>7</sup> ont trouvé de 8 000 à 14 000 ppm d'AP dans le pollen d'*Echium vulgare*. Ils sont principalement sous forme de AP N<sup>ox</sup>. Le principal est l'échimidine. Luchetti (2017)<sup>8</sup> en trouve seulement 7 400 ppm.

Selon Declève (2014),<sup>9</sup> le pollen du séneçon du Cap (*Senecio inaequidens*) renferme jusqu'à 1 300 ppm d'AT totaux.

### Tableau des espèces productrices d'AP.

Avec l'aide de notre service documentaire, nous avons fait un tableau regroupant les espèces productrices d'AP publiées dans la littérature, les AP produits et la référence bibliographique. Ce tableau comportait à fin 2018 plus de 650 espèces.

Concernant les plantes productrices d'AP et leur incidence sur les cultures, Il faut distinguer 3 situations différentes :

#### Les plantes cultivées qui produisent des AP :

Ce sont soit des plantes qui ont été utilisées comme plantes médicinales, soit des plantes dont une partie présente un intérêt économique. Ce sont des plantes médicinales (listes A&B de la Pharmacopée Française), des boraginacées à huile riche en oméga-3, des plantes mellifères ou des plantes utilisées pour enrichir le sol.

Plantes médicinales : On trouve encore actuellement à la Pharmacopée française les boraginacées suivantes :

- Liste A

---

<sup>6</sup> Colegate et al (2012) Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn Hemp cv. 'Tropic Sun'). ; J Agric Food Chem. 2012 Apr 11;60(14):3541-50. doi: 10.1021/jf205296s. Epub 2012 Apr 2.

<sup>7</sup> Boppré et al.; 2005 ; PA of *Echium vulgare* Honey Found in Pure Pollen; J. Agric. Food Chem. 53 (3) 594-600

<sup>8</sup> Lucchetti M. 2017 ; Pyrrolizidine Alkaloids: occurrence in bee products and impact on honeybees (*Apis mellifera* L.) ; these université de Neuchatel

<sup>9</sup> Declève 2014, Qualité diététique du pollen : le paradoxe des Asteraceae ; mémoire de fin d'étude Master2 en science biologique – Université de Mons

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

- *Arnebia euchroma* (racine)
  - *Arnebia guttata* (racine)
  - Bourrache (Parties Aériennes et Fleur)
  - Consoude (racine)
  - *Cordia martinisensis* (feuille)
  - *Varronia curassavica* (feuille, Parties Aériennes)
- Liste B
    - *Anchusa officinalis* (feuille, fleur)
    - *Cynoglossum officinalis* (Parties Aériennes)
    - *Lithospermum officinalis* (graine)
    - *Heliotropium europaeum* (Parties Aériennes)
    - *Alkanna tinctoria* (racine)
    - *Pulmonaria officinalis* (feuille)
    - *Echium vulgare* (Parties Aériennes)

Parmi les Astéracées médicinales à AP figurant sur les listes A & B de la Pharmacopée Française, on peut citer :

	Nom commun	Nom scientifique	Partie médicinale	tribu
liste A	Ageratum conyzoides Herbe à femme	<i>Ageratum conyzoides</i> (L.) L.	feuille *, a	Eupatoriées
	Arnica <sup>10</sup>	<i>Arnica montana</i> L., <i>Arnica chamissonis</i> Less.	capitule*, a	Senécionées
	Ayapana triplinervis Ayapana	<i>Ayapana triplinervis</i> (Vahl) R.M. King et H. Rob. (= <i>Eupatorium triplinerve</i> Vahl) (= <i>Eupatorium ayapana</i> Vent.)	feuille a	Eupatoriées

<sup>10</sup> Les alcaloïdes décrits sont de type 1,2 saturés donc sans possibilité d'oxydation dans le foie donc a priori non toxiques = Passreiter CM, et al. ; 1992 ;Tussilagine and isotussilagine: two pyrrolizidine alkaloids in the genus arnica1. Planta Med. 1992 Dec;58(6):556-7.

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

	Chromolaena odorata Fleurit-Noël	<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R.M. King & H. Rob (= <i>Eupatorium clematidis</i> ), (= <i>Eupatorium conyzoides</i> )		Eupatoriées
	Hubertia ambavilla Ambaville	<i>Hubertia ambavilla</i> var. <i>ambavilla</i> Bory (= <i>Senecio ambavilla</i> (Bory) Pers.)	feuille a	Senécionées
	Tussilage Pas d'âne	<i>Tussilago farfara</i> L.	capitule*, a	Senécionées

liste B	Eupatorium fortunei	<i>Eupatorium fortunei</i> Turcz (= <i>Eupatorium caespitosum</i> Migo), (= <i>Eupatorium stoechadosmum</i> Hance)	partie aérienne b	Eupatoriées
	Pétasite	<i>Petasites hybridus</i> (L.) Gaertn., Meyer et Scherb. (= <i>P. officinalis</i> Moench)	feuille a	Senécionées
	Séneçons, notamment Séneçon de Jacob Séneçon de Saint-Jacques Herbe de Saint-Jacques Jacobée Séneçon maritime Séneçon commun	<i>Senecio</i> sp., notamment <i>Senecio</i> <i>jacobaea</i> L <i>Cineraria maritima</i> L. (= <i>Senecio bicolor</i> (Willd.) Tod.) <i>Senecio vulgaris</i> L.	partie aérienne	Senécionées

Boraginacées à huile riche en méga 3 :

Plusieurs huiles de boraginacées ont été autorisées en alimentation :

Huile raffinée de grémil des champs *Buglossoides arvensis*<sup>11</sup> = *Lithospermum arvense*

Huile raffinée de *Echium plantagineum*<sup>12</sup>

<sup>11</sup> EFSA ; Scientific Opinion on the safety of refined Buglossoides oil as a novel food ingredient EFSA Journal 2015;13(2):4029.

<sup>12</sup> EC (European Commission), 2008. Commission decision of 27 June 2008 authorising the placing on the market of refined echium oil as novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	--	--

Plantes mellifères :

Présence de bourrache dans beaucoup de mélanges de graines mellifères. La vipérine est parfois présente et reste sur beaucoup de site d'apiculture.

Auxiliaires de culture :

La consoude<sup>13</sup> fait partie des plantes les plus souvent recommandées pour la préparation de purin stimulateur de croissance et fertilisant ; l'ITAB a instruit un dossier pour son inscription comme substance de base.

Certaines espèces et variétés de crotalaria (*Crotalaria juncea* = chanvre du Bengal, *Crotalaria retusa*, et *Crotalaria spectabilis*) sont recommandées en cultures tropicales<sup>14</sup> comme amendement source d'azote, comme couvert végétal ou comme moyen de lutte contre les nématodes.

## Les adventices productrices d'AP

Voir plus bas :

### Les plantes de proximité productrices d'AP : c

Ce ne sont pas des adventices à proprement parler, mais elles poussent à proximité des parcelles. On trouve la vipérine commune, l'eupatoire chanvrine, le tussilage, le séneçon jacobée.

### Tableau des adventices productrices d'AP.

En consultant différentes flores et sites internet spécialisés<sup>15</sup> dans les adventices, nous avons isolé de ce tableau les espèces décrites comme adventices, dans les cultures de PPAM et dans les autres cultures.

European Parliament and of the Council. OJ L 180, 9.7.2008, pp. 17-19.

