Université Joseph Fourier
GRENOBLE
PHARMACIE

SICD1
Bibliothèques
de l'UJF et de Grenoble INP

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER

FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année 2014

Le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum* L.): Études botaniques, chimiques et thérapeutiques.

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

DIPLÔME D'ÉTAT

Cécile VIEU, Née le 15 mars 1988 à Guilherand-Granges

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le 27 Mai 2014

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury : Dr Serge KRIVOBOK, Docteur en Pharmacie et Maître de Conférences en Biologie Végétale et Botanique (Directeur de thèse)

Membres du jury : Dr Catherine GILLY, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences en Chimie thérapeutique
Dr Anne-Laure BERNE, Docteur en Pharmacie
Dr Anne-Cécile OLU, Docteur en Pharmacie

La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Christophe RIBUOT**

Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2013-2014

ENSEIGNANTS A L'UFR DE PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES (n=12)

BAKRI	Aziz	Pharmacie Galénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG)
BOUMENDJEL	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
BURMEISTER	Wim	Biophysique (U.V.H.C.I)
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
DROUET	Christian	Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)
DROUET	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I) -
GODIN-RIBUOT	Diane	Physiologie-Pharmacologie (HP2)
LENORMAND	Jean Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)
MARTIN	Donald	Laboratoire TIMC-IMAG (UMR 5525 UJF-CNRS)
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
RIBUOT	Christophe	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
WOUESSIDJEWE	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER (n=6)

ALLENET	Benoit	Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH)
CORNET	Murielle	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH)
DANEL	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
FAURE	Patrice	Biochimie (HP2/PU-PH)
MOSSUZ	Pascal	Hématologie (PU-PH-THEREX-TIMC)
SEVE	Michel	Biochimie – Biotechnologie (IAB, PU-PH)

PROFESSEURS EMERITES (n=2)

CALOP	Jean	Pharmacie Clinique (TIMC-IMAG, PU-PH)
GRILLOT	Renée	Parasitologie – Mycologie Médicale (L.A.P.M)

UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
SCIENCES.TECHNOLOGIE.SANTÉ

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES (n=32)

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie-Mycologie (L.A.P.M)
BATANDIER	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
BELAIDI-CORSAT	Elise	Pharmacologie Physiologie –(HP2)
BOURGOIN	Sandrine	Biochimie – Biotechnologie (IAB)
BRETON	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)
BRIANCON-MARJOLLET	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
BUDAYOVA SPANO	Monika	Biophysique (I.B.S)
CAVAILLES	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
CHOISNARD	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
DELETRAZ-DELPORTE	Martine	Droit Pharmaceutique (Equipe SIS « Santé, Individu, Société »-EAM 4128)
DEMEILLIERS	Christine	Biochimie (L.B.F.A)
DURMORT-MEUNIER	Claire	Biotechnologies (I.B.S)
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M)
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
GROSSET	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M)
GUIEU	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
HININGER-FAVIER	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
JOYEUX-FAURE	Marie	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
KHALEF	Nawel	Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)
KRIVOBOK	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
MELO DE LIMA	Christelle	Biostatistiques (L.E.C.A)
MOUHAMADOU	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
NICOLLE	Edwige	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
OUKACINE	Farid	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
PERES	Basile	Pharmacognosie (D.P.M)
PEUCHMAUR	Marine	Chimie Organique (D.P.M.)
RACHIDI	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
RAVEL	Anne	Chimie Analytique (D.P.M)
RAVELET	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M)
SOUARD	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
TARBOURIECH	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I.)
VANHAVERBEKE	Cécile	Chimie (D.P.M)

UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
SCIENCES. TECHNOLOGIE. SANTÉ

MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER (n=3)

BEDOUCH	Pierrick	Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH)
BUSSER	Benoit	Pharmacie (MCU-PH-IAB-INSERM)
GERMI	Raphaëlle	Microbiologie (U.V.H.C.I/MCU-PH)

PROFESSEUR CERTIFIE (PRCE) (n=2)

FITE	Andrée	P.R.C.E
GOUBIER	Laurence	P.R.C.E

PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (n=4)

BELLET	Béatrice	Pharmacie Clinique
RIEU	Isabelle	Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)
TROUILLER	Patrice	Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU)

PROFESSEUR AGREGE (PRAG) (n=1)

GAUCHARD	Pierre-Alexis	(D.P.M)

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES (AHU) (n=3)

CHANOINE	Sébastien	Pharmacie Clinique (UF-CHU)
GARNAUD	Cécile	Parasitologie-Mycologie
VAN NOLLEN	**Laetitia**	**Biochimie Toxicologie (HP2-DNTP-BGM)**

MEDAILLE D'OR D'ANNE D'INTERNAT SUPPLEMENTAIRE (n=2)

BERNARD	Delphine	période de 6 mois – novembre 2013 à avril 2014
GAUTIER	Elodie	période de 6 mois – mai 2014 à novembre 2014

UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

ATER (n= 3)

BRAULT Julie	ATER	Pharmacologie - Laboratoire HP2 (JR)
GRAS Emmanuelle	ATER	Physiologie-Pharmacologie - Laboratoire HP2 (JR)
LEHMANN Sylvia	ATER	Biochimie Biotechnologie (JR)

MONITEUR ET DOCTORANTS CONTRACTUELS

BEL	Coraline	(01-10-2012 au 30-09-2014)	
BERTHOIN	Lionel	(01-10-2012 au 30-09-2014)	Laboratoire (TIMC-IMAG-THEREX)
BOSSON	Anthony	(01-10-2013 au 30-09-2015)	Laboratoire GIN
CAVAREC	Fanny	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
CHRISTEN	**Aude**	(01-10-2013 au 30-09-2015)	DCM
CRESPO	Xenia	(01-10-2013 au 30-09-2015)	LBGE
LECERF-SHMIDT	Florine	(01-10-2012 au 30-09-2014)	Pharmacochimie (DPM)
LESART	Anne-Cécile	(01-10-2009 au 30-09-2013)	Laboratoire (TIMC-IMAG)
MELAINE	Feriel	(01-11-2011 au 31/10.2014)	Laboratoire HP2(JR)
MORAND	Jessica	(01-10-2012 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
NASRALLAH	Chady	(01-10-2011 au 30-09.2013)	Laboratoire HP2(JR)
OUIDIR	Marion	(01-10-2011 au 30-09-2014)	
THOMAS	Amandine	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)

Professeur Invité

NURISSO	**Alessandra**	(01/11/13 au 31/12/2013))

CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »
IBS : Institut de Biologie Structurale
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition
UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

REMERCIEMENTS

À Monsieur Serge Krivobok,
Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse ; merci pour votre soutien, vos conseils, votre humanité et pour le temps que vous m'avez accordé.

À Madame Catherine Gilly,
Merci d'avoir accepté de faire partie du jury.

À Anne-Cécile et Anne-Laure,
Je vous remercie de juger mon travail. Chacune à votre manière, vous m'avez transmis votre façon de travailler, votre vision de ce métier et vos connaissances.

À ma maman, mon papa, Beau-Papa, mon frère et sa petite famille, ma famille,
Merci d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir soutenu pour en arriver jusque-là. Je vous dois beaucoup.

À Alexis,
Merci pour ton soutien et pour tout le reste.

À Amandine,
Oui parce que bon, on a quand même passé toutes nos années de faculté ensemble. J'en garde que des bons souvenirs : des fous rires, des sorties, des soirées, du sport, des vacances. Je te remercie d'avoir toujours été là. En attente de nos prochaines aventures…

À mes amis,
Pour tous nos moments partagés et pour ceux qui viendront je vous remercie.

À Monsieur Bernard Modelon et à toute son équipe,
Je vous remercie de m'avoir accueillie dans votre officine dès mes débuts, de m'avoir enseigné ce métier tout le long des mes études et d'avoir fait ce que je suis maintenant.

Table des matières

Liste des tableaux …… 1
Liste des figures ……..... 2
Liste des abréviations ……..... 3
Lexique …….. 4
INTRODUCTION ET HISTORIQUE ……...… 7
Partie I : Botanique d'*Aesculus hippocastanum* L. ……9
I.1. Classification et caractéristiques botaniques du marronnier d'Inde ……..…... 10
I.1.1. Caractéristiques de la famille des Hippocastanacées ……..…… 10
I.1.2. Généralités sur le genre *Aesculus* ……...…… 11
I.1.3. *Aesculus hippocastanum* L. ……...…. 11
I.1.3.1 Description botanique du Marronnier d'Inde…….11
I.1.3.2. Répartition géographique du Marronnier d'Inde ……..... 14
I.1.4. Autres espèces du genre *Aesculus* ……...……..... 15
I.1.4.1. *Aesculus pavia* ……..…….……15
I.1.4.2. *Aesculus octandra* ……..…….. 15
I.1.4.3. *Aesculus* x *carnea* ……..... 16
I.2. Culture, récolte et production du marronnier d'Inde…….. 17
I.2.1. Culture : exigences du sol et conditions climatiques…….…..17
I.2.1.1. pH du sol……....17
I.2.1.2. Conditions climatiques ……17
I.2.1.3. Besoin en eau……18
Partie II : Composition chimique d'*Aesculus hippocastanum* L. .....……..19
II.1. Identifications macroscopique et microscopique du marronnier d'Inde……...20
II.1.1. Identification macroscopique et microscopique de l'écorce du marronnier d'Inde……..…..20
II.1.1.1. Identification macroscopique de l'écorce du marronnier d'Inde…….20
II.1.1.2. Identification microscopique de l'écorce du marronnier d'Inde……..20
II.1.2. Identifications macroscopique et microscopique de la feuille du marronnier d'Inde……...……..20
II.1.3. Identifications macroscopique et microscopique du fruit du marronnier 21
II.2. Composition chimique de *Aesculus hippocastanum* L..……...…21
II.2.1. Composition chimique de l'écorce du marronnier d'Inde……..21

II.2.2. Composition chimique de la feuille du marronnier d'Inde……..…..21
II.2.3. Composition chimique de la graine du marronnier d'Inde……..21
II.2.4. Composition chimique de la fleur du marronnier d'Inde …….…..22
II.2.5. Composition chimique du bourgeon du marronnier d'Inde……23
II.3. Les saponosides……..23
II.3.1. Généralités sur les saponosides……...23
II.3.2. Structure des saponosides……...….23
II.3.2.1. Génines stéroïdiques ……24
II.3.2.2. Génines triterpéniques……..24
II.3.2.3. Oses……..25
II.3.3. Propriétés physico-chimiques des saponosides……..……26
II.3.4. Extraction, séparation et identification des saponosides……26
II.3.4.1. Extraction des saponosides…….…..26
II.3.4.2. Séparation et identification des saponosides……...….26
II.3.4.3. Dosage des saponosides……...27
II.3.5. Saponosides d'*Aesculus hippocastanum* ……...27
II.3.5.1. Composition en saponosides……...….27
II.3.5.2. Distribution des saponosides de *Aesculus Hippocastanum* ……..…28
II.3.5.3. Pharmacocinétique des saponosides de *Aesculus Hippocastanum*……..28
II.3.5.4. Effets de l'aescine sur les enzymes du cytochrome P450 chez le rat…...28
II.4. Les flavonoïdes……..…29
II.4.1. Généralités sur les flavonoïdes……..…..29
II.4.2. Structure des flavonoïdes……...….30
II.4.3. Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes……...31
II.4.4. Extraction, séparation et identification des flavonoïdes……..…31
II.4.4.1. Extraction des flavonoïdes……...…31
II.4.4.2. Séparation et identification……. ….31
II.4.4.3. Dosage des flavonoïdes……...31
II.4.5. Flavonoïdes d'*Aesculus hippocastanum*……..31
II.4.5.1. Composition en flavonoïdes……..…31
II.4.5.2. Données quantitatives……...……31
II.4.5.3. Distribution des flavonoïdes de *Aesculus Hippocastanum*……..32
Partie III : Intérêts thérapeutiques et toxicité d'*Aesculus hippocastanum* L..…….33
III.1. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'insuffisance veineuse……...……34
III.1.1. Action antioedèmateuse *d'Aesculus hippocastanum*…….34

III.1.2. Action anti-inflammatoire et antioxydante *d'Aesculus hippocastanum*……...35
III.1.2.1. Action anti-inflammatoire *d'Aesculus hippocastanum*……..….35
III.1.2.2. Action *d'Aesculus hippocastanum* dans le stress oxydant……..…36
III.1.3. Action veinotonique *d'Aesculus hippocastanum*……..….37
III.1.4. Action *d'Aesculus hippocastanum* dans l'insuffisance veineuse chronique……..38
III.1.4.1. Rappels sur l'insuffisance veineuse chronique……...38
III.1.4.1.1. Physiologie du système veineux inférieur……...38
III.1.4.1.2. Étiologies d'une insuffisance veineuse chronique……...…38
III.1.4.1.3. Expression clinique d'une insuffisance veineuse chronique....38
III.1.4.2. Les études sur l'insuffisance veineuse chronique……...39
III.1.5. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur les hémorroïdes……..…...39
III.1.6. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur les œdèmes postopératoires……..40
III.2. Action *d'Aesculus hippocastanum* dans le traitement des troubles de la perfusion de l'oreille interne……...40
III.3. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur le cancer……...41
III.4. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'absorption de l'éthanol et l'activité hypoglycémique…….……42
III.5.Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'obésité……...….43
III.6. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'infertilité causée par la varicocèle……...43
III.7. Action d'*Aesculus hippocastanum* en cas d'ischémie rétinienne…….…44
III.8. Action d'*Aesculus hippocastanum* en cosmétique……...44
III.9.Toxicologie d'*Aesculus hippocastanum*……...44
III.9.1. Effets indésirables……44
III.9.2. Dose létale 50……45
III.9.3. Génotoxicité……..45
III.9.4. Tératogénicité……..46
Partie IV : Utilisations d'*Aesculus hippocastanum* L. ……47
IV.1. Utilisations pharmaceutiques……..……..48
IV.1.1. Médicaments à base de marronnier d'Inde……..……..48
IV.1.2. Médicaments allopathiques……49
IV.1.3. Médicaments homéopathiques……..….50
IV.1 4. Compléments alimentaires ……..…..52
IV.1.5. Traitement local……..……53
IV.1.6. Tisanes……53
IV.1.7. Conseils aux patients ……53

IV.2. Utilisations alimentaires……55
IV.3. Utilisations industrielles……..…..55
CONCLUSION.....56
BIBLIOGRAPHIE…….….58
ANNEXE I……....65
Monographie du marron d'Inde (Pharmacopée Française XIe édition)……....66
ANNEXE II…….67
Monographie de l'extrait de marron d'Inde sec (Pharmacopée Française XIe édition)……....68
ANNEXE III…….…69
Monographie de l'extrait de marron d'Inde mou (Pharmacopée Française XIe édition)……..70
ANNEXE IV……..71
Monographie de l'extrait de marron d'Inde stabilisé sec (Pharmacopée Française XIe édition)…….……..72
ANNEXE V…… ..73
Monographie de l'inflorescence de marronnier d'Inde (Pharmacopée Française XIe édition)……..….74
ANNEXE VI ……...75
Monographie de la teinture de marron d'Inde stabilisé (Pharmacopée Française XIe édition)……...……76
SERMENT DE GALIEN……...77

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition en caroténoïdes des fleurs du marronnier d'Inde

Tableau 2: Composition en caroténoïdes (%) d'*Aesculus hippocastanum*

Tableau 3: Effets de l'aescine sur différents cytochromes chez le rat

Tableau 4: Résultats de l'étude aescine *versus* placebo sur les hémorroïdes

Tableau 5: Récapitulatif des conseils à donner aux patients sur leur hygiène de vie afin de diminuer les symptômes d'une insuffisance veineuse

Liste des figures

Figure 1: Planche botanique d'*Aesculus hippocastanum* L.
Figure 2 : Planche d'herbier d'*Aesculus hippocastanum* L.
Figure 3 : Schéma de la classification des Embryophytes
Figure 4 : *Aesculus hippocastanum* L.
Figure 5 : Feuilles d'*Aesculus hippoccastanum* L.
Figure 6 : Fleurs d'*Aesculus hippocastanum* L.
Figure 7 : Formule florale du marronnier d'Inde
Figure 8 : Fruit d'*Aesculus hippocastanum* L
Figure 9 : Répartition du Marronnier d'Inde en France
Figure 10 : Fleurs et feuilles d'*Aesculus pavia*
Figure 11 : Fleurs et feuilles d'*Aesculus octandra*
Figure 12 : Fleurs et feuilles d'*Aesculus* x *carnea*
Figure 13 : Caractéristiques du sol pour une culture d'*Aesculus hippocastanum*
Figure 14 : Conditions climatiques nécessaires à une culture d'*Aesculus hippocastanum*
Figure 15: Structure chimique du spirostane.
Figure 16: Structure chimique de génines triterpéniques (39). A : Lupéol, B : Bétuline, C : Acide bétulinique, D : Érythrodiol, E : Acide oléanolique, F : Acide ursolique.
Figure 17: Structure chimique de l'aescine
Figure 18: Structure générale des flavonoïdes, isoflavonoïdes et néoflavonoïdes respectivement
Figure 19: Structure des squelettes des différents groupes de flavonoïdes
Figure 20: Structure chimique des flavonoïdes identifiés
Figure 21: Représentations simplifiées de la perméabilité des vaisseaux capillaires dans les tissus conjonctifs
Figure 22 : Représentation du système veineux inférieur

Liste des abréviations

5-FU : 5-fluorouracile

ALAT : Alanine Aminotransférase

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ASAT : Aspartate Aminotransférase

APG : *Angiosperms Phylogeny Group*

AT_{1} : Angiotensine 1

ATP : Adénosine Tri Phosphate

IVC : Insuffisance Veineuse Chronique

DH : Décimale Hahnemannienne

DL_{50} : Dose létale 50%

IL-1β : Interleukine 1β

LPS : Lipopolysaccharide

NF-κB : Facteur Nucléaire κB

$O_2^{\cdot -}$: anion superoxyde

SPF : Sun Protection Factor

TM : Teinture Mère

TNFα : *Tumor Necrosis Factor* α

UPLC : Chromatographie Liquide Ultra Performance

Lexique (99)

Acuminé : Se dit d'un organe dont l'extrémité se termine brusquement en pointe fine et plus ou moins allongée.

Andromonoïque : Espèce représentée par un seul type d'individus portant à la fois des fleurs hermaphrodites et des fleurs mâles.

Angiospermes : C'est l'un des deux sous-embranchements des spermaphytes qui rassemble les plantes dont l'ovule est inclus dans un ovaire clos.

Bourgeon : Organe composé d'un axe très court (future tige, futur rameau ou future feuille) qui chez les espèces ligneuses porte des ébauches foliaires imbriquées et couvertes d'écailles.

Caduque : Se dit d'un organe qui tombe naturellement après avoir rempli sa fonction.

Calice : Ensemble des sépales.

Capsule : Fruit sec déhiscent.

Carpelle : Organe sexuel femelle de la fleur comprenant l'ovaire surmonté du style qui se termine en stigmate.

Composé : Se dit d'une feuille dont le limbe est divisé en sous-unités individualisées (les folioles).

Cyme : Inflorescence définie, composée d'un axe principal et d'axes latéraux, ramifiés ou non, chacun de ces axes étant terminé par une fleur.

Déhiscence : Se dit d'un organe (fruit) qui s'ouvre de lui-même à maturité pour libérer son contenu.

Dicotylédones = **Eudicots** : Groupe chez les Angiospermes comprenant les plantes dont l'embryon a deux cotylédons lui servant de réserve.

DL_{50} = Dose létale 50: Quantité d'une substance pouvant entraîner la mort de 50% d'organismes vivants.

Écaille : Élément plus ou moins coriace du bourgeon.

Entomophile : Pollinisation effectuée par les insectes.

Foliole : Chaque division du limbe d'une feuille composée.

Gymnospermes : Plantes à ovules nus.

Gynécée : Ensemble des carpelles formant l'organe femelle d'une fleur.

Héliophile : Qualifie une espèce végétale ayant d'importants besoins en lumière pour se développer.

Hermaphrodite : Se dit d'une fleur bisexuée portant à la fois étamines et carpelles.

Hile : Cicatrice laissée à la surface externe du tégument d'une graine, à l'endroit où celle-ci était rattachée au fruit par le funicule.

Hypogone : Se dit d'une fleur dont les pièces florales sont insérées en dessous de l'ovaire qui est dit supère.

Liber = Phloème : Tissu végétal conducteur d'origine secondaire, qui contient la sève élaborée.

Lichen : Végétal symbiotique formé par l'association d'une algue microscopique et d'un champignon filamenteux.

Loculicide : Se dit d'une capsule à déhiscence par des fentes longitudinales au niveau des nervures dorsales des carpelles qui sont à l'origine de cette capsule.

Loge : Cavité d'un fruit, délimitée par des cloisons.

Mésophile : Se dit d'une plante qui croît dans des conditions de températures modérées.

Mésophylle : Zone interne du limbe de la feuille, comprise entre les couches épidermiques.

Nectaire : Petite émergence, à la base de divers organes d'une plante (feuille, ovaire, étamine), où se produit la sécrétion de nectar, recherché par les insectes pollinisateurs.

Palmatilobée : La nervation des feuilles part du même point au sommet du pétiole, et les lobes sont peu marqués.

Persistant : Qualifie des organes qui subsistent à la fin de chaque cycle végétatif annuel.

Pétiole : Partie rétrécie de la feuille qui unit le limbe à la tige chez les plantes dicotylédones. (C'est la « queue » de la feuille. Les feuilles sans pétiole sont dites *sessiles*.)

