

# A PROPOS DES SUBSTANCES TOXIQUES RECHERCHEES DANS LES POUDRES A ETERNUER

par

Michel LIBON et Luc ANGENOT

## SUMMARY

### About toxic products in sneezing powders

Poisoning due to sneezing powders made it necessary to control commercialized samples to detect possible presence of toxic products such as poisonous plants (*Veratrum* sp., *Helleborus viridis*, *Quillaja* sp.) or synthetic chemicals (benzidine, dianisidine, *O*-nitrobenzaldehyde). The authors give a summary of analytical and toxicological data. Results of experiments on samples collected in Belgium are also provided.

## INTRODUCTION

Suite à des empoisonnements provoqués en 1981 par des poudres à éternuer, un arrêté royal (1) a interdit la mise dans le commerce des poudres contenant les substances suivantes :

- a) Poudre de Panama (*Quillaja saponaria*) et ses extraits contenant des saponines
- b) Poudre de racines d'*Helleborus viridis*
- c) Benzidine et dérivés.

A la suite de diverses expertises réalisées par plusieurs laboratoires, dont le nôtre, un second arrêté royal (2) a également interdit la présence de

- d) *Veratrum viride* et *Veratrum album*
- e) Orthonitrobenzaldéhyde.

Ayant cependant constaté, en ce début de 1984, que les poudres à éternuer vendues dans la région liégeoise étaient toujours en infraction avec la réglementation, nous avons jugé utile de résumer dans cette publication, d'une part, les principales caractéristiques des produits interdits, et d'autre part, les résultats de nos expertises dont des détails peuvent être obtenus ailleurs (3).

## CHAPITRE I

### LES SUBSTANCES INTERDITES

#### 1.1. Poudre de Panama

L'écorce du tronc et des tiges de deux arbres chiliens (*Quillaja saponaria* MOLINA et *Quillaja smegmadermos* D.C.) fournit la drogue appelée « bois de Panama » (4, 5). Les principes toxiques sont des saponosides à génine triterpénique dont l'acide quillajique; ils constituent la saponine commerciale (BPC 1954) réservée à des usages externes. En effet, par voie orale, les saponines du bois de Panama provoquent une irritation violente, des gastro-entérites accompagnées de nausées et vomissements, des dommages hépatiques et à forte dose des convul-

sions pouvant aboutir à la mort; par voie intraveineuse, ces saponines sont de surcroît hémolytiques (6).

Si l'identification de la poudre de Panama peut se faire par examen microscopique (4, 7) axé notamment sur la présence de grands cristaux prismatiques d'oxalate calcique pouvant atteindre 200 microns, la présence de saponosides dans des extraits peut être détectée par l'indice mousse décrit dans la 9<sup>e</sup> édition de la Pharmacopée Française (indice effectué dans des conditions standardisées et dont le principe est basé sur la formation de mousse persistante après agitation d'un décocté aqueux). L'identification des saponines de *Quillaja* pourra être corroborée par CCM suivant la méthode de Stahl (8) reprise du DAC (Deutscher Arzneimitel Codex).

### 1.2. *Helleborus viridis*

La poudre de racines d'*Helleborus viridis* L. s'obtient par broyage des racines de cette espèce indigène de Renonculacée à fleurs vertes (9). Les principes toxiques comprennent un mélange d'hétérosides cardiotoniques du groupe des bufadiénolides, des saponosides et des alcaloïdes (4, 9). Responsables d'empoisonnements assez rares, les racines d'*H. viridis* et des espèces voisines: *H. niger* et *H. foetidus* peuvent provoquer des gastro-entérites hémorragiques avec ulcération duodénale, de la mydriase et, dans les cas les plus graves, des convulsions et des comas (10, 11). Leur toxicité apparaît en général à des doses nettement plus élevées que celles des Ellébore ou Vêrâtres de la famille des Liliacées (12).

