



**HAL**  
open science

## L'aescine : propriétés et utilisations thérapeutiques

Coralie Ganaye

► **To cite this version:**

Coralie Ganaye. L'aescine : propriétés et utilisations thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01299390

**HAL Id: dumas-01299390**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01299390>**

Submitted on 7 Apr 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 02 Octobre 2015**

**par GANAYE Coralie**

<p><b>L'AESCINE : PROPRIÉTÉS ET UTILISATIONS THÉRAPEUTIQUES</b></p>
---

**JURY**

**Président : Monsieur BAUDRIN Emmanuel, Professeur**

**Membres : Monsieur MOLINIÉ Roland, Maître de conférences**

**Madame DUSAUSSOY-DEVRED Isabelle, Pharmacien**

**Thèse n°**

**GANAYE Coralie**

**L'AESCINE : PROPRIÉTÉS ET UTILISATIONS THÉRAPEUTIQUES**

**Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie**

**Université de Picardie Jules Verne**

**Année 2015**

**Mots clefs : Aescine – Aesculus hippocastanum – Maladie de Parkinson –  
Anti-inflammatoire – Insuffisance veineuse – Anti-hémorroïdaire**

---

**RÉSUMÉ**

**Originaire des Balkans, le marronnier d'Inde est un arbre ornemental répandu dans les parcs et jardins d'Europe. Il possède de nombreuses substances actives dont l'aescine, un saponoside triterpénique, contenu en grande quantité dans la graine. Son utilisation s'est faite dans un premier temps dans l'insuffisance veineuse. Mais on a lui a reconnu rapidement d'autres vertus comme anti-inflammatoire et anti-œdémateux.**

**D'autres applications thérapeutiques lui ont été attribuées notamment comme anti-hémorroïdaire. La découverte majeure récente est son implication dans le rétablissement des fonctions et les mécanismes induits dans la maladie de Parkinson sur un modèle de souris.**

**Originally from the Balkans, the horse chestnut is a common ornamental tree in parks and gardens of Europe. It has many active substances wich escin, a triterpene saponoside, contained in large amount in the seed. Initially, its use is made in veinous insufficiency but we quickly recognized his virtues as anti-inflammatory and anti-edematous.**

**Other therapeutic applications have been attributed at the Aesculus hippocastanum in particular as anti-hémorrhoidal. The recent major discovery is its in volvement in the recovery of functions induced mechanisms in Parkinson disease in a mouse model.**

---

**Jury**

**Président : Monsieur BAUDRIN Emmanuel, Professeur**

**Membres : Monsieur MOLINIÉ Roland, Maître de conférences**

**Madame DUSAUSSOY-DEVRED Isabelle, Pharmacien**

# REMERCIEMENTS

À Monsieur BAUDRIN Emmanuel, Professeur à la faculté de Pharmacie d'Amiens, pour sa présence en qualité de président. Je vous remercie, très sincèrement, d'avoir accepté aussi rapidement d'évaluer mon travail en ce jour si important.

À Monsieur CAVÉ Guy, Professeur à la faculté de Pharmacie d'Amiens, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

À Monsieur MOLINIÉ Roland, Maître de conférences à la faculté de Pharmacie d'Amiens, pour avoir accepté d'être le directeur de ma thèse et de m'avoir guidée tout au long de sa rédaction. Soyez assuré de toute ma gratitude pour la qualité de vos conseils et de votre savoir durant mon parcours étudiant.

À Madame DUSAUSSOY-DEVRED Isabelle, Pharmacien titulaire à FLIXECOURT, pour avoir acceptée d'être présente au sein de mon jury de thèse et pour m'avoir accueillie en stage dans son officine, durant toutes ces années.

Au personnel de la Pharmacie de la Vallée à FLIXECOURT pour leurs conseils, leur investissement et leur disponibilité au cours des différents stages de mon parcours pharmaceutique.

À mes grands parents maternels (Mamy & Pépère), pour avoir été présents depuis le début, je ne serai pas là aujourd'hui sans vous. Veuillez trouver en ces mots toute ma reconnaissance pour votre soutien, votre amour et votre présence à mes cotés.

À ma Maman, merci de ta présence, de m'avoir donné ton courage et tant de choses. Merci d'avoir supporté mes variations d'humeur surtout à l'approche des examens. Comme dirait quelqu'un, tu es ... « *Another part of me* ».

À mon frère Clément, pour tous ces moments de complicité. Merci de m'avoir aidé dans l'apprentissage des noms latins. Grâce à moi, tu sais maintenant le petit nom de la jonquille ! Continue sur cette belle route, je suis fière de toi !

À ceux qui auraient voulu être là, ma marraine Isabelle, Mémé et Pépé. Je pense fort à vous en cet instant et j'espère que vous êtes fiers de moi.

À Élodie (Dilo). C'est grâce à la faculté de Pharmacie si je t'ai rencontré. Tant de choses à dire en très peu de lignes. Merci tout simplement pour ta présence, ma meilleure.

À Virginie (MPCRALQT). Ma petite Virginie, mon petit cochon rose à la queue tordue ! Notre amitié est un trésor pour moi. Merci pour tous ces moments et ceux à venir. Souviens-toi du cours de chimie générale ...

À Léa (Binôme). Je me rappellerai toujours de tes premiers mots envers moi. Merci d'avoir été mon binôme durant toutes ces années d'études. Les travaux pratiques de galénique resteront dans nos mémoires ...

À Camille (Cam-Cam). J'aurai pu dire aussi Miss Triple Town ou Candy Crush Saga ou ... Quel bonheur de t'avoir rencontré. Merci pour tous ces instants ... vivement le prochain libanais !

À Carole, Améline, Hubert, Florine, Cathy, Anne-Marie, Aurélie.

Le mot de la fin est pour toi Philippe. Merci pour ton amour, ton soutien durant toutes ces années. Hâte de continuer ce chemin avec toi ...

# **SOMMAIRE**

<b><u>LISTE DES FIGURES</u></b> .....	7
<b><u>LISTE DES TABLEAUX</u></b> .....	8
<b><u>LISTE DES ABREVIATIONS</u></b> .....	9
<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	11
<b>1. <u>Autour du marronnier d'Inde</u></b> .....	12
<b>1.1 <u>Historique</u></b> .....	12
<b>1.2 <u>Étude botanique</u></b> .....	13
<b>1.2.1 <u>La classification</u></b> .....	13
<b>1.2.2 <u>Description botanique</u></b> .....	14
<b>1.2.2.1 <u>L'appareil végétatif</u></b> .....	14
<b>1.2.2.2 <u>L'appareil reproducteur</u></b> .....	16
<b>1.2.3 <u>Les autres espèces et cultivars</u></b> .....	19
<b>1.2.3.1 <u>Les autres cultivars</u></b> .....	19
<b>1.2.3.2 <u>Les autres espèces</u></b> .....	19
<b>1.2.4 <u>Données supplémentaire</u></b> .....	21
<b>1.2.4.1 <u>Répartition géographique</u></b> .....	21
<b>1.2.4.2 <u>Plantation</u></b> .....	21
<b>1.2.4.3 <u>Conditions de culture</u></b> .....	21
<b>1.3 <u>Composition du marronnier d'Inde</u></b> .....	22
<b>1.3.1 <u>Dans l'écorce</u></b> .....	22
<b>1.3.2 <u>Dans le bourgeon</u></b> .....	22
<b>1.3.3 <u>Dans la feuille</u></b> .....	23
<b>1.3.4 <u>Dans la fleur</u></b> .....	23
<b>1.3.5 <u>Dans le fruit</u></b> .....	24

1.4	<b><u>Les composés du marronnier d'Inde</u></b> .....	25
1.4.1	<b><u>Les flavonoïdes</u></b> .....	25
1.4.1.1	<b><u>Généralités sur les flavonoïdes</u></b> .....	25
1.4.1.2	<b><u>Synthèse des flavonoïdes</u></b> .....	26
1.4.1.3	<b><u>Chez le marronnier d'Inde</u></b> .....	27
1.4.1.4	<b><u>Extraction, caractérisation et dosage</u></b> .....	27
1.4.2	<b><u>Les Coumarines</u></b> .....	27
1.4.2.1	<b><u>L'esculine</u></b> .....	28
1.4.2.2	<b><u>La fraxine</u></b> .....	28
2.	<b><u>Les saponosides</u></b> .....	29
2.1	<b><u>Généralités sur les saponosides</u></b> .....	29
2.2	<b><u>Classification des saponosides</u></b> .....	29
2.2.1	<b><u>Les saponosides stéroïdiques</u></b> .....	29
2.2.2	<b><u>Les saponosides triterpéniques</u></b> .....	30
2.2.3	<b><u>Les oses</u></b> .....	32
2.2.4	<b><u>Les acides organiques</u></b> .....	33
2.3	<b><u>Propriétés physico-chimiques, extraction et caractérisation</u></b> .....	33
2.3.1	<b><u>Propriétés physico-chimiques</u></b> .....	33
2.3.2	<b><u>Extraction des saponosides</u></b> .....	34
2.3.3	<b><u>Caractérisation des saponosides</u></b> .....	34
2.4	<b><u>Les saponosides du marronnier d'Inde</u></b> .....	35
2.4.1	<b><u>Généralités sur l'aescine</u></b> .....	35
2.4.2	<b><u>L'aescine : un mélange d'hétérosides</u></b> .....	36
2.4.3	<b><u>Analyse de l'aescine</u></b> .....	37
2.4.3.1	<b><u>Pharmacocinétique de l'aescine</u></b> .....	37
2.4.3.2	<b><u>La DL 50</u></b> .....	39