Racème : Grappe.

Sclérenchyme : Tissu mort à maturité qui provient de la différenciation d'un parenchyme ou de fibres par un épaississement parfois très important et une lignification des parois secondaires. Tissu de soutien et de protection résistant.

Sépale : Pièce du calice de la fleur.

Spermatophytes : (ou Phanérogames) Incluent toutes les plantes à graines. On différencie les **Gymnospermes** (plantes à ovule nu et à graine nue) des **Angiospermes** (plantes à ovule protégé par un ovaire, et à graine protégée par le fruit = péricarpe).

Stigmate : Partie différenciée du carpelle portée par le style, destinée à recevoir les grains de pollen.

Stipules : Petits appendices symétriques disposés de chaque côté du pétiole de certaines feuilles.

Style : Partie allongée d'un carpelle supportant le stigmate.

Suber : Tissu externe du périderme formé de cellules parallélépipédiques mortes remplies d'air, à paroi subérifié.

Supère : Se dit d'un ovaire placé en apparence au-dessus des autres pièces de la fleur qui s'insèrent à sa base.

Zygomorphe : Se dit d'une fleur dont les différentes pièces de chaque verticille sont disposées symétriquement par rapport à un plan. On a une moitié droite et une moitié gauche.

INTRODUCTION ET HISTORIQUE



Figure 1: Planche botanique d'*Aesculus hippocastanum* L. (18)

Dans une société où le médicament allopathique est de plus en plus remis en cause, la phytothérapie devient un moyen plus sûr, plus naturel et présentant moins d'effets indésirables pour se soigner. L'accès aux plantes possédant des effets thérapeutiques devient un atout qu'il faut savoir maîtriser ; en effet, elles peuvent posséder diverses propriétés médicinales et il est nécessaire de les connaître et de les maîtriser afin d'en faire un bon usage. Le marronnier d'Inde ou *Aesculus hippocastanum* L. appartient à la famille des Hippocastanacées ; c'est l'une des plantes faisant partie de la liste A des plantes inscrites à la Pharmacopée Française et dont la graine fait l'objet d'une monographie européenne (49). Cet arbre, originaire des Balkans, aurait été introduit en France en 1576 et serait devenu citadin en sillonnant les avenues de Paris dès 1615 (15). Son nom « châtaigne de cheval » proviendrait du grec *hippos* « cheval » et *kastania* « châtaigne ». En effet, les Turcs donnaient les graines du marronnier d'Inde aux chevaux souffrant de problèmes respiratoires (16). On peut également le retrouver sous d'autres noms vernaculaires tels que faux-châtaignier (pour faire opposition au châtaignier dont on mange le fruit), châtaignier de mer (par comparaison avec l'oursin) (17 ; 60). *Aesculus* était le nom d'un chêne à glands comestibles. En 1737, ce nom a été donné à cet arbre par le naturaliste Carl Von Linné.

Les propriétés médicinales sont découvertes dès 1720 ; l'écorce du marronnier était utilisée comme fébrifuge à la place du quinquina, puis fut utilisé en médecine populaire comme astringent dans le cas de diarrhées, de catarrhe intestinal chronique, d'hémorragies… En usage externe, l'écorce était utilisée en tant qu'antiseptique des ulcères et des plaies. Plus tard, dans les années 1800, les marrons d'Inde se sont montrés d'une efficacité certaine contre les hémorroïdes et les varices (60). L'extrait des fleurs et des feuilles était utilisée dans la goutte, les rhumatismes et la coqueluche. De plus, on dit que porter un ou deux marrons d'Inde dans la poche permettrait d'enlever les douleurs articulaires en cas de rhumatisme (59).

Aujourd'hui, les recherches se poursuivent afin d'expliquer les effets thérapeutiques déjà connus ainsi que d'en découvrir de nouveaux, notamment dans le domaine de la cancérologie.

Le marronnier d'Inde n'a pas qu'un usage thérapeutique. Les marrons d'Inde ont été utilisés comme alimentation du bétail bien qu'ils soient toxiques ; ils ont également servi de base moussante dans les lessives ou savons (60 ; 12). Le bois fut employé en ébénisterie et l'écorce en tannerie et teinturerie (14).

En début de ce mémoire, nous étudierons la botanique du marronnier d'Inde, puis la composition chimique des différentes parties de la plante afin de s'intéresser aux molécules responsables des effets thérapeutiques et toxiques. Nous terminerons par la présentation les différents médicaments et compléments alimentaires existants.

Partie I

Botanique

d'*Aesculus hippocastanum* L.



Figure 2 : Planche d'herbier d'*Aesculus hippocastanum* L. (1)

I.1. Classification et caractéristiques botaniques du marronnier d'Inde

Dans le règne végétal, le Marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum* Linné) appartient à l'embranchement des Spermatophytes* qui se divise en deux : les Gymnospermes* (du grec *gymno* = nu et *sperma* = graine, semence, sperme) et les Angiospermes* (du grec *angio* = vase et *sperme* = graine) (Figure 3). La différence se situe au niveau des ovules : dans le cas des Gymnospermes, les ovules sont nus (non enclos dans un ovaire), alors que dans le cas des Angiospermes, les ovules sont protégés dans un ovaire qui se développera en fruit. De plus, les organes reproducteurs sont condensés dans une fleur (2).

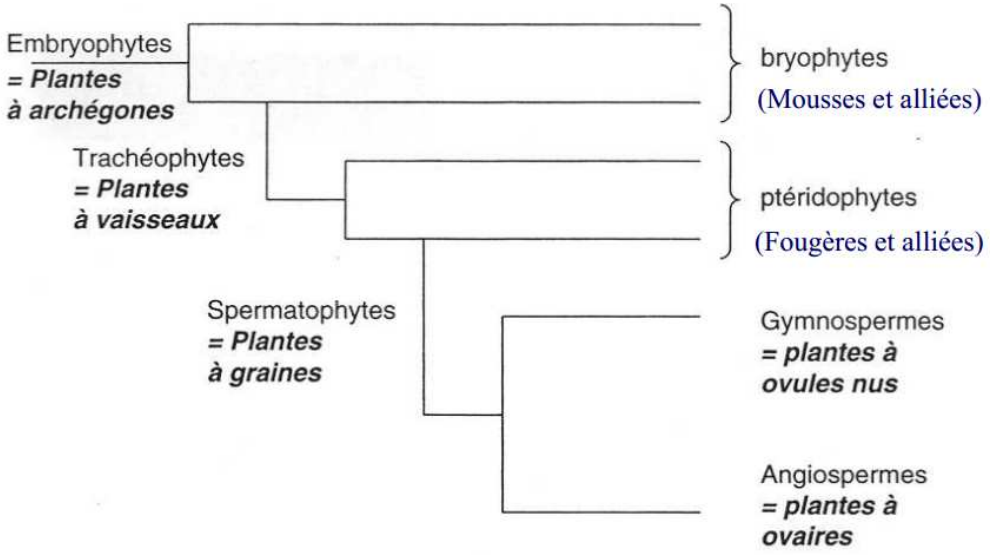


Figure 3 : Schéma de la classification des Embryophytes (3)

Classification classique du Marronnier d'Inde :

- Règne Plantes
- Sous-règne Tracheobionta
- Division Magnoliophyta
- Classe Magnoliopsida
- Sous-classe *Rosidae*
- Ordre Sapindales
- Famille *Hippocastanaceae*
- Genre *Aesculus*
- Espèce *hippocastanum*

I.1.1. Caractéristiques de la famille des Hippocastanacées (4 ; 5 ; 6 ; 9)

La famille des Hippocastanacées ne fait pas partie de la classification APG II (*Angiosperms Phylogeny Group* (2003), ni de la classification APG III (modifié en 2009). Ses genres sont incorporés avec les *Sapindaceae*, au sein des plantes dicotylédones*. Elle est dans la sous-classe

des *Rosideae* et dans l'ordre des Sapindales. D'après Watson et Dallwitz (1992), cette famille contient deux genres (*Aesculus* et *Billia*) et quinze espèces.

Poussant dans les régions tempérées à tropicales (Amérique Centrale, Malaisie), ces arbres ou arbustes présentent une écorce lisse, brune à noire. Les bourgeons* sont gros avec des écailles* engainantes, visqueuses. Ces plantes portent des feuilles caduques* ou persistantes*, opposées, composées*, digitiformes, ne possédant pas de stipule*. Le fruit est une capsule* loculicide* s'ouvrant au niveau des loges*.

Les fleurs sont groupées en racème* ou en cyme*. Elles sont andromonoïques* (fleurs hermaphrodites* et fleurs mâles se trouvant sur le même pied), irrégulières, à 5 sépales* soudés, 4-5 pétales libres blancs, jaunâtre ou rouge. Le nectaire* en forme de croissant de lune, est développé entre les pétales et les étamines. Ces dernières sont au nombre de 5 à 8. Le gynécée* est formé de 3 carpelles* qui sont soudés en un ovaire supère* à 3 loges ovariennes comprenant chacune 2 ovules en implantation axile. Le fruit est une capsule épineuse ou lisse ne contenant qu'une seule graine de grosse taille (les autres graines ayant avortées). À noter sur la graine, la présence d'un hile* particulièrement important.

I.1.2. Généralités sur le genre *Aesculus* (7 ; 10)

Le genre *Aesculus* contient 14 espèces habitant l'Asie et l'Amérique septentrionale. Ce sont des arbres rustiques poussant sur divers sols et ne nécessitant peu d'exigences vis-à-vis du climat. Les feuilles sont palmatilobées*. Les inflorescences sont en grandes panicules dressées. Les fruits sont protégés dans une bogue épineuse ou lisse. La couleur des fleurs varie selon les espèces, pouvant être blanche, rouge ou jaune. L'écorce se détache par plaques durant la vieillesse. Les rameaux sont couverts de lenticelles pouvant être rugueuses. Les bourgeons sont visqueux ou non.

I.1.3. *Aesculus hippocastanum* L.

I.1.3.1 Description botanique du Marronnier d'Inde (10 ; 11 ; 12 ; 13 ; 14 ; 15 ; 16 ; 17)

Le Marronnier d'Inde (Figure 4) est un arbre robuste, élevé (entre 15 et 30 mètres) et touffu. Il est mature vers l'âge de 15-20 ans (date à laquelle il produit ses premiers marrons) et peut vivre de 150 à plus de 250 ans. À l'âge de 250 ans, le tronc peut atteindre 5 mètres de diamètre à 18 m de hauteur. Le tronc est massif et se divise en plusieurs branches moins trapues de façon ascendante puis horizontale ou penchée.



Figure 4 : *Aesculus hippocastanum* L. (21)

Brun rougeâtre, l'écorce est pendant longtemps lisse. Puis, elle devient gris-noirâtre, se fissure et s'écaille en larges plaques sur les arbres plus âgés.

Les bourgeons sont très caractéristiques et sont les plus gros de tous les feuillus d'Europe ; de 15 à 20 mm, ils sont bruns, gonflés, luisants et couverts d'écailles visqueuses, et surtout visibles en hiver.



Figure 5 : Feuilles d'*Aesculus hippoccastanum* L. (21)

Les feuilles (Figure 5) mesurant 10 à 30 cm sont grandes, opposées, longuement pétiolées* (10 à 20 cm), digitées. Elles sont composées de 5 à 7 folioles* (10-15 cm de long) obovales en coin, acuminées*, inégalement dentées, vertes, glabre, sans stipule. Les cicatrices des feuilles forment des fers à cheval.



Figure 6 : Fleurs d'*Aesculus hippocastanum* L. (20)

Les fleurs (mesurant environ 2 cm) sont irrégulières, zygomorphes*, blanches, tachées de rouge et de jaune, grandes en thyrses pyramidaux (15 à 30 cm de hauteur et pouvant compter jusqu'à 90 fleurs), terminaux, dressés (Figure 6). Elles sont odorantes et mellifères. Le calice* est monosépale, en cloche, à 5 dents inégales, caduques. La fleur possède 5 à 6 pétales inégaux, chiffonnés et pubescents. Les 7 étamines, inégales, arquées en dehors sont insérées sur un disque hypogone*. Les fleurs s'épanouissent de bas en haut en avril-mai.

Il y a un style* et un stigmate* aigu. L'ovaire est libre et contient 3 loges.

La formule florale du marronnier d'Inde est alors X : (5S) + 5-6P + 7E + (3C) (Figure 7)

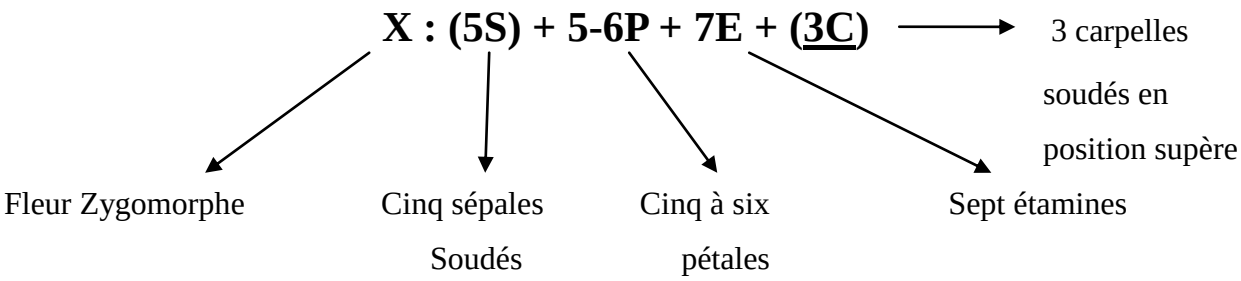


Figure 7 : Formule florale du marronnier d'Inde

Le fruit (Figure 8) est une capsule très grosse, globuleuse, coriace, épineuse, verdâtre, s'ouvrant en octobre en trois valves. Elle contient une à deux très grosses graines, subglobuleuses, luisantes, à hile orbiculaire blanchâtre. La graine est de couleur brun acajou et mesure de 5 à 6 cm.



Figure 8 : Fruit d'*Aesculus hippocastanum* L. (22)

Au départ, l'ovaire est formé de 3 carpelles soudés. Parmi les 6 ovules à placentation axile, un seul se développera en graine. La graine en se développant prend toute la place dans sa loge au détriment des deux autres loges carpellaires qui seront aplaties et mises de côté. La déhiscence* s'effectue par trois fentes, chacune située au milieu des loges. Le marron est séparé du péricarpe par les cloisons inter-carpellaires.

I.1.3.2. Répartition géographique du Marronnier d'Inde (12 ; 13 ; 14)

Originaire des Balkans (Bulgarie, Albanie et le Nord de la Grèce), le Marronnier d'Inde est devenu un arbre ornemental sillonnant les grandes avenues et très présent dans les parcs français. Il vit dans les forêts et les gorges des massifs jusqu'à 800 m d'altitude. En France, il s'adapte presque de partout, excepté les zones s'élevant à plus de 800 m et les zones trop sèches (Figure 9).

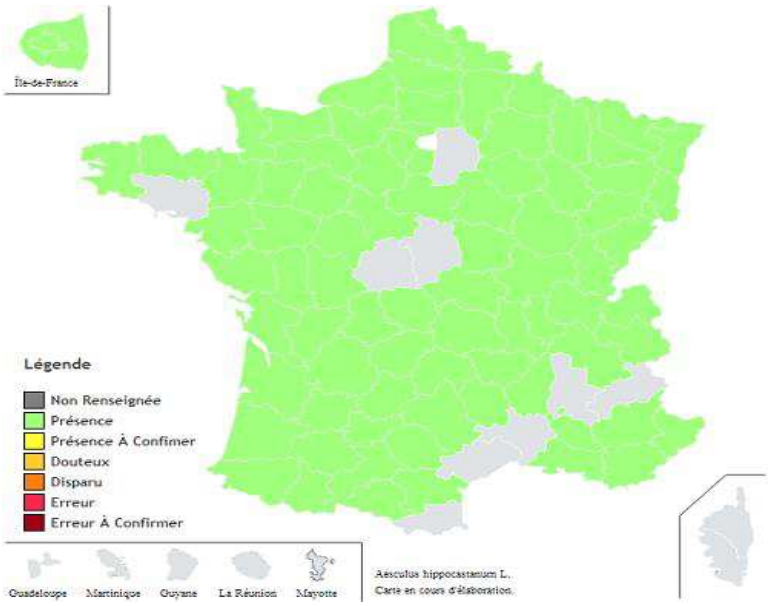


Figure 9 : Répartition du Marronnier d'Inde en France (8)

I.1.4. Autres espèces du genre *Aesculus* (7)

I.1.4.1. *Aesculus pavia* (13 ; 60)

Communément appelé marronnier rouge ou pavier rouge (*Aesculus pavia* Linné (synonyme : *Pavia rubra* Poir.), ce petit arbre mesure entre 6 et 20 mètres. Ses fleurs (Figure 10) sont d'une couleur rouge vif et disposées en panicules lâches de 10 à 15 cm de hauteur. La floraison a lieu en mai ou en juin. Les bourgeons ne contiennent pas de résine visqueuse. Les feuilles ne possèdent que cinq folioles glabres de 10 à 15 cm le long. La forme pure est rarement rencontrée le long des allées et est facilement reconnue par son écorce lisse. Son fruit mûrit en septembre et en octobre et donne une capsule ovoïde sans piquant contenant une seule graine de grosse taille marron et lisse.



Figure 10 : Fleurs et feuilles d'*Aesculus pavia* (25)

C'est une espèce originaire des États-Unis.

I.1.4.2. *Aesculus octandra* (13 ; 58)

Le marronnier jaune (*Aesculus octandra* Marsh.) mesure entre 6 et 20 mètres. Ses fleurs (Figure 11) sont de couleur jaune ou blanc-jaunâtre, sans dessin rouge, à corolle tubulaire, et formant des panicules dressés de 12 à 15 cm de haut. Sa floraison a lieu en mai et juin. Seules les fleurs proches de la base de l'inflorescence sont fertiles. Ses feuilles, vertes plus foncées au-dessus, sont opposées, composées-palmées (5 folioles de 10-15 cm de long, elliptiques et finement dentées).



Figure 11 : Fleurs et feuilles d'*Aesculus octandra* (24)

La capsule contient généralement une seule graine. Mais elle peut contenir jusqu'à six graines en fonction du nombre d'ovules avortés.

Cet arbre pousse en Amérique du Nord et demande un sol bien aéré, riche en nutriments, humides et profond. Il pousse très bien sur les berges des cours d'eau Il est trop exigeant pour obtenir des allées alignées de marronniers.

I.1.4.3. *Aesculus* x *carnea* (14 ; 30)

Hydride entre le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) et le marronnier rouge (*Aesculus pavia*), *Aesculus* x *carnea* Hayne (synonyme *Aesculus rubicunda* Loisel) est souvent planté comme arbre ornemental en Europe. Il diffère du marronnier d'Inde par ses fleurs rose ou rouge (Figure 12), par ses fruits (la capsule est très peu épineuse) et ses bourgeons non visqueux.



Figure 12 : Fleurs et feuilles d'*Aesculus* x *carnea* (25)

Ses cinq folioles de 8 à 15 cm sont de couleur vert foncée et légèrement luisants sur le dessus. Ils sont plus fermes que le marronnier d'Inde. Il n'est pas aussi grand que ce dernier et mesure vers les 15 mètres de hauteur.

I.2. Culture, récolte et production du marronnier d'Inde

I.2.1. Culture : exigences du sol et conditions climatiques (13 ; 15 ; 27 ; 30 ; 41)

Arbre de pleine lumière, le marronnier d'Inde doit être semé en novembre ou décembre, ce qui lui permettra de bien germer au printemps. Sa pousse est rapide : il peut atteindre jusqu'à 0,75 m la première année.

I.2.1.1. pH du sol

Le marronnier d'Inde a besoin d'un sol argileux et sableux et d'une terre drainée et humide, le pH idéal étant plutôt neutre voire basique (Figure 13) ; c'est une espèce neutrocline. Le sol doit être profond, frais et riche en substances nutritives. Les feuilles ont besoin d'azote pour garder leur couleur verte. Le phosphore permet un bon développement des fleurs. Le potassium s'assure de la défense contre les maladies ou les insectes.