L'identification de la poudre sera basée, d'une part, sur un examen microscopique permettant d'observer les grands cristaux d'oxalate calcique en forme d'oursins, présents dans le genre *Helleborus* (13) et, d'autre part, sur la mise en évidence des saponosides par l'indice mousse précité et la précipitation des alcaloïdes par le réactif de Mayer (iodobismuthate de potassium) suivant la réaction prévue dans les généralités de la Pharmacopée Européenne.

### 1.3. *Veratrum viride* et *Veratrum album*

Ces deux plantes sont des espèces très voisines des Liliacées de l'hémisphère Nord; *Vera-*

*trum viride* est américain, tandis que *Veratrum album* se rencontre dans les montagnes européennes et asiatiques.

Les rhizomes et les racines de ces deux espèces sont excessivement toxiques et ont donné lieu à de nombreux empoisonnements, dont certains ont encore défrayé naguère la chronique (14, 15, 16). Le tableau toxicologique comprend des signes digestifs constants et intenses (nausées, vomissements, diarrhées), des signes cardiovasculaires (bradycardie, hypotension, collapsus, arythmies) et des signes neurologiques (céphalées, vertiges, délire...) (12). Les principes toxiques sont des alcaloïdes existant tantôt à l'état libre, tantôt sous forme d'esters ou encore sous forme de glucoalcaloïdes. Parmi ces dizaines de constituants, on remarquera les alcaloïdes esters dont les protovératrines A et B (fig. 1) qui sont commercialisées à des fins pharmacologiques (étude fondamentale des hypotenseurs, effet insecticide) ou analytiques.

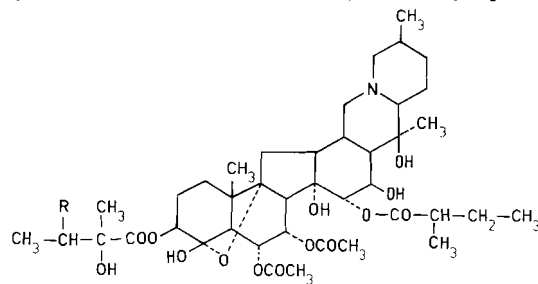


Fig 1 : Protovératrine A R = H.  
Protovératrine B R = OH

Les poudres de *V. viride* et *V. album* présentent les mêmes caractéristiques microscopiques (surtout les bottes de raphides d'oxalate calcique pouvant atteindre 100 microns (7)) et phytochimiques (nature et pourcentage d'alcaloïdes stéroïdiques). Ces principes toxiques seront détectés par la précipitation du réactif de Mayer et identifiés par CCM (16) en utilisant comme substances de référence, soit les protovératrines, soit un extrait alcaloïdique brut de *Veratrum*, obtenu en suivant par exemple le mode opératoire de la Pharmacopée Helvétique 6<sup>e</sup> édition.

### 1.4. Benzidine et dérivés

Outre la benzidine (fig. 2) et ses sels, on doit également rechercher la diméthoxybenzidine ou

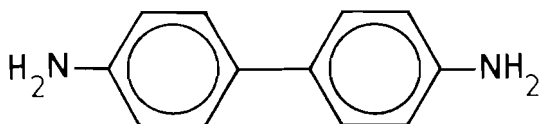


Fig. 2 : Benzidine

ortho-dianisidine (fig. 3). Ces substances, utilisées comme réactifs chimiques et dans la synthèse de nombreux pigments et élastomères, sont produites annuellement en milliers de tonnes et en premier lieu par l'Allemagne fédérale d'où proviennent la majorité des échantillons de poudres à éternuer (« Niespulver »). Il s'agit de molécules provoquant à faible dose l'apparition de cancers vésicaux, cutanés et intestinaux chez les animaux d'expérience après administration répétée et prolongée. Il est à craindre que les cancers observés chez les personnes préparant ou utilisant ces produits leur soient totalement ou partiellement imputables (17).