<sup>13</sup> Voir par exemple : [https://www.gerbeaud.com/jardin/jardinage\\_naturel/purins-de-plantes-et-decoctions.php](https://www.gerbeaud.com/jardin/jardinage_naturel/purins-de-plantes-et-decoctions.php)

<sup>14</sup> Dupuis J. ; 2013 ; Quels sont les impacts et les performances agronomiques, technico-économiques et environnementales que peut apporter l'introduction d'une plante de lutte contre les bio-agresseurs telluriques de l'ananas dans les systèmes de culture en Martinique? ; MEMOIRE DE FIN D'ETUDES ; ISTOM CIRAD

Fiche techniques CIRAD : [https://cosaq.cirad.fr/content/download/4228/31689/version/1/file/Guide+tropical\\_fiches-techniques.pdf](https://cosaq.cirad.fr/content/download/4228/31689/version/1/file/Guide+tropical_fiches-techniques.pdf)

Chauvin C. ; 2015 ; Influence de l'utilisation de plantes de services sur les communautés de nématodes et les fonctions du sol dans un agroécosystème bananier en phase d'interculture ; thèse de l'université de Montpellier

<sup>15</sup> Jauzein, Flore des champs cultivés, 2011 ; éditions QUAE ; Versailles ; ISBN-978-2-7592-0908-8

Mamarot j. ; Mauvaises [herbes](#) des cultures - Acta, 4ème édition. Isbn : 978-2-85794-284-9

Denis BELLENOT 	<p style="text-align: center;"><b>Les Alcaloïdes</b>  <b>Pyrrrolizidiniques</b>          CR rendu final</p>	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

Pour plusieurs espèces, on a montré l'existence de races chimiques, c'est-à-dire de variétés qui diffèrent entre elles par les proportions des différents AP présents. Voir par exemple Macel et al (2001)<sup>16</sup> pour le séneçon jacobée.

En 2005, Mosjidis et al.<sup>17</sup>, ont montré les importantes variations de teneur en AP de 2 espèces de *Crotalaria* et de plusieurs variétés de chaque espèce.

Le tableau ci-après, extrait du tableau excel<sup>tm</sup> général, donne pour les adventices répertoriées en France, la teneur en AP totaux ainsi que les principaux AP présents.

Il permet, dans une certaine mesure, de savoir quelles sont les adventices responsables de la contamination en regardant les bulletins d'analyse. La lycopsamine est présente dans presque toutes les boraginacées mais aussi dans la tribu des eupatoriées (Eupatoire chanvrine), ce n'est donc pas à elle seule un indicateur très fiable.

Par exemple, la présence de senecionine et de seneciphylline signe la présence de séneçon commun ou de séneçon du Cap (*Senecio inaequidens*) alors que la présence d'europeine ou d'héliotrine nous oriente vers la présence d'héliotrope.

---

HYPPA, INRA données 2017 : [https://www2.dijon.inra.fr/hyppa/hyppa-f/hyppa\\_f.htm](https://www2.dijon.inra.fr/hyppa/hyppa-f/hyppa_f.htm)

<sup>16</sup> Macel et al 2001; Diversity of pyrrolizidine alkaloids in senecio species does not affect the specialist herbivore *Tyria jacobaeae*; *oecologia* 133:541-550.

<sup>17</sup> Mosjidis e al. ; 2005 ; Variability for the presence of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria juncea* L ; *Pharmazie* 60 (2005) 8

Tableau des adventices principales – résultats de la biblio ou d'analyses réalisées					
Adventice	methode	total %	total ppm		AP (N oxydes à 90%)
<i>Heliotropium europeum</i>	?	<b>2,280</b>	22800	biblio 2015	heliotrine, europine, lycopsamine
<i>Adenostyles alliariae</i>	?	<b>2,110</b>	21 100	biblio 2015	seneciphylline >>
<i>Adenostyles alpina</i>	?	<b>1,340</b>	13 400	biblio 2015	
<i>Senecio vernalis</i>	?	<b>0,600</b>	6 000	biblio	senecionine, seneciphylline
<i>Senecio vulgaris</i>	?	<b>0,600</b>	6 000	biblio	senecionine, seneciphylline
<i>Senecio inaequidens</i>	?	<b>0,200</b>	2 000	biblio	senecionine, seneciphylline
<i>Senecio vulgaris</i>	?	<b>0,131</b>	1 310	biblio	senecionine, seneciphylline, intergerrimine
<i>Adenostyles alliariae</i>	?	0,020	200	Bruneton	senecionine, seneciphylline, spatioïdine
<i>Lycopsis arvensis</i>	Bfarm	0,012	119	BA	intermedine, lycopsamine
<i>consoude</i>	Bfarm	0,011	112	BA	intermedine, lycopsamine
<i>Myosotis arvensis</i>	?	0,002	18	biblio	
<i>MYOSOTIS ech 1</i>	Bfarm	0,002	17	BA	intermedine, lycopsamine
<i>myosotis arvensis ech 2</i>	Bfarm	0,002	15	BA	lycopsamine
<i>Lithospermum arvense</i>	Bfarm	0,000	0,1	BA	intermedine, lycopsamine

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	--	--

Dans une étude réalisée en Allemagne entre 2015 et 2017, il apparaît que la principale adventice est le séneçon commun. Voir détails ci-dessous :

*Sur les campagnes de production de 2015 à 2017, identification des adventices dans 119 fermes conventionnelles et 98 BIO, cultivant de la matricaire, de la mélisse, du persil, de la menthe poivrée, du thym et de la sauge officinale.*

*En moyenne 70 000 adventice / ha. 197 espèces de dicot et toutes les mono regroupées. Les adventices à PA ne représentent que 1,7% des adventices listés. 10 espèces d'adventices à PA. :*

*4 espèces de séneçon.*

*Le séneçon commun (Senecio vulgaris) a été retrouvé dans 44% des parcelles*

*Senecio inaequidens*

*Senecio vernalis*

*2 espèces de myosotis*

*Le myosotis des champs (Myosotis arvensis) a été retrouvé dans 19% des parcelles*

*La buglosse des champs (Anchusa arvensis),*

*Le grémil des champs (Buglossoides arvensis (L.) I. M. Johnst. (=) Lithospermum arvense L. )*

*Le tussilage (Tussilago farfara)*

*La consoude officinale (Symphytum officinale)*

En France, les producteurs indiquent que les adventices à AP les plus fréquentes sont le séneçon commun, le séneçon du Cap (surtout dans le Sud) et l'héliotrope d'Europe, qui n'apparaît pas dans l'étude allemande. Bien que fréquents et localement abondants, les myosotis ne semblent pas présenter de problème particulier en raison de leur très faible teneur en AP.

Cependant, bon nombre d'espèces ne semblent pas très bien connues des producteurs et pourraient donc être présentes mais non traitées en tant que telles.

Il est donc nécessaire de réaliser des fiches d'identification de ces espèces.

Lors du « PA day » organisé en janvier 2018 par l'iteipmai, nos collègues italiens de la FIPPO ont présenté une classification des plantes productrices d'AP en 3 catégories selon leur situation par rapport à la culture





Il faut distinguer 3 situations différentes :

Les plantes cultivées qui produisent des AP

Les adventices productrices d'AP

Les plantes produisant des AP, qui ne sont pas des adventices mais qui poussent à proximité des parcelles. Dans cette catégorie, on trouve l'eupatoire chanvrine, les vipérines, le séneçon jacobée.

### liste des cultures potentiellement à risque

**Public Statement as 'HIGH RISK' of Pas :**

- Millepertuis,
- Passiflore,
- Matricaire,
- Alchémille,
- Réglisse racine,
- Mélisse,
- Menthe poivrée,
- Sauge,
- Pissenlit partie aérienne avec racines,
- Thym.

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	--	--

L'Allemagne et Autriche ont défini 3 classes de risque pour les productions végétales avec des niveaux d'analyses d'AP différents en terme de fréquence. Ces 3 catégories ont été reprises par l'ema dans son avis de 2016<sup>18</sup> :

Class	µg PA/day in the HMP	Test frequency	Acceptance limit: with respect to maximum daily dose of HMP
A	≤ 0.1	Skip testing *	90 % of samples below 0.1 microgram/day; none contain > 0.35 microgram/day
B	≤ 0.35	More frequent skip testing*	90 % of samples below 0.35 microgram/day; none contain over 1.0 microgram/day
C	≤ 1.0	Routine testing required	No result over 1.0 microgram/day

Pour les catégories C et B, voilà la liste Allemande :

- **catégorie C = analyse systématique des teneurs en AP:**
  - Hyperici herba, Passiflorae herba, Matricariae flos, Alchemillae herba, Liquiritiae radix, Melissa folium, Menthae piperitae folium, Salviae folium, Taraxaci herba cum radice and Thymi herba = Millepertuis, Passiflore, Matricaire, Alchémille, Réglisse racine, Mélisse, Menthe poivrée, Saugé, Pissenlit partie aérienne avec racines, Thym.
  - (en France, l'agence du médicament demande aux fabricants de médicaments contenant ces plantes de contrôler systématiquement leur teneur en AP)
- **catégorie B = analyses non systématiques mais selon un plan de fréquence argumenté :**

- Echinaceae pallida Nutt., radix , Mate folium, Solidago virgaurea L. herba, Zingiberis rhizoma, Urtica dioica L. radix,

Les autrichiens rajoutent : Urtica dioica radix + herba and folium et Equiseti herba

## Méthodes d'analyses

Les méthodes les plus récentes mettent en œuvre les techniques de chromatographie. Sur le marché, la méthode publiée par le ministère allemand de la santé <sup>19</sup>semble s'imposer. Il s'agit d'une méthode complexe mettant en œuvre des appareillages coûteux et donc accessibles à peu de laboratoires. Le principe général est une extraction suivie d'une étape de purification/concentration et d'un dosage final par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. Le groupe de travail de la Pharmacopée européenne (auquel nous participons) semble avoir pour objectif d'établir cette méthode comme méthode de référence.