2.4.3.3	<b><u>Les effets indésirables</u></b> .....	39
2.4.3.4	<b><u>Tératogénicité</u></b> .....	40
2.4.4	<b><u>Action sur les cytochromes P450 (chez le rat)</u></b> .....	40
3.	<b><u>Les utilisations thérapeutiques de l'aescine</u></b> .....	42
3.1	<b><u>L'insuffisance veineuse chronique</u></b> .....	42
3.1.1	<b><u>Physiopathologie</u></b> .....	42
3.1.2	<b><u>Les conséquences de l'I.V.C. et les traitements</u></b> .....	43
3.1.3	<b><u>L'aescine dans l'insuffisance veineuse</u></b> .....	43
3.2	<b><u>Action sur l'œdème post-opératoire</u></b> .....	45
3.3	<b><u>Action anti-inflammatoire</u></b> .....	45
3.4	<b><u>Action anti-hémorroïdaire</u></b> .....	48
3.5	<b><u>Action dans le stress oxydant</u></b> .....	49
3.6	<b><u>Action anti-cancérogène</u></b> .....	50
3.7	<b><u>Action dans l'infertilité en cas de varicocèle</u></b> .....	50
3.8	<b><u>Action dans l'ischémie rétinienne</u></b> .....	52
3.9	<b><u>Action dans la perfusion de l'oreille interne</u></b> .....	52
3.10	<b><u>Action au niveau gastrique</u></b> .....	53
3.10.1	<b><u>Effet hypoglycémique</u></b> .....	53
3.10.2	<b><u>Effet anti-ulcéreux</u></b> .....	53
3.11	<b><u>La maladie de Parkinson</u></b> .....	54
3.11.1	<b><u>Physiopathologie</u></b> .....	54
3.11.2	<b><u>L'aescine dans la maladie de Parkinson</u></b> .....	55
3.12	<b><u>Quelques utilisations pharmaceutiques</u></b> .....	58
3.12.1	<b><u>Les compléments alimentaires</u></b> .....	58
3.12.2	<b><u>Usage externe</u></b> .....	59

<b>3.12.3 Homéopathie</b> .....	59
<b>3.13 Quelques conseils aux patients</b> .....	60
<b>3.13.1 En cas d'insuffisance veineuse</b> .....	60
<b>3.13.2 En cas d'hémorroïdes</b> .....	61
<b>3.13.3 Dans la maladie de Parkinson</b> .....	61
<b><u>CONCLUSION</u></b> .....	62
<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	63
<b><u>ANNEXE</u></b> .....	73

# LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Planche descriptive du marronnier d'Inde** [8]
- Figure 2 : Vue d'ensemble du marronnier d'Inde** [12]
- Figure 3 : Feuille du marronnier d'Inde**
- Figure 4 : Modèle de thyrsa** [17]
- Figure 5 : La fleur de marronnier d'Inde** [18]
- Figure 6 : La formule florale du marronnier d'Inde**
- Figure 7 : Le fruit et la graine du marronnier d'Inde** [21]
- Figure 8 : Différents exemples de cultivars d'*Aesculus hippocastanum*** [24]
- Figure 9 : *Aesculus flava*** [25]
- Figure 10 : *Aesculus pavia*** [26]
- Figure 11 : Répartition géographique du marronnier d'Inde en France** [27]
- Figure 12 : Synthèse des flavonoïdes** [49]
- Figure 13 : Certains flavonoïdes chez *Aesculus hippocastanum*** [50]
- Figure 14 : L'esculine** [53]
- Figure 15 : Squelettes des génines des saponosides stéroïdiques** [41]
- Figure 16 : Biosynthèse des saponosides triterpéniques** [60]
- Figure 17 : La protoescigénine et le barringtogénol C** [56]
- Figure 18 : Structure de l'aescine** [69]
- Figure 19 : Le système veineux des membres inférieurs** [79]
- Figure 20 : Mode d'action de l'aescine dans l'insuffisance veineuse chronique** [81]
- Figure 21 : Effets de l'aescine et de l'isoaescine sur l'augmentation de la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris** [85]
- Figure 22 : Effets de l'aescine et de l'isoaescine sur les démangeaisons induites par le composé 48/80 chez la souris** [85]
- Figure 23 : Mode d'action du M.P.T.P. dans le modèle de la maladie de Parkinson** [102]
- Figure 24 : Mécanisme d'action de l'aescine dans un modèle induit de la maladie de Parkinson chez la souris** [103]

# **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau 1 : Composition en caroténoïdes (en %) selon la maturité du bourgeon du marronnier d'Inde [33]**

**Tableau 2 : Composition en caroténoïdes dans les fleurs du marronnier d'Inde [33]**

**Tableau 3 : Composition des cotylédons et du péricarpe d'*Aesculus hippocastanum* [39]**

**Tableau 4 : Les oses constitutifs des saponosides [60]**

**Tableau 5 : Les acides organiques chez les saponosides [56]**

**Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques de l'aescine Ia, Ib et l'isoaescine Ia, Ib après administration d'un comprimé avec 60 mg d'aescine à 10 hommes volontaires sains [69]**

**Tableau 7 : Paramètres pharmacocinétiques de l'aescine Ia chez les rats après administration intraveineuse aux doses 0,5, 1,0 et 2,0 mg/kg [72]**

**Tableau 8 : Données récapitulatives de l'étude des cytochromes chez le rat [75] [76] [77]**

**Tableau 9 : Résultats des différents paramètres étudiés avec utilisation d'aescine versus chirurgie dans la varicocèle [92]**

**Tableau 10 : Variations du taux de dopamine en fonction de la dose d'aescine sous contrôle de M.P.T.P. [103]**

# LISTE DES ABREVIATIONS

**Ac<sub>2</sub>O** : Anhydride acétique

**A.D.N.** : Adénosine Triphosphate

**A.I.N.S.** : Anti-inflammatoire Non Stéroïdien

**A.L.A.T.** : Alanine Amino Transférase

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium

**A.M.M.** : Autorisation de Mise sur le Marché

**A.P.G.** : Angiosperm Phylogeny Group

**A.S.A.T.** : Aspartate Amino Transférase

**A.T.P.** : Adénosine Triphosphate

**A.U.C.** : Area Under Curve (aire sous la courbe)

**A.V.C.** : Accident Vasculaire Cérébral

**B.H.E.** : Barrière Hémato-Encéphalique

**B.H.R.** : Barrière Hémato-Rétinienne

**C** : Carbone

**C.C.M.** : Chromatographie sur Couche Mince.

**D** : Dextrogyre

**D.A.T.** : Dopamine Active Transporter (transporteur de la dopamine)

**D.L. 50** : Dose Létale 50

**D.U.** : Diplôme Universitaire

**E.E.N.** : Excipient à Effet Notoire

**F.G.F.** : Fibroblast Growth Factor (facteur de croissance des fibroblastes)

**G.S.H.** : Glutathion Réduit

**H.D.L.** : Hight Density Liporptein (lipoprotéine de haute densité)  
**HCl** : Acide chlorhydrique  
**H.C.S.E.** : Extrait standardisé de graine d'*Aesculus hippocastanum*  
**H.P.L.C.** : Chromatographie Liquide Haute Performance  
**I.M.** : Intramusculaire  
**I.R.A.** : Insuffisance Rénale Aigüe  
**I.V.** : Intraveineuse  
**I.V.C.** : Insuffisance Veineuse Chronique  
**L.E.A.** : Late Embryogenesis Proteins  
**L** : Lévogyre  
**LC-MS** : Chromatographie Liquide - Spectrométrie de Masse  
**L.D.L.** : Low Density Lipoprotein (lipoprotéine de basse densité)  
**M.P.T.P.** : 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine  
**P.A.F.** : Facteur d'Activation Plaquettaire  
**pH** : Potentiel Hydrogène  
**R** : Rectus (droite)  
**R.I.A.** : Radioimmunothérapie  
**R.M.N.** : Résonance Magnétique Nucléaire  
**R.O.S.** : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives oxygénées)  
**S** : Sinister (gauche)  
**T.H.** : Tyrosine Hydroxylase  
**T.R.V.P.1** : Transient Receptor Potential Vanilloide 1  
**U.V.** : Ultra-Violet  
**V.M.A.T.** : Vesicular Monoamine Transporter

# INTRODUCTION

Il y a plusieurs centaines d'années, le marronnier d'Inde fait son apparition dans les Balkans et ses vertus antitussives sont très rapidement reconnues chez le cheval. Au fil du temps, sa popularité grandit et on le retrouve en arbre d'ornement aux abords des parcs et des chemins.

Le marronnier d'Inde, de son nom latin *Aesculus hippocastanum*, a fait l'objet de nombreuses études. En effet, il est la source de plusieurs substances aux propriétés pharmacologiques et pharmaceutiques importantes.

Je me suis intéressée, à l'une d'entre elles : l'aescine ! Ce saponoside triterpénique est un constituant majeur de la graine. Les premières expériences concernaient l'insuffisance veineuse ; l'aescine s'est avéré être un veinotonique de choix dans l'arme thérapeutique officinale.

Elle a suscité après, un intérêt majeur dans l'étude de différentes pathologies et dans leurs modes d'action.

Ma thèse s'oriente sur trois axes : dans un premier temps, nous verrons le marronnier d'inde dans son ensemble, l'aescine et ses propriétés puis en dernier lieu ses diverses applications thérapeutiques.

# 1. Autour du marronnier d'Inde

## 1.1 Historique

Son origine n'est pas comme son nom l'indique des Indes mais des Balkans. On situe les premiers arbres au niveau de l'Albanie, de la Bulgarie et au Nord de la Grèce. [1]

En 1565, Matthioli établit la première description du marronnier d'Inde grâce à une planche de dessin représentant « un rameau en fruit ». Il définit cette plante sous le nom de *Castanea equina*, soit « les châtaignes de cheval » au sens littéral.