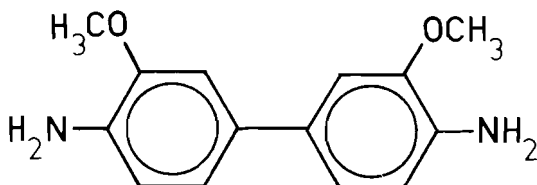


Fig. 3 : Dianisidine

La présence de ces produits chimiques peut être détectée par les réactions d'identité des amines décrites dans la Pharmacopée Européenne et confirmée par chromatographie en couche mince de silicagel GF 254 dans la phase acétate d'éthyle-pétroléine 1 : 1 en révélant par la solution à l'aldéhyde anisique R (P. Belg. VI) et en déposant de la benzidine R (Ph. Helv. VI) et de la dianisidine R (P. Belg. VI) comme substance de référence.

D'autres méthodes physicochimiques sont utilisables, telle la chromatographie en phase gazeuse sur colonnes OV 17 ou SE 30. Signalons également que ces produits chimiques ont une couleur blanche à l'état frais qui fonce par exposition à l'air ou à la lumière, et enfin que si la benzidine est insipide, la dianisidine a par contre une saveur brûlante.

### 1.5. O-nitrobenzaldéhyde

L'ortho-nitrobenzaldéhyde (fig. 4) est une autre substance de synthèse également suspecte

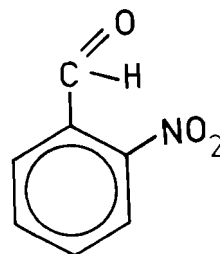


Fig. 4 : O-nitrobenzaldéhyde

d'intoxications chroniques. En effet, des études récentes ont démontré son caractère mutagène (18), ce qui explique son interdiction dans la préparation de poudres à éternuer.

Sa mise en évidence se fera suivant une méthodologie analogue à celle de la benzidine et principalement par chromatographie dans les mêmes systèmes. La révélation des chromatoplaques pourra être effectuée par une pulvérisation d'une solution saturée d'ortho-dianisidine R (P. Belg. VI) dans l'acide acétique glacial, qui donnera une coloration jaune au niveau du spot de l'orthobenzaldéhyde R (P. Belg. VI) que l'on aura pris soin de déposer comme substance de référence.

## CHAPITRE II

### CLASSIFICATION DES POUDRES A ETERNUER EXPERTISEES

Une centaine d'échantillons appartenant à vingt et un lots différents de poudres à éternuer prélevés en Belgique entre 1982 et 1984 ont été soumis à un examen préliminaire faisant appel aux déterminations suivantes :

- analyse microscopique détaillée
- indice mousse (recherche de saponines)
- réaction des alcaloïdes par le réactif de Mayer
- réaction de coloration des fonctions aminées et aldéhydiques (bases de Schiff)
- identifications chromatographiques sur couche mince de silicagel (produits synthétiques).

Nous avons au départ réalisé un test organoleptique gustatif qui ne doit pas être répété, vu la toxicité des substances découvertes dans ces poudres.

Au terme de ces divers essais, nous avons constaté l'absence de poudre de Panama, de poudre de racines d'*Helleborus viridis* et de benzidine, et classé les poudres expertisées en cinq catégories.

#### **2.1. Poudres de rhizomes de Vêrâtre (*Veratrum sp.*) (4 lots sur 21)**

Il s'agit de poudres grisâtres de saveur amère, possédant des raphides d'oxalate calcique et des alcaloïdes semblables à ceux de *Veratrum album* des collections de l'Université de Liège. Le dosage des alcaloïdes totaux, effectué selon la Ph. Helv. VI, nous a révélé des taux s'échelonnant entre 1,15 % et 1,5 %, soit toujours supérieurs au minimum légal de 1 %. Ces poudres à éternuer peuvent donc être responsables d'intoxications aiguës quand on sait qu'une fiole de poudre à éternuer contient environ 3 gr de poudre, soit 36 à 45 mg d'alcaloïdes totaux et que les effets toxiques des protovératrine s'exercent chez l'adulte à partir de 3 mgr par jour.