<sup>18</sup> Public statement on contamination of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids EMA/HMPC/328782/2016

<sup>19</sup> <https://www.bfr.bund.de/cm/343/bestimmung-von-pyrrolizidinalkaloiden.pdf>

Denis BELLENOT 	<p style="text-align: center;"><b>Les Alcabides</b>  <b>Pyrrolizidiniques</b>          CR rendu final</p>	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

Cette méthode quantifie 28 AP <sup>20</sup>(14, sous forme NIII et sous forme Nox) avec des limites de quantification affichées variant de 1 à 5 µg/kg (= ppb) selon les AP.

En pratique cela permet de détecter la présence de quelques pieds de séneçon sur 1ha de production de PPAM.

Notons que cette méthode, bien que validée sur des végétaux, présente de nombreuses difficultés pour son application, en particulier pour des produits finis ou semi-finis.

Notons aussi que beaucoup de publications sur la teneur ou la présence d'AP ont été faites avec d'autres méthodes, en particulier par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les AP Nox n'étant pas volatiles, il faut faire une étape de réduction pour les transformer en AP IIIaires qui sont volatiles (à température élevée). Cette technique est un peu moins sensible que la méthode du BfR mais a l'avantage de détecter tous les AP et pas seulement les 28.

Il serait certainement intéressant de pouvoir développer de méthodes plus rapides et moins coûteuses qui permettraient d'affirmer très vite et à faible coût la présence/absence d'AP dans un lot.

## Voies de contamination

Plusieurs voies de contamination peuvent expliquer la présence d'AP dans des plantes qui n'en produisent pas :

La co-récolte : l'adventice productrice d'AP est collectée en même temps que la culture. Cette voie semble la plus plausible et la plus fréquente

La contamination par la poussière renfermant des AP issus d'adventices séchées sur les sol ou utilisées comme mulch

La contamination par le pollen : le pollen de plantes productrices d'AP contient des AP en quantité non négligeables (jusqu'à plus de 1% mais on ne sait pas quelle quantité de pollen est produite par une plante ni quelle est sa diffusion sur les plantes voisines.

**Le transfert horizontal.** Cette hypothèse assez récente repose sur plusieurs publications<sup>21</sup> relativement récentes.

---

<sup>20</sup> Senecionin (Sc), Senecionin-N-oxid (ScN), Seneciphyllin (Sp), Seneciphyllin-N-oxid (SpN), Senecivernin (Sv), Senecivernin-N-Oxid (SvN), Monocrotalin (Mc), Monocrotalin-N-oxid (McN), Retrorsin (Re), Heliotrin (Hn), Heliotrin-N-oxid (HnN), Trichodesmin (Td), Retrorsin-N-oxid (ReN), Echimidin (Em), Echimidin-N-Oxid (EmN), Intermedin (Im), Intermedin-N-Oxid (ImN), Lycopsamin (La), Lycopsamin-N-Oxid (LaN), Europin (Eu), Europin-N-Oxid (EuN), Erucifolin (Er), Erucifolin-N-Oxid (ErN), Jacobin (Jb), Jacobin-N-Oxid (JbN), Senkirkin (Sk), Lasiocarpin (Lc) und Lasiocarpin-N-Oxid (LcN).

Le principe est le suivant : certaines plantes seraient capables d'absorber par leurs racines des molécules organiques d'assez grosses tailles. Cela paraît bien démontré par différentes publications de l'équipe de Selmar. Selon des auteurs Sud Africains<sup>22</sup>, ce serait la cause de la présence d'AP dans le rooibos. Ils affirment avoir trouvé dans les sols les mêmes AP que dans les séneçons qui poussent dans les cultures de rooibos.

Dans un travail déjà cité<sup>23</sup>, il est indiqué que « *les Crotalaria retusa, spectabilis et juncea libèrent par leur dégradation dans le sol de la monocrotaline, substance chimique toxique pour les symphytes et nématodes. Cela contribuerait notamment à inhiber l'anhydrobiosis du nématode, et donc le caractère durable d'une infection du sol par ce bio-agresseur.* ».

Au Canada, dans une analyse de sol non dirigée (pas de cible moléculaire définie *a priori*) couplant pyrolyse et spectrométrie de masse haute résolution, Monreal et al. (2015)<sup>24</sup> ont mis en évidence la présence de diacétyllycopsamine, à côté d'autres molécules organiques. Une boraginacée Nord-Américaine *Amsinckia douglasiana* pourrait être responsable de la présence de cet AP.

---

<sup>21</sup> Nowak M., Yahyazadeh M., Lewerenz L., Selmar D. (2017); Horizontal Natural Product Transfer: A so Far Unconsidered Source of Contamination of Medicinal Plants. In: Ghorbanpour M., Varma A. (eds) Medicinal Plants and Environmental Challenges. Springer,

Selmar D, Radwan A, Nowak M (2015) ; Horizontal Natural Product Transfer: A so far Unconsidered Source of Contamination of Plant-Derived Commodities. J Environ Anal Toxicol 5: 287. doi:10.4172/2161-0525.1000287.

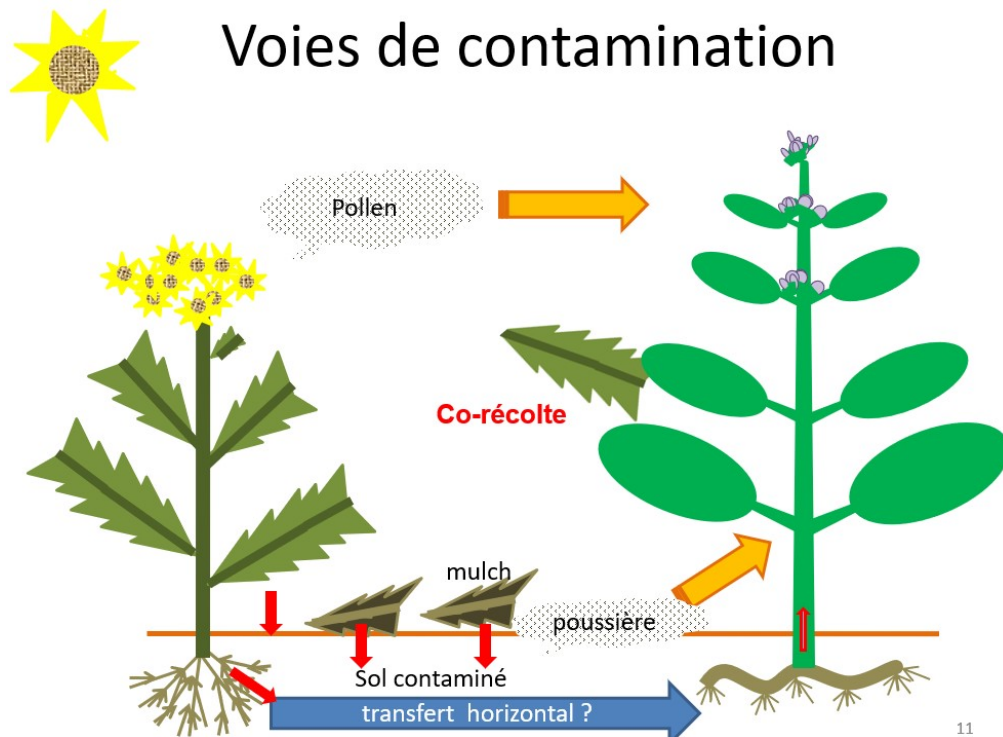
Selmar D. ; The Uptake of Nicotine from the Soil: An Example for the "Horizontal Transfer of Natural Products" ;Tropentag, September 18-21, 2016, Vienna, Austria ; "Solidarity in a competing world —fair use of resources"