Charles de l'Écluse plus connu sous le nom de Clusius, est à l'origine de la réintroduction du marronnier d'Inde en Europe (à Vienne), en 1576. Il explique la désignation latine établie par Matthioli ; les Constantinopolitains utilisaient des marrons broyés dans la nourriture des chevaux pour soigner les problèmes respiratoires de ces derniers. Cet effet est reconnu par l'expression : horse chestnut, désignant le marronnier en anglais. [2]

En 1615, Monsieur Bachelier, Botaniste, ramène de son voyage de Constantinople, le premier arbrisseau en France et plus précisément à Paris, qu'il plante dans le jardin de l'hôtel de Soubise.

Joseph Pitton de Tournefort substitue le nom latin (*Castanea equina*) pour fonder le genre *Hippocastanum*, lui-même remplacé, en 1737 par Carl Von Linné par le genre *Aesculus*, qui demeure actuellement.

Au XVII<sup>ème</sup>, de nombreux auteurs considèrent, que le fruit et l'écorce de cet arbre possèdent des propriétés fébrifuges (diminution de la fièvre) valables à celle du quinquina. Au fil du temps, on a reconnu le marronnier pour son action sur les troubles circulatoires. [3]

Durant la deuxième guerre mondiale, on récoltait les marrons afin de fabriquer des « substituts » de savons. Pour cela, on a extrait les saponines qui sont d'excellents dégraissants. [4]

Actuellement, il orne les parcs, les chemins de promenades et les cours d'école. Mais pas seulement ! De nombreuses études ont été réalisées à partir des différentes parties (feuille, écorce, graine, ...) afin de déterminer ses propriétés thérapeutiques.

## 1.2 Étude botanique

### 1.2.1 La classification

Le marronnier d'Inde, également appelé marronnier commun ou marronnier blanc fait partie de la famille des Hippocastanaceae. Elle est composée des genres *Aesculus* et *Billia* qui regroupent 15 espèces. Son nom latin est *Aesculus hippocastanum*.

La classification A.P.G. (Angiosperm Phylogeny Group) datant de 1998 situe les Hippocastanaceae dans l'ordre des Sapindales et dans le clade des Rosidées plus précisément Eurosidiées II (= Malvidées). Ce clade appartient aux Dicotylédones ou Eudicots (= Tricolpées) eux-mêmes inclus dans les Angiospermes. [5]

A noter que dans les classifications A.P.G. II (2003) et A.P.G. III (2009) invalide l'existence de cette famille et répertorie les genres (dont celui *Aesculus*) dans la famille Sapindaceae.

Les Angiospermes comptent 220 000 espèces dont 170 000 pour les Eudicots. Ce groupe monophylétique possède des critères bien définis comme des fleurs pentamères, présence de véritables pétales et sépales, un pollen triparperturé, ... [6]

Selon une autre classification, celle d'Arthur Cronquist, réévaluée en 1981, la famille des Hippocastanaceae est répertoriée dans :

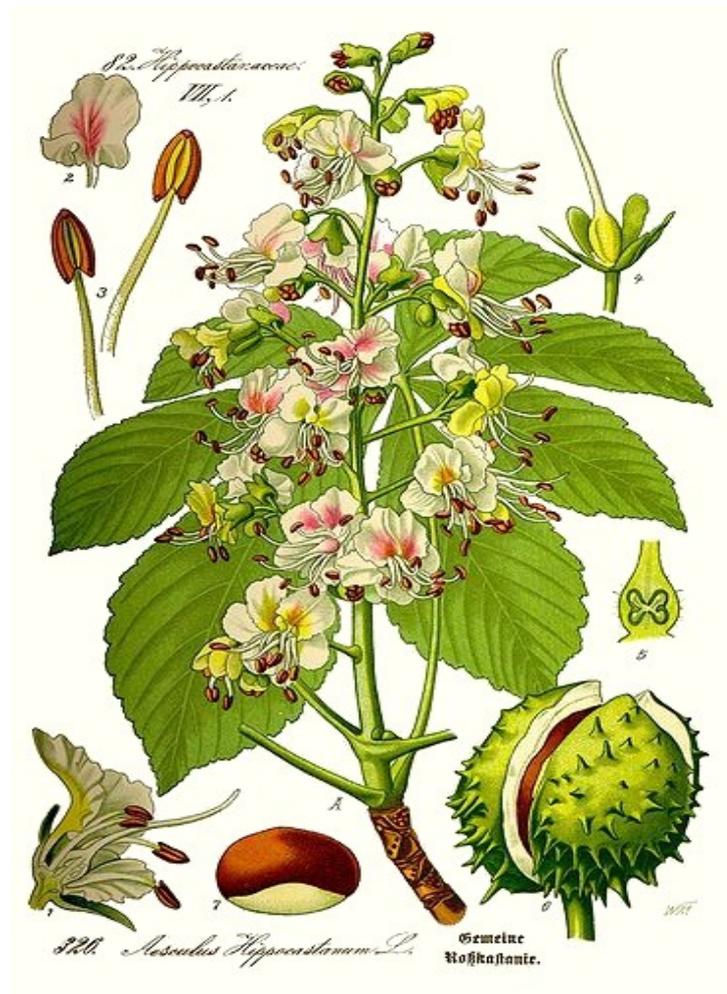
- l'ordre des Sapindales,
- la sous-classe Rosidae,
- la classe des Magnoliopsida (= plantes dicotylédones).

Cette classification est celle des Angiospermes (« plantes à fleurs »), elle repose sur plusieurs aspects morphologiques, anatomiques et chimiques. [7]

Les Angiospermes sont à l'origine de :

- l'invention de la fleur,
- l'ovaire (contenant les ovules),
- des vaisseaux parfaits : xylème/bois et phloème/liber,
- la double fécondation,
- la réduction du cycle de reproduction (néoténie),
- la zoogamie (co-évolution avec le règne du règne). [6]

## 1.2.2 Description botanique



**Figure 1 : Planche descriptive du marronnier d'Inde [8]**

### 1.2.2.1 L'appareil végétatif

#### ❖ La racine

Le marronnier d'Inde possède un enracinement pivotant dit allorhizie (les racines seront de tailles différentes).

La racine primaire est une racine pivotante orthotrope, il s'agit de la racine principale, elle est verticale et a pour rôle la fixation dans le sol. Elle peut descendre très profondément dans certains types de sol.

Les racines secondaires sont des racines latérales plagiotropes, elles sont parallèles à la surface du sol et vont permettre la nutrition de la plante. [9]

### ❖ L'écorce et les tiges

Le marronnier (Figure 2) est un arbre de très grande envergure, il peut mesurer jusqu'à 30 mètres de hauteur. Il est composé d'un houppier ovoïde pyramidal ; il s'agit de la partie haute de l'arbre comprenant l'ensemble des branches maîtresses et des rameaux. L'écorce est de couleur brunâtre ou rougeâtre se desquamant au fil du temps de manière irrégulière. [10]

Le marronnier possède un mode de croissance dit en acrotonie. Une tige est constituée de trois bourgeons d'aspect écailleux : un bourgeon terminal (à l'origine de la tige principale) et deux bourgeons axillaires (ou secondaires). L'acrotonie est une croissance privilégiée des bourgeons terminaux. On observe par conséquent une croissance verticale pour ces derniers et un développement vers le sol des branches latérales (issues des bourgeons axillaires). [11].



**Figure 2 : Vue d'ensemble du marronnier d'Inde** [12]

### ❖ La feuille

Les feuilles sont disposées de manière opposée au niveau de la tige. Elles sont dites palmées et composées de 5 ou 7 folioles nervurés avec des pétioles (pétiole de petite taille à la base des folioles). Elles mesurent de 15 à 25 centimètres et ses bords sont doublement dentés. [13]

Les feuilles (Figure 3) sont ovales, pointues et caduques (elles meurent puis elles chutent dans l'année qui suit , à l'entrée dans la période de repos). [14]

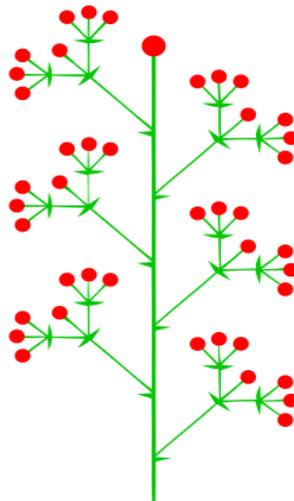


**Figure 3 : Feuille de marronnier d'Inde [15]**

### 1.2.2.2 L'appareil reproducteur

#### ❖ L'inflorescence

L'inflorescence (Figure 4) chez le marronnier d'Inde est dite composée. Elle est de type sympodiale (le sommet de l'axe est occupé par une fleur) avec un modèle en « grappes de cymes » que l'on appelle des thyrses. [16]



**Figure 4 : Modèle de thyrses [17]**

#### ❖ La fleur

Selon l'espèce de marronnier, la couleur de la fleur varie. Elle est blanche mouchetée de rouge chez *Aesculus hippocastanum* mais elle peut être rouge, rose, ... chez d'autres espèces.

La fleur du marronnier d'Inde (Figure 5) est dite complète, hermaphrodite, à ovaire supère. La dénomination complète vient du fait que la fleur détient les quatre types de pièces florales (sépalés, pétales, étamines et carpelles). Le terme hermaphrodite (= fleur parfaite) désigne une fleur qui possède à la fois les organes reproducteurs mâles (les étamines) et femelles (le pistil).