#### **2.2. Sciure de bois imprégnée de dianisidine (5 lots sur 21)**

Il s'agit de poudres brunâtres, de saveur brûlante, constituée de sciure de bois (observée lors de l'examen microscopique) imprégnée d'une substance donnant la réaction des amines. Les analyses chromatographiques et spectrométriques ont permis d'identifier la dianisidine. Les dosages en chromatographie gazeuse permettent de calculer des teneurs en dianisidine variant entre 1,5 et 3,5 % selon les lots.

#### **2.3. Sciure de bois mélangée à de la dianisidine pulvérulente (1 lot sur 21)**

Ce lot se distingue des autres par sa coloration noirâtre attribuable à un produit chimique pulvérulent observé au microscope, à côté des fibres caractéristiques de la sciure de bois. L'examen chimique a démontré qu'il s'agissait de dianisidine dégradée puisqu'ayant perdu sa coloration claire du départ. La teneur en dianisidine déterminée par chromatographie gazeuse atteint 4,35 % dans les échantillons de ce lot.

#### **2.4. Mélange de sciure de bois, poivre noir et orthonitrobenzaldéhyde (9 lots sur 21)**

Ces poudres brunâtres, de saveur brûlante, laissent apparaître, lors de l'examen microscopique, les éléments caractéristiques de la sciure de bois, d'une part, et du poivre noir (*Piper nigrum*), d'autre part [cellules polygonales du péricarpe bourrées de très petits grains d'amidon; globules d'oléorésine; nombreuses cellules scléreuses (5)]. Une étude chromatographique approfondie a démontré la présence d'Orthonitrobenzaldéhyde présent en une quantité s'échelonnant entre 0,7 et 1,8 % suivant les lots. Nous nous étonnons vivement de la présence de ce produit interdit dans un mélange complexe, ce qui nous suggère une intention machiavélique de la part du fabricant.

#### **2.5. Poudre végétale aromatique (2 lots sur 21)**

A la différence des autres lots, ces poudres brunâtres n'ont pas de saveur brûlante mais elles développent une odeur et une saveur aromatiques. L'analyse microscopique révèle des poils octocellulaires caractéristiques de la famille des Labiées dont certains représentants (marjolaine, basilic) sont réputés sternutatoires. Une comparaison chromatographique a montré de grandes analogies avec certains échantillons de basilic en notre possession, le phénomène de races chimiques étant bien connu pour cette espèce. Le basilic, ainsi que tous les autres représentants des Labiées, n'étant pas interdit ni soupçonné d'exercer une toxicité, nous n'avons pas poursuivi nos recherches sur ces lots qui ne renferment aucune substance interdite à ce jour.

### **CONCLUSIONS**

Parmi les vingt et un lots analysés au laboratoire de pharmacognosie, quatre étaient constitués de vêrâtre, plante vénéneuse pouvant entraîner une intoxication aiguë, voire la mort, surtout chez les enfants. Quinze lots renfermaient des substances toxiques à long terme. Six d'entre eux contenaient de la dianisidine, cancérigène chez l'animal d'expérience, et les neuf autres renfermaient de l'orthonitrobenzaldéhyde, substance mutagène,

mélangée à du poivre et à de la sciure de bois ! Seuls deux lots ne dissimulaient pas de substance interdite.

## REMERCIEMENTS

*Nous remercions vivement M. le Pharmacien M. PETRE, Inspecteur des denrées alimentaires, qui nous a fourni la majorité des échantillons analysés, et MM. les Drs J. GIELEN, chargé de cours associé, et A. NOIRFALISE, chef de travaux, Service de Toxicologie de l'Université de Liège, pour leur intérêt dans la réalisation de ce travail.*

Reçu en mai 1984.

Laboratoire de Pharmacognosie  
Dir. : Prof. L. ANGENOT  
Institut de Pharmacie  
Université de Liège  
Rue Fusch 5,  
B-4000 Liège (Belgique)

## Résumé

Des intoxications provoquées par des poudres à éternuer ont rendu nécessaire le contrôle des échantillons commercialisés, afin d'y détecter la présence éventuelle de substances toxiques d'origine végétale (*Veratrum sp.*, *Helleborus viridis*, *Quillaja sp.*) ou synthétique (benzidine, dianisidine, o-nitrobenzaldéhyde).