Trapp S. and Legind C. N. (2011); Uptake of Organic Contaminants from Soil into Vegetables and Fruits ; in F.A. Swartjes (ed.), Dealing with Contaminated Sites, 369, chap 9, pp 369-408 ; DOI 10.1007/978-90-481-9757-6\_9, C\_ Springer Science+Business Media B.V. 2011Van Wyk B.E.et al.; South African Journal of Botany 110 (2017) 124–131

<sup>22</sup> Van Wyk B.E.et al.; South African Journal of Botany 110 (2017) 124–131

<sup>23</sup> Dupuis J. ; 2013 ; Quels sont les impacts et les performances agronomiques, technico-économiques et environnementales que peut apporter l'introduction d'une plante de lutte contre les bio-agresseurs telluriques de l'ananas dans les systèmes de culture en Martinique ? ; MEMOIRE DE FIN D'ETUDES ; ISTOM CIRAD.

<sup>24</sup> Monreal et al. ; 2015 ;Labile Organic Matter—Chemical Compositions, Function, and Significance in Soil and the Environment. SSSA Special Publication 62. Zhongqi He and Fengchang Wu, editors. © 2015. SSSA, 5585 Guilford Rd., Madison, WI 53711, USA.



11

Il paraît donc nécessaire de valider cette hypothèse en réalisant des analyses de sol.

## Bonnes pratiques et recommandations

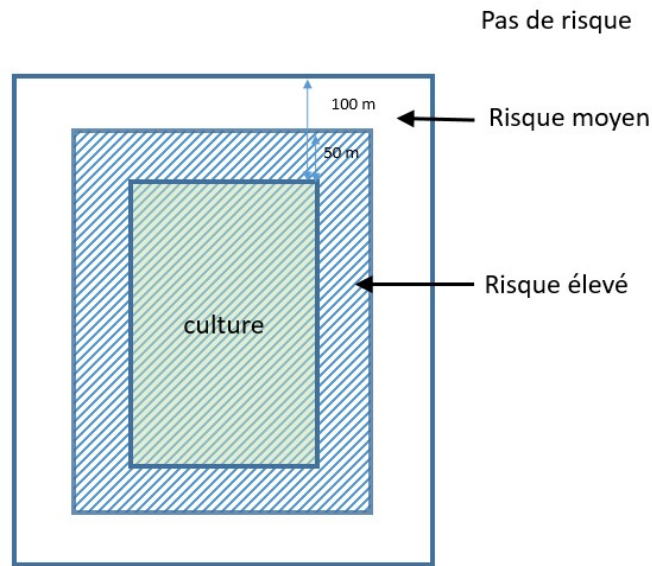
A côté de recommandations très classiques concernant la maîtrise des adventices, la FAO<sup>25</sup> suggère quelques pistes à l'aide d'insectes consommateurs de plantes à AP.

Nous avons expérimenté en conditions non contrôlées l'efficacité de *Tyria jacobaeae* sur le séneçon jacobée (exemple cité par le document de la FAO) : il faut environ 10 jours à une dizaine de chenilles pour détruire complètement (feuilles et inflorescence) un pied de séneçon jacobée d'environ 60 cm de haut ...

L'association européenne des thés et infusions (Tea & Herbal Infusion Europe) a diffusé (2018)<sup>26</sup> pour ses adhérents un mini guide de bonnes pratiques pour prévenir et réduire les AP dans les matières premières pour thé et infusions. Elles viennent en complément des recommandations du Codex Alimentarius déjà citées. On retrouve dans ce document une classification du risque en 3 niveaux selon la proximité des plantes à AP par rapport à la culture :

<sup>25</sup> FAO ; 2014 ; JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION ; Proposed draft Code of Practice for Weed Control to prevent and reduce Pyrrolizidine Alkaloid Contamination in Food and Feed The Hague, The Netherlands, 31 March –4 April 2014

<sup>26</sup> Tea & Herbal Infusion Europe ; 2018 ; CoP to Prevent and Reduce PA Contamination in Raw Materials for Tea and Herbal Infusions



Niveau	Définition	Actions
risque élevé	plante à PA à moins de 50 m de la parcelle et en fleurs ou à graine	Actions immédiates pour limiter la diffusion de la plante à AP
risque moyen	plante à PA dans la zone de 50 à 100 m de la parcelle	Se préparer à l'éventualité de passage en risque élevé
risque faible	plante à PA à plus de 100 m de la parcelle	Pas d'action immédiate

Ce document (voir annexe 1) reprend étape par étape les risques, le niveau de probabilité, les actions à mener, des commentaires et les agents responsables. Ces recommandations concernent aussi bien les plantes de cultures que les plantes de cueillette.

Process step	Hazard	Probability	What to do?	Comments	Who is responsible?
Harvesting	Harvest accidentally includes PA weeds	high	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determine best time to harvest to exclude PA weeds.</li> <li>Determine best way to harvest to exclude PA weeds.</li> <li>Review cutting position</li> <li>Train staff</li> </ul>	Clean the area of PA weeds prior to harvesting.	Farmers
Wild collection	Gathering accidentally includes PA weeds	high	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determine best time for gathering to exclude PA weeds</li> <li>Determine best way for gathering to exclude PA weeds</li> <li>Review cutting position</li> <li>Train staff</li> </ul>		Farmers

Dans des filières proches comme celles de la production de salades fraîches en sachets, les producteurs ont mis en place, après les étapes de lavage, un système de reconnaissance par caméra

des plantes indésirables. Il semble que les critères utilisés soient à la fois la forme et la couleur des plantes qui passent sous les caméras.

## Fiches d'identification

Afin de faciliter l'identification des adventices à AP, nous avons préparé des fiches d'identification simplifiées. Ces fiches qui seront à compléter, en particulier avec des photos libres de droit, donnent sur un seule page, l'identité de la plante (nom commun, nom scientifique avec principaux synonymes), sa carte de répartition (site télabotanica), des images avec ses principales caractéristiques, des commentaires et quand c'est disponible, les cultures dans lesquelles ou près desquelles elles ont été signalées.

Voir exemple ci-dessous et en annexes

### Prog APAT

Héliotrope d'Europe  
*Heliotropium europaeum* L.

Chronologie départementale



© 2018 FranceAgriMer / ITAT. Tous droits réservés. Dernière mise à jour : 2018-08-24 14:00:00. Prog terme chronologie départementale de l'APAT.







signalé dans culture de	signalé en bordure de culture de
pavot à oeillette	pavot à oeillette
	sauge sclarée
	arnica montana
	camomille romaine
	angélique
	eschscolzia



Financement : FranceAgriMer

Denis BELLENOT

**iteipmai**

**Les Alcabides**  
**Pyrrolizidiniques**  
CR rendu final

N° d'engagement :  
EJ-104-741  
Financement FranceAgriMer



# Toxicité

## Intoxications aiguës :

Selon Stegelmeier et al (2016)<sup>27</sup>, en cas d'intoxication aiguë, par exemple lors de la consommation de graines ou de farines contaminées, les lésions observées incluent les nécroses, fibroses et hyperplasie biliaires caractéristiques. Les sinusoides hépatiques et les veines centrales sont couramment touchées, devenant fibreuses et épaissies, jusqu'à ce qu'elles soient presque obstruées. Cela crée une augmentation de la pression dans le système veineux portal avec congestion des viscères, oedème et épanchement abdominaux. L'ensemble de ces signes a été désigné sous le terme de « syndrome veino-occlusif hépatique » en français et « hepatic sinusoidal obstruction syndrome or veno-occlusive disease » ou VOD en anglais.