En général, de l'extérieur vers l'intérieur, on va retrouver deux verticilles de pièces stériles que l'on nomme le périanthe. Le premier verticille contient des appendices stériles chlorophylliens (sépalés) appelé calice. Ce sont des feuilles transformées qui ont conservé leur pouvoir photosynthétique. Le deuxième verticille est constitué d'appendices stériles non chlorophylliens mais vivement colorés (pétales) que l'on dénomme corolle. [16]



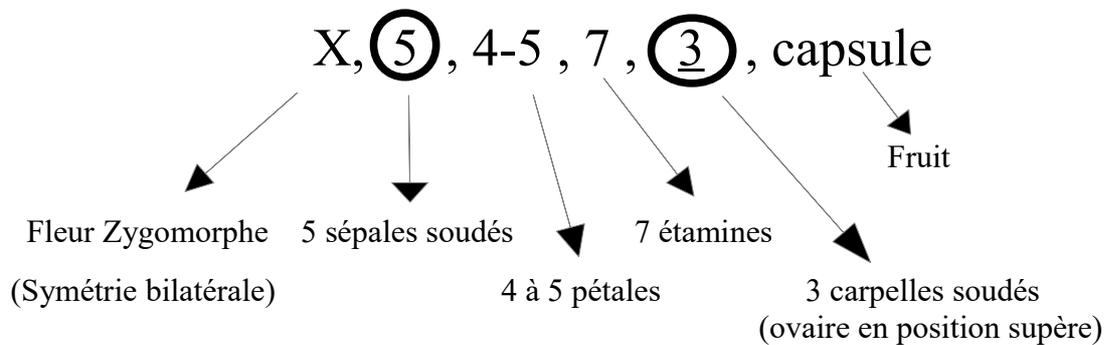
**Figure 5 : La fleur du marronnier d'Inde** [18]

Plus en détail, le calice est constitué de 5 sépalés soudés dont le supérieur qui est plus développé que les autres. La corolle est composée de 4 à 5 pétales dont deux d'entre eux se font remarqués par la présence d'une tâche colorée rosée-rouge. La fleur est dialypétale, c'est à dire que les pétales ne sont pas soudés entre eux.

Plus à l'intérieur, on a l'androcée (« maison de l'homme ») composé d'étamines et le gynécée (= pistil ou « maison de la femme ») avec les carpelles. L'androcée est constitué de sept étamines longues et incurvées. Le pistil est composé de trois pièces que l'on appelle les carpelles.

Il s'agit d'une enveloppe protectrice qui protège l'ovaire (caractéristique des Angiospermes). L'ovaire est libre, surmonté d'un style et en position supère c'est-à-dire que les pièces florales sont insérées en dessous de ce dernier. [19]

La période de floraison se situe entre mai et juin. Les fleurs sont fortement parfumées et nectarifères.



**Figure 6 : Formule florale du marronnier d'Inde**

#### ❖ Le fruit et la graine

Il s'agit d'une capsule (fruit sec déhiscent) triloculaire (avec trois loges). Chaque loge contient deux ovules. Le fruit est dit coriace avec des épines molles, et mesure environ 6 centimètres de diamètre. L'ouverture de la capsule se fait par déhiscence loculicide.

A l'intérieur, on retrouve généralement une graine unique, luisante, résultant de l'avortement des autres graines que l'on appelle un marron. On a tendance à confondre ce dernier avec la châtaigne (fruit du châtaignier) à cause de leur ressemblance morphologique. [20]



**Figure 7 : Le fruit et la graine du marronnier d'Inde [21]**

### 1.2.3 Les autres espèces et cultivars

#### 1.2.3.1 Les autres cultivars

Un cultivar est une variété d'espèce qui est obtenu soit par sélection ou mutation ou hybridation de manière naturelle ou créée. Il diffère de la plante originelle par une caractéristique morphologique, une capacité supplémentaire comme par exemple la résistance à certaines maladies, ... [22]

Voici quelques exemples de cultivars d'*Aesculus hippocastanum* qui possèdent des différences avec le marronnier d'inde de base :

- ***Aesculus hippocastanum Baumanii*** : Fleurs blanches doubles, absence de fruit **(a)**.
- ***Aesculus hippocastanum Digitata*** : Folioles de petites tailles **(b)**.
- ***Aesculus hippocastanum Laciniata*** : Feuilles laciniées (en forme de longues lamelles) **(c)**.
- ***Aesculus hippocastanum Incisa*** : Folioles fortement dentés **(d)**. [23]
- ...



**(a)**



**(b)**



**(c)**



**(d)**

**Figure 8 : Différents exemples de cultivars d'*Aesculus hippocastanum* [24]**

#### 1.2.3.2 Les autres espèces

##### ❖ ***Aesculus flava***

Le marronnier à fleurs jaunes ou également appelé le pavier jaune est un arbre originaire de l'Est des États-Unis. Il est utilisé dans un cadre décoratif aux abords des parcs et jardins.

Il peut atteindre environ 30 mètres de hauteur, l'écorce est de couleur gris-rose et les bourgeons sont lisses. Les feuilles sont composées le plus souvent de cinq folioles et les fleurs sont jaunes voire jaunes-vertes. Le fruit est une capsule ronde et lisse contenant 1 à 3 graines.



**Figure 9** : *Aesculus flava* [25]

❖ *Aesculus pavia*

Le pavier rouge ou marronnier rouge est un arbre originaire du Sud des États-Unis qui est utilisé comme arbre de décoration. Il est de petite taille, de 5 à 8 mètres mais il peut prendre la forme de petits massifs (uniquement composés de tiges).

Il possède 5 ou 7 folioles de très grandes tailles, le pétiole est rouge. Les fleurs sont de couleur carmin et les étamines sont roses avec des tâches jaunes. Le fruit est ovale et lisse, il contient 1 à 2 marrons toxiques.

Le pavier rouge s'est hybridé avec le marronnier commun (*Aesculus hippocastanum*) pour former le marronnier rose (*Aesculus x carnea*), petit arbuste à fleurs roses.

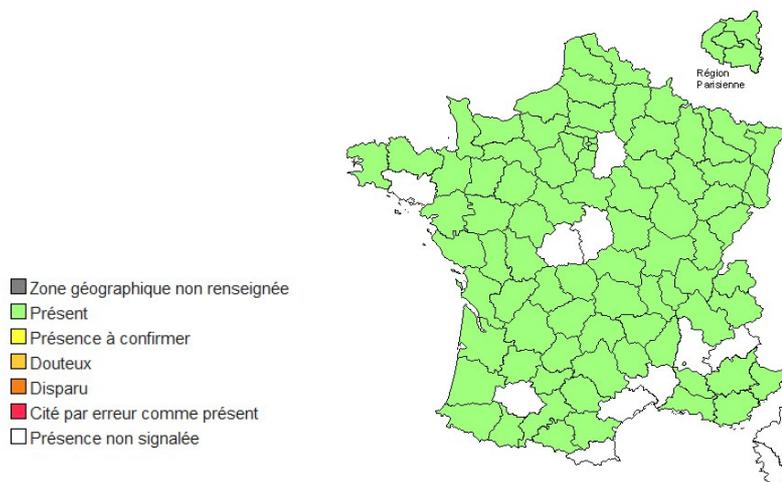


**Figure 10** : *Aesculus pavia* [26]

## 1.2.4 Données supplémentaires

### 1.2.4.1 Répartition géographique

Le marronnier d'Inde est localisé dans toute l'Europe et plus particulièrement en France (Figure 11). On le retrouve aux abords des cours d'eau et au sein des massifs montagneux hormis ceux méditerranéens.



**Figure 11 : Répartition géographique du marronnier d'Inde en France [27]**

### 1.2.4.2 Plantation

La multiplication du marronnier d'Inde se fait par semis de graines. Celles-ci ont lieu vers novembre-décembre, ce qui permet une belle floraison au printemps (mai-juin). La récolte des graines se fait en septembre-octobre et la taille du marronnier d'Inde s'effectue de décembre à février. Sa croissance est rapide et nécessite peu d'entretien.

### 1.2.4.3 Conditions de culture

La culture de cet arbre suscite un ensoleillement mais il peut-être planté mi-ombre. Il supporte des températures pouvant aller jusque  $-20^{\circ}\text{C}$  tout en préférant le climat des milieux tempérés.

Il se développe sur un sol à pH neutre, plutôt riche en nutriments mais pauvre en matières organiques. Sa culture se fait sur un sol de nature argileuse et non calcaire. Son absence aux bords de la Méditerranée s'explique par son intolérance aux milieux riches en composés salins.

Son besoin en eau est conséquent ; la sécheresse est un inconvénient majeur pour la croissance de cet arbre. [23] [28] [29]

### 1.3 Composition du marronnier d'Inde

#### 1.3.1 Dans l'écorce

L'écorce des tiges est un mélange complexe de plusieurs composés :

- Des coumarines et leurs dérivés (7 %) : l'esculoside (ou 6-O-glucosylesculétol), le fraxoside et le scopoloside ainsi que leurs génines (ou aglycones) : esculétol (ou esculétine), fraxétol et scopolétol.
- Des flavonoïdes : quercitroside et son aglycone la quercétine, des leucoanthocyanidines (leucocyanidine et leucodelphinidine), épicatechine.
- Des tanins (jusqu'à 2 %) sous forme condensée (proanthocyanidines).
- Des traces d'aescine (mélange de saponosides). [30] [31]

#### 1.3.2 Dans le bourgeon

- Des flavonoïdes : la rhamnocitrine, le kaempférol, des dérivés de quercétine et de myricétine. [32]
- Des caroténoïdes (Tableau 1). [33]

Le bourgeon du marronnier d'Inde est principalement constitué de caroténoïdes (Tableau 1), on retrouve en majorité : la lutéine (43,20 %), l'aesculaxanthine (16,47 %) et le  $\beta$ -carotène (14,91 %) dans les bourgeons immatures. La proportion des caroténoïdes se fait en fonction de la maturité des bourgeons.