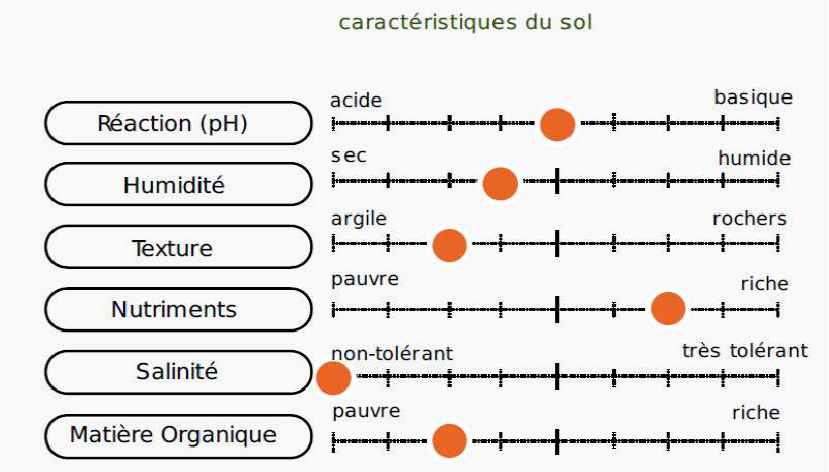


Figure 13 : Caractéristiques du sol pour une culture d'*Aesculus hippocastanum* (26)

I.2.1.2. Conditions climatiques

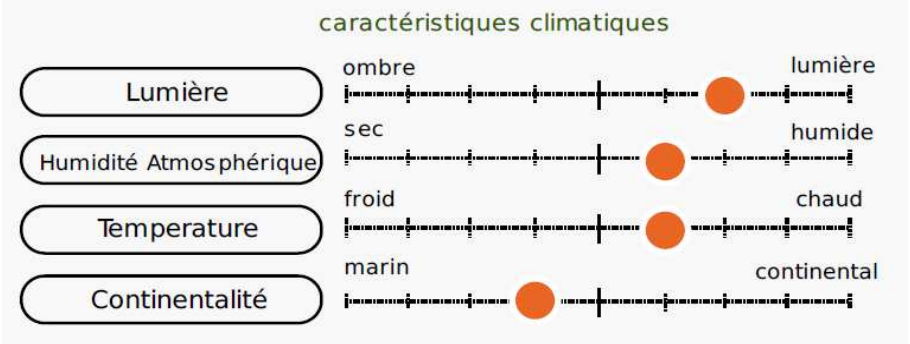


Figure 14 : Conditions climatiques nécessaires à une culture d'*Aesculus hippocastanum* (26)

Le marronnier d'Inde, mésophile*, peut être planté dans la majeure partie de la France, notamment en plaine ou dans les régions collinéennes, préférant les climats doux. Espèce héliophile*, elle a besoin de beaucoup de soleil pour une croissance rapide, mais une ombre partielle ne lui est pas néfaste (Figure 14).

I.2.1.3. Besoin en eau (12 ; 13)

Le marronnier d'Inde souffre de la sécheresse en particulier l'été ou lorsqu'il est planté à proximité de l'asphalte, et de la pollution.

Partie II

Composition chimique
d'*Aesculus hippocastanum* L.

II.1. Identifications macroscopique et microscopique du marronnier d'Inde (28)

II.1.1. Identification macroscopique et microscopique de l'écorce du marronnier d'Inde

II.1.1.1. Identification macroscopique de l'écorce du marronnier d'Inde

L'écorce récoltée forme des fragments de 1 à 2 mm d'épaisseur, cannelés ou en copeaux. La surface externe est de couleur cuivrée, lisse et légèrement brillante, partiellement recouverte de lenticelles rondes dans le cas de l'écorce jeune. Dans le cas d'une écorce plus âgée, la surface externe est de couleur gris mat à noire, crevassée et rugueuse. Elles peuvent être recouvertes de lichen* dans ce dernier cas. La surface interne est lisse, de couleur jaune-brun. La zone de cassure est granuleuse au niveau de la partie externe et fibreuse du coté interne. L'odeur est très faible, parfois elle sent le moisi.

II.1.1.2. Identification microscopique de l'écorce du marronnier d'Inde

L'écorce jeune possède une fine couche de suber*. Puis, quand l'écorce mûrit, ces couches s'alternent avec des couches à parois plus épaisses. Entre le liber* primaire et secondaire se trouve un anneau discontinu de fibres sclérenchymateuses* et de cellules à cristaux. Le liber secondaire possède des rayons médullaires unisériés. Dans sa partie externe le liber secondaire possède des paquets de fibres libériennes entourées de cellules à cristaux, et des groupes de cellules ramifiées à cristaux. Dans le cas des écorces les plus épaisses, on trouve des bandes de fibres libériennes accompagnées de gaines cristallogènes (grands cristaux rhombiques d'oxalate de calcium) au niveau de la partie interne. Le liber primaire présente de nombreuses macles d'oxalates de calcium, rare dans la partie interne de l'écorce.

II.1.2. Identifications macroscopique et microscopique de la feuille du marronnier d'Inde

Les feuilles du marronnier d'Inde sont opposées, longuement pétiolées, de forme palmée, composée de 5 à 7 folioles. La face supérieure est de couleur vert-brun et la face inférieure est de couleur plus claire. Le bord est légèrement crénelé. Les folioles possèdent des nervures palmées et des nervures secondaires, parallèles. Les jeunes feuilles portent une pubescence rouge-brunâtre alors que les feuilles plus âgées sont glabres.

Sur le plan microscopique, la feuille du marronnier possède des cellules à huile, sphériques et des macles d'oxalate de calcium dans le mésophyle*. L'épiderme de la face supérieure possède une cuticule striée.

II.1.3. Identifications macroscopique et microscopique du fruit du marronnier d'Inde

La graine est libérée par la capsule mature du fruit de couleur jaune-vert. La capsule est sphérique (6 cm de diamètre), recouverte d'épines régulières, plus ou moins soyeuses. La graine mesure 2 à 4 centimètres de diamètre. Elle est globuleuse à ovale, légèrement aplatie. Son tégument est de couleur brun foncé, brillant à l'état frais, et un hile apparaît de couleur gris brun jaunâtre sous forme d'une grande tâche arrondie.

II.2. Composition chimique de *Aesculus hippocastanum* L. (28, 29)

II.2.1. Composition chimique de l'écorce du marronnier d'Inde

Les principaux constituants de l'écorce du marronnier d'Inde sont :

- des glucosides coumariniques : esculoside (0,7 à 7%), fraxoside et scopoloside et leurs aglycones : esculétol, fraxétol et scopolétol ;
- des flavonoïdes sous forme d'hétérosides de flavonols : quersitroside et son aglycone le quercétol ;
- autres : traces d'aescine, mélange complexe de saponosides ; leucocyanidines, leucodelphinidine et (-)-épicatéchine, tanins du groupe des proanthocyanidines.

II.2.2. Composition chimique de la feuille du marronnier d'Inde

Les principaux constituants de la feuille du marronnier d'Inde sont :

- Des glucosides coumariniques : esculoside, scopoloside et fraxoside
- Des hétérosides de flavonols : quercétol-3-rhamnoside (= quercitroside), quercétol-3-rhamnoglucoside (= quercitroside), quercétol-3-glucoside (= isoquercitroside), quercétol-3-arabinoside et 4 hétérosides de kaempférol.
- Des tanins : traces d'aescine, cis- et trans- polyprénols
- Des alcools triterpéniques : α- et β-amyrines, lupéol, friedélanol, friedélénone et leurs esters correspondants.

II.2.3. Composition chimique de la graine du marronnier d'Inde (35 ; 43 ; 62)

Les principaux constituants de la graine du marronnier d'Inde sont :

- Un mélange complexe de saponosides : 3 à 10% ou pouvant aller jusqu'à 45% dans les graines immatures.
- Des flavonoïdes : (0.2 à 0.3%) quercétol et kaempférol et leur 3-O-arabinosides, et 3-O-rhamnosides, 3-O-biosides, 3-O-triosides.
- Des tanins (0,9%) : trimères du (-)-épicatéchol

- Des coumarines : esculosides et fraxosides
- Des huiles essentielles : nonanal, acide nonanique, 3-hexénol, heptanol, alcool benzylique
- Des huiles grasses (2 à 3%) : triterpènes (friedéline, butyrospermol, taraxérol), stérols méthyliques (obtusifoliol, gramistérol), stérols (12 g/kg) (sitostérol, stigmastérol, campestérol, brasicastérol), phospholipides (3 g/kg) (phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, phosphatidyléthanolamine, acide phosphatidique…), tocophérols (627 mg/kg) (alpha-tocophérol et gamma-tocophérol principalement), triacylglycérols (acide oléique 567 g/kg et acide linoléique 248 g/kg) (32)
- Des protéines (5%) : (globuline, hippocastanine, contenant L-(1)-lysine and L-(1)-tryptophane)
- Des polysaccharides : amidon (50%), arabinane, glucoarabinane, stérols.

II.2.4. Composition chimique de la fleur du marronnier d'Inde

Peu de données sont disponibles quant à la composition de la fleur du marronnier d'Inde**.** Une étude récente de Dudek-Markuche et coll. (64) a permis d'isoler les coumarines présentes dans les fleurs : scopolétine (0,41%), esculétine (0,13%) et fraxétine (0,05%).

Une étude de Deli et coll. (102) s'est penchée sur les caroténoïdes présents dans les pétales de la fleur du marronnier d'Inde. Les composés les plus présents sont la lutéine, la 5,6-époxyde lutéine et le β-carotène (Tableau 1).

carotenoid	*A. hippocastanum* with yellow streak	red streak
Neoxanthin	3.10	2.38
9-*cis*-Neoxanthin	1.93	2.12
Lutein 5,6-epoxide	13.46	20.46
Lutein	40.92	33.29
9/9′-*cis*-Lutein	0.50	1.74
13/13′-*cis*-Lutein	0.84	1.35
β-Cryptoxanthin	4.42	2.67
β-Carotene	41.79	10.13
Violaxanthin	3.35	7.46
Luteoxanthin	1.49	4.67

Tableau 1: Composition en caroténoïdes des fleurs du marronnier d'Inde (102)

II.2.5. Composition chimique du bourgeon du marronnier d'Inde

Parmi les caroténoïdes présents dans le bourgeon du marronnier d'Inde, on retrouve principalement l'aesculaxanthine, la lutéine et le β-carotène (102). Ces composés évoluent avec la maturité du bourgeon (Tableau 2).

carotenoid	buds (unripe)	buds (inter-mediate)	buds (ripe)	pollen
Neoxanthin	3.55	3.84	3.99	2.24
Neochrome	0.43	0.35	0.28	–
9-*cis*-Neoxanthin	3.24	2.55	2.98	2.33
β-Citraurin	0.51	1.11	0.95	6.15
9-*cis*-Violaxanthin	2.21	2.24	2.96	
Aesculaxanthin	16.47	28.60	26.25	47.60
9-*cis*-Aesculaxanthin	0.80	1.68	1.28	0.14
13-*cis*-Aesculaxanthin	3.22	5.12	5.94	0.48
Lutein 5,6-epoxide				0.49
Lutein	43.20	33.66	34.94	13.89
9/9′-*cis*-Lutein	2.89	2.36	2.30	0.42
13/13′-*cis*-Lutein	2.34	1.67	1.70	0.70
β-Cryptoxanthin	1.07	1.05	1.23	1.51
β-Carotene	14.91	11.94	11.62	5.04

Tableau 2: Composition en caroténoïdes (%) d'*Aesculus hippocastanum* (102)

II.3. Les saponosides (29, 40)

II.3.1. Généralités sur les saponosides

Les saponosides du latin *sapo, saponis* (signifiant savon), font partie d'un groupe d'hétérosides très présents chez les végétaux. Ils ont des caractéristiques tensio-actives et peuvent former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Une majorité de saponosides possèdent des propriétés hémolytiques et sont toxiques pour les poissons. Ce sont des molécules utilisées par l'industrie pharmaceutique pour l'obtention de formes galéniques ; leurs propriétés pharmacologiques permettent de les utiliser en phytothérapie également (hypocholestérolémiant, antifongique, immunostimulant, antitussif, anti-inflammatoire).

II.3.2. Structure des saponosides

Les saponosides peuvent être classés en deux catégories selon la nature de leur génine, c'est-à-dire par la partie non glucidique de l'hétéroside :

- saponosides à génine stéroïdique qui sont presque exclusivement présents chez les Monocots (*Alliaceae, Agavaceae, Asparagaceae, Dioscoreaceae*). Il en existe cependant chez les *Fabaceae, Solanaceae, et Plantaginaceae* ;

- saponosides à génine triterpénique. Les plus fréquents se retrouvent principalement chez les Eudicots : *Araliaceae*, *Caryophylaceae*, *Cucurbitaceae*, Fabales. Ils existent chez quelques animaux marins et chez les Ptéridophytes.

II.3.2.1. Génines stéroïdiques

Les génines stéroïdiques sont également appelées sapogénines ; elles comportent un squelette à 27 atomes de carbone formant une structure à six cycles appelée communément spirostane (Figure 15). Ce terme proviendrait de la nature spiro du carbone en C22, atome unique rattachant un cycle furanique (hétérocycle à cinq atomes : un oxygène et 4 carbones) à un cycle pyranique (hétérocycle à six atomes : un oxygène et 5 carbones).

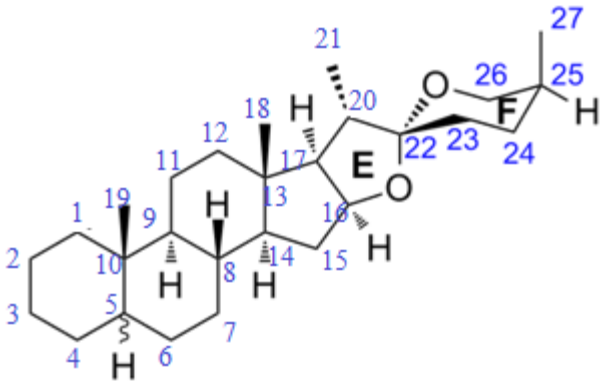


Figure 15: Structure chimique du spirostane.

Dans le cas du squelette hexacyclique, les variations structurales peuvent avoir lieu sur le carbone en C25, déterminant ainsi deux séries : les néosapogénines (25-S, le méthyle étant axial) et les isosapogénines (25-R, le méthyle étant équatorial). Alors que la fusion des cycles B/C et C/D est toujours trans, celle des cycles D/E est toujours cis, le carbone C20 étant S et le C22 étant R.

La double liaison en 5,6 peut être conservée ou réduite.

Il existe un hydroxyle en C3 qui peut également être présent sur les C1, C2, C5, C6.

II.3.2.2. Génines triterpéniques

Les génines triterpéniques sont issues de la cyclisation du (3S)-2,3-époxy-2,3-dihydrosqualène, formant une structure de dammarane, tétracyclique, existant à l'état d'hétérosides dans certaines plantes (ginseng) ou étant intermédiaires pour évoluer vers un pentacycle : oléanane, ursane, lupane ; ces trois derniers squelettes sont les plus communs.

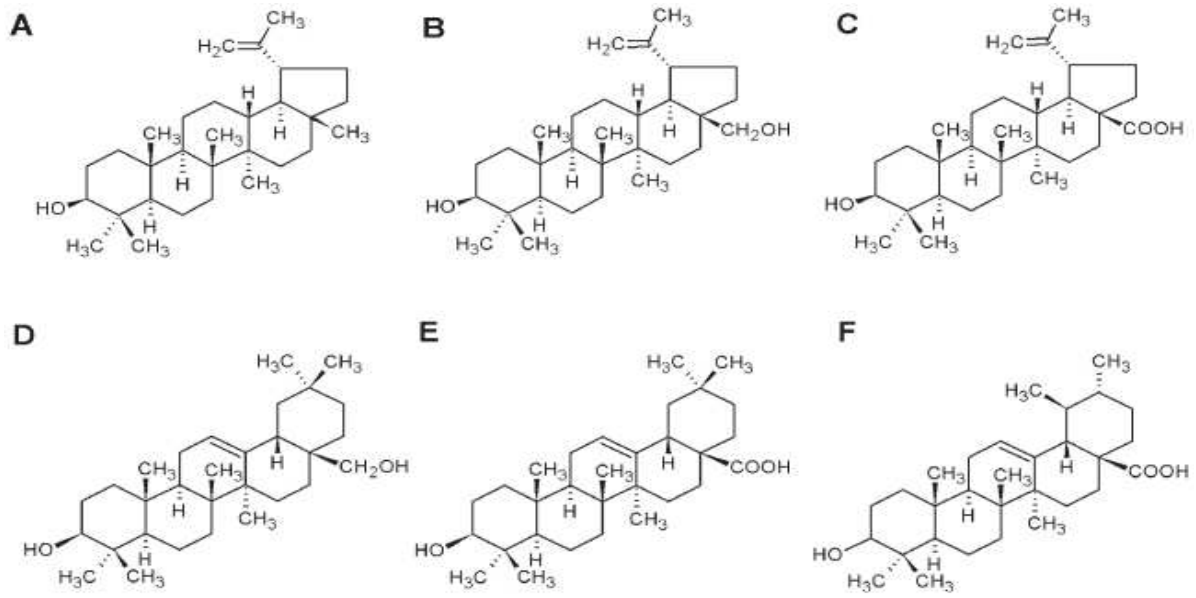


Figure 16: Structure chimique de génines triterpéniques (39). A : Lupéol, B : Bétuline, C : Acide bétulinique, D : Érythrodiol, E : Acide oléanolique, F : Acide ursolique.

Les structures (Figure 16) du lupéol (A), de la bétuline (B) et de l'acide bétulinique (C) proviennent du pentacycle de type lupane. Les structures de l'érythrodiol (D) et de l'acide oléanolique (E) proviennent du pentacycle de type oléanane. L'acide ursolique (F) provient de la série des ursanes.

Plus de la moitié des saponosides connus sont de la série des oléananes tel que l'acide oléanolique et l'hédragénine.

Quelques éléments structuraux sont identifiables :

- une insaturation en C12 (13),
- l'oxydation des carbones des méthyles en C23, C28 et C30,
- l'oxydation de carbones cycliques : C2, C7, C11, C15, C16, C21, C22.

II.3.2.3. Oses

Les sucres présents dans les saponosides sont :

- des hexoses (D-glucose et D-galactose, D-fucose),
- des pentoses (L-arabinose, L-rhamnose et D-xylose),
- des acides uroniques (acide D-glucoronique, acide galacturonique).

Les oses et les oligosides sont reliés à leur génine par une liaison de type ester ou éther. Il peut y avoir jusqu'à onze oses ; mais généralement, on en comptera que trois à cinq. Ils peuvent être linéaires ou ramifiés. Au minimum, l'hétéroside comporte un ose et une génine.

II.3.3. Propriétés physico-chimiques des saponosides

Ce sont des composés solubles dans l'eau et dans les solvants hydro-alcooliques, et insolubles dans les solvants organiques apolaires.

Ils ont la capacité de détruire les membranes érythrocytaires. On peut mettre cette propriété en évidence en déterminant le pouvoir hémolytique. Pour cela, on mesure la différence d'absorbance du surnageant d'une suspension d'hématies après la mise en contact avec un saponoside.

Ils ont également la capacité de former une mousse persistante au contact de l'eau ; on peut ainsi mesurer l'indice de mousse en relation avec les saponosides présents dans la plante.

II.3.4. Extraction, séparation et identification des saponosides

L'extraction et la séparation des saponosides sont délicates, car bien que présents en quantité notable dans les plantes, ils se trouvent en mélanges complexes. Leurs ressemblances structurelles, et leurs masses moléculaires élevées rend difficile la purification des composés.

II.3.4.1. Extraction des saponosides

L'extraction à partir de la plante brute débute par une délipidation en utilisant des solvants de polarité croissante : éther de pétrole, hexane ou chloroforme, puis par du méthanol. Après cette première extraction, on procède à un partage entre l'eau et le n-butanol qui permet de solubiliser les saponosides ; elles seront ensuite précipitées en présence de dioxyde d'éther.

II.3.4.2. Séparation et identification des saponosides

Pour permettre la séparation des différents saponosides du mélange, il est nécessaire de procéder à une succession de séparations chromatographiques sur différents supports et avec différents éluants afin d'atteindre un niveau de pureté élevé. On peut utiliser différentes techniques de chromatographie comme la chromatographie sur couche mince, la chromatographie sur couche mince haute performance pour l'analyse qualitative. La purification peut nécessiter une chromatographie sur couche de silice, la chromatographie flash, la chromatographie liquide à moyenne ou haute pression.

L'identification des saponosides met en jeu des réactions colorimétriques non spécifiques. Par exemple, l'anhydride acétique en milieu sulfurique permet de différer la génine. Dans le cas d'une génine triterpénique, la couleur sera rose à rouge alors que dans le cas d'une génine stéroïdique, elle sera bleu-vert.

L'étude structurale se fait par spectrométrie de masse et de la résonnance magnétique nucléaire (RMN).

II.3.4.3. Dosage des saponosides

Le dosage peut être effectué sur chromatographie liquide, ou peut être colorimétrique. On peut également se servir de la spectrophotométrie UV ou de la densitométrie.

II.3.5. Saponosides d'*Aesculus hippocastanum*

II.3.5.1. Composition en saponosides (29 ; 34 ; 35)

Les aescines sont un mélange complexe de saponosides et existent sous deux formes : α- et β-aescines. Ils se distinguent par : leur point de fusion, leur rotation spécifique, leur index hémolytique et leur solubilité dans l'eau. On peut obtenir l'α-aescine en chauffant une solution aqueuse de β-aescine : on obtient alors une migration acyclique impliquant les groupes hydroxyles aux positions C21, C22 et C28.

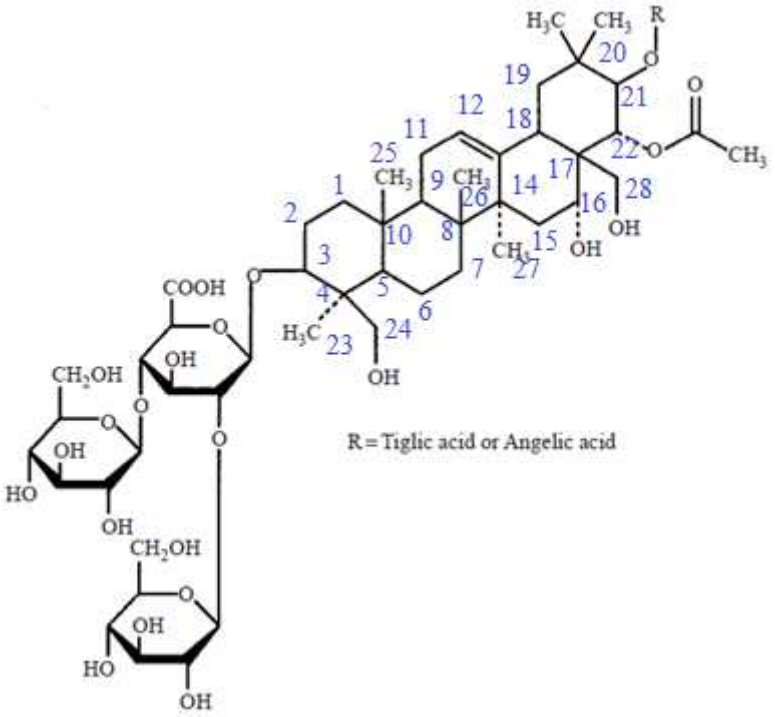


Figure 17: Structure chimique de l'aescine.