La littérature rapporte de nombreux cas d'intoxication de ce type :

- En Afrique du Sud (1920)<sup>28</sup>,
- en Inde (1972);
- en Afghanistan (1973 - 2008)<sup>29</sup>: plusieurs épisodes entre 1973 et 2008. Lors de l'épisode de 1974, sur 7800 cas, on a rapporté 1600 décès suite à la consommation de pain fait avec de la farine contaminée avec des graines de *Heliotropium popovii* H. Riedl subsp. *gillianum* H. Riedl contenant des AP et principalement de l'héliotrine. L'exposition quotidienne a été estimée à 4-10mg d'AP par kg pendant 3-7 semaines.
- dans l'ancienne URSS (Tadjikistan fin 1992) contamination des récoltes de céréales par des Boraginacées (*Heliotropium lasiocarpum*, *H. popovii*, *H. europaeum*).
- Ethiopie : 2001-2011 = plusieurs centaines de cas; env. 1/3 de décès (*Ageratum* + DDT)

## Une toxicité variable :

De nombreux travaux ont été réalisés ou sont en cours pour identifier les cibles moléculaires des AP.

<sup>27</sup> Stegelmeier B.L., Colegate S.M. & Brown A.W ; 2016 ; Dehydropyrrolizidine Alkaloid Toxicity, Cytotoxicity, and Carcinogenicity ; Toxins ,8, 356; doi:10.3390/toxins8120356

<sup>28</sup> Wilmot F.C., G. W. Robertson G.W. 1920, "Senecio disease or cirrhosis of the liver due to Senecio poisoning," Lancet, vol. 23, pp. 848-849 . cité par de nombreux auteurs.

<sup>29</sup> Kakar et al. 2010 ; An Outbreak of Hepatic Veno-Occlusive Disease in Western Afghanistan Associated with Exposure to Wheat Flour Contaminated with Pyrrolizidine Alkaloids ; Journal of Toxicology ; Volume 2010, Article ID 313280, 7 pages ; doi:10.1155/2010/313280

Variable selon les alcaloïdes :

**Toxicité aigüe** (d'après Michel R., Raezke K.P. 2009; *PA in Honey : Brief overview regarding the Occurrence, Toxicological Effects and Risk Assessment* et *COT Statement of Pyrrolizidine Alkaloids in Food, 2014*).

Le tableau ci-dessous concerne des DL50 par voie parentérale chez le rat; il peut donc y avoir des différences en cas de prise orale. Entre le plus toxique (retrorsine) et le moins toxique (lycopsamine), il y a un rapport de 50.

	LD50 (mg/kg body weight)
Retrorsine	34
Senecionine	50
Heliosupine	60
Lasiocarpine	72
Jacobine	77
Seneciphylline	77
Riddelliine	105
Symphytine	130
Heleurine	140
Jaconine	168
Monocrotaline	175
Echimidine	200
Senkirkine	220
Spectabiline	220
Heliotrine	300
Echinatine	350
Supinine	450
Europine	1000

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

Heliotridine	1200
Intermedine	1500
Lycopsamine	1500

En 2016, Merz et al<sup>30</sup> ont proposé une échelle de toxicité des AP :

Ils appliquent un facteur de 1 pour les di-esters cycliques et les diesters ouverts avec une configuration 7*S*, un facteur 0,3 pour les mono-esters avec une configuration 7*S*, un facteur de 0.1 pour les diesters ouverts avec une configuration 7*R* et un facteur de 0.01 pour les mono-esters avec une configuration 7*R*. Ils suggèrent d'appliquer le même coefficient pour le Nox et les N III.

### Cytotoxicité comparée

Sur des cellules de poulet CRL-2118<sup>31</sup>, Stegelmeier et al (2016), ont montré que la Lasiocarpine est l'AP le plus cytotoxique, suivie par seneciophylline, senecionine, heliotrine, et riddelliine. Les autres PA testés (monocrotaline, riddelliineN-oxide, lycopsamine, intermedine, lasiocarpine Nox, and senecionineNox) se sont montrés beaucoup moins toxiques.

### Genotoxicité :

Fu (2004)<sup>32</sup>, reprend les différents aspects de la génotoxicité qui ont été publiés en relation avec différents AP. Les mécanismes et/ou réactions mis en jeu sont multiples : DNA binding, DNA cross-linking, DNA-protein cross-linking, sister chromatid exchange, aberration chromosomiques, mutagénicité, tératogénicité et carcinogénicité.

### Effets carcinogènes (chez l'animal)

Dans un article de 2017, Chen et al<sup>33</sup> font le bilan selon la littérature, des effets carcinogènes dus à différents AP, en précisant bien qu'il s'agit exclusivement d'études chez le rat :

Types de cancer	AP	
-----------------	----	--

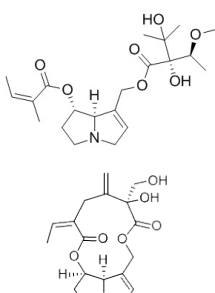
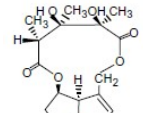
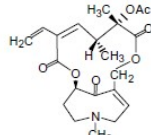
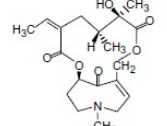
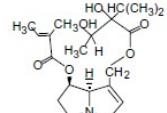
<sup>30</sup> Merz KH & Schrenk D, 2016 Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines., *Toxicol Lett.* 2016 Nov 30;263:44-57. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.05.002. Epub 2016 May 6.

<sup>31</sup> Stegelmeier B.L., Colegate S.M. & Brown A.W ; 2016 ; Dehydropyrrolizidine Alkaloid Toxicity, Cytotoxicity, and Carcinogenicity ; *Toxins* ,8(12), 356; doi:10.3390/toxins8120356

<sup>32</sup> Peter P. Fu P.P. ;2004 ; Pyrrolizidine Alkaloids—Genotoxicity, Metabolism Enzymes, Metabolic Activation, and Mechanisms ; *DRUG METABOLISM REVIEWS* ; Vol. 36, No. 1, pp. 1–55, 2004

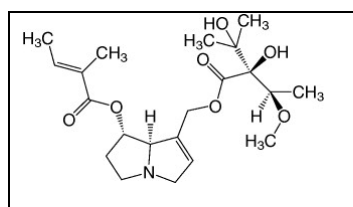
<sup>33</sup> Chen L. et al 2017 ; Risk assessment for pyrrolizidine alkaloids detected in (herbal) teas and plant food supplements *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 86 (2017) 292e302

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

Hémangiosarcome hépatique	Lasiocarpine  et ridelline	
Adénocarcinome pulmonaire	monocrotaline	
Nodules neoplasique hépatiques	clivorine	
Adénomes hépatiques	senkirkine	
Sarcome hemangioepithelial hépatique	symphytine	

### Variable selon les espèces :

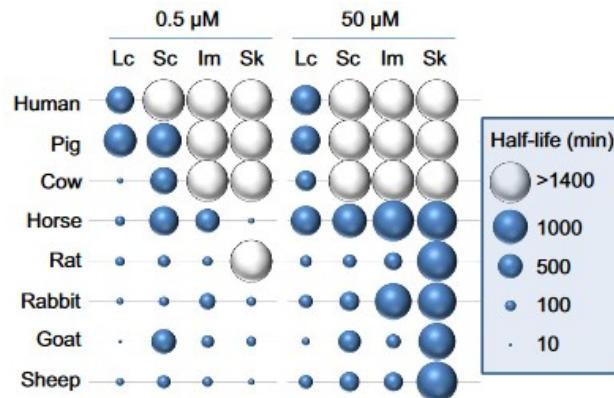
Fashe et al (2015)<sup>34</sup> a comparé les transformations de la lasiocarpine en présence de microsomes hépatiques humains et de différentes espèces animales. Chez l'homme, le cytochrome CYP3A4 est impliqué dans toutes les transformations de la lasiocarpine. Chez les espèces les plus sensibles (homme, cochon, rat et souris) le niveau de ces métabolites est plus élevé que chez les espèces réputées moins sensibles (lapin et mouton) mais l'auteur n'a aucune idée de la toxicité de ces métabolites. Avec les microsomes humains, le profil en métabolites est nettement différent de celui des autres espèces, en particulier par la production de métabolites conjugués au glutathion réduit.