**Tableau 1 : Composition en caroténoïdes (en %) selon la maturité du bourgeon du marronnier d'Inde [33]**

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
$\beta$ -Citaurin	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
$\beta$ -Cryptoxanthin	1.07	1.05	1.23	1.51
$\beta$ -Carotene	14.91	11.94	11.62	5.04

### 1.3.3 Dans la feuille

- Des composés phénoliques : l'acide chlorogénique, l'acide thydroxycinnamique.
- Des triterpénoïdes : les isomères  $\alpha$  et  $\beta$ -amyrine, le lupéol, le friedelan-3-ol, ...
- Des tanins : la procyanidine B2, ...
- Des flavonoïdes : (-) épicatechine, quercétol-3-glucoside (l'isoquercitroside) quercétol-3-rhamnoside (le quercitroside), quercétol-3-arabinoside, quercétol-3-rhamnoglucoside (le quercitroside), quercétol-3-rutinoside (le rutoside), et des hétérosides du kaempférol : le kaempferol-3-O-arabinoside (juglanine) et le kaempferol-3-O-rhamnoside (l'afzéline).
- Des traces d'aescine. [34] [35]

### 1.3.4 Dans la fleur

- Des coumarines : la scopolétine (0,41 %), l'esculétine (0,13 %) et la fraxétine (0,05 %).
- Des flavonoïdes : le kaempférol et ses dérivés (juglanine, astragaline, afzéline, ...) ainsi que du quercétol. [36] [37]
- Des caroténoïdes (Tableau 2). [33]

On retrouve principalement les caroténoïdes (Tableau 2) dans les pétales de fleurs d'*Aesculus hippocastanum*. Les composés principaux sont : la lutéine, le  $\beta$ -carotène et le 5,6-epoxide lutéine.

**Tableau 2 : Composition en caroténoïdes dans les fleurs du marronnier d'Inde [33]**

carotenoid	<i>A. hippocastanum</i>	
	with yellow	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
$\beta$ -Cryptoxanthin	4.42	2.67
$\beta$ -Carotene	41.79	10.13
Violaxanthin	3.35	7.46
Luteoxanthin	1.49	4.67

### 1.3.5 Dans le fruit

Un cotylédon est un organe de réserve lors de la germination de la graine. Au nombre de deux chez les dicotylédones, ils sont constitués de substances essentielles au développement de l'embryon.

Le péricarpe est quant à lui la résultante d'une différenciation histologique de la paroi de l'ovaire mûr après fécondation. Il est constitué de l'intérieur vers l'extérieur par l'endocarpe, le mésocarpe et l'épicarpe. [38]

La composition des différents éléments du fruit du marronnier notamment les cotylédons et le péricarpe sont répertoriés dans le tableau suivant.

**Tableau 3 : Composition des cotylédons et du péricarpe d'*Aesculus hippocastanum*** [39]

	<b>COTYLÉDONS</b>	<b>PÉRICARPE</b>
Eau	2,22%	7,06%
Cellulose	2,13%	13,15%
Huile	6,26%	0,89%
Protides	12,08%	5,66%
Glucides	74,45%	71,58%
Cendres	2,86%	1,66%

Les cotylédons représentent les 4/5 de la graine. Cette dernière est dite amylacée, elle est riche en glucides mais pauvre en protides et lipides.

En regardant plus précisément dans les cotylédons du marronnier d'Inde, on retrouve :

- L'amidon (composé majoritaire avec 40 à 50 %) : polysaccharide constitué de molécules de glucose reliées en  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4). A savoir que d'autres sucres sont présents : l'arabinane (polymère d'arabinoses), le gluco-arabinane (un complexe arabinose-glucose), ... [40] [41]
- Des saponosides (jusqu'à 10 % de la masse des cotylédons).
- Des flavonoïdes : hétérosides de flavonols, des di- et tri-glycosides du quercétol et du kaempférol) et des cyclitols (osmoprotecteurs). [42]
- Des coumarines : esculoside et fraxoside.

- Des protéines : LEA, albumine (80 %), globuline (5 %), ... [43]
- L'eau : 8 à 12 % dans les conditions climatiques « normales » et 45% lorsque la graine est sur le sol.
- L'huile : des tocophérols ( $\alpha$ -tocophérol et  $\gamma$ -tocophérol principalement), des triglycérides (acide oléique, acide linoléique, acide stéarique, acide palmitique, ...), des alcools triterpéniques (taraxérol, parkeol,  $\alpha$  et  $\beta$ -amyrine, ...), des stérols (8 à 12 g/kg) (stigmastérol, brassicastérol, sitostérol, campésterol), ...
- Des composés volatiles : nonanal (5,3 %), 3-hexenol (5,2 %), acide nonanoïque (4,6 %), l'alcool benzylique (3,9 %), 2-heptanol (3,2 %), ... [44] [45] [46] [47]
- Des tanins (0,9 %) : le catéchol et ses dérivés.

Dans la graine, les éléments chimiques sont en proportions différentes : le carbone (43,02 %), l'hydrogène (5,45 %), l'azote (0,90 %) et le soufre (0,13 %). On retrouve aussi des éléments minéraux (3 à 4 %) tels que le magnésium, le calcium, le sodium, le potassium, le cuivre, le phosphore, la manganèse, ... [39]

## **1.4 Les composés du marronnier d'Inde**

### **1.4.1 Les flavonoïdes**

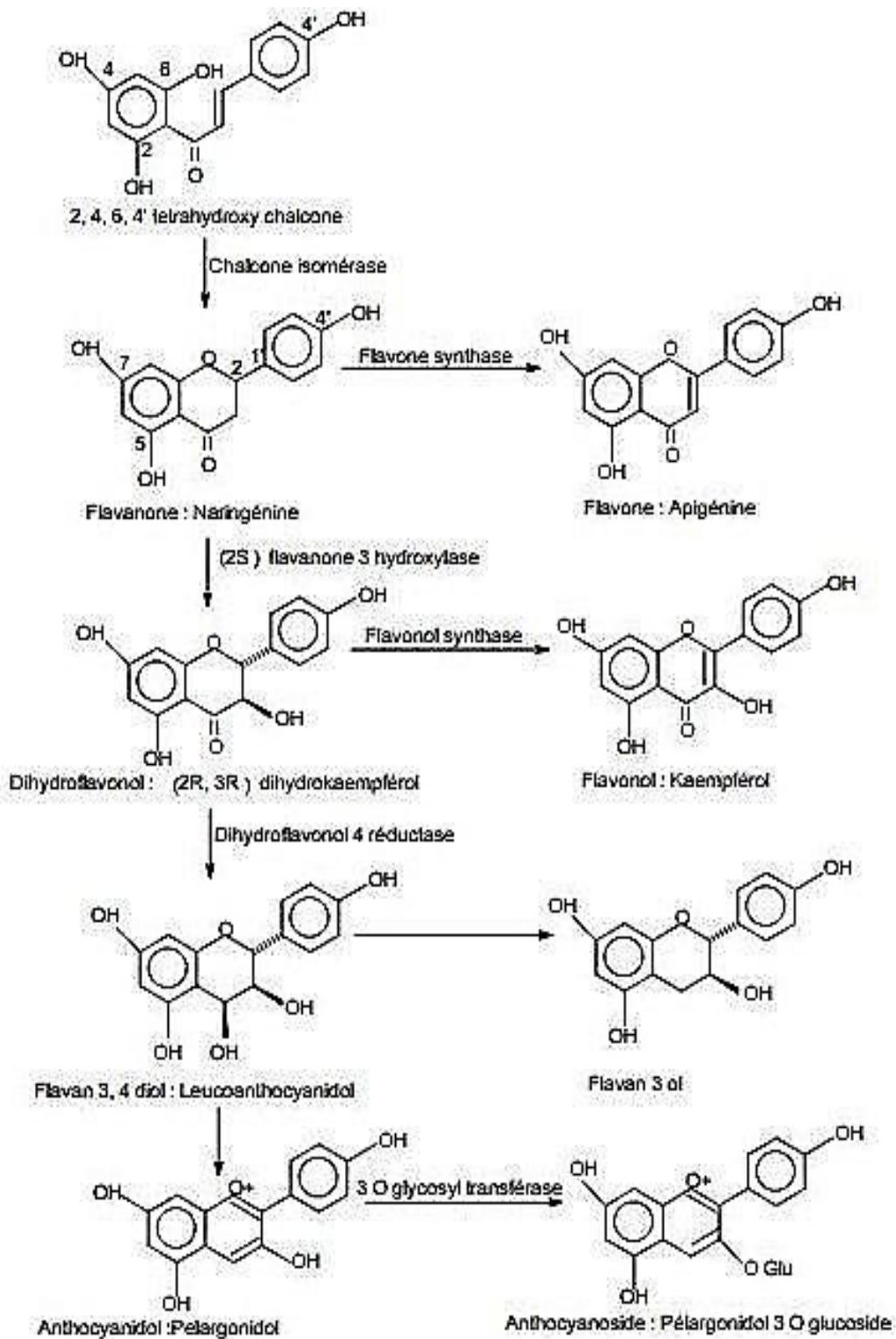
#### **1.4.1.1 Généralités sur les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés très présents dans les végétaux. Sous leur forme hétérosidique, les flavonoïdes sont solubles et s'accumulent dans la vacuole des cellules des différentes parties de la plante. On les considère comme des polyphénoliques ; ils vont être responsables de la pigmentation des plantes (jaune, rouge et autres), jouant ainsi un rôle dans l'attraction des animaux pollinisateurs.

Les flavonoïdes possèdent un squelette benzo- $\gamma$ -pyrone également appelé phénylbenzopyrane. On peut les classer selon la nature des différents constituants et le degré de saturation du squelette. On va distinguer les flavonoïdes (2-phénylbenzopyrane), les isoflavonoïdes (3-phénylbenzopyrane) et les néoflavonoïdes (4-phénylbenzopyrane). [48]

Les flavonoïdes peuvent être dépourvus de partie osidique, ils sont alors appelés génines ou aglycones et sont solubles dans les solvants apolaires type dichlorométhane ou chloroforme.