Les auteurs donnent un résumé de connaissances analytiques et toxiques à ce sujet et les résultats de leurs analyses sur des échantillons prélevés en Belgique.

## Samenvatting

Door niespoeders veroorzaakte intoxicaties hebben het nodig gemaakt monsters van de daartoe gebruikte produkten uit de handel aan een controle te onderwerpen, teneinde daarin de eventuele aanwezigheid op te sporen van giftige stoffen die ofwel van plantaardige oorsprong zijn (*Veratrum sp.*, *Helleborus viridis*, *Quillaja sp.*), ofwel langs synthetische weg werden vervaardigd (benzidine, dianisidine, o-nitrobenzaldehyde).

De auteurs geven een samenvatting van wat daaromtrent onder analytisch en toxicologisch oogpunt gekend is en delen verder de resultaten mede van de analyses welke zijzelf op in België genomen monsters hebben verricht.

## Bibliographie

- (1) Moniteur Belge du 13 janvier 1982, p. 196. Arrêté royal du 11 janvier 1982 concernant la mise dans le commerce de poudres à éternuer.
- (2) Moniteur Belge du 1<sup>er</sup> février 1983, p. 1551-1552. Arrêté royal du 11 janvier 1983 complétant l'arrêté royal du 11 janvier 1982 concernant la mise dans le commerce de poudres à éternuer.
- (3) M. LIBON. Contribution à l'analyse des poudres sternutatoires. Mémoire de licence en biochimie. Université de Liège - Faculté des Sciences et de Médecine (1984).
- (4) A. DENOËL. Matière végétale. Presses Universitaires de Liège (1958).
- (5) R. PARIS et H. MOYSE. Matière médicale, Tome II. Ed. Masson, Paris (1981).
- (6) MARTINDALE. The Extra-Pharmacopoeia 28<sup>th</sup> Edition. The Pharmaceutical Press, London, 2025 p. (1982).
- (7) B.P. JACKSON and D.W. SNOWDON, Powdered Vegetable Drugs. Ed. J.A. CHURCHILL Ltd, London, 203 p. (1968).
- (8) E. STAHL und W. SCHILD. Pharmazeutische Biologie. 4. Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen, Gustav FISCHER Verlag. Stuttgart, cf p. 164-167 (1981).
- (9) F. BERGER. Handbuch der Drogenkunde. Band V. Wilhelm MAUDRICH, Bonn, cf p. 442-446 (1960).
- (10) L. LEWIN et G. POUCHET. Traité de Toxicologie. O. DOIN, Paris (1906).
- (11) J. DERIVAUX et F. LIEGEOIS. Toxicologie vétérinaire. Ed. DEROUAUX, Liège, 332 p. (1973).
- (12) A.M. DEBELMAS et P. DELAVEAU. Guide des plantes dangereuses. Ed. MALOINE, Paris, 192 p. (1978).
- (13) E. COLLIN. Guide pratique pour la détermination des poudres officinales. O. DOIN, Paris, cf p. 97 (1893).
- (14) P. CARLIER, R. GARNIER et M.L. EFTHYMOU. Un exemple de toxicovigilance. *Journal de Toxicologie médicale*, 3, 113 (1983).
- (15) J. ARDITTI, P. REGLI, J.-M. DAVID, A. DORIS, H. FERRARI et J. JOUGLARD. Confusion Verâtre-Gentiane; de la liqueur à la tisane! *Journal de Toxicologie médicale*, 3, 119 (1983).
- (16) J.-P. GOUFFON, J. GIROUX, A. CHERON, I.S. BEAULTON et J. CASTANG. Recherche de verâtre blanc et d'ortho-nitrobenzaldéhyde dans les poudres à éternuer. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 76, 65 (1983).
- (17) World Health Organization (I.A.R.C.). Monographs on the Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man - Lyon, vol. 4 (1974).
- (18) CHUNG WAI CHIU, L.H. LEE, CHING YUNG WANG et G.T. BRYAN. Mutagenicity of some commercially available nitro compounds for *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research*, 58, 11 (1978).