<sup>34</sup> Fashe MM et al ; 2015 ; Species-Specific Differences in the in Vitro Metabolism of Lasiocarpine Chem Res Toxicol. 2015 Oct 19;28(10):2034-44. doi: 10.1021/acs.chemrestox.5b00253. Epub 2015 Oct 2

### lasiocarpine

D'autres travaux <sup>35</sup> sur 4 AP (Intermedine, lasiocarpine, senecionine, and senkirkine), montrent que les différents cytochromes de différentes espèces ne les dégradent pas à la même vitesse. Les espèces qui les dégradent le moins vite sont l'homme, le cochon, la vache et le cheval, celles qui les dégradent les plus vite sont le mouton et le lapin. Des 4 AP, la lasiocarpine est celle qui se dégrade le plus vite, suivie par l'intermédiaire.



### Variables au sein d'une même espèce animale :

Chun et al (2004)<sup>36</sup> ont montré que dans 2 souches de rats différentes (Fischer 344 et Sprague-Dawley), la Noxydation de la sénécionine se fait par des enzymes différentes selon la souche.

Lin et Al (2003)<sup>37</sup> montrent que les femelles de rat de souche Sprague-Dawley sont un peu moins sensibles que les rats males de la même souche (DL50 = 114 +- 9 mg/kg et 91 +- 3 mg/kg respectivement, par voie intrapéritonéale). Ceci serait dû à des différences de l'équipement enzymatique hépatique selon le sexe.

<sup>35</sup> Kolrep F. et al 2018 ; In vitro biotransformation of pyrrolizidine alkaloids in different species. Part I: Microsomal degradation ; Archives of Toxicology (2018) 92:1089–1097 ; <https://doi.org/10.1007/s00204-017-2114-7>

<sup>36</sup> Chun et al ; 2004 ; Differential Metabolism of the Pyrrolizidine Alkaloid, Senecionine, in Fischer 344 and Sprague-Dawley Rats ; Arch Pharm Res Vol 27, No 5, 547-553, 2004

<sup>37</sup> Lin G. e al ; 2003 ; Gender Differences in Microsomal Metabolic Activation of Hepatotoxic Clivorine in Rat ; Chem. Res. Toxicol. 2003;16:6768-774.

### Pharmacocinétique

Selon Stegelmeier et al (2016)<sup>38</sup>, avec quelques différences selon les AP, environ 80% des AP ingérés sont excrétés tels quels dans l'urine et les fécès ; dans le cas de la monocrotaline, il a été démontré par marquage au C<sup>14</sup> que 10% sont métabolisés et que le C<sup>14</sup> est exhalé sous forme de CO<sub>2</sub>.

### Structure et toxicité

Tous les auteurs indiquent que la toxicité des AP qui se manifeste par la liaison à des macromolécules (enzymes, acides nucléiques, ...) est due à leur transformation, sous l'action d'enzymes hépatiques, en dérivés doublement insaturés. Ce mécanisme ne peut fonctionner qu'avec des AP ayant une insaturation en position 1,2.

Les molécules les plus toxiques sont, par ordre décroissant, les diesters cycliques (ou esters macrocycliques), les diesters non cycliques, les monoesters.

---

<sup>38</sup> Stegelmeier B.L., Colegate S.M. & Brown A.W ; 2016 ; Dehydropyrrolizidine Alkaloid Toxicity, Cytotoxicity, and Carcinogenicity ; Toxins ,8(12), 356; doi:10.3390/toxins8120356.

## Exposition aux AP

L'EFSA, dans son rapport de 2016<sup>39</sup>, donne son estimation de l'exposition de la population européenne aux AP due à la consommation de produits d'origine végétale :

Pour les jeunes enfants (« toddlers »), la partie la plus exposée de cette population recevrait de façon chronique de 154 à 214 ng/kg de poids corporel par jour. L'exposition aiguë moyenne irait jusqu'à 311 ng/kg de poids corporel par jour avec un maximum de 821 ng/kg de poids corporel par jour pour le 95<sup>ème</sup> percentile.

Chez les adultes consommateurs de miel, l'exposition chronique serait de 0.1 and 7.4 ng/kg de poids corporel par jour avec un maximum entre 0.4 and 18 ng/kg de poids corporel par jour pour les forts consommateurs.

Chez les jeunes consommateurs de miel, l'exposition chronique serait de 0.3 and 27 ng/kg de poids corporel par jour avec un maximum entre 0.7 and 31 ng/kg de poids corporel par jour pour les forts consommateurs.

Pour les consommateurs de compléments alimentaires à base de pollen, l'exposition chronique serait de 0.7 and 12 ng/kg de poids corporel par jour et l'exposition aiguë moyenne serait entre 2,8 et 44 ng/kg de poids corporel par jour.

La consommation de 150 mL d'une infusion de 2 g d'un extrait de plante exposerait à 67 000 ng/kg (=67 mg) de poids corporel par jour (exemple d'une infusion de bourrache).

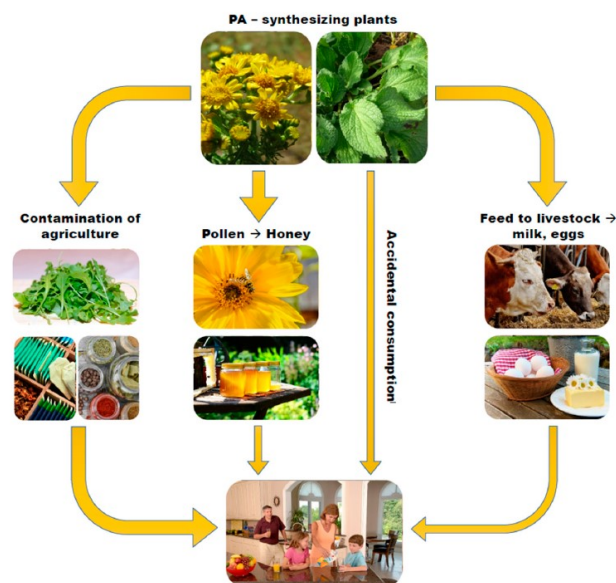


Figure 1. Four ways of how PA can enter the human food chain.

Schéma Selon Habs 2018<sup>40</sup>

<sup>39</sup> EFSA (European Food Safety Authority), 2016. Dietary exposure assessment to pyrrolizidine alkaloids in the European population. EFSA Journal 2016;14(8):4572, 50 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4572

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

## Epidemiologie

Selon une étude épidémiologique <sup>41</sup>en Suède, USA, GB et Norvège, la fréquence de l'hémangiosarcome hépatique chez l'homme est d'environ : 0,5-2,5 cas pour 10 000 000 individus par an. Cette donnée n'est pas compatible avec le niveau d'exposition calculé par l'EFSA.

---

<sup>40</sup> Habs et al ; 2018 ; A Balanced Risk-Benefit Analysis to Determine Human Risks Associated with Pyrrolizidine Alkaloids (PA)—The Case of Herbal Medicinal Products Containing St. John's Wort Extracts (SJW) *Nutrients* **2018**, 10, 804; doi:10.3390/nu10070804

<sup>41</sup> Zocchetti C. Angiosarcoma del fegato nell'uomo: considerazioni epidemiologiche. *Med Lav*; 2001, 92(1):39-53



### Détoxification :

Les 2 principales voies de détoxification des AP sont d'une part l'hydrolyse des fonctions ester et d'autre part l'oxydation de l'azote pour donner un AP Nox. Ces deux voies transforment l'AP en une forme beaucoup plus hydrosoluble, ce qui faciliterait son élimination.