### 1.4.1.2 Synthèse des flavonoïdes

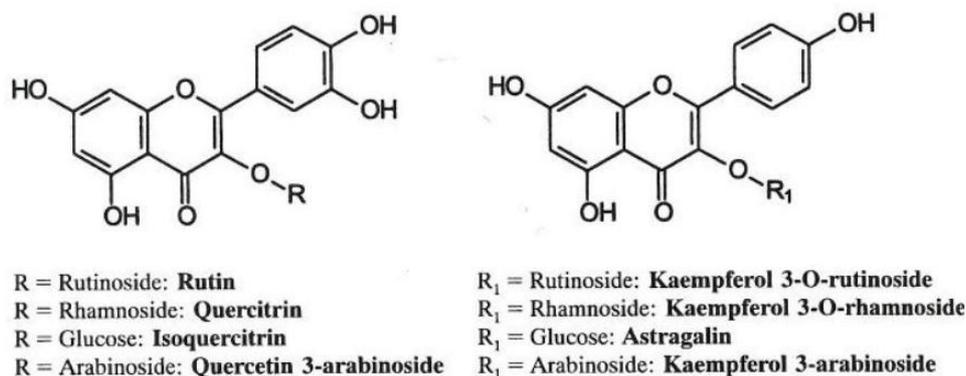


**Figure 12 : Synthèse des flavonoïdes [49]**

### 1.4.1.3 Chez le marronnier d'Inde

Comme nous avons pu le voir dans une partie précédente de la thèse (1.3 Composition du marronnier d'Inde), *Aesculus hippocastanum* possède plusieurs flavonoïdes répartis dans l'ensemble de la plante.

Les principaux flavonoïdes retrouvés sont le quercétol, le kaempférol et leurs aglycones (Figure 13) comme le rutoside, l'astragaline, ...



**Figure 13** : Certains flavonoïdes chez *Aesculus hippocastanum* [50]

### 1.4.1.4 Extraction, caractérisation et dosage

- **Extraction** : par une solution hydro-alcoolique, mélange d'alcool (éthanol ou méthanol) avec de l'eau (20-50 %). La séparation et la purification se fait grâce à des méthodes de chromatographie usuelles ou par H.P.L.C.
- **Caractérisation** : par C.C.M., par observation aux U.V. après pulvérisation de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et par réaction dit de la « cyanidine » (addition de magnésium (Mg) et d'acide chlorhydrique (HCl) à un extrait de méthanol- plante provoquant un dégagement d'hydrogène et une coloration orange-rouge.
- **Dosage** : par des analyses spectrophotométriques (+++) ou calorimétriques et par H.P.L.C. (dosage facile, rapide et concis). [51]

### 1.4.2 Les coumarines

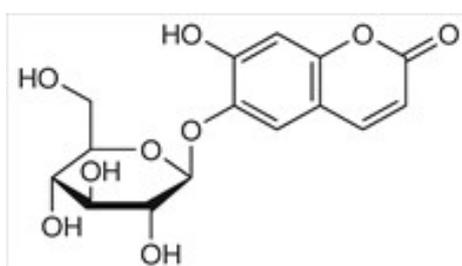
Les coumarines sont des composés fluorescents d'origine naturelle et sont également connus sous le nom de 2H-1-benzopyrane-2-one (squelette composant les autres coumarines).

Les coumarines peuvent être substituées par des hydroxyles sur les six positions possibles mais généralement cela se fait au niveau du C-7. Les coumarines sont classées selon la nature de leurs substituants en cinq catégories : les coumarines simples (génines et hétérosides), les furanocoumarines, les pyranocoumarines, les dicoumarines et les tricoumarines.

Au sein du marronnier d'Inde et en particulier au niveau de l'écorce, il y a plusieurs coumarines simples : l'esculoside, la fraxine et la scopolétine. [52]

#### **1.4.2.1 L'esculine**

L'esculoside ou esculine est un hétéroside constitué de l'esculétine et de glucose (Figure 14). Ce composé est présent dans l'écorce à hauteur de 3,6-6 %.



**Figure 14 : L'esculine** [53]

Plusieurs études ont montré le rôle de l'esculine dans l'insuffisance veineuse. Par exemple, 20 femmes (de 23 à 29 ans) souffrant d'une stase veineuse et de cellulite ont été traitées pendant 60 jours (sur les jambes), avec une émulsion cutanée composée à 3 % d'esculoside. Les résultats montrent une diminution de 70 % de la douleur liée à la sensation de jambes lourdes et une réduction de 74 % d'une impression de « jambes nerveuses ». [54]

Autre que son effet veinotonique, l'esculoside a un effet vasculoprotecteur grâce à son action vitaminique P. Elle a aussi un effet thérapeutique dans la fragilité capillaire, les varices, les hémorroïdes, ...

#### **1.4.2.2 La fraxine**

La fraxine (= 7-hydroxy-6-méthoxycoumarin-8-glucoside) ou également appelée paviine est une coumarine présente surtout chez le frêne mais aussi chez le marronnier d'Inde. Elle est constituée de la fraxétine (aglycone) et d'une molécule glucose. Dans l'écorce, on compte entre 1,5 et 2,6 % de fraxine. [55]

## **2. Les saponosides**

### **2.1 Généralités sur les saponosides**

Jadis, les saponosides étaient définis comme des substances végétales contenant les atomes suivants : carbone, oxygène et hydrogène. Les saponosides ou saponines sont des hétérosides appartenant aux terpènes cycliques ou stéroïdes. Ayant des propriétés moussantes, ils tirent l'origine de leur nom du latin « sapo » qui signifie savon. Cette capacité tensio-active est à la source de l'utilisation des plantes qui les contiennent. On peut citer en premier lieu la saponaire (*Saponaria officinalis*), mais ils peuvent se retrouver dans des organismes marins tels que le concombre de mer, les éponges, ... [56]

Les saponosides sont un vaste groupe de métabolites secondaires dont la masse moléculaire varie entre 600 et 2 000 Daltons. L'industrie pharmaceutique s'est intéressée à eux car ils sont le précurseur de la fabrication des médicaments stéroïdiens. Outre son utilisation dans l'industrie cosmétique pour l'obtention des formes galéniques, les saponines sont employées en phytothérapie pour diverses propriétés pharmacologiques notamment comme : anti-inflammatoire, veinotonique, antitussif, antifongique, stimulant immunitaire, ... [57]

Les saponosides possèdent une action hémolytique : ils interagissent avec les stérols de la membrane érythrocytaire (globule rouge), modifiant ainsi la perméabilité membranaire et induisant le mouvement des ions puis la lyse de la membrane. Les monodesmosides ont une activité hémolytique plus importante que les bidesmosides. Les saponosides ont un pouvoir molluscide (toxicité vis-à-vis des animaux à sang froid) majeur. [58]

### **2.2 Classification des saponosides**

Les saponosides peuvent être classés en deux catégories distinctes selon la structure de leurs génines (partie non glucidique) : les saponosides stéroïdiques et les saponosides triterpéniques.

#### **2.2.1 Les saponosides stéroïdiques**

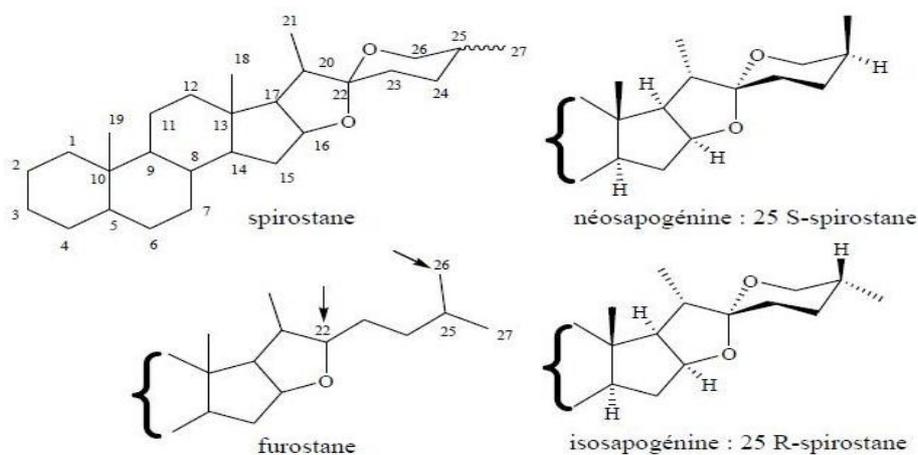
On les rencontre presque uniquement chez les monocotylédones, notamment chez les *Liliacées*, *Amaryllidacées*, *Dioscoréacées*, *Solanacées*, ... Certains auteurs les considèrent comme des pseudo-alcaloïdes mais leurs propriétés sont sans nul doute celles des saponosides. [56]

Les saponosides stéroïdiques ou sapogénines sont des composés avec un enchaînement de six cycles (hexacyclique) possédant 27 atomes de carbone. Le cycle furanique (E) et celui pyranique (F) sont la résultante « d'une cétylisation intramoléculaire qui intervient après l'oxydation en C-6, C-22 et C-26 d'un précurseur cholestanique ». [41]

Le carbone 22 est dit spiro, c'est-à-dire qu'il est le point commun entre deux cycles ; par conséquent, on désigne cet hexacyclique par le mot spirostane. A contrario, il est courant que le carbone 26 soit impliqué dans une liaison osidique, on appellera ce squelette : furostane.

Les variations structurales que l'on peut rencontrer sont :

- Des hydroxyles (- OH) peuvent être présents au niveau des carbones 1, 2, 5 et 6 mais plus rarement au niveau des carbones 15, 17 et 24. L'hydroxyle en C-3 est toujours présent.
- De nombreux carbones asymétriques sont présents au sein des cycles mais seul le C-25 peut varier : configuration S = Néosapogénines et configuration R = isosapogénines.
- La double liaison présente en 5,6 peut persister ou être réduite. [59]

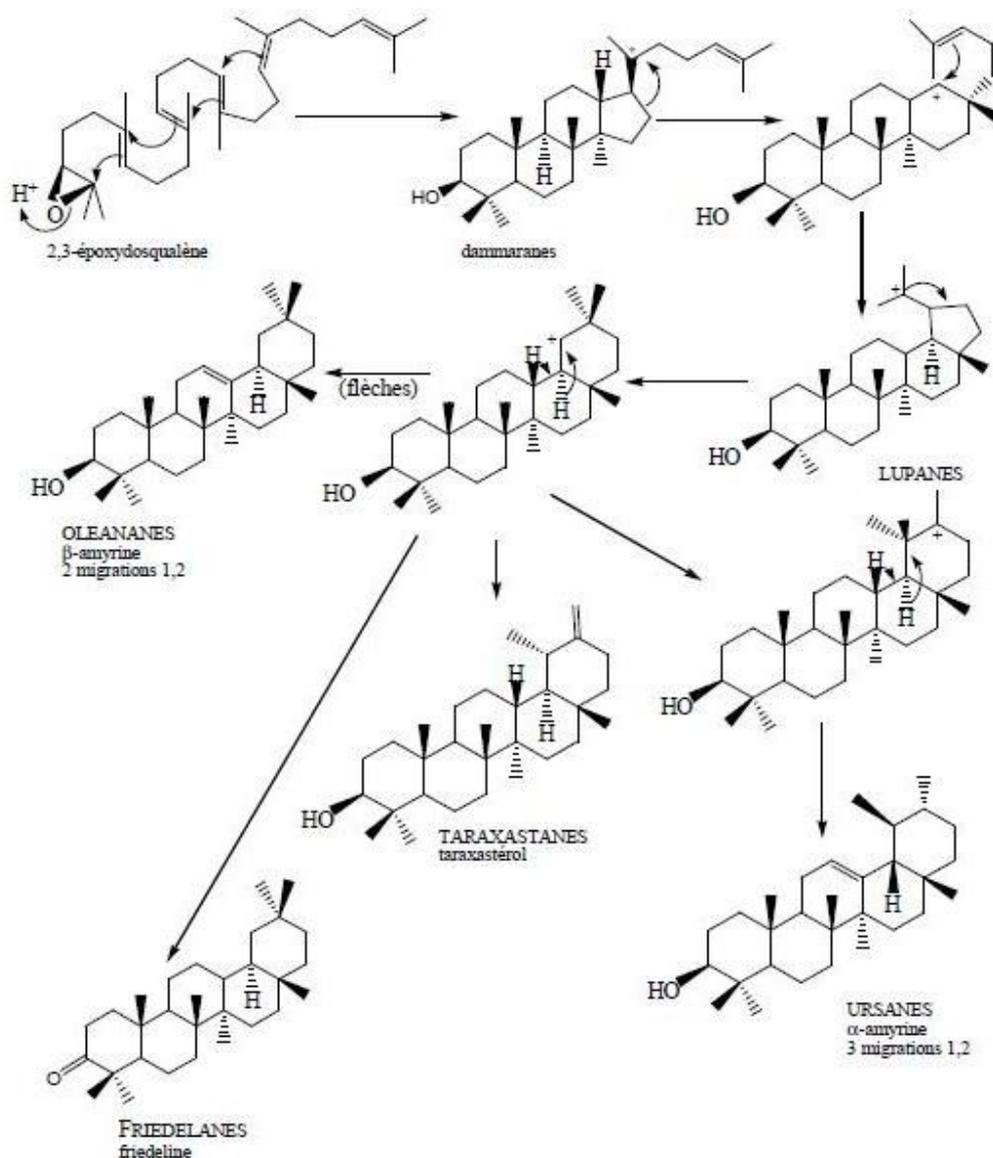


**Figure 15 : Squelettes des génines des saponosides stéroïdiques [41]**

### 2.2.2 Les saponosides triterpéniques

Les saponosides triterpéniques sont des composés que l'on rencontre en particulier chez les Dicotylédones comme par exemple dans les familles suivantes : *Hippocastanaceae*, *Araliaceae*, *Primulaceae*, ...

La cyclisation du (3*S*)-2,3-époxy-2,3-dihydrosqualène conduit à la formation des saponosides triterpéniques. Ils peuvent être différenciés selon le nombre de structures cycliques : quatre ou cinq. Par exemple, les dammaranes sont des molécules tétracycliques que l'on peut trouver dans le ginseng. Ce composé peut évoluer en une structure pentacyclique type oléanes, ursanes et lupanes. Ces derniers sont les squelettes les plus répandus. [41]



**Figure 16 : Biosynthèse des saponosides triterpéniques [60]**

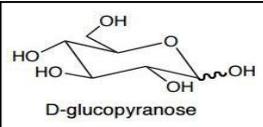
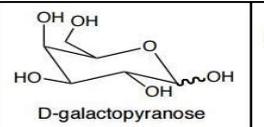
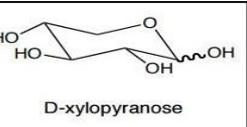
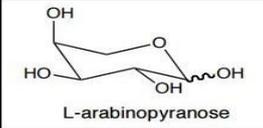
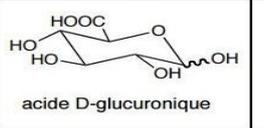
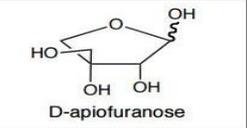
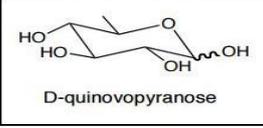
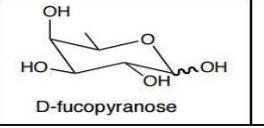
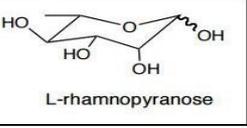
Ils possèdent des critères définis :

- Squelette à 30 carbones.
- Insaturation en C12-C13.
- Oxydation des carbones des méthyles C-23, C-28 et C-30 en hydroxyméthyle, aldéhyde ou carbonyle.
- Oxydation possible d'un ou des hydroxyles des carbones 2, 7, 11, 15, 16, 21 et 22 en cétone, pouvant conduire à la formation de cycles supplémentaires grâce des réactions d'estérification ou de lactonisation.
- La génine peut-être estérifiée sous l'action d'acides aliphatiques comme par exemple l'aescine du marronnier d'Inde. [60]

### 2.2.3 Les oses

La partie hydrophile des saponosides est due à la présence de sucres. Ces derniers peuvent être des hexoses (D-Glucose, D-Galactose), des pentoses (D et L-Arabinose, D-Xylose), des méthyl-pentoses (quinovose) et des acides uroniques (D-Glucuronique) (Tableau 4). [61]

**Tableau 4 : Les oses constitutifs des saponosides [60]**

 <p>D-glucopyranose</p>	 <p>D-galactopyranose</p>	 <p>D-xylopyranose</p>
 <p>L-arabinopyranose</p>	 <p>acide D-glucuronique</p>	 <p>D-apiofuranose</p>
 <p>D-quinovopyranose</p>	 <p>D-fucopyranose</p>	 <p>L-rhamnopyranose</p>

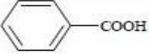
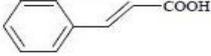
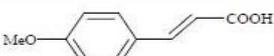
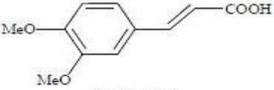
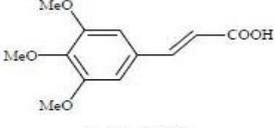
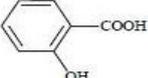
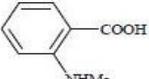
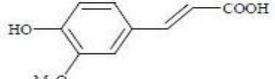
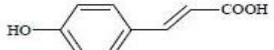
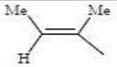
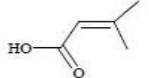
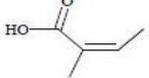
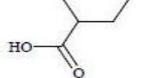
Chez les saponosides, la partie osidique forme de longues chaînes linéaires ou ramifiées, constituées généralement de 3 à 5 sucres et au maximum de 11 oses. La génine et le sucre sont liés par une liaison de type O-hétéroside ou ester.

On distingue les monodesmosides (une chaîne saccharidique en C-3 avec une liaison éther) et les bidesmosides (deux chaînes saccharidiques liée en C-3 avec une liaison éther ou en C-28 avec une liaison ester pour les génines triterpéniques ; en C-26 par une liaison éther pour les génines stéroïdiques). [41] [58]

## 2.2.4 Les acides organiques

Des acides organiques (Tableau 5) peuvent se lier à la génine ou à la partie osidique par le biais d'une liaison ester.

**Tableau 5 : Les acides organiques chez les saponosides [56]**

 Acide benzoïque	 Acide cinnamique	 Acide 4-méthoxycinnamique
 Acide 3,4-méthoxycinnamique	 Acide 3,4,5-méthoxycinnamique	 Acide salicylique
 Acide N-méthylantranilique	 Acide férulique	 Acide p-coumarique
 Acide tiglique	$\text{CH}_3\text{COOH}$ Acide acétique	$\text{HCOOH}$ Acide formique
 Acide 3,3-diméthylacrylique	 Acide angélique	 Acide 2-méthylbutyrique

## 2.3 Propriétés physico-chimiques, extraction et caractérisation

### 2.3.1 Propriétés physico-chimiques

Les hétérosides (génine + sucre) sont solubles dans l'eau et dans les mélanges hydro-alcoolique à faible teneur en alcool. Par contre, ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires. A la différence, la génine est insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques.