La fraction cristallisable des saponosides totaux est appelée « β-aescine » ou « aescine » et comporte plus de 30 hétérosides (Figure 17). C'est un mélange de plusieurs hétérosides dérivés de deux génines triterpéniques de la série de l'oléan-12(13)-ène : la proto-aescigénine, et le barringtogénol-C (aescines Ia,b, IIa,b, III). Les deux génines sont polyhydroxylées (en C3, C16, C21, C22, C28 et dans le cas de la proto-aescigénine, en C24) et leurs hydroxyles secondaires en C21 et C22 sont estérifiés par des acides aliphatiques de faible masse moléculaire (acide éthanoïque pour C22, acides tiglique et angélique pour C21). La liaison osidique s'effectue entre l'hydroxyle en C3 de la génine et l'acide D-glucoronique d'un trisaccharide variable. Par

déplacement acylé de C22 à C28, l'hydroxyle peut également être présent en C28 donnant la crypto-aescine correspondant à l'α-aescine, la partie soluble dans l'eau des saponosides totaux. Le β-aescine possède une action hémolytique, ce qui n'est pas le cas pour la crypto-aescine.
Les aescines Ia,b, IIa, b, IIIa représentent plus de 60% de l'aescine total.
L'hippocastanoside a été isolé à partir de l'enveloppe du fruit.

II.3.5.2. Distribution des saponosides d'*Aesculus hippocastanum*

La distribution des saponosides est donnée dans le paragraphe II. 2.

II.3.5.3. Pharmacocinétique des saponosides d'*Aesculus hippocastanum*

Chez 18 volontaires sains, Kunz et coll. (37) ont étudié la pharmacocinétique de deux formulations orales de β-aescine (50 mg d'aescine/comprimé ou capsule). Les deux produits testés sont bioéquivalents lors de la première dose avec une concentration maximale (16-18 ng/ml) et une concentration moyenne (≈ 10 ng/ml). Lors de l'administration de la seconde dose, la concentration maximale a diminué (10-11 ng/ml) pour les deux formulations orales, ainsi que leur concentration moyenne (7 ng/ml). Après plusieurs jours de traitement, la concentration maximale n'est plus modifiée, restant comme lors de la seconde administration ; les auteurs l'expliquent par l'effet de la nourriture. Pendant les 7 jours suivants, la cinétique n'est pas modifiée et la concentration moyenne reste à 8 ng/ml ; on observe une Tmax de 2 heures et une $T_{1/2}$ vers 6-8 heures.
L'administration de 5 mg d'aescine par voie intraveineuse a été étudiée par Hitzenberger (36). Sa pharmacocinétique correspond à un modèle à trois compartiments. Le $T_{1/2\alpha}$ est de 6,6 minutes, le $T_{1/2\beta}$ est de 1,74 heures et le $T_{1/2\gamma}$ est de 14,36 heures. Le volume de distribution est de 100,9 litres et la clairance rénale est de 1,7 ml/min. La biodisponibilité de l'aescine a été déterminée à 1,5% ; cette faible biodisponibilité est due à un effet de premier passage hépatique important. La biodisponibilité relative d'aescine provenant d'extrait de graine du marronnier d'inde est de 100% comparé à l'aescine en solution.

II.3.5.4. Effets de l'aescine sur les enzymes du cytochrome P450 chez le rat

L'aescine extrait des graines du marronnier d'Inde a été administré par voie intraveineuse dans la veine caudale chez le rat aux doses de 0,45 à 1,8 mg/kg pc/jour (dose équivalente chez l'homme : 5 à 20 mg/jour) tandis qu'on lui administrait *per os* un mélange de plusieurs médicaments (phénacétine, tolbutamide, chlozoxazone, et midazolam, respectivement 20, 5, 20 et 10 mg/kg pc) (23). L'administration d'une dose unique ou de plusieurs doses d'aescine a un effet inducteur sur le CYP1A2 alors que les CYP2C9 et CYP3A4 sont inhibés. De plus, l'aescine

n'a aucun effet sur le CYP2E1 du rat. De ce fait, des précautions doivent être mise en œuvre afin d'éviter des interactions entre d'aescine et d'autres médicaments métabolisés par ces cytochromes qui pourraient diminuer l'action des médicaments ou augmenter leurs effets indésirables (Tableau 3).

CYTOCHROME	INTERACTION	Exemple de médicaments métabolisés
CYP1A2	Induction	Clozapine, Théophylline
CYP2C9	Inhibition	Sulfamides hypoglycémiants, AVK, Anti-inflammatoires, Acide Valproïque, Phénobarbital…
CYP3A4	Inhibition	Dérivés de l'ergot de seigle, Amiodarone, Statines, Inhibiteurs PDE5, Inhibiteurs TK, Immunosuppresseurs…
CYP2E1	Pas d'effet	

Tableau 3: Effets de l'aescine sur différents cytochromes chez le rat (23 ; 101 ; 102)

II.4. Les flavonoïdes

II.4.1. Généralités sur les flavonoïdes (29 ; 42)

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des polyphénols d'origine végétale. Ce sont des pigments colorés qui sont présents sur les fleurs de presque tous les végétaux, favorisant ainsi leur pollinisation entomophile*. Ils peuvent être à la fois jaune (chalcones, aurones, flavonols jaunes), rouge (anthocyanosides), ou peuvent servir de co-pigments pour donner une couleur bleue (flavones-anthocyanosides). Dans certains cas, la coloration n'est perçue que par les insectes car la zone d'absorption du pigment est dans le proche ultraviolet, zone invisible pour l'œil humain. Dans tous les cas, la pollinisation est effectuée par les insectes.

Les flavonoïdes peuvent également être présents dans les feuilles en les protégeant notamment des rayonnements ultraviolets B. Certains d'entre eux augmentent même la résistance aux maladies.

Dans le règne végétal, ils sont présents sous forme d'hétérosides. On les retrouve à la fois chez les Bryophytes, les Ptéridophytes, les Gymnospermes et les Angiospermes.

II.4.2. Structure des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont un squelette commun le phényl-benzopyrane. On le trouve également sous le nom de 2-phénylchromane dans certaines littératures. La position du phényle par rapport au cycle benzopyrane permet de séparer les différents flavonoïdes en 3 groupes (Figure 18):

- Flavonoïdes (2-phénylbenzopyrane)
- Isoflavonoïdes (3-phénylbenzopyrane)
- Néoflavonoïdes (4-phénylbenzopyrane)

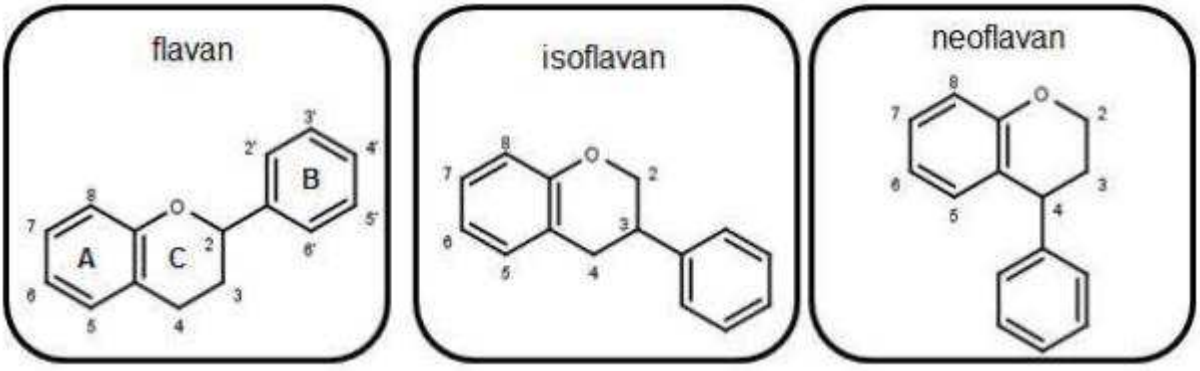


Figure 18: Structure générale des flavonoïdes, isoflavonoïdes et néoflavonoïdes respectivement (42)

L'oxydation du noyau pyranique central et la présence d'hydroxyles spécifiques permet de les séparer en une douzaine de classes (Figure 19) :

- 2-phénylchromones : flavones, flavonol, flavanones et dihydroflavonols
- 2-phénylchromanes : flavanes, flavan-3-ols, flavan-3,4-diols
- Chalcones et dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert)
- 2-benzylidène-coumaranones (aurones)
- 2-phénylbenzopyriliums : anthocyanes ;

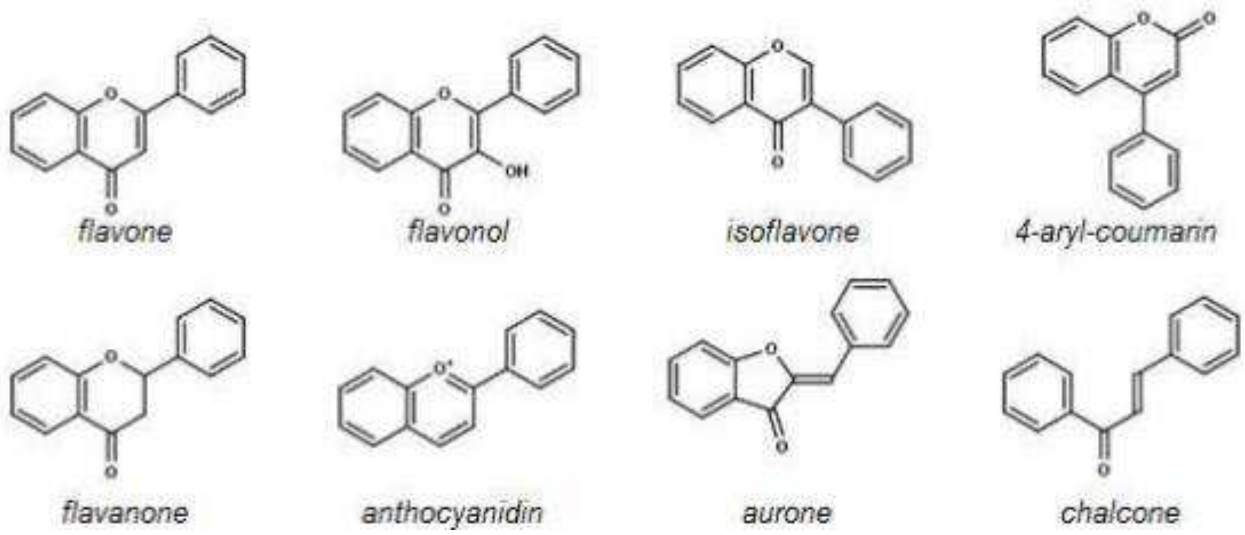


Figure 19: Structure des squelettes des différents groupes de flavonoïdes (42)

II.4.3. Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes

Les génines sont solubles dans les solvants organiques apolaires (CH_2Cl_2, $CHCl_3$) alors que les hétérosides sont hydrosolubles et sont alors solubles dans l'alcool et l'eau.

II.4.4. Extraction, séparation et identification des flavonoïdes

II.4.4.1. Extraction des flavonoïdes

Après broyage, l'extraction des flavonoïdes est effectuée à l'aide de méthanol ou d'un mélange méthanol/eau (29 ; 31). On procède ensuite à une évaporation de l'eau puis à une extraction liquide-liquide par du diéthyléther ou de l'acétate d'éthyle, les génines n'étant pas miscibles à l'eau.

II.4.4.2. Séparation et identification

Lors de l'extraction liquide-liquide, l'utilisation de solvants à polarité croissante permet un premier fractionnement des génines.

Dans l'étude de Kapusta et coll. (31), la séparation des flavonoïdes de la graine de marronnier d'Inde se fait sur colonne chromatographique à basse pression suivie de leur identification par spectrométrie de masse et résonnance magnétique nucléaire (H^1 et C^{13}). La séparation des différents flavonoïdes se fait par Chromatographie Liquide Ultra Performance (UPLC) permettant ainsi une séparation en 4,5 minutes.

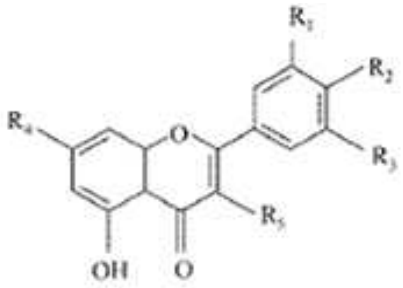
II.4.4.3. Dosage des flavonoïdes

Afin de doser précisément des flavonoïdes, on peut à la fois utiliser les méthodes classiques colorimétriques ou spectrophotométriques. La chromatographie liquide permet un dosage précis et rapide de tous les flavonoïdes présents, dosage basé sur les propriétés de leurs cycles insaturés (29).

II.4.5. Flavonoïdes d'*Aesculus hippocastanum*

II.4.5.1. Composition en flavonoïdes (31)

Les graines du marronnier d'inde contiennent 13 composés identifiés comme flavonoïdes (Figure 20) : les di et tri glycosides de la quercétine et du kaempférol sont les formes dominantes tandis que les formes acylées sont présentes à l'état de traces. On retrouve l'astragaline (kaempférol 3-O-glycoside), isoquercitrine (quercétine-3-glucoside), leucocyanidine (3,3',4,4',5,7-hexahydroxyflavone) et rutine (quercétine 3-rutinoside) (94).



Comp.	R1	R2	R3	R4	R5
1	OH	Glc	H	OH	Xyl-Rha-Glc
2	OH	Glc	H	OH	Xyl (1-2)Glc
3	OH	OH	H	OH	Xyl (1-2)[Glc (1-3)]Glc
4	OH	OH	H	OH	Xyl (1-2)Glc
5	OH	Glc-nicotynoyl	H	OH	Xyl (1-2)Glc
6	OH	Glc-indolin-2-on-3hydroxy-3-acetyl	H	OH	Xyl (1-2)Glc
7	H	OH	H	OH	Xyl (1-2)[Glc (1-3)]Glc
8	H	OH	H	OH	Xyl (1-2)Glc
9	OCH3	OH	H	OH	Xyl (1-2)[Glc (1-3)]Glc
10	OCH3	Glc	H	OH	Xyl (1-2)[Glc (1-3)]Glc
11	OH	OH	H	OH	Glc-Rha
12	OH	Glc-indolin-2-on-3-acetyl	H	OH	Xyl (1-2)Glc
13	H	OH	H	OH	Glc-Rha

Figure 20: Structure chimique des flavonoïdes identifiés (31)

II.4.5.2. Données quantitatives

La concentration totale en flavonoïdes dans la poudre de la graine du marron d'Inde est de 0,88% de matière sèche. L'extrait alcoolique contient 3,46% de flavonoïdes et après purification sur une colonne C18, cette concentration est augmentée à 9,40% de matière sèche.

La concentration de flavonoïdes a également été mesurée dans les eaux usagées produites lors du traitement industriel des graines de marronnier d'Inde. La concentration totale en flavonoïdes obtenue après évaporation de l'eau est de 2,58%, tandis qu'après purification sur phase solide, cette concentration est passée à 11,23% de matière sèche. (31)

II.4.5.3. Distribution des flavonoïdes de *Aesculus hippocastanum*

La distribution des flavonoïdes est donnée dans le paragraphe II. 2.

Partie III

Intérêts thérapeutiques et toxicité d'*Aesculus hippocastanum* L.

III.1. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'insuffisance veineuse

III.1.1. Action antioedémateuse *d'Aesculus hippocastanum*

Dans les années 1990, afin de mieux comprendre le mécanisme des veinotoniques, les chercheurs se sont penchés sur le mécanisme de l'insuffisance veineuse chronique, suggérant que son origine proviendrait d'une activation de l'endothélium pendant la phase de stase veineuse.

Arnould et coll. (85) ont étudié un médicament phlébotonique (Reparil® IV) dans un modèle *in vitro* imitant des cellules endothéliales en situation d'hypoxie pendant 120 minutes. Il a été montré que l'aescine (à des doses allant de 100 à 750 ng/ml) inhibe deux étapes importantes de l'activation de l'endothélium :

- par une augmentation du taux d'ATP (qui est le point de départ de la cascade d'activation de l'endothélium),
- et par une diminution de la phospholipase A2, libératrice des précurseurs des médiateurs inflammatoires.

De plus, des observations au microscope électronique à balayage ont pu confirmer une diminution de l'adhérence des neutrophiles.

Ces trois mécanismes expliquent en partie le mécanisme préventif de l'aescine.

L'aescine a également la capacité d'inhiber l'activité hyaluronidase (86) ; cette enzyme est impliquée dans la dégradation des protéoglycanes (constituants importants de l'endothélium capillaire) et des constituants de la matrice extra-vasculaire. L'aescine peut ainsi modifier l'équilibre cellulaire entre la synthèse et la dégradation des protéoglycanes vers uniquement la synthèse, permettant ainsi de renforcer la paroi du capillaire et de diminuer les fuites qui forment des œdèmes.

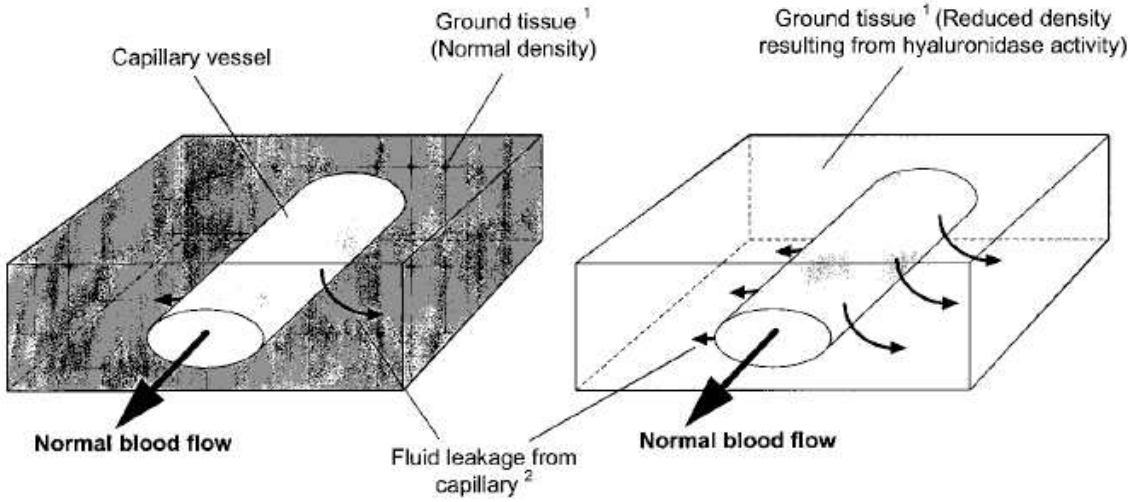


Figure 21: Représentations simplifiées de la perméabilité des vaisseaux capillaires dans les tissus conjonctifs. (Gauche: le tissu contient des quantités normales d'acide hyaluronique. Droite: perméabilité accrue, en raison de la teneur en acide hyaluronique réduite)

Afin de comprendre ce phénomène, la figure 21 montre un vaisseau capillaire au sein de son tissu conjonctif (*ground tissue*), comprenant protéoglycanes, glucoasminoglycanes, acide hyaluronique. La fuite de liquide provenant du vaisseau dépend de la densité capillaire et de la densité des substances des tissus aux alentours.

III.1.2. Action anti-inflammatoire et antioxydante *d'Aesculus hippocastanum*

III.1.2.1. Action anti-inflammatoire *d'Aesculus hippocastanum*

Afin d'évaluer la capacité anti-inflammatoire de l'aescine, des chercheurs ont comparé la densité des leucocytes, neutrophiles et macrophages dans l'exsudat inflammatoire de patients présentant une insuffisance veineuse chronique (IVC) et chez des patients présentant une insuffisance veineuse chronique et auxquels on leur a administré 5 mg d'aescine iv toutes les 12 heures pendant sept jours (34). On observe une réduction (33%) de la densité des leucocytes par unité de surface. De plus, les macrophages ont diminué de 50% alors que les neutrophiles ont augmenté de 46%. L'aescine interfère donc la phase inflammatoire par l'activation des leucocytes.

Jiang et coll. (72) ont étudié l'effet et le mécanisme de l'aescine extrait des graines de marronnier d'Inde, sur des lésions hépatiques aiguës induites par une injection de lipopolysaccharide (LPS) chez la souris.

Les animaux ont été séparés en sept groupes :

- Contrôle
- Traité par LPS (40 mg/kg pc)
- Traité par aescine (3,6 mg/kg pc)
- Traité par LPS (40 mg/kg pc) + dexaméthasone (4 mg/kg pc)
- Traité par LPS (40 mg/kg pc) + aescine (0,9 ; 1,8 ou 3,6 mg/kg pc)

Les changements histopathologiques ont été observés sous microscope optique. Le groupe traité par LPS montre une infiltration importante de granulocytes, une perturbation de la morphologie cellulaire, une congestion sévère des sinusoïdes hépatiques et une nécrose hépatocellulaire comparé au groupe témoin. La dexaméthasone (4 mg/kg pc) et l'aescine (1,8 et 3,6 mg/kg pc) atténuent considérablement ces résultats chez les souris traitées préalablement au LPS.

Les activités de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) ont été mesurées ; elles sont plus hautes dans le groupe traité par le LPS que dans le groupe contrôle, mais ces augmentations diminuent suite au traitement par l'aescine.

Les taux de TNFα (T*umor Necrosis Factor* α) et d'IL-1β (interleukine 1β), médiateurs proinflammatoires, sont augmentés dans le groupe traité par LPS et diminués dans les essais avec le dexaméthasone et l'aescine.

Jiang et coll. (72) ont de plus constaté que l'aescine augmente le nombre de récepteurs aux glucocorticoïdes.

Pour conclure, le traitement par aescine pourrait empêcher l'immigration de cellules inflammatoires, atténuer le degré de nécrose et diminuer les activités ALAT et ASAT sériques.

L'activité anti-inflammatoire du β-aescine de sodium a également été démontrée lors de l'occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez le rat suivi de sa reperfusion (76). Les rats ont été traités avec du β-aescine de sodium durant sept jours. Puis une ischémie de 2 heures de l'artère cérébrale moyenne a été effectuée suivie de 24 heures de reperfusion. Il y a une réduction significative du volume de l'infarctus cérébral ($p<0,05$) et une amélioration du déficit neurologique ($p<0,01$). La migration des neutrophiles ($p<0,05$) et l'expression des molécules d'adhérences (ICAM-1 et E-selectine) ($p<0,01$) sont nettement diminuées suite à ce traitement par comparaison au groupe témoin et dont ces paramètres ont nettement augmentés. Le β-aescine de sodium atténue alors les lésions cérébrales, diminue l'expression des protéines d'adhérence et réduit la migration des neutrophiles suite à une ischémie reperfusion.

III.1.2.2. Action *d'Aesculus hippocastanum* dans le stress oxydant

L'étude récente de Küçürkkurt et coll. (33) a évalué l'effet d'un mélange d'aescines issues des graines du marronnier d'Inde sur les systèmes antioxydants du sang et de tissus (foie, rein et cœur) sur un groupe de souris nourries avec un régime standard et sur une autre groupe de souris nourries avec un régime riche en graisses. Le mélange d'aescines a été administré oralement aux deux groupes de souris (100 mg/kg/j pendant 5 semaines).

L'administration combinée d'un régime riche en graisses et du mélange d'aescine :

- diminue le malondialdéhyde dans le sang, le cœur, le foie et le rein,
- diminue la superoxyde dismutase et la catalase du foie,
- augmente le glutathion réduit dans le sang, le foie et le rein.

L'administration d'aescine montre un effet bénéfique sur l'architecture du foie et diminue les effets néfastes du stress oxydant dans les deux groupes de souris.

Une étude de Braga et coll. (65) a porté sur l'écorce du marronnier d'Inde et le stress oxydant ; elle montre que l'écorce exerce un effet contre les espèces réactives de l'oxygène en fonction de sa concentration au cours de la respiration cellulaire des neutrophiles. En effet, les neutrophiles relâchent une quantité importante de radicaux libres de l'oxygène et de l'azote lors de leur respiration cellulaire. Dès 10 µg/ml d'extrait d'écorce de marronnier d'Inde, on observe une activité antioxydante, mise en évidence par résonnance paramagnétique électronique.

De plus, l'écorce du marronnier d'Inde est capable d'antagoniser les radicaux hydroxyles, l'anion superoxyde dès 20 µg/ ml.

L'étude ne démontre pas l'effet des molécules séparées mais seulement du mélange ; elle a cependant mesuré la quantité des métabolites principalement responsables de ses effets (composés phénoliques : 381,3 mg/g ; flavonoïdes totaux : 150,8 mg/g ; aescine total : 122,5 mg/g et proanthocyanidines : 11,5 mg/g).

III.1.3. Action veinotonique *d'Aesculus hippocastanum*

Ottillinger et Greeske (66) ont comparé des patients atteints d'insuffisance veineuse chronique débutante (stade I) et avancée (stades II et III). Dans les deux cas, une thérapie à base d'extraits de graines de marronnier d'Inde et de compression mécanique a été comparée au placebo.

Dans le cas d'insuffisance veineuse chronique débutante, la compression et l'extrait de graines ont un effet bénéfique par rapport au placebo. On notera que les deux thérapies sont équivalentes quant à la réduction de l'œdème. Dans le cas d'insuffisance veineuse chronique avancée, seule la compression veineuse est supérieure au placebo ; ce phénomène est expliqué par la capacité des extraits de marrons d'Inde à combler les lacunes intercellulaires présents dans l'endothélium des veinules. Au début de l'insuffisance veineuse, ce traitement est approprié et permet de protéger les veinules. Dans le cas d'insuffisance veineuse chronique avancée, l'ouverture de ces lacunes entraîne un œdème, une thrombose locale. En conséquence, l'inflammation produite maintient ces lacunes ouvertes et un processus de maladie chronique se met en place ; le marronnier d'Inde n'est alors plus efficace.

Felixsson et coll. (78) étudiant l'action veinotonique des graines et de l'écorce du marronnier d'Inde, ont montré *in vitro* qu'une concentration dose-dépendante d'extrait de marronnier d'Inde contracte à la fois les veines et les artères mésentériques bovines (les veines restant les plus sensibles à cette contraction). Les auteurs inhibent cette contraction par un antagoniste du récepteur 5-HT_{2A}, la kétansérine (molécule commercialisée en France pour les chevaux sous forme d'un gel cicatrisant cutané sous le nom de VULKETAN®) (79). De plus la kétansérine est étudiée dans le phénomène de Raynaud (80).

Par contre, il n'y a pas eu d'effet sur la contraction des veines et des artères lorsqu'on ajoute l'indométacine (inhibiteur de la cyclo-oxygénase), la prazosine (antagoniste des récepteurs α_1) ou la saralasine (antagoniste du récepteur à l'angiotensine AT_1). De plus, l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP a été significativement réduite par l'extrait de marronnier d'Inde.

En conclusion de cette étude, la contraction des veines et des artères par les extraits du marronnier d'Inde est en partie médiée par le récepteur 5-$HT_{2A.}$

III.1.4. Action *d'Aesculus hippocastanum* dans l'insuffisance veineuse chronique

III.1.4.1. Rappels sur l'insuffisance veineuse chronique

L'Insuffisance Veineuse Chronique (IVC) est une pathologie commune affectant 10-15% des hommes et 20-25% des femmes dans les pays industrialisés (5% en Afrique et 1% en Inde) (92). Les facteurs de risques sont le sexe (prépondérance féminine), l'âge, la situation géographique et la race.

III.1.4.1.1. Physiologie du système veineux inférieur

Le système veineux des membres inférieurs est composé de deux parties :

- le réseau veineux profond (drainant 90% du sang),
- le réseau veineux superficiel correspondant aux veines saphènes (drainant 10% du sang).

Ces réseaux sont reliés entre eux par le système des veines perforantes.

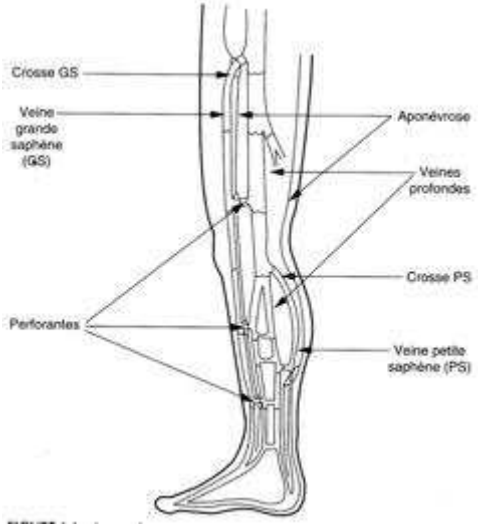


Figure 22 : Représentation du système veineux inférieur.

Le retour veineux est assuré par :

- la semelle plantaire qui dépend de la position statique et du déroulement du pas,
- la pompe musculaire du mollet,
- le système des abdominaux et du diaphragme.

Dans le système veineux des membres inférieurs, il existe un système de valves anti-reflux.

III.1.4.1.2. Étiologies d'une insuffisance veineuse chronique

Plusieurs mécanismes sont responsables d'une défaillance du retour veineux (drainage inadéquat du sang veineux et une hypertension dans les veines) :

- la maladie variqueuse : les veines deviennent tortueuses et dilatées, la paroi est dilatée, les valves ne remplissent plus leur fonction, et deviennent des varices.

- la syndrome post-thrombotique : les valves deviennent incontinentes, par destruction, source de reflux. Il peut y avoir des obstructions résiduelles ;

- l'insuffisance veineuse fonctionnelle : dans ce cas-là, les veines n'ont aucun problème de morphologie et sont normales. Le problème veineux peut venir d'une diminution de la marche, d'une diminution du volume musculaire, d'une altération cardio-respiratoire. Cette insuffisance veineuse est la plus fréquemment rencontrée chez les personnes âgées.

III.1.4.1.3. Expression clinique d'une insuffisance veineuse chronique

Une insuffisance veineuse chronique s'exprime par des œdèmes dans les jambes (gonflement), une dermatosclérose (durcissement de la peau), des sensations de douleur, fatigue et tensions dans les jambes. Les complications peuvent être des thromboses veineuses superficielles ou profondes, ou des hémorragies. Les patients atteints d'IVC nécessitent souvent d'être hospitalisés et opérés. (90)

La thérapie conservatrice de l'insuffisance veineuse chronique est la compression médicale, la pression étant dégressive du bas vers le haut. Elle permet de réduire le diamètre des veines et ainsi de favoriser l'écoulement veineux. De plus, elle possède un effet contre les œdèmes et augmente la force de la pompe musculaire du mollet lors du déplacement. Compte tenu de l'inconfort qu'elle provoque et par conséquent de sa faible observance, un traitement oral peut s'avérer être une option intéressante.

III.1.4.2. Les études sur l'insuffisance veineuse chronique

La revue de Cochrane (90) a comparé 17 études sélectionnées randomisées parmi 27, étudiant la différence entre des extraits de graines de marronnier d'Inde (normalisé à l'aescine) à un placebo (dans 10 études), à de la compression (dans 2 études), à un traitement par le O-β-hydroxyéthyl rutoside (dans 4 études) et par le pycnogénol (dans une étude, le pycnogénol est extrait de l'écorce du pin maritime de Gascogne en France).

L'aescine dosé à 50 ou 75 mg sous forme de capsule était donnée oralement deux fois par jour.

Sur sept études évaluant la douleur à la jambe, six ont observé une réduction significative de la douleur. Des résultats similaires ont été observés pour l'œdème, le volume et la circonférence de la jambe, ainsi que le prurit.

Les autres essais incluant la compression, les médicaments à base de rutoside, ou de pycnogénol n'ont pas rapporté de différence significative avec l'aescine. Les extraits à base de rutoside et de pycnogénol avaient les mêmes effets que l'aescine sur les autres paramètres à l'exception de l'œdème où il était inférieur pour le pycnogénol.

Cette étude a conclu que, dans l'ensemble, en comparaison aux traitements de référence, l'extrait de graine de marronnier d'Inde constitue un traitement efficace pour le traitement de l'IVC. Le rapport bénéfice/risque d'un traitement aux extraits de marronnier d'Inde est favorable à court terme.

III.1.5. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur les hémorroïdes

Une étude en double-aveugle visant à évaluer l'efficacité de l'aescine sur les symptômes hémorroïdaires aigus a concerné 80 patients *versus* placebo. Le traitement administré était de 40 mg d'aescine par voie orale, trois fois par jour pendant deux mois.

L'efficacité a été évaluée sur l'avis subjectif du patient, la gravité des symptômes et l'examen endoscopique. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant (Tableau 4):

	Groupe aescine		**Groupe Placebo**	
Nbre patients départ	40		40	
Nbre patients évaluables	38		34	
Examen endoscoptique avant traitement	Saignement	Gonflement	Saignement	Gonflement
	28	34	18	33
Amélioration considérable des symptômes	31 (81,6%)		11 (32,4%)	
Examen endoscopique post-traitement (amélioration)	Saignement	Gonflement	Saignement	Gonflement
	26 (92,3%)	34 (85,3%)	13 (72,2%)	12 (36,4%)

Tableau 4: Résultats de l'étude aescine *versus* placebo sur les hémorroïdes.

L'amélioration des symptômes a été rapportée en moyenne après 6 jours de traitement et les signes endoscopiques d'amélioration ont été enregistrés après 2 semaines.

III.1.6. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur les œdèmes postopératoires

Une première étude (89) a évalué l'efficacité de l'aescine en IV *versus* placebo chez 72 patients hospitalisés (33 pour chirurgie d'hernie inguinale, 24 pour méniscectomie et 15 pour des fractures de la jambe). Le traitement par aescine a été administré de la manière suivante :

- 5 mg iv la veille au soir de la chirurgie,
- 10 mg iv le matin et 5 mg iv le soir de la chirurgie et les 3 jours suivants,
- puis 5 mg iv, les 3 derniers soirs.

Le critère principal d'efficacité est la différence de température entre la zone de chirurgie et la zone controlatérale. Les auteurs ont observé que la différence de température est toujours

significativement plus faible du côté opéré traité avec aescine que le côté *versus* placebo, et ce quelle que soit la chirurgie.

Dans une deuxième étude (90) impliquant une chirurgie de la main, les mêmes paramètres de température du côté opéré et du coté controlatéral sont évalués par thermographie infrarouge. Dans cette étude, 27 patients ont reçu 10 mg iv d'aescine deux fois par jour, 26 autres ne recevant rien. Dans le groupe aescine, le maximum de différence de température a été observé au 2ème jour postopératoire et a diminué rapidement. Dans le groupe sans traitement, cette différence de température a été mesurée le 4ème jour postopératoire et a mis plus de temps à disparaître.

III.2. Action *d'Aesculus hippocastanum* dans le traitement des troubles de la perfusion de l'oreille interne

Siegers et coll. (67) ont montré le bénéfice de l'association d'aescine (25 mg) et de troxérutine (450 mg) (flavonoïde veinotonique et vasculoprotecteur) dans les problèmes de perfusion de l'oreille interne. Cette association a été comparée à la pentoxyfylline (vasodilatateur et anti-ischémique) dans une étude clinique randomisée (n=34). Un test d'audition est effectué après 40 à 44 jours de traitement. Parmi les patients traités à l'aescine et à la troxérutine, une amélioration nette de l'audition (c'est-à-dire de plus de 10 dB) est observée chez 23 patients sur 34. Par contre, dans le groupe traité à la pentoxyfylline, seulement 6 personnes ont pu bénéficier d'une telle amélioration ($p<0,05$).

III.3. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur le cancer

Harikumar et coll. (68) ont étudié le potentiel antitumoral de l'aescine dans le myélome multiple et la leucémie. L'aescine potentialise le Facteur de Nécrose Tumorale (TNF) induisant l'apoptose mais inhibant l'invasion des cellules tumorales. Lors de l'étude de mobilité électrophorétique, l'aescine supprime l'activation du Facteur Nucléaire κB (NF-κB) induite par le TNF et d'autres agents anti-inflammatoires, et ce en corrélation avec l'inhibition de la phosphorylation et la dégradation de IκBα, l'inhibition de l'activation du complexe de kinases IκB, la suppression de la phosphorylation de p65 et de la translocation nucléaire. Ces résultats montrent que l'aescine permet de sensibiliser les cellules tumorales aux cytokines et aux agents chimiothérapeutiques.

De la même manière, Rimmon et coll. (100) ont montré que l'aescine issu des graines de marronnier d'Inde entraîne une diminution du nombre de cellules cancéreuses pancréatiques en induisant l'apoptose et inhibe l'activation du complexe NF-κB *in vitro*. L'aescine diminue le taux de p65 et de IκBα dans le noyau et le cytoplasme des cellules tumorales. De plus, les essais combinés avec les agents anti-tumoraux tels que le cisplatine ou la gemcitabine montrent que l'aescine potentialise leurs effets.

Une étude chinoise (69) a étudié l'effet de la β-aescine sur des lignes de cellules humaines atteintes de cholangiocarcinome (cancer hépatobiliaire). Elle révèle que la β-aescine inhibe la croissance cellulaire du cholangiocarcinome de manière dose et temps dépendant. En effet, les cellules ont été arrêtées dans les phases G2/M ou G1 du cycle cellulaire. L'apoptose des trois lignées cellulaires a été associée à l'effondrement du potentiel des membranes mitochondriales et à l'activation de la caspase 3. Après le traitement par le β-aescine des cellules de cholangiocarcinome, la protéine anti-apoptotique bcl-2 a été régulée négativement alors que le taux de protéine p53 était inchangé.

Une étude (70) s'est penchée sur l'efficacité du β-aescine issue de la graine du marronnier d'Inde sur les cellules du colon atteintes de cancer lorsque le β-aescine est administrée en prévention. Des rats de 7 semaines ont été nourris avec une nourriture contenant 0, 0,025 et 0,05% de β-aescine. Au bout d'une semaine, les rats ont reçu une injection hebdomadaire pendant deux semaines d'azoxyméthane (15 mg/kg pc) ou un volume équivalent de solution saline. La solution d'azoxyméthane permet d'induire un carcinome du colon. Puis les rats ont continué à être nourris comme précédemment pendant encore huit semaines. Les colons des rats ont été étudiés sur le plan histopathologique. L'administration de 0,025 et de 0,05% de β-aescine a fait diminuer les foyers de cryptes anormales respectivement de 40% ($p < 0,001$) et de 50% ($p < 0,0001$), en comparaison avec le groupe contrôle au niveau de l'alimentation. Les rats nourris par β-aescine ont montré une inhibition dose dépendante de foyers présentant quatre cryptes aberrantes ou plus. β-aescine provoque un arrêt de croissance cellulaire des lignes de cellules humaines de carcinome du côlon en phase G1/S du cycle cellulaire ; cette phase est associée à l'induction de la protéine p21, la croissance des cellules cancéreuses du colon étant alors inhibée.

Le β-aescine a été étudiée en association avec le 5-fluorouracile (antinéoplasique cytostatique de la classe des antimétaboliques) (74) dans des cellules humaines atteinte de carcinome hépatocellulaire (73). Les résultats montrent que des mélanges de β-aescine et 5-FU ont un effet synergique sur la concentration inhibitrice médiane lorsque leur rapport est de 4:1 par rapport à chaque molécule administrée seule. Le mécanisme d'action peut se faire par l'arrêt synergique du cycle cellulaire, l'induction de l'apoptose, l'activation des caspases-3, 8 et 9, et la régulation à la baisse l'expression de Bcl-2. Ces données peuvent permettre le développement de nouveaux médicaments anticancéreux.

Une étude slovaque (71) a permis d'évaluer *in vitro* les propriétés antiprolifératives et antiangiogéniques d'extraits de graines de marronnier d'Inde sur des cultures cellulaires cancéreuses (Jurkat, CEM, HeLa, MCF-7). L'incubation de ces cultures cellulaires avec 125 µg/ml d'extraits de graines de marronnier d'Inde pendant 72 heures provoque une réduction de 93,7, 32,3, 20,4 et 40,4% de cellules survivantes respectivement sur les cellules cancéreuses

Jurkat, CEM, HeLa et MCF-7. Sur les cellules HeLa traitées, on observe une augmentation significative de cellules en phase pré-G0/G1 ce qui est considéré comme un marqueur de mort cellulaire par apoptose. De plus, les graines de marronnier d'Inde inhibent la migration des veines ombilicales humaines ainsi que la sécrétion de métalloprotéases matricielles et du facteur de croissance endothélial vasculaire.

III.4. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'absorption de l'éthanol et l'activité hypoglycémique

Les aescines Ia, Ib, IIa, IIb et IIIa, extraits des graines de marronnier d'Inde inhibent l'absorption de l'éthanol au niveau de l'estomac chez le rat lors de son administration orale (81). De plus, on observe une inhibition de l'absorption de glucose (82) par inhibition du transfert du glucose de l'estomac vers l'intestin grêle et par inhibition du système de transport au niveau de la bordure en brosse de l'intestin grêle. Cet effet n'est pas expliqué par un effet insuline-like ou par un relargage d'insuline dans la circulation.

Les aescines Ia et IIb inhibent les lésions de la muqueuse gastrique induite par l'éthanol lorsqu'elles sont administrées antérieurement chez le rat (83) sans diminuer la sécrétion gastrique. La gastroprotection est diminuée dans le temps (84). Elle n'est pas associée à une augmentation du mucus gastrique.

III.5. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'obésité

Un régime alimentaire riche en graisses chez des souris provoque une augmentation de la leptine dans le plasma ($p < 0,01$), du cholestérol total ($p < 0,01$) et des LDL-c ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin (75). Alors que l'administration combinée d'un régime riche en graisses et en aescines (100 mg/kg pc) diminue les niveaux de leptine de 31,6% ($p < 0,05$), d'hormone thyroïdienne T4 libre de 36% ($p < 0,05$) et augmente la concentration de HDL-c de 17%. De plus, la concentration en LDL-C reste inchangée chez les souris.

III.6. Action *d'Aesculus hippocastanum* sur l'infertilité causée par la varicocèle

La varicocèle est une dilatation variqueuse du canal spermatique qui est présente chez 15 à 20% des hommes. C'est un facteur de risque important d'infertilité. Plusieurs mécanismes en sont responsables : le possible reflux de métabolites toxiques en provenance du rein, une stase veineuse entraînant une hypoxie et une élévation de la température testiculaire, un stress oxydant, et une déficience de l'axe hypothalamo-gonadique.

Une étude sur 219 patients chinois (77) a comparé un groupe ayant subi une chirurgie et un groupe traité par 60 mg par jour (30 mg toutes les 12h après les repas) d'aescine pendant une

période ininterrompue de 2 mois à un groupe contrôle. De plus, chaque patient est soumis à un traitement visant à améliorer la qualité du sperme.

L'augmentation de la densité de spermatozoïdes est significative dans le groupe chirurgie (68,8%) et dans le groupe aescine (57,5%) comparé au groupe contrôle (38,5%).

L'augmentation de la motilité des spermatozoïdes est seulement significative dans le groupe chirurgie (77,1% *vs* 46,2% dans le groupe contrôle) ; elle est de 55,7% dans le groupe aescine.

Dans le groupe aescine, les patients ont été classés en plusieurs groupes suivant la sévérité de leur varicocèle (légère, modérée ou sévère) en fonction du diamètre de la veine spermatique. L'amélioration de la sévérité de la maladie était meilleure dans les classes légère (41,7%) et modérée (64,4%) comparé à la classe sévère (20,0%).

L'aescine a peu d'impact sur les fonctions vitales, la numération sanguine, les fonctions rénale et hépatique ; c'est un médicament sûr et efficace pour améliorer la qualité du sperme chez les hommes chinois atteints d'infertilité liée à la varicocèle et ne voulant pas subir de chirurgie.

III.7. Action d'*Aesculus hippocastanum* en cas d'ischémie rétinienne

Chez le rat, en cas d'ischémie rétinienne, une administration de faibles concentrations d'aescine de graines de marronnier d'Inde et d'acétonide de triamcinolone (glucocorticoïde) réduit la perméabilité de la barrière hémato-rétinienne alors qu'une administration de chaque composé seul n'a pas d'incidence sur la perméabilité (97). L'administration combinée de ces deux produits augmente l'expression de l'occludine, protéine transmembranaire formant une jonction serrée c'est-à-dire une barrière physiologique (98), et souligne qu'ils ont une action synergique. Dans le traitement de l'œdème maculaire, l'administration de l'aescine permettrait une réduction des doses de glucocorticoïde.

III.8. Action d'*Aesculus hippocastanum* en cosmétique

Le marronnier d'Inde s'avère être *in vitro* un piégeur très important des espèces réactives de l'oxygène (95) ; en effet, il est près de vingt fois plus efficace que l'anti-oxydant reconnu, l'acide ascorbique (vitamine C) pour absorber l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$). Ces espèces réactives de l'oxygène sont associées à des dommages de la peau et à de l'inflammation. Des préparations cosmétiques à base de marronnier d'Inde ont alors des propriétés anti-vieillissements.

La peroxydation lipidique cellulaire est diminuée *in vitro* en présence d'*Aesculus hippocastanum.*

Une étude (96) a été effectuée afin de mesurer le potentiel des graines de marronnier d'Inde dans la protection solaire. On sait que les rayons ultra-violets sont néfastes pour la peau (coup de soleil, photosensibilité, cancer de la peau). Étudiées isolément, les graines de marronnier d'inde

n'absorbent pas les UV (*Sun Protection Factor* SPF = 0). Alors que lorsqu'elles sont combinées avec l'octylméthoxycinnamate (2%), un écran solaire synthétique, on observe une augmentation d'efficacité de cet écran synthétique (SPF passant de 4 à 6).

III.9.Toxicologie d'*Aesculus hippocastanum*

Les empoisonnements aux graines de marronnier d'Inde sont dûs à sa principale toxine, l'esculoside, et non à l'aescine (34).

III.9.1. Effets indésirables

Les études sur l'insuffisance veineuse chronique ont établi que des effets indésirables des graines de marronnier d'Inde étaient présents dans 0,3 à 3% des cas, les plus fréquents étant des troubles gastro-intestinaux, des vertiges, des maux de tête et des démangeaisons. De rares cas de choc anaphylactique ont été décrits. Des cas d'urticaires et de dyspnées ont été décrits lors d'application topique d'aescine (35).

Le risque d'insuffisance rénale aiguë a été observé suite à une chirurgie cardiaque lors de l'administration de forte doses d'aescine (38 ; 44) ; une légère altération de la fonction rénale a été observée (pour 360 µg/kg pc par voie IV) et une insuffisance rénale aiguë (510 µg/kg pc).

Suite à ces résultats, trois études (45 ; 46 ; 47) ont été menées chez des sujets sains ou ayant des problèmes rénaux (administration de 10 à 25 mg d'extrait de graines de marronnier d'Inde iv pendant 6 jours, ou une dose de charge 49 +/- 19 mg iv). Ces études montrent qu'il n'y a pas de signe d'insuffisance rénale chez les patients présentant une fonction rénale normale, ou d'aggravation de cette fonction chez les patients présentant initialement une insuffisance rénale.

Chez le lapin, une administration continue de 1,1 mg/kg pc/jour d'aescine pendant un mois (équivalent à 10 fois la dose thérapeutique) conduit à une légère hémolyse (exprimée par une augmentation de l'érythropoïèse) (34).

III.9.2. Dose létale 50 (DL_{50} *)

Chez le rongeur, la DL_{50} est :

- par voie iv équivalente à 28 fois la dose recommandée chez l'homme,
- par voie orale > 100 mg/kg, équivalente à 59 fois la dose thérapeutique recommandée (29 ; 34).

III.9.3. Génotoxicité

De premières études en génotoxicité avaient souligné que la quercétine serait responsable de faibles effets mutagènes observé avec un extrait sec de graine de marronnier d'Inde avec le test d'Ames (103).

Felipe et coll. (104) ont récemment évalué les activités cytotoxique, génotoxique, mutagène et antioxydante d'extraits de graines de marronnier d'Inde sur plusieurs tests bactériens et cellulaires *in vitro* (la présence des composés chimiques et de l'aescine a été préalablement vérifiée). Les auteurs ont obtenu des résultats négatifs avec le test de cassures ADN double-brin. Deux effets différents ont été observés sur les souches *Escherichia coli* CC104 and CC104mutMmutY : un effet mutagène (lésions non oxydatives) et un effet antioxydant. L'effet mutagène a été confirmé sur le test Kado où l'extrait est considéré faiblement mutagène (mutations *frameshift*). Toutefois, l'extrait montre une protection des bactéries vis-à-vis des lésions induites par la mitomycine C, suggérant un potentiel antioxydatif. En résumé, l'extrait de graine de marronnier d'Inde a montré des activités génotoxique et faiblement mutagène ainsi qu'antioxydative.

III.9.4. Tératogénicité (35)

Des études de tératogénicité ont été effectuées sur des rats et des lapins auxquels on a administré quotidiennement des extraits de graine de marronnier d'Inde présents dans la spécialité Venostasin® (240 à 290 mg d'extrait de graine de marronnier d'Inde contenant 50 mg d'aescine). À 300 mg/kg, une réduction significative de la taille du fœtus est observée chez le lapin. ayant atteint l'âge de la fertilité, Les chercheurs ont examiné les reins, testicules et sperme de jeunes rats traités quotidiennement avec 2 x 5 mg/kg d'aescine : ils n'ont pas détecté d'anomalies ni dans la fertilité, ni dans la fonction rénale.

Partie IV :

Utilisations d'*Aesculus hippocastanum* L.

IV.1. Utilisations pharmaceutiques

IV.1.1. Médicaments à base de marronnier d'Inde

En France, les plantes médicinales sont classées dans la Pharmacopée française Xème édition en deux parties (48) :

- La liste A « Plantes médicinales utilisées traditionnellement »
- La liste B « Plantes médicinales utilisées traditionnellement en l'état ou sous forme de préparation dont les effets indésirables potentiels sont supérieurs au bénéfice thérapeutique attendu ».

Le marronnier d'Inde fait partie de la liste A des plantes médicinales de la Pharmacopée française XIème édition et fait l'objet de plusieurs monographies. On retrouve :

- L'extrait de marron d'Inde mou
- L'extrait de marron d'Inde sec
- L'extrait de marronnier d'Inde stabilisé sec
- L'inflorescence de marronnier d'Inde pour préparations homéopathiques
- La teinture de marron d'Inde stabilisé.

La Note explicative de l'Agence du médicament (1998) permet de revendiquer les indications du marronnier d'Inde ; on retrouve ainsi les indications suivantes (aussi bien par voie orale que par usage local) :

- traditionnellement utilisé dans le traitement symptomatique des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire cutanée tels qu'ecchymoses, pétéchies ;
- manifestations subjectives de l'insuffisance veineuse telles que jambes lourdes ;
- symptomatologie hémorroïdaire.

En Allemagne, la commission E qui établit les monographies précise que seule la graine du marronnier d'Inde a démontré des propriétés thérapeutiques en traitement de l'insuffisance veineuse chronique (jambes lourdes, crampes nocturnes dans les mollets, prurit et œdèmes des jambes). La posologie recommandée est alors pour le marron d'Inde de 100 mg d'aescine par jour (soit deux fois 250 à 312,5 mg d'un extrait titré à 16-20% d'aescine) (63). La feuille, l'écorce et la fleur n'ont pas démontré de propriétés thérapeutiques et ne sont donc pas en mesure d'être recommandées lors d'un usage thérapeutique selon cette commission E (29).

Au niveau européen, l'Agence européenne du médicament a rendu des rapports d'évaluation de la graine et de l'écorce du marronnier d'Inde (49). Traditionnellement, la graine du marronnier d'Inde est utilisée afin de soulager les symptômes d'inconfort et de lourdeur dans les jambes suite à une perturbation mineure du retour veineux, et afin de réduire les œdèmes et contusions. L'écorce du marronnier d'Inde servirait à soulager les symptômes d'un inconfort au niveau des jambes et calmer les brûlures et démangeaisons provoquées par les hémorroïdes. En réalité, seule

la graine du marronnier aurait un usage bien établi dans l'insuffisance veineuse chronique à hauteur de 240 à 290 mg d'extrait (soit 50 mg d'aescine) deux fois par jour pendant quatre semaines.

IV.1.2. Médicaments allopathiques (50)

Laboratoire RICHARD

HISTOFLUINE P® (solution buvable en flacon de 50 mL) AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) n° 3352975.

Médicament de phytothérapie à visée vasculoprotectrice et antihémorroïdaire. En vente libre et non remboursé par la Sécurité sociale.

C'est une spécialité pharmaceutique associant quatre extraits fluides hydroalcooliques (marron d'Inde 6,25 g, hamamélis 6,25 g, bourse à pasteur 2,5 g, anémone pulsatille 2,5 g) et de la vitamine P (esculoside, 125mg) pour 100 mL de solution.

Ce médicament est utilisé dans :

« - les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primo-décubitus).

- le traitement symptomatique des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire.

- le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire. »

La posologie recommandée est de 30 à 60 gouttes (dans un verre d'eau) 2 ou 3 fois par jour avant les repas.

Laboratoire H3 SANTÉ

INTRAIT DE MARRON D'INDE® (solution buvable en flacon de 60 mL) AMM n° 3183461.

Médicament vasculoprotecteur en vente libre et non remboursé par la Sécurité sociale.

C'est une spécialité associant 5,635 g d'extrait sec hydroalcoolique titré à 2% en aesculoside de marronnier d'Inde et 1,127 g de méthesculétol sodique.

Ce médicament est utilisé comme traitement d'appoint des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire. Sa posologie est de 100 à 500 gouttes par jour, réparties en 3 à 6 prises à prendre dans un peu d'eau au moment des repas.

Laboratoire TRADIPHAR

VEINOSTASE® (solution buvable en ampoules de 5 mL boite de 20) AMM n°3172954

Médicament vasculoprotecteur en vente libre et non remboursé par la Sécurité sociale.

Il associe :

- Marron d'Inde alcoolature titrant 2% d'escine : 0,1 g

- Hamamélis extrait hydroalcoolique fluide : 0,1 g
- Cyprès teinture : 0,033 g
- Acide ascorbique : 0,1 g

Cette spécialité est indiquée dans les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique, dans les troubles liés à la fragilité capillaire, et dans le traitement des signes liés à la crise hémorroïdaire.

La posologie est d'une ampoule trois fois par jour mélangée avec un peu d'eau sucrée avant les trois principaux repas.

Laboratoire SEPV

VEINOTONYL® (gélules boite de 60) AMM n°3321957

Médicament veinotonique et vasculoprotecteur en vente libre et non remboursé par la Sécurité sociale.

C'est une spécialité associant 75 mg de marron d'Inde (extrait sec de graines titrant à 70% d'escine) et 15 mg de perméthol permettant d'améliorer les symptômes en rapport avec une insuffisance veinolymphatique des membres inférieurs. Sa posologie est de 2 gélules par jour.

IV.1.3. Médicaments homéopathiques (50)

Laboratoire BOIRON

Ce laboratoire commercialise les dilutions d'*Aesculus Hippocastanum* à partir de la teinture mère et des macérâts glycérinés à partir des bourgeons en 1 DH. La posologie du macérât glycériné est de 75 gouttes matin et soir avec un peu d'eau en cas de crises hémorroïdaires (56). Le laboratoire BOIRON commercialise également des associations nommées **Aesculus composé®** contenant 33,33 g d'*Aesculus hippocastanum* TM, 33,33 g d'*Hamamélis virginiana* TM, 16,66 g d'*Hydrastis canadensis* TM et *Viburnum prunifolium* TM qsp 100g. Ces médicaments sont indiqués dans les crises d'hémorroïdes et peuvent se trouver sous différentes formes galéniques : tubes granules, comprimés, gouttes, suppositoires, pommades. Ils sont en vente libre et peuvent être remboursés à hauteur de 30% par la sécurité sociale sur prescription médicale.

L'*Aesculus hippocastanum* rentre également dans la composition de **Hamamélis composé®** dans l'indication des jambes lourdes et dans la composition de **Sepia composé®** dans l'indication des douleurs et inflammations pelviennes.

AVENOC® (suppositoire boite de 10) AMM n° 3008893

Cette spécialité homéopathique de BOIRON permet de traiter les hémorroïdes. Elle est composée de : *Paeonia officinalis* 1DH, *Ratanhia* 3CH, *Aesculus hippocastanum* 3CH, *Hamamélis virginiana* 1DH (0,01 g de chaque par suppositoire). Cette spécialité n'est pas prise en charge par la sécurité sociale.

Laboratoire LEHNING

CLIMAXOL® (solution buvable en flacon de 60 mL) AMM n° 3820465.

Médicament homéopathique en vente libre et non remboursé par la Sécurité sociale. Il est constitué de l'association suivante d'extraits de teintures mères diluées au dixième :

- Hamamélis : 28 mL
- Fragon épineux : 28 mL
- Marronnier d'Inde : 28 mL
- Hydrastis : 8 mL
- Viburnum : 8 mL (pour 100 mL)

Ce médicament est traditionnellement utilisé dans les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatience du primo-décubitus) et dans le traitement symptomatique des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire.

La posologie est de 20 à 25 gouttes deux fois par jour dans les cas de l'insuffisance veinolymphatique. Dans le cas de la fragilité capillaire, la posologie est de 20 gouttes trois fois par jour. Les gouttes sont à prendre avec un peu d'eau avant le repas.

PHYTOMELIS® (solution buvable en flacon de 30 mL) AMM n° 3083239.

Cette spécialité est un traitement de phytothérapie à visée vasculoprotectrice qui contient un mélange d'extraits fluides d'hamamélis (9,99 g) et de marron d'Inde (14,99 g).

Elle est indiquée dans la fragilité capillaire, la crise hémorroïdaire et l'insuffisance veinolymphatique.

Sa posologie est de 30 goutes deux fois par jour, avec un peu d'eau.

COMPLEXE LEHNING 103® (solution buvable en flacon de 30 mL) AMM n°221490

Médicament homépatique en association avec *Aesculus hippocastanum* TM, *Hamamelis* TM, *Nux vomica* 3DH, *Paeonia officinalis* 3DH, *Collinsonia canadensis* 3DH, *Verbascum thapsus* 2DH, *Boldo* TM, *Sulfur* 4DH, *Aloe* 4DH, N*itricum acidum* 4DH, à quantité égale par flacon.

Ses indications sont en général l'insuffisance veineuse.

IV.1 4. Compléments alimentaires

Laboratoire NATURACTIVE LABO PF (50)

ELUSANES MARRONNIER D'INDE® (boite de 30 gélules AMM n° 3376361 et boîte de 60 gélules AMM n° 3422552)

Cette spécialité ne contient que de l'écorce de marronnier d'Inde dosé à 200 mg (extrait sec aqueux) par gélule. Elle est indiquée dans « les manifestations subjectives de l'insuffisance veineuse comme les jambes lourdes et dans la symptomatologie hémorroïdaire. »

Sa posologie est d'une gélule matin et soir, à prendre avec un grand verre d'eau.

Laboratoire ARKOPHARMA (51)

ARKOGELULES MARRONNIER D'INDE® (boite de 45 gélules AMM n° 3299270 et boîte de 150 gélules AMM n° 3299287)

Chaque gélule contient 275 mg de marronnier d'inde (écorce titrant au minimum 2% en esculoside). Ce médicament est indiqué dans les troubles fonctionnels de la fragilité capillaire cutanée tels qu'ecchymoses et pétéchies. On le retrouve également dans les manifestations subjectives de l'insuffisance veineuse comme les jambes lourdes et dans la symptomatologie hémorroïdaire.

La posologie est de 1 gélule trois fois par jour avec un grand verre d'eau. Celle-ci peut être portée à 6 gélules par jour si nécessaire.

Les comprimés **FLUON+®** font partie des compléments alimentaires et ne disposent pas d'AMM. Ils sont composés d'extrais de graines de marronnier d'Inde, de feuilles d'hamamélis, et de pépins de raisin. Les allégations sont de favoriser une bonne circulation sanguine, d'améliorer le confort des jambes fatiguées et d'apporter des polyphénols. La posologie est de 2 à 4 comprimés par jour en 2 prises. (52)

Les bourgeons du marronnier se trouvent au cœur d'un élixir des fleurs de Bach (93). Composé de 0,4% d'un composé aqueux de bourgeons mélangé avec de l'alcool Brandy, il permet de cibler un état émotionnel, de gérer les aléas de la vie quotidienne. D'après Edward Bach en 1935, il est utilisé : « Pour ceux qui ne tirent pas tous les avantages de l'observation, et de l'expérience, qui plus que d'autres ont besoin de temps pour apprendre les leçons de la vie. Là où une expérience suffirait à certains, eux ont besoin de davantage, de la renouveler parfois plusieurs fois avant de retenir son enseignement. À leur grande confusion, ils se retrouvent à faire la même erreur à plusieurs reprises quand une seule fois aurait dû suffire, ou même quand l'avoir vu faire par d'autres aurait pu leur éviter ce genre de situation. » Cet élixir permet de favoriser l'attention

et la vigilance. La prise est de 4 gouttes quand le besoin s'en fait ressentir, pour un problème ponctuel. Pour un problème plus ancien, la prise sera de 4 gouttes par jour dans un verre d'eau ou 12 gouttes dans une bouteille pendant plusieurs semaines. Ce complément alimentaire n'induit aucun effet indésirable et n'interfère pas avec les médicaments.

IV.1.5. Traitement local

La Crème RAP® contient des extraits de graines de marronnier d'Inde en association avec du genêt à balais (vasoconstricteur), de l'*Arnica montana* (anti-œdémateux) et permet d'apaiser les jambes fatiguées. L'application se fait deux fois par jour (52 ; 53).

IV.1.6. Tisanes

Le fruit du marronnier d'Inde peut être utilisé en tisane. Pour cela, il suffit de concasser 30 g de marrons d'Inde dans un litre d'eau et de le mettre en décoction pendant 5 minutes. La décoction s'obtient en faisant bouillir l'eau et la graine concassée pendant un certain laps de temps, soit ici 5 minutes. Puis il faut laisser infuser pendant 5 minutes supplémentaires. Boire 3 tasses par jour permet de diminuer les symptômes d'insuffisance veinolymphatique. (54)

Afin d'avoir une action plus importante sur la circulation veineuse, il est possible de faire des mélanges de plantes.

Formule circulation veineuse :

- hamamélis : 25 g
- marron d'Inde : 15 g
- bourse à pasteur : 10 g
- vigne rouge : 25 g
- anis vert : 15 g
- millefeuille : 10 g

Prendre 3 cuillères à soupe de ce mélange dans ½ litre d'eau, faire bouillir 5 minutes et laisser infuser 10 minutes. Boire un verre avant chaque repas par cure de 3 semaines. (54)

IV.1.7. Conseils aux patients

Il est nécessaire pour le pharmacien de connaître les limites d'un conseil sur une insuffisance veineuse (91). En effet, certaines situations ne relèvent pas d'un conseil officinal (prévention ou symptôme chronique de jambes lourdes) mais d'une consultation médicale. Par exemple, les deux cas suivants :

- le patient se présente avec un œdème d'une seule jambe, avec un placard inflammatoire, rouge, l'aspect est brillant, le patient est fiévreux : il s'agit d'un érysipèle, une infection à streptocoque. Le traitement de la bactérie se fait par antibiotiques.

- Le patient se présente avec un œdème des gros orteils et du dos du pied : il s'agit d'une insuffisance lymphatique.

Au comptoir, lorsque la situation relève du conseil officinal, quelques conseils simples aux patients au niveau de leur hygiène de vie peuvent permettre de diminuer les symptômes d'une insuffisance veineuse (55 ; 56) (Tableau 5):

	
	Le port de vêtements trop serrés au niveau abdominal ou des membres inférieurs.
Position assise, effectuer des mouvements de flexion du pied.	Position assise en croisant les jambes.
Position debout, se mettre sur la pointe des pieds.	Position debout prolongée, immobile ou piétinement.
	Surcharge pondérale abdominale
Port de semelles orthopédiques en cas de voûte plantaire affaissée.	Chaussures mal adaptées : talon très haut ou absence de talon.
Douche fraîche sur les jambes en fin de journée : remonter des chevilles vers les cuisses.	Températures trop élevées : chauffage au sol mal adapté, couvertures chauffantes, épilation à la cire chaude, coups de soleil.
Sport adapté : marche, natation, vélo, gymnastique.	Sport trop violent : volleyball, handball.

Tableau 5: Récapitulatif des conseils à donner aux patients sur leur hygiène de vie afin de diminuer les symptômes d'une insuffisance veineuse.

Il reste important de signaler au patient qu'actuellement, le traitement le plus efficace afin de lutter contre l'insuffisance veineuse reste le port de chaussettes, de bas ou de collants de contention (57). Ils permettent de stimuler le retour veineux, de prévenir la stagnation du sang, de redonner leurs fonctions aux valvules par action sur la paroi des veines.

Par ailleurs, la prise de veinotoniques est à conseiller en cure de 20 jours par mois. (57)

En cas de prévention de la crise hémorroïdaire, il est possible d'associer 2/3 de marron d'Inde avec 1/3 de vigne rouge. La posologie est alors de 5 mL du mélange 2 fois par jour ou bien une gélule de chaque 2 fois par jour pendant un mois, renouvelable.

Dans le cas de la crise hémorroïdaire, le mélange reste identique à hauteur de six fois par jour pendant deux jours, puis 4 fois par jour pendant deux jours, puis deux fois par jour.

En cas de fragilité des microcapillaires, on peut associer de l'hamamélis et de l'écorce de marronnier d'Inde. Dans le cas de varices, le mélange se fera principalement entre les graines de marronnier d'Inde et le cyprès (61).

En pratique, le marron d'Inde est déconseillé (61):

- chez la femme enceinte
- chez la femme allaitante
- en cas d'insuffisance rénale.

On prévoira un arrêt 3 jours avant une intervention chirurgicale.

IV.2. Utilisations alimentaires

Les marrons du marronnier d'Inde ne sont pas comestibles (forte amertume et irritant pour l'estomac). Ils sont toutefois utilisés comme aliment pour le bétail (chevaux) en Europe orientale (14). Il faut cependant qu'ils soient présentés broyés, cuits et mélangés à d'autres aliments pour être acceptés par les animaux (30).

Les marrons étaient également utilisés, après trempage et lavage pendant 10 jours puis cuisson, à l'alimentation de la volaille (30). Elle en était intoxiquée : les poules ne pondaient plus, les canards gavés en mouraient.

IV.3. Utilisations industrielles

Le bois du marronnier d'Inde est utilisé en ébénisterie pour la fabrication des boîtes (cageots à fruits et légumes) car il est tendre, à grain fin ; de plus, il ne se fend pas (14). Cependant, il se prête mal au travail et est très mauvais pour le chauffage. En effet, quand le bois est très sec, il brûle de manière très vive mais ne dure pas longtemps (30).

Le marron d'Inde très riche en saponines permettant de produire du savon, de la lessive ou des produits moussants pour extincteurs (12). Il a longtemps servi pour remplacer la lessive et le lavage des mains chez les serruriers, ramoneurs, ou forgerons (60). Cette lessive mélangée avec de l'argile, donnait un savon très énergique mais inutilisable pour les linges clairs.

La farine brute de marrons permet de donner une colle imputrescible utilisée pour produire des colles pour papier (30), de la colle à bois qui repousse les rongeurs par son amertume (59).

La poudre de marrons mélangée à l'eau d'arrosage permet de chasser les vers de terre des pots de fleurs (60).

L'écorce du marronnier s'utilise en tannerie et donne un colorant brun qui a été utilisé en teinturerie.

THÈSE SOUTENUE PAR : VIEU Cécile

TITRE : Le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum* L.) : Études botaniques, chimiques et thérapeutiques.

CONCLUSION

Dans une société où le médicament allopathique se voit céder de la place au profit de la phytothérapie (souvent dans une complémentarité thérapeutique), c'est un retour au naturel qui prend progressivement une place importante au sein de l'officine. Ce mémoire fait l'état des connaissances scientifiques concernant le marronnier d'Inde.

Originaire des Balkans, le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum* L.) fait partie de la famille des *Hippocastanaceae* comprenant deux genres et quinze espèces. ; de grande taille, cet arbre a été introduit en France en 1576 et nécessite ensoleillement et une terre humide pour sa croissance. Ses grandes feuilles composées palmées comportent en général sept folioles dentées. Ses fleurs blanches tachées de rose forment des thyrses pyramidaux. Le fruit appelé « marron » est libéré d'une grosse capsule épineuse.

Son nom d'espèce, *hippocastanum*, provient du grec *hippos* « cheval » et *kastania* « châtaigne », rappelant que les Turcs donnaient des marrons aux chevaux souffrant de problèmes respiratoires. Cet arbre empreinte également divers noms vernaculaires tels que faux-châtaignier, châtaignier de mer.

Les propriétés médicinales du marronnier d'Inde sont apparues dès les années 1700 ; puis les études se sont poursuivies afin d'établir et confirmer les actions pharmacologiques : vis-à-vis de l'insuffisance veineuse par une activité anti-œdémateuse, anti-inflammatoire et anti-radicalaire, action veinotonique, action sur les hémorroïdes, les œdèmes postopératoires, l'infertilité par varicocèle, les troubles de la perfusion de l'oreille interne, en traitement anticancéreux et en cosmétique. Ces différentes actions sont possibles grâce à ses composants chimiques : les saponosides et flavonoïdes.

Le marron d'Inde contient principalement des saponosides sous forme d'aescine (10%) et des flavonoïdes sous forme de quercétine et de kaempférol et de leurs oses. L'écorce contient des glucosides coumariniques comme l'esculoside (jusqu'à 7%) et des flavonoïdes (quercitroside).

L'aescine est la principale molécule responsable des effets thérapeutiques. De nombreuses études ont été normalisées en fonction de l'aescine afin de pouvoir comparer les résultats déjà existants.

Le marronnier d'Inde est inscrit sur la liste A des plantes médicinales de la Pharmacopée française (11e édition) et y fait l'objet de cinq monographies, le marron (graine) étant la principale partie de la plante utilisée.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le 22 avril 2014

LE DOYEN

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
U.F.R
DE
PHARMACIE
GRENOBLE

Prof. Christophe RIBUOT

LE PRÉSIDENT DU JURY

Dr Serge KRIVOBOK

BIBLIOGRAPHIE

(1) VIEU C. Herbier, 2009 (collection personnelle)

(2) JUDD W. S., CAMPBELL C. S., KELLOGG E. A., STEVENS P. F. Botanique systématique : une perspective phylogénétique. 1ère édition, Ed. De Boeck Université, Paris, 2002, 467 pp.

(3) Organisation et évolution du règne végétal. Serge Krivobok. UFR pharmacie Grenoble.09/2011

(4) http://fr.academic.ru/dic.nsf/frwiki/779456 (Dernière consultation en octobre 2013)

(5) http://delta-intkey.com/angio/www/hippocas.htm (Dernière consultation en octobre 2013)

(6) http://j-e.febvre.pagesperso-orange.fr/systematique/rosidae/sapindales.pdf (Dernière consultation en octobre 2013)

(7) http://www.afd-ld.org/~fdp_bio/content.php?page=genre&skin=modvi&genre=22 (Dernière consultation en octobre 2013)

(8) http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-1053 (Dernière consultation en octobre 2013)

(9) HUTCHINSON J. The families of flowering plants. 3e édition, Ed. The Clarendon Press, Oxford, 1973, 968 pp.

(10) COSTE H., FLAHAULT C.H. Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Tome 1, Edition Librairie scientifique et technique, Paris, 1985, 807 pp.

(11) GUINOCHET M., DE VILMORIN R. Flore de France. Tome 2, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1975, 369-818 pp.

(12) Guide des arbres et arbuste. 2e édition, Ed. Sélection du Reader's Digest, 2003, 319 pp.

(13) AICHELE D., SCHWEGLER H.-W. Quel est donc cet arbre? Ed. Nathan, Paris, 1997, 284 pp.

(14) POLUNIN O., EVERARD B. Arbres et arbustes d'Europe. 2e édition, Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel, 1992, 208 pp.

(15) QUARTIER A., BAUER-BOVET P. Guide des arbres et arbustes d'Europe. 2e édition, Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel, 1982, 259 pp.

(16) REYNAUD J. La flore du Pharmacien. Ed. Tec & Doc, Paris, 2002, 257 pp.

(17) FROHNE D., PFANDER H.J., ANTON R. Plantes à risque. 1ere édition, Ed. Tec & Doc, Ed. Médicales internationales, Paris, 2009, 459 pp.

(18) http://domenicus.malleotus.free.fr/v/marronnier_inde.htm (Dernière consultation en octobre 2013)

(19) http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/marronnier_dInde/68415 (Dernière consultation en octobre 2013)

(20) http://www.torange-fr.com/Plants/Leafy-trees/Marronnier-dInde-Fleur-4060.html (Dernière consultation en octobre 2013)

(21) http://floreducotentin.canalblog.com/archives/2012/05/14/24260536.html (Dernière consultation en octobre 2013)

(22) http://fr.wikipedia.org/wiki/Marron_d'Inde (Dernière consultation en octobre 2013)

(23) HUANG Y., ZHENG S.-L., ZHU H.-Y., XU Z.-S. & XU R.-A. (2014) Effects of aescin on cytochrome P450 enzymes in rats. *J. Ethnopharmacol*. **151** : 583-90.

(24) http://www.jeffpippen.com/plants/aesculus.htm (Dernière consultation en octobre 2013)

(25) http://www.jardindupicvert.com/4daction/w/x.etap0iol?session=e78js8l56mz2x&bmaj= (Dernière consultation en mars 2014)

(26) http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-1053 (Dernière consultation en octobre 2013)

(27) http://horticulteurs.net/arbres/grands-arbres/planter-et-entretenir-un-marronnier-d-inde.xhtml (Dernière consultation en octobre 2013)

(28) WICHTL M., ANTON R. Plantes thérapeutiques. 3e édition, Ed. Tech & Doc, Paris, 1999, 636 pp.

(29) BRUNETON J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e édition, Ed. Tec & Doc, Paris, 2009, 1269 pp.

(30) LIEUTAGHI P. Le livres des arbres, arbustes et arbrisseaux. Ed. Actes sud, Paris, 2004, 1322 pp.

(31) KAPUSTA I., JANDA B. & SZAJWAJ B. (2007) Flavonoids In Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum*) seeds and powdered waste water byproducts. *J. Agric. Food Chem.* **55** : 8485-90.

(32) ZLATANOV M. D., ANTOVA G. A., ANGELOVA-ROMOVA M. J. & TENEVA O. T. (2013) Lipid composition of *Castanea sativa* Mill.and *Aesculus hipposcastanum* fruit oil. *J. Sci. Food Agri.* **93 :** 661-6.

(33) KUCUKKURT I., INCE S., KELES H., AKKOL E.-K, AVCI G., YESILADA E. & BACAK E. (2010) Beneficial effects of *Aesculus hippocastanum* L. seed extract on the body's own antioxidant defense system on subacute administration. *J. Ethnopharmacol*. **129** : 18-22.

(34) SIRTORI C.-R. (2001) Aescin: pharmacology, pharmacokinetics, and therapeutic profile. *Pharmacol. Res*. **44** :183-93.

(35) Commitee on herbal medicinal products, Assessment report on *Aesculus hippocastanum* L., semen, European Medicines Agency, 2009.

(36) ESCOP monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products, Thieme, 2003, 556 pp.

(37) KUNZ K., LORKOWSKI G., PETERSEN G., SAMCOVA E., SCHAFFLER K. & WAUSCHKUHN C.-H. (1998) Bioavailability of escin after administration of two oral formulations containing aesculus extract. *Arzneim-Forsch* **48** : 822-5.

(38) Supplementary drugs and other substances: Aesculus *in* Martindale: the extra pharmacopeia. 30e édition, Ed. Phramaceutical Press, 1999, 2.363 pp.

(39) LASZCZYK M.-N. (2009) Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Med.* **75** : 1549-60.

(40) KOUGAN NKWOKAP G.-B. (2010) Isolement et caractérisation des saponosides de trois plantes de la famille des *Araliaceae* et *Dracaneaceae* et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales, Thèse de doctorat, France, Dijon, 184 pp.

(41) RAMEAU J.-C., MANSION D. & DUME G. Flore forestière française : plaines et collines. Tome 1, Ed. Institut Pour Le Développement Forestier, 1999, 1800 pp.

(42) PINHEIRO P.-F. & JUSTINO G.-C. Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds – A Review of Spectroscopic Applications *in* Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. Ed. Intech, Croatie, 2012, 33-54 pp.

(43) FOURNIER P.-V. Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed. Omnibus, Paris, 2010, 1048 pp.

(44) HELLBERG K., RUSCHEWSKI W. & DE VIVIE R. (1975) Drug induced acute renal failure after heart surgery. *Thoraxchir. Vask. Chir.* **23** : 396-400.

(45)WILHELM R. & FELDMEIER C. (1975) Postoperative und posttraumatische oedemprophylaxe und therapie. *Med. Klin.* **70** : 2079-83.

(46) BASTIAN H.-P. & VALILENSIECK W. (1976) Nierenfunktion unter parenteraler aescin-behandlung. *Med. Klin.* **71** : 1295-9.

(47) ASCHER P.-W. (1977) Renale funktionsgroessen unter Na-Aescinat bei nierengesunden und nierengesunden und nierenkranken patienten. *Therapiewoche.* **52** : 3-10.

(48) ANONYME, Pharmacopée Française XIème édition.

(49) http://www.ema.europa.eu/ (Dernière consultation en janvier 2013)

(50) www.bcbdexther.fr (Dernière consultation en février 2013)

(51) SCIMECA D. & TETAU M. Précis de phytothérapie, Ed. Alpen, 2010, 96 pp.

(52) CHEVALLIER L. & CROUZET-SEGARRA C. Médicaments à base de plantes. 2e édition, Ed. Masson, Paris, 2004, 354 pp.

(53) http://www.univadis.fr/external/vidal?proceed (Dernière consultation en février 2013)

(54) ZAHALKA J.-P. Les plantes en pharmacie, propriétés et utilisations. Ed. du Dauphin, Paris, 2005, 239 pp.

(55) BELON J.-P. Conseils à l'officine, Aide au suivi pharmaceutique. 6e édition, Ed. Masson, Paris, 2006, 433 pp.

(56) La phytothérapie contre les troubles circulatoires. Cahier conseil n°16, Le moniteur des pharmacies n°2486, 19 avril 2003, 16 pp.

(57) BONTEMPS F. Le conseil à l'officine dans la poche. 6e édition, Ed. Pro-Officina, Rueil-Malmaison, 2011, 153 pp.

(58) http://www.na.fs.fed.us/pubs/silvics_manual/volume_2/aesculus/octandra.htm (Dernière consultation en février 2014)

(59) MULOT M.-A. Secret d'une herboriste. 21e édition, Ed. du Dauphin, Paris, 2012, 589 pp.

(60) FOURNIER P. Plantes médicinales et vénéneuses de France. Tome II : Consoude à Melon, 1948, 504 pp.

(61) RAYNAUD J. Prescription et conseil en phytothérapie. Ed. Tech & Doc, Ed. Médicales Internationales, Paris, 2007, 215 pp.

(62) World Health Organization, Monographs on selected medicinal plants, Volume 2, 2003, 357 pp.

(63) BLUMENTHAL M., BUSSE W. R., GOLDBERG A., GRUENWAID J., HALL T., KLEIN S., RIGGINS C. W. & RISTER R. S. The complete German Commission E monographs, Austin, 1998.

(64) DUDEK-MAKUCH M. & MATLAWSKA I. (2013) Coumarins in horse chestnut flowers : isolation and quantification by UPLC method. *Acta. Pol. Pharm.* **70** : 517-22.

(65) BRAGA P.-C., MARABINI L., WANG Y.-Y. LATTUADA N., CALÒ R., BERTELLI A., FALCHI M., DAL SASSO M. & BIANCHI T. (2012) Characterisation of the antioxidant effects of *Aesculus hippocastanum* L. bark extract on the basis of radical scavenging activity, the chemiluminescence of human neutrophil bursts and lipoperoxydation assay. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **16** : 1-9.

(66) OTTILLINGER B. & GREESKE K. (2001) Rational therapy of chronic venous insufficiency – chances and limits of the therapeutic use of horse-chestnut seeds extract. *BMC Cardiovasc. Disord.* **1** : 1-5.

(67) SIEGERS C.-P., SYED ALI S. & TEGTMEIER M. (2008) Aescin and troxerutin as a successful combination for the treatment of inner ear perfusion disturbances. *Phytomedicine* **15** : 160-3.

(68) HARIKUMAR K.-B., SUNG B., PANDEY M.-K., GUHA S., KRISHNAN S. & AGGARWAL B. B. (2010) Aescin, a pentacyclic triterpene, chemosensitizes human tumor

cells through inhibition of nuclear factor-κB signaling pathway. *Mol. Pharmacol.* **77** : 818-27.

(69) SHEN D.-Y., KANG J.-H., SONG W., ZHANG W.-Q., LI W.-G., ZHAO Y. & CHEN Q.-X. (2011) Apoptosis of Human Cholangiocarcinoma Cell Lines induced by β-Escin through Mitochondrial Caspase-dependent Pathway. *Phytother. Res.* **25** : 1519-26.

(70) PATLOLLA J.M.R., RAJU J., SWAMY M.V. & RAO C.V. (2006) β-Escin inhibits colonic aberrant crypt foci formation in rats and regulates the cell cycle growth by inducing $p21^{waf1/cip1}$ in colon cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* **5** : 1459-66.

(71) MOJZISOVA G., MOJZIS J., PILATOVA M., VARINSKA L., IVANOVA L., STROJNY L. & RICHNAVSKY J. (2013) Antiproliferative and Antiangiogenic Properties of Horse Chestnut Extract. *Phytother. Res.* **27** : 159-65.

(72) JIANG N., XIN W., WANG T., ZHANG L., FAN H., DU Y., LI C. & FU F. (2011) Protective effect of aescin from the seeds of *Aesculus hippocastanum* on liver injury induced by endotoxin in mice. *Phytomedicine* **18** : 1276-84.

(73) MING Z. G., HU Y., QIU Y. H., CAO L. & ZHANG X. G. (2010) Synergistic effects of beta-aescin and 5-fluorouracil in human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells. *Phytomedicine* **17** : 575-80.

(74) http://www.theriaque.org/ (Dernière consultation en février 2014)

(75) AVCI G., KUCUKKURT I., AKKOL A.K. & YESILADA E. (2010) Effects of escin mixture from the seeds of *Aesculus hippocastanum* on obesity in mice fed a high fat diet. *Pharm Biol.* **48** : 247-52.

(76) HU X.-M., ZHANG Y. & ZENG F.-D. (2004) Effects of sodium β-aescin on expression of adhesion molecules and migration of neutrophils after middle cerebral artery occlusion in rats. *Acta. Pharmacol. Sin.* **25** : 869-75.

(77) FANG Y., ZHAO L., YAN F., XIA X., XU D. & CUI X. (2010) Escin improves sperm quality in male patients with varicocele-associated infertility. *Phytomedicine* **17** : 192-6.

(78) FELIXSSON E., PERSON I. A.-L., ERIKSSON A.C. & PERSSON K. (2010) Horse Chestnut Extract Contracts BovineVessels and Affects Human Platelet Aggregation Through 5-HT_{2A} Receptors: An *In Vitro* Study. *Phytother. Res.* **24** : 1297-301.

(79) http://www.ircp.anmv.anses.fr/SpcFrame.asp?Product_Identifier=VULKETAN+2,5+MG/G+GEL+POUR+CHEVAUX (Dernière consultation en février 2014)

(80) POPE J., FENLON D., THOMPSON A., SHEA B., FURST D., WELLS G.A. & SILMAN A. (2000) Ketanserin for Raynaud's phenomenon in progressive systemic sclerosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD000954.

(81) YOSHIKAWA M., MURAKAMI T., MATSUDA H., YAMAHARA J., MURUKAMI N. & KITAGAWA I. (1996) Bioactive saponins and glycosides. III. Horse chestnut. (1): The structures, inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycemic activity of escins Ia, Ib, IIa, IIb, and IIIa from the seeds of *Aesculus hippocastanum*. *Chem. Pharm. Bull.* **44** : 1454-64.

(82) MATSUDA H., MURAKAMI T., YAMAHARA J. & YOSHIKAWA M. (1998) Mode of action of escins Ia and IIa and E,Z-senegin II on glucose absorption in gastrointestinal tract. *Bioorg. Med. Chem.* **6** :1019-23.

(83) MATSUDA H., LI Y. & YOSHIKAWA M. (1999) Gastroprotections of escins Ia, Ib, IIa, and IIb on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *Eur. J. Pharmacol.* **28** : 63-70.

(84) MARHUENDA E., ALARCON DE LA LASTRA C. & MARTIN M.J. (1994) Antisecretory and gastroprotective effects of aescine in rats. *Gen. Pharmacol*. **25** : 1213-9.

(85) ARNOULD T., JANSSENS D., MICHIELS C. & REMACLE J. (1996) Effect of aescine on hypoxia-induced activation of human endothelial cells. *Eur. J. Pharmacol*. **315** : 227-33.

(86) FACINO R.M., CARINI M., STAPHANI R., ALDINI G. & SAIBENE L. (1995) Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Arch. Pharmacol.* **328** : 720-4.

(87) GUILLAUME M. & PADIOLEAU V. (1994) Venotonic effect, vascular protection, antiinflammatory and free radical scavenging properties of horse chestnut extract. *Arzneim-Forsch*. **44** : 25-35.

(88) PIRARD J., GILLET P., GUFFENS M. & DEFRANCE P. (1976) Étude en double aveugle du Reparil en Proctologie. *Rev. Med. Liege* **31** : 343-5.

(89) HEFTI F. & KAPPELER U. (1975) Klinischer Untersuchung von Aescin-Ampullen bei postoperativen und posttraumatischen Oedemen. *Schweiz Rundsch Med. Prax*. **64** : 73-7.

(90) PITTLER M.H. & ARNST E. (2012) Horse chestnut seed extract for chronic venous insuffisiency (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* **11** : CD003230.

(91) BONTEMPS L. Le conseil à l'officine dans la poche. 6e édition, Ed. Pro-officina, Ruel-Malmaison, 2011, 153 pp.

(92) http://cemv.vascular-e-learning.net/poly/136.pdf (Dernière consultation en mars 2014)

(93) http://www.lesfleursdebach.com/fr/elixirs/6-bourgeon-de-marronnier-chestnut-bud.html (Dernière consultation en mars 2014)

(94) WILKINSON J.A. & BROWN A.M. (1999) Horse chestnut - *Aesculus hippocastanum*: potential applications in cosmetic skin-care products. *Int. J. Cosmet. Sci.* **21** : 437-47.

(95) MASAKI H., SAKAKI S., ATSUMI T. & SAKURAI H. (1995) Active-oxygen scavenging activity of plantextracts. *Biol. Pharm. Bull.* **18** : 162-6.

(96) RAMOS M. F. S., SANTOS E. P., BIZARRI C. H. B., MATTOS H. A., PADILHA M. R. S. & DUARTE H. M. (1996) Preliminary studies towards the utilisation of various plant extracts as antisolar agents. *Int. J. Cosmet. Sci.* **18** : 87-101.

(97) ZHANG F., LI Y., ZHANG L. & MU G. (2013) Synergistic protective effects of escin and low-dose glucocorticoids on blood-retinal barrier breakdown in a rat model of retinal ischemia. *Mol. Med. Rep*. **7** : 1511-5.

(98) http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/POLY.Chp.2.3.html (Dernière consultation en mars 2014)

(99) MAROUF A. & REYNAUD J. La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris, 2007, 342 pp.

(100) RIMMON A., VEXLER A., BERKOVICH L., EARON G., RON I. & LEV-ARI S. (2013) Escin Chemosensitizes Human Pancreatic Cancer Cells and Inhibits the Nuclear Factor-kappaB Signaling Pathway. *Biochem. Res. Int.* 2013 : 251752.

(101) http://ansm.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/(offset)/1# (Dernière consultation mars 2014)

(102) http://pharmacoclin.hug-ge.ch/_library/pdf/cytp450.pdf (Dernière consultation mars 2014)

(102) DELI J., MATUS Z. & TOTH G. (2010) Comparative Study on the Carotenoid Composition in the Buds and Flowers of Different *Aesculus* species. *Chromatographia* **51** : S179-82.

(103) SCHIMMER O., KRUGER A., PAULINI H. & HAEFELE F. (1994) An evaluation of 55 commercial plant extracts in the Ames mutagenicity test. *Die Pharmazie* **49** : 448-51.

(104) FELIPE M. B. M. C., de CARVALHO F. M., FELIX-SILVA J., FERNANDES-PEDROSA M. F., SCORTECCI K. C., AGNEZ-LIMA L. F. & BATISTUZZO de MEDEIROS S. R. (2012) Evaluation of genotoxic and antioxidant activity of an *Aesculus hippocastanum* L. (Sapindaceae) phytotherapeutic agent. *Biomedicine and Preventive Nutrition* **3** : 261-6.)

ANNEXE I

Monographie du marron d'Inde (Pharmacopée Française XIe édition)

MARRON D'INDE

Aesculus hippocastanum

La partie utilisée du marronnier d'Inde est constituée par la graine séchée *d'Aesculus hippocastanum* L. Le marron d'Inde contient au minimum 3,0 pour cent de saponosides triterpéniques, exprimés en aescine anhydre.

CARACTÈRES

Cette graine, plus ou moins globuleuse ou ovoïde, de 2 cm à 4 cm de diamètre, est pourvue d'un tégument luisant, marron. Sur une partie de ce tégument, on distingue une large tache blanchâtre correspondant au hile. La graine est exalbuminée et comprend 2 gros cotylédons charnus, huileux et amylacés, souvent soudés, avec une ligne de suture plus ou moins visible ; ils sont recouverts du tégument seminal, blanc crème dans le marron non mûr, qui prend une teinte brun acajou puis brun foncé au cours de la maturation. La radicule, courbe, occupe une dépression située sur la commissure des cotylédons ou sur la face dorsale de l'un d'eux.

Examinée au microscope, l'enveloppe de la graine est constituée de cellules polygonales, orientées de façon radiale en coupe transversale de la graine, de forme légèrement palissadique à paroi marron. En dessous, se trouvent de nombreuses couches de cellules sclérenchymateuses avec des parois épaisses grossièrement tachetées, jaunâtres à brunes, et un parenchyme lâche, incolore, constitué de cellules en couches peu nombreuses, à paroi dure et peu de vaisseaux, annelés et spiralés. Le tissu des cotylédons est constitué de cellules à paroi mince, incolores, gorgées d'amidon et de lipides. L'amidon, caractéristique, est constitué par des grains isolés de 15 µm à 25 µm, arrondis, irréguliers, en forme de poire ou de rein ; de nombreux grains isolés, plus petits, ronds, de 5 µm à 10 µm et peu de grains d'amidon par groupes de 2 à 4.

Examiné au microscope, le marron d'Inde pulvérisé (355), jaune-gris, présente des grains d'amidon, décrits ci-dessus ; des gouttelettes huileuses de taille variable ; des fragments de paroi fine et incolore provenant des cotylédons ; des fragments de l'enveloppe de la graine, brun jaune ; des cellules sclérenchymateuses et des cellules parenchymateuses tachetées.

IDENTIFICATION

A. Le marron d'Inde présente des caractères macroscopiques précédemment décrits.

B. À 2 mL de solution S (voir Essai) ajoutez avec précaution 0,5 ml d'*acide chlorhydrique R* et deux ou trois fragments de tournure de *magnésium R* ; il apparaît une coloration rouge orangé (flavonoïdes).

ESSAI

Solution S. Chauffez à reflux pendant 15 min, 1,0 g de drogue pulvérisée avec 10 mL d'*éthanol à 70 pour cent V/V R*. Laissez refroidir et filtrez.

Chromatographie. Opérez par chromatographie sur couche mince (2.2.27) en utilisant une plaque

---

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

ANNEXE II

Monographie de l'extrait de marron d'Inde sec

(Pharmacopée Française XIe édition)

EXTRAIT DE MARRON D'INDE (SEC)

Aesculi extractum siccum

Préparez cet extrait par lixiviation des marrons d'Inde convenablement divisés avec de l'éthanol à 60 pour cent *V/V* jusqu'à épuisement complet. Concentrez les liqueurs obtenues sous pression réduite et à basse température jusqu'à consistance appropriée. Après incorporation, si nécessaire, de substances auxiliaires appropriées, séchez par une méthode telle que séchage par nébulisation ou à l'étuve sous pression réduite à une température inférieure ou égale à 50 °C.

L'extrait sec de marron d'Inde contient de 16,0 pour cent à 22,0 pour cent d'aescine anhydre.

CARACTÈRES

Poudre beige clair.

IDENTIFICATION

Opérez par chromatographie sur couche mince (*2.2.27*) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Dissolvez 1 g d'extrait sec de marron d'Inde dans l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 50 mL avec le même solvant.

Solution témoin. Dissolvez 50 mg d'*aescine R* dans l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez séparément sur la plaque 5 µL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 10 cm avec un mélange de 30 volumes d'*acétate* d'*éthyle R*, de 30 volumes d'*eau R* et de 40 volumes de *propanol R*. Laissez sécher la plaque à l'air. Pulvérisez de la *solution d'aldéhyde anisique R*. Chauffez la plaque à l'étuve à 100-105 °C pendant 10 min. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente une tache principale semblable quant à sa position et sa coloration à celle du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

ESSAI

Tanins. Dans une fiole conique, introduisez 1 g (m) d'extrait sec de marron d'Inde et ajoutez 150 mL d'*eau R*. Faites bouillir et maintenez au bain-marie pendant 30 min. Refroidissez à l'eau courante, puis introduisez le mélange dans un ballon jaugé et complétez à 250,0 mL avec de l'*eau R*. Laissez décanter, puis filtrez le liquide sur un papier filtre d'un diamètre de 12 cm. Éliminez les 50 premiers millilitres du filtrat et utilisez le reste pour le dosage.

Polyphénols totaux. Prélevez 5,0 mL du filtrat et complétez à 25,0 mL avec de l'*eau R*. Prélevez 5,0 mL de cette solution, ajoutez 1,0 mL de la *solution d'acide phosphotungstique R*, mélangez et complétez à 50,0 mL avec une solution de *carbonate de sodium R* à 150 g/L. Mesurez l'absorbance (*2.2.25*) à 715 nm (A_1) exactement 2 min après la dernière addition de réactif et utilisez l'*eau R* comme liquide de compensation.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

ANNEXE III

Monographie de l’extrait de marron d’Inde mou

(Pharmacopée Française XIe édition)

EXTRAIT DE MARRON D'INDE (MOU)

Aesculi extractum molle

Marrons d'Inde desséchés ..... mille grammes 1 000
Ethanol à 60 pour cent *V/V* ..... Q.S.

Préparez cet extrait par lixiviation des marrons d'Inde, convenablement divisés, avec de l'éthanol à 60 pour cent *V/V* jusqu'à épuisement complet. Concentrez les liqueurs obtenues sous pression réduite et à basse température jusqu'à obtention d'un extrait mou.

L'extrait mou de marron d'Inde contient de 13,0 pour cent à 18,0 pour cent d'aescine anhydre.

CARACTÈRES

Extrait brun clair mordoré, à consistance molle, facilement soluble dans l'éthanol à 60 pour cent *V/V*.

IDENTIFICATION

Opérez par chromatographie sur couche mince (*2.2.27*) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Dissolvez 1 g d'extrait mou de marron d'Inde dans 50 mL d'*éthanol à 60 pour cent V/V R*.

Solution témoin. Dissolvez 50 mg d'*aescine R* dans l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez séparément sur la plaque 5µL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 10 cm avec un mélange de 30 volumes d'*acétate d'éthyle R*, de 30 volumes d'*eau R* et de 40 volumes de *propanol R*. Laissez sécher la plaque à l'air et pulvérisez de la *solution d'aldéhyde anisique R*. Chauffez la plaque à l'étuve à 105 °C pendant 10 min. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente une tache principale semblable quant à sa position et sa coloration à celle du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

ESSAI

Perte à la dessiccation. Dans une capsule à fond plat d'un diamètre de 50 mm environ et d'une hauteur de 30 mm environ, contenant une petite baguette de verre, le tout taré au préalable, délayez à chaud 0,5 g d'extrait mou de marron d'Inde avec 5 ml d'*éthanol à 60 pour cent V/V R*. Chauffez au bain-marie, en remuant si nécessaire, jusqu'à consistance très épaisse, puis desséchez à l'étuve à 105 °C pendant 3 h. Laissez refroidir au dessiccateur sur du *pentoxyde de diphosphore R*, puis pesez. La perte à la dessiccation est de 15,0 pour cent à 20,0 pour cent.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

ANNEXE IV

Monographie de l'extrait de marron d'Inde stabilisé sec (Pharmacopée Française XIe édition)

EXTRAIT DE MARRON D'INDE STABILISÉ (SEC)

Aesculi stabilisati extractum siccum

Préparez cet extrait par lixiviation des marrons d'Inde décortiqués, stabilisés et desséchés, convenablement divisés avec de l'éthanol à 60 pour cent *V/V* jusqu'à épuisement complet. Concentrez les liqueurs obtenues sous pression réduite et à basse température jusqu'à consistance appropriée. Après incorporation, si nécessaire, de substances auxiliaires appropriées, séchez par une méthode telle que séchage par nébulisation ou à l'étuve sous pression réduite à une température inférieure ou égale à 50 °C.

L'extrait sec de marron d'Inde stabilisé contient de 16,0 pour cent à 22,0 pour cent d'aescine anhydre.

CARACTÈRES

Poudre beige clair.

IDENTIFICATION

Opérez par chromatographie sur couche mince (*2.2.27*) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Dissolvez 1 g d'extrait sec de marron d'Inde stabilisé dans l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 50 mL avec le même solvant.

Solution témoin. Dissolvez 50 mg d'*aescine R* dans l'*éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez séparément sur la plaque 5 µL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 10 cm avec un mélange de 30 volumes d'*acétate d'éthyle R*, de 30 volumes d'*eau R* et de 40 volumes de *propanol R*. Laissez sécher la plaque à l'air. Pulvérisez de la *solution d'aldéhyde anisique R*. Chauffez la plaque à l'étuve à 100-105 °C pendant 10 min. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente une tache principale semblable quant à sa position et sa coloration à celle du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

ESSAI

Tanins. Dans une fiole conique, introduisez 1 g (*m*) d'extrait sec de marron d'Inde stabilisé et ajoutez 150 mL d'*eau R*. Faites bouillir et maintenez au bain-marie pendant 30 min. Refroidissez à l'eau courante, puis introduisez le mélange dans un ballon jaugé et complétez à 250,0 mL avec de l'*eau R*. Laissez décanter, puis filtrez le liquide sur un papier filtre d'un diamètre de 12 cm. Éliminez les 50 premiers millilitres du filtrat et utilisez le reste pour le dosage.

Polyphénols totaux. Prélevez 5,0 mL du filtrat et complétez à 25,0 mL avec de l'*eau R*. Prélevez 5,0 mL de cette solution, ajoutez 1,0 mL de la *solution d'acide phosphotungstique R*, mélangez et complétez à 50,0 mL avec une solution de *carbonate de sodium R* à 150 g/L. Mesurez l'absorbance (*2.2.25*) à 715 nm (A_1) exactement 2 min après la dernière addition de réactif et utilisez l'*eau R* comme liquide de compensation.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

ANNEXE V

Monographie de l'inflorescence de marronnier d'Inde (Pharmacopée Française XIe édition)

MARRONNIER D'INDE (INFLORESCENCE DE) POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

AESCULUS HIPPOCASTANUM FLEURS POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

Aesculi hippocastani flores ad praeparationes homoeopathicas

DÉFINITION

Inflorescence fraîche d'*Aesculus hippocastanum* L.

CARACTÈRES

Caractères macroscopiques décrits en identification.

IDENTIFICATION

L'inflorescence de marronnier d'Inde, en thyrse pyramidale est constituée de fleurs zygomorphes blanches souvent tachetées de rouge ou de jaune. Les fleurs ont un calice à 5 dents inégales, caduques, une corolle à 5 pétales pubescents et inégaux ; les 3 pétales inférieurs sont étalés et inclinés, les 2 supérieurs sont redressés et elliptiques. L'androcée contient 7 étamines à filets arqués en dehors, réunis à la base en un disque nectarifère. L'ovaire, libre, à 3 loges biovulées, est surmonté d'un style unique terminé par un stigmate aigu.

ESSAI

Éléments étrangers *(2.8.2)* : au maximum 5 pour cent.

Perte à la dessiccation *(2.2.32)* : au minimum 80,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h, sur 5,0 g de drogue finement découpée.

SOUCHE

DÉFINITION

Teinture mère d'inflorescence de marronnier d'Inde préparée à la teneur en éthanol de 55 pour cent *V/V*, à partir de l'inflorescence fraîche d'*Aesculus hippocastanum* L., selon la technique générale de préparation des teintures mères (voir la monographie *Préparations homéopathiques (1038)* et la Précision complémentaire de l'Autorité française de Pharmacopée).

Teneur : au minimum 0,10 pour cent *m/m* de flavonoïdes totaux, exprimés en quercitroside ($C_{21}H_{20}O_{11}$; M_r 448,4).

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

ANNEXE VI

Monographie de la teinture de marron d'Inde stabilisé (Pharmacopée Française XIe édition)

TEINTURE DE MARRON D'INDE STABILISÉ

Aesculi stabilisati tinctura

Marrons d'Inde décortiqués, stabilisés et desséchés ..... mille grammes 1 000
Éthanol à 60 pour cent *V/V* ..... Q.S.

Préparez cette teinture par lixiviation des marrons d'Inde décortiqués, stabilisés et desséchés, convenablement divisés, avec de l'*éthanol* à 60 pour cent *V/V*.

La teinture de marron d'Inde stabilisé contient de 1,0 pour cent à 2,0 pour cent d'aescine anhydre.

CARACTÈRES

Liquide limpide, jaune-brun, donnant une légère opalescence par addition d'un volume d'eau.

IDENTIFICATION

Opérez par chromatographie sur couche mince (*2.2.27*) en utilisant une plaque recouverte de *gel de silice G R*.

Solution à examiner. Teinture de marron d'Inde stabilisé à examiner.

Solution témoin. Dissolvez 50 mg d'*aescine R* dans *l'éthanol à 60 pour cent V/V R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez séparément sur la plaque 5µL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 10 cm avec un mélange de 30 volumes d'*acétate d'éthyle R*, de 30 volumes d'*eau R* et de 40 volumes de *propanol R*. Laissez sécher la plaque à l'air et pulvérisez de *la solution d'aldéhyde anisique R*. Chauffez la plaque pendant 10 min à l'étuve à 100-105 °C. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente une tache principale semblable quant à sa position et sa coloration à celle du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

ESSAI

Résidu sec. Dans une capsule à fond plat d'un diamètre de 50 mm environ et d'une hauteur de 30 mm environ, pesez rapidement 2,00 g de teinture de marron d'Inde stabilisé. Évaporez au bain-marie à siccité et desséchez à l'étuve à 100-105 °C pendant 3 h. Laissez refroidir au dessiccateur en présence de *pentoxyde de diphosphore R* puis pesez. Le résidu sec est de 8,0 à 13,0 pour cent.

Éthanol (*2.9.10*) : 53,0 pour cent *V/V* à 58,0 pour cent *V/V*.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

Faculté de Pharmacie,
Université Joseph Fourier Grenoble I.



Serment de Galien

« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

THÈSE SOUTENUE PAR : VIEU Cécile le 27 mai 2014

TITRE : Le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum* L.) : Études botaniques, chimiques et thérapeutiques.

RÉSUMÉ

Le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum* L.) est un arbre appartenant à la famille des Hippocastanacées ; originaire des Balkans, il a besoin d'un ensoleillement et d'une terre humide pour sa croissance. Ses grandes feuilles composées palmées comportent en général sept folioles dentées. Ses fleurs blanches tachées de rose forment des thyrses pyramidaux. Cet arbre empreinte divers noms vernaculaires tels que faux- châtaignier, châtaignier de mer.

De nombreuses études normalisées en fonction de l'aescine démontrent les effets thérapeutiques anciennement connus (anti-œdémateux, anti-inflammatoire, veinotonique). D'autres activités thérapeutiques ont été démontrées *in vitro, in vivo* ou lors d'études cliniques: anticancéreux, anti-radicalaire, traitement de l'infertilité par varicocèle ou des troubles de perfusion de l'oreille interne ainsi qu'en cosmétique. Le marronnier d'Inde est par ailleurs inscrit sur la liste A des plantes médicinales de la Pharmacopée française (11^{e} édition) et y fait l'objet de cinq monographies, le marron (graine) étant la principale partie de la plante utilisée. Les indications sont validées par la Note explicative de l'Agence du médicament (France), la Commission E (Allemagne), ou encore l'Agence européenne du médicament.

L'aspect botanique du genre *Aesculus*, la composition chimique des différentes parties du marronnier d'Inde sont abordés dans ce mémoire ainsi que ses effets thérapeutiques et sa toxicité. Sur le plan thérapeutique, les médicaments et compléments alimentaires à base de cette plante y sont détaillés.

Mots clefs : *Aesculus hippocastanum*, Marronnier d'Inde, Hippocastanacées, aescine, saponosides, flavonoïdes, phytothérapie.

Composition du jury :

Président du jury : Dr Serge KRIVOBOK, Docteur en Pharmacie et Maître de Conférences en Biologie Végétale et Botanique (Directeur de thèse)

Membres du jury : Dr Catherine GILLY, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences en Chimie thérapeutique
Dr Anne-Laure BERNE, Docteur en Pharmacie
Dr Anne-Cécile OLU, Docteur en Pharmacie

Adresse de l'auteur : 3, rue Baptiste Marcet 07130 St Péray

Mail : cecile.vieu@gmail.com