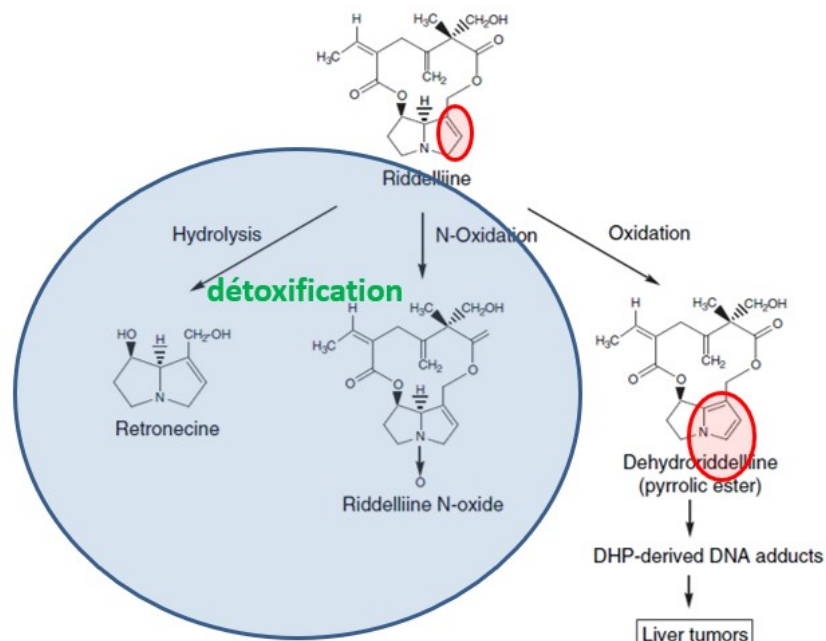


Figure 1- d'après J Food Drug Ana, 2007, 15(4)

La Noxydation des AP se fait majoritairement par des monoxygénases à Flavine<sup>42</sup> avec de grosses variations selon les espèces.

Un des mécanismes de détoxification des AP est leur hydrolyse, sous l'effet d'estérases, en particulier des carboxylases qui sont très variables selon les espèces.

Dans un article de 1992<sup>43</sup>, Dueker et al expliquent la différence de sensibilité aux PA entre rat et cobaye par l'absence d'activité estérasique dans le foie du rat alors que cette activité est très intense chez le cobaye. De plus, différentes enzymes carboxylases existent, ce qui explique la différence de sensibilité du cobaye aux différents AP testés.

<sup>42</sup> Peter P. Fu P.P. ;2004 ; Pyrrolizidine Alkaloids—Genotoxicity, Metabolism Enzymes, Metabolic Activation, and Mechanisms ; DRUG METABOLISM REVIEWS ; Vol. 36, No. 1, pp. 1–55, 2004

<sup>43</sup> Dueker et al , 1992, Hydrolysis of pyrrolizidine alkaloids by guinea pig hepatic carboxylesterases Toxicology and Applied Pharmacology Volume 117, Issue 1, November 1992, Pages 116-121

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcaloïdes Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

## Articles critiquant la toxicité des AP

Quelques articles prennent parti sur les risques liés à la présence d'AP dans les PPAM.

Par exemple Habs et al. (2017)<sup>44</sup> comparent les effets positifs de la consommation de tisanes sur les risques cardiovasculaires et certains types de cancer avec le risque de cancer en cas de contamination. Ils rappellent qu'il n'y a aucune preuve épidémiologique de dangers pour l'homme lors de l'exposition à de faibles doses et que les seuils recommandés par les différentes autorités sanitaires sont basés sur des données expérimentales obtenues sur l'animal de laboratoire.

Un deuxième article de la même équipe<sup>45</sup> compare, par un traitement statistique des données de la littérature, le bénéfice qu'il y a à traiter la dépression moyenne à modérée par des extraits de millepertuis, par rapport au risque de développer un cancer à cause de AP potentiellement présents dans ces extraits. Leurs conclusions sont que :

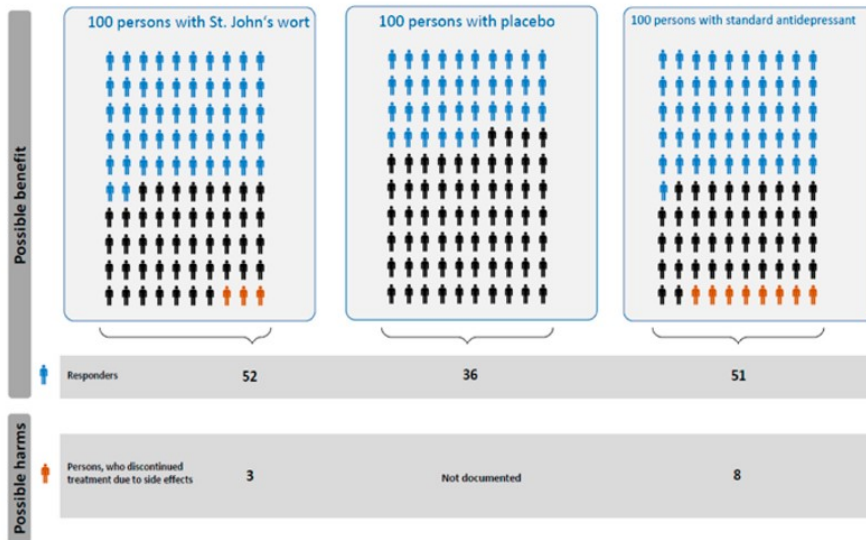
- Le bénéfice attendu est du même niveau qu'avec un traitement conventionnel mais avec moins d'effets secondaires
- Le bénéfice que l'on peut attendre de ce traitement dépasse largement le risque (hypothétique) dû à l'ingestion concomitante d'AP.

---

<sup>44</sup> Habs et al. ; 2017 ; A Balanced Risk–Benefit Analysis to Determine Human Risks Associated with Pyrrolizidine Alkaloids (PA)—The Case of Tea and Herbal Infusions Nutrients 2017, 9, 717; doi:10.3390/nu9070717

<sup>45</sup> Habs et al ; 2018 ; A Balanced Risk-Benefit Analysis to Determine Human Risks Associated with Pyrrolizidine Alkaloids (PA)—The Case of Herbal Medicinal Products Containing St. John's Wort Extracts (SJW) Nutrients 2018, 10, 804; doi:10.3390/nu10070804

Benefits and risks of St. John's wort for depression



## Impacts économiques

Il nous a été très difficile d'obtenir des données chiffrées sur l'impact économique des mesures tendant à limiter les teneurs en AP dans les différentes filières.

**Pour la partie production agricole**, différents producteurs nous ont indiqué des augmentations de coût de production de l'ordre de 20-30%. L'explication est qu'en la quasi absence d'herbicide et de la nécessité de ne pas laisser les adventices dans les parcelles, il faut faire plusieurs passages d'arrachage et de ramassage sur une même parcelle. Si l'opération est manuelle, cela nécessite d'avoir formé le personnel ce qui est un coût supplémentaire par rapport à un arrachage « standard » où il suffit d'enlever tout ce qui n'est pas la plante cultivée. Une fois formé, ce personnel sera mieux payé que des arracheurs « classiques » afin de les retenir pour ne pas avoir à en former de nouveaux à chaque fois.

Il semble préférable de faire plusieurs passages rapprochés que de faire un seul passage, même soigné.

**Les acheteurs** ont augmenté leur niveau d'exigence, demande la mise en place de procédures pour diminuer la présence d'adventices à AP dans les lots.

**Pour la partie transformation**, sans avoir de valeurs chiffrées, il semble établi que, pour certaines plantes, l'extraction en particulier avec des solvants polaires n'élimine pas les AP, voire, dans certains cas, les concentrerait.

**Pour la partie commercialisation**, plusieurs filières sont impactées.

**Les compléments alimentaires.** Malgré les efforts sur ce sujet de Mme Ventura, responsable scientifique du Synadiet, nous n'avons pas pu avoir de données chiffrées précises sur cette filière.

Un document récent<sup>46</sup> indique sur 60% des compléments alimentaires commercialisés en France contiennent au moins une plante. La disparition totale des PPAM impacterait donc près de 2/3 des compléments alimentaires. Il n'est pas possible de transposer cette donnée en chiffre d'affaire mais la vente des compléments alimentaires en France a représenté 1,9 milliards d'euros<sup>47</sup> (sorties consommateur en prix de vente TTC)

**La filière des thé et infusions.**

<sup>46</sup> [http://www.synadiet.org/sites/default/files/press/files/dp\\_synadiet-phytoliav2.pdf](http://www.synadiet.org/sites/default/files/press/files/dp_synadiet-phytoliav2.pdf)

<sup>47</sup> [http://www.synadiet.org/sites/default/files/page/files/chiffres\\_cles\\_2018\\_0.pdf](http://www.synadiet.org/sites/default/files/page/files/chiffres_cles_2018_0.pdf)

Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	--	--

Nous avons eu une réunion physique (en 2017) et une réunion téléphonique (2018) avec le SYNDICAT DU THE ET DES PLANTES A INFUSION (CTEPI) sur le thème des AP et leurs conséquences pour la filière mais sans obtenir de données économiques.