Les propriétés hémolytiques et moussantes des saponosides ont été évoquées dans les généralités (Partie 2.1 **Généralités sur les saponosides**). A partir de ces spécificités, on peut déterminer l'indice de mousse et l'indice hémolytique.

L'indice de mousse (= pouvoir aphrogène) est la hauteur de mousse persistante après agitation d'un mélange saponosides-eau sachant que la concentration en saponosides pour une plante donnée est connue. [61]

### 2.3.2 Extraction des saponosides

Les saponosides sont généralement en quantités non négligeables au sein des végétaux mais leur extraction et surtout leur séparation sont difficiles car ces composés sont souvent des mélanges complexes. Leurs analogies structurales et leurs poids moléculaires élevés rendent difficiles la purification des mélanges. [41]

On peut décrire le protocole d'extraction établi par Obadoni et Ochuko (2001) :

- 20 g de poudre de drogue avec un mélange d'eau (200 ml) et d'éthanol (20 %).
- On chauffe l'ensemble au bain-marie (55°C) pendant 4 heures.
- On filtre. Le résidu obtenu subit une deuxième extraction avec un mélange eau-éthanol ayant les mêmes proportions que la première extraction.
- On filtre. Les deux filtrats issus des extractions successives est chauffé au bain-marie (90°C) afin d'obtenir une solution concentrée (40 ml).
- Dans une ampoule à décanter, on ajoute à la solution, 20 ml d'éther diéthylique. On récupère uniquement la phase aqueuse et on répète l'étape trois fois.
- L'ensemble des phases aqueuses sont rassemblées et subissent une extraction avec du n-butanol. On répète ce procédé trois fois.
- Les combinés n-butanol et extraits sont lavés avec 10 ml d'une solution à 5 % de NaCl puis chauffés au bain-marie.
- Après évaporation, on détermine la masse de la poudre jaune obtenue afin de déterminer le rendement en saponosides. [62] [63]

### 2.3.3 Caractérisation des saponosides

La purification est une étape complexe, on peut utiliser différentes méthodes de chromatographies avec l'utilisation de différents solvants afin d'avoir un niveau de pureté optimal.

La caractérisation des saponosides peut faire appel à des réaction colorimétriques comme la réaction de Liebermann : Anhydride acétique ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ) + Acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) + solution à examiner : Coloration rose-pourpre pour les triterpéniques et bleu-vert pour les stéroïdiques. La caractérisation peut également se faire par R.M.N ou par spectrométrie de masse.

Le dosage peut se faire par H.P.L.C. ou par colorimétrie. [62] [64]

## 2.4 Les saponosides du marronnier d'Inde

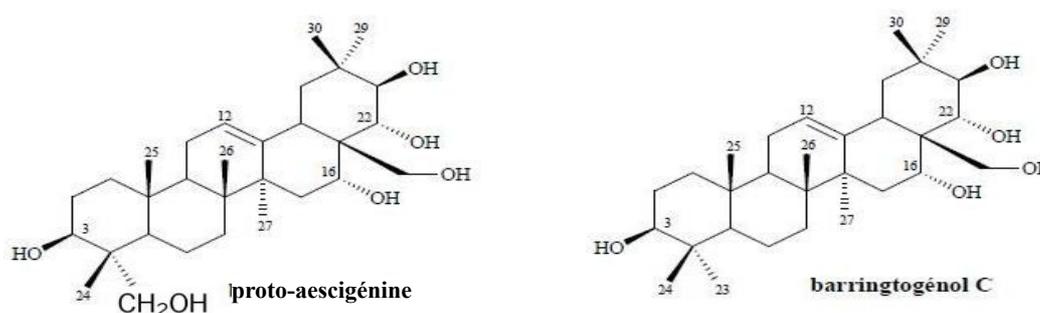
### 2.4.1 Généralités sur l'aescine

Les saponosides contenus dans le marronnier d'Inde sont appelés : **aescine** ou escin (en anglais). Décrit pour la première fois par Vand deer Haar, l'aescine est un mélange de saponosides triterpéniques comprenant des isomères et des dérivés d'aescine. [65]

L'aescine existe sous deux formes :  $\alpha$  et  $\beta$ -aescine. On peut les distinguer par le point de fusion, la rotation spécifique, l'indice hémolytique et la solubilité dans l'eau. A partir d'une solution de  $\beta$ -aescine chauffée à 100° C, on peut obtenir l' $\alpha$ -aescine : les hydroxyles en position C-21, C-22 et C-28 subissent une migration acyclique. La  $\beta$ -aescine est responsable des activités thérapeutiques d'*Aesculus hippocastanum*. [66]

Par déplacement acylé de C-22 à C-28, l'hydroxyle peut-être en C-28 et donner l' $\alpha$ -aescine, qui correspond à la partie soluble dans l'eau des de l'ensemble des saponosides. [40]

Deux génines sont à l'origine de l'aescine : la proto-aescigénine et le barringtogénol C, ces dernières dérivent de la série de l'oléan-12(13)-ène. Elles possèdent des groupements alcools au niveau des carbones 3, 16, 21, 22 et 28. La proto-aescigénine possède un hydroxyle supplémentaire en C-24. Ceux positionnés en C-21 et C-22 peuvent être estérifiés par des acides aliphatiques (non cyclique) tels que l'acide acétique (= acide éthanoïque), l'acide tiglique et l'acide angélique. [41]



**Figure 17 : La protoaescigénine et le barringtogénol C [56]**

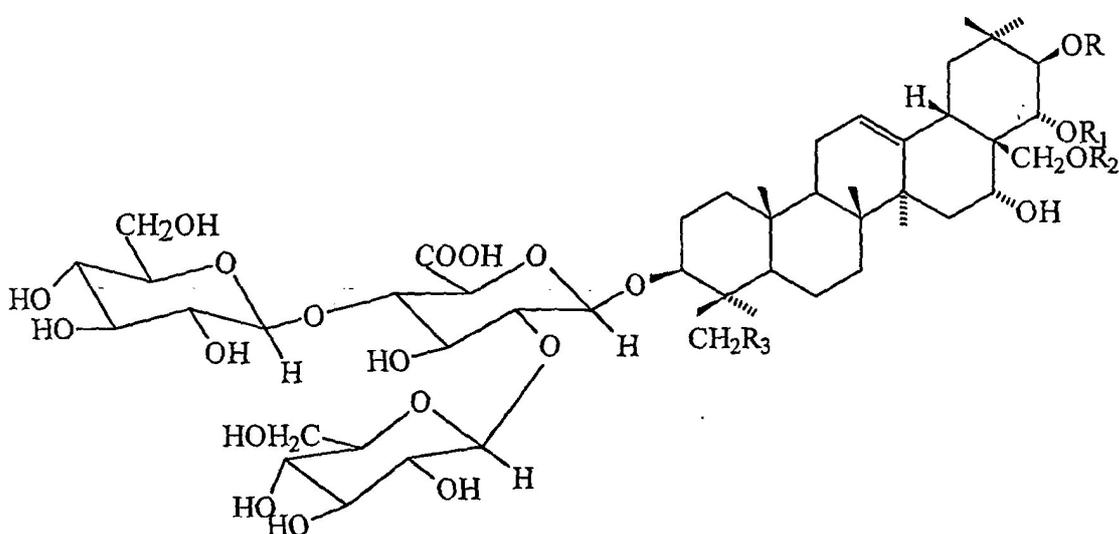
La liaison osidique se réalise entre l'hydroxyle du carbone 3 et l'acide D-glucuronique d'un trisaccharide dont la composition en oses est variable. L'ose retrouvé est soit le glucose, le galactose, le xylose, le fucose ou l'arabinose. [40]

## 2.4.2 L'aescine : un mélange d'hétérosides

Comme nous l'avons vu précédemment, l'aescine est un mélange complexe de plusieurs composés. De nombreuses méthodes d'analyse ont été utilisées afin de déterminer la structure de l'aescine comme la C.C.M., l'H.P.L.C., la radioimmunothérapie (R.I.A.), la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS). [66]

Pour la  $\beta$ -aescine, les composés identifiés sont : Aescine Ia, Ib, IIa, IIb, IIIa, IIIb, IV, V et VI tandis que pour l' $\alpha$ -aescine (= cryptoaescine), il y a l'isoaescine Ia, Ib et V. [67]

L'interconversion des isomères est possible ; par exemple la conversion de l'aescine Ia en isoaescine Ia est beaucoup plus rapide que la réaction inverse. [68]



$\alpha$ -Aescin : R=acyl group, R<sub>1</sub> or R<sub>2</sub> = COCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> or R<sub>1</sub> = H, R<sub>3</sub> = OH

$\beta$ -Aescin : R=acyl group, R<sub>1</sub> = COCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = OH

Aesculuside-A : R=Angeloyl, R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH

Aesculuside-B : R= R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH

R=R<sub>1</sub> angeloyl, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H

Escin Ia : R=Tig, R<sub>1</sub>=COCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH

Escin Ib: R=Ang, R<sub>1</sub>=COCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH

Isoescin Ia: R= Tig, R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=COCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH

Isoescin Ib: R= Ang, R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=COCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH

Escin IVc: R=H, R<sub>1</sub>= Tig, R<sub>2</sub>=COCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH

Escin IVd: R=H, R<sub>1</sub>= Ang, R<sub>2</sub>=COCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH

Escin IVe: R=H, R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=Tig, R<sub>3</sub>=OH

Escin IVf: R=H, R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=Ang, R<sub>3</sub>=OH

**Figure 18 : Structure de l'aescine** [69]

### 2.4.3 Analyse de l'aescine

#### 2.4.3.1 Pharmacocinétique