Sur leur site<sup>48</sup>, les dernières données datent de 2014. Pour le marché français, cela représente :

	<b>Volume en kilos nets</b>	<b>% évolution</b>	<b>Valeurs en millions d'Euros</b>
<b>2013</b>	3 239 101	-1,8	69
<b>2014</b>	3 170 873	-2,1	69

Pour le commerce extérieur, cela représente environ 2,5 millions d'Euros :

<b>EXPORTATIONS</b>					
<b>EN MILLIERS D'€</b>			<b>EN QUINTAUX</b>		
%	2014	2013	%	2014	2013
17.61	2 438	2 073	17.92	14 740	12 500

<sup>48</sup> [http://www.theetinfusions.fr/chiffre\\_infusion\\_commerce.htm](http://www.theetinfusions.fr/chiffre_infusion_commerce.htm)

Denis BELLENOT 	<p style="text-align: center;"><b>Les Alcaloïdes</b>  <b>Pyrrolizidiniques</b>          CR rendu final</p>	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	--	--

### Avis d'experts toxicologues :

Nous avons participé à plusieurs rencontres avec des toxicologues ou des associations de toxicologues pour les sensibiliser à la problématique des AP.

11 mai 2017 St Denis : GROUPE DE TRAVAIL MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES ET MEDICAMENTS HOMEOPATHIQUES N°2 : Alcaloïdes pyrrolizidiniques : - médicaments homéopathiques (souches potentiellement concernées, FSD acceptable) - méthodes de dosage (audition « Institut Technique Interprofessionnel des plantes à parfum, médicinales et aromatiques » ITEIPMAI

28-29 mai 2018 Dijon : colloque ARET (Association pour la REcherche en Toxicologie)

27-28 Nov 2018 Lille : congrès de la Société Française de Toxicologie sur le thème «Évaluation du risque environnemental des xénobiotiques et impact sur la santé humaine  
 Conférence sur le thème : « *Problèmes des contaminants dans les médicaments à base de plantes (alcaloïdes)* »

Professeur P. Calès

Echanges par mail + une présentation devant un groupe

**De :** Paul Cales [mailto:paul.cales@univ-angers.fr]

**Envoyé :** jeudi 23 mars 2017 15:47

**À :** Denis BELLENOT

**Cc :** 'Gilles HUNAULT'

**Objet :** RE: question sur alcalodes pyrrolizidiniques et hémangiosarcome

Cher Monsieur,

Gilles HUNAULT m'a transmis votre interrogation concernant les pyrrolizidine alkaloids (AP) et leur implication en pathologie hépatique. En effet, je suis le référent senior en hépatologie du CHU de l'Université d'Angers, directeur du laboratoire HIFIH.

Les AP sont responsables d'une pathologie de la cellule endothéliale de l'équivalent du capillaire dans les lobules hépatiques appelés sinusoides. Cette pathologie peut être aigue sous la forme du syndrome appelé SOS (ancien VOD) ou d'une forme chronique pour de faibles expositions pouvant aller à la cirrhose et à l'hémangiosarcome.

Le syndrome SOS est rare. Cependant, la probabilité d'un sous diagnostic n'est pas très élevé puisqu'il existe des signes radiologiques assez spécifiques et d'autre part la ponction biopsie hépatique, autrement dit l'examen anatomopathologique, en fait facilement le diagnostic.

**Par contre, l'hémangiosarcome qui est une tumeur très rare, pourrait éventuellement faire l'objet d'un sous diagnostic.**

En résumé, les pathologies hépatiques reliées aux AP sont rares.

Denis BELLENOT 	<p style="text-align: center;"><b>Les Alcabides</b>  <b>Pyrrolizidiniques</b>          CR rendu final</p>	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

Par contre à mon avis cela n'écarte pas la responsabilité des AP en pathologie hépatique pour plusieurs raisons :

Comme vous le savez, il est très difficile d'incriminer le rôle des contaminants en terme diagnostique.

D'autre part, les contaminants pourraient être un cofacteur parmi d'autres puisque d'une façon générale la physiopathologie des maladies hépatiques, notamment chroniques, est multifactorielle. Ainsi, si vous prenez l'exemple de la pathologie de l'épidémie imputée aux AP en Ethiopie il y a quelques années, l'article de Journal of Hepatology montre qu'une co-exposition au DDT était incriminée.

Citons un autre exemple très classique en hépatologie, celui du cancer primitif du foie en Afrique. Ce cancer, appelé carcinome hépatocellulaire, représente plus de 90 % des tumeurs primitives du foie. En Afrique il est souvent la conséquence d'une interaction entre le virus de l'hépatite B, une toxine d'une levure contaminant les céréales et le génotype de l'hôte dont celui du pro-carcinogène P53.

Enfin, pour les raisons de difficultés d'évaluation du rôle des contaminants, l'implication des AP comme cofacteur dans d'autres pathologies non décrites peut être avancé.

Si vous souhaitez obtenir d'autres avis, je peux contacter les ressources suivantes :

[Le réseau maladies rares des maladies vasculaires du foie dont nous sommes centre de compétences en contactant le responsable du centre de référence national.](#)

Il est également possible de contacter le meilleur expert national en hépatotoxicité des xénobiotiques. A cet égard, je précise qu'il y a environ 20 ans j'avais eu en charge en tant que rédacteur en chef de la revue GCB, à traiter le problème de l'hépatotoxicité de la germandrée petit chêne.

A cette époque, j'avais été en contact avec le Pr. « Guinodau » de pharmacognosie de la Faculté de pharmacie d'Angers qui était en contact avec une organisation qui devait être l'ancêtre de votre organisme actuel à Chemillé. La discussion entre experts à l'époque avait montré que la décision d'interdire la germandrée petit chêne en phytothérapie avait été assez difficile à prendre en raison de divergences sur son imputabilité.

Vous trouverez ci-joint un petit résumé de la littérature récente sur cette question avec quelques revues générales sur l'hépatotoxicité incluant celles des AP.

Avec mes meilleurs sentiments,

Paul Calès

[Directeur de laboratoire et responsable de la discipline hépato-gastroentérologie à l'Université](#)

[Responsable d'unité de recherche clinique \(URC HGE\) au CHU](#)

[Président sortant de l'Association Française pour l'Etude du Foie \(AFEF, société française d'hépatologie\)](#)

<p>Denis BELLENOT</p> 	<p><b>Les Alcabides</b>  <b>Pyrrolizidiniques</b>  CR rendu final</p>	<p>N° d'engagement :  EJ-104-741  Financement FranceAgriMer</p>
---	---	---

Vice président de l'AFFMCHGE (société d'hépatogastroentérologie d'Afrique francophone)

Vice président délégué à la valorisation scientifique de l'université d'Angers

Service d'hépatogastroentérologie, CHU, 49933 Angers Cedex 09

& Laboratoire HIFIH, UPRES 3859, SFR 4038 ICAT, UFR Santé, Université d'Angers-UBL, 49045 Angers Cedex 01,  
France

Tel : (33) 2 41 35 34 10

Fax : (33) 2 41 35 41 19

Mail : [paul.cales@univ-angers.fr](mailto:paul.cales@univ-angers.fr)

<http://orcid.org/0000-0003-4866-5274>

## Professeur F. Nessler

**Fabrice Nessler**

Chef du Service Toxicologie

Centre Prévention Santé Longévité 03 20 87 72 72

[fabrice.nessler@pasteur-lille.fr](mailto:fabrice.nessler@pasteur-lille.fr)

Institut Pasteur de Lille

1, rue du professeur Calmette - 59000 LILLE - France

Nous avons rencontré à plusieurs reprises le Professeur Nessler, avec et sans Mme Ventura du Synadiet.

Fin 2018 il a testé in vitro la génotoxicité de 3 AP. l'objectif est de voir si on peut établir/justifier des coefficients de dangerosité différents. Résultats non publiés à ce jour.



Denis BELLENOT 	<b>Les Alcabides</b> <b>Pyrrrolizidiniques</b> CR rendu final	N° d'engagement : EJ-104-741 Financement FranceAgriMer
---	---	--

World Health Organization. Pyrrrolizidine Alkaloids, Health and Safety Guide; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1988; Volume 26, p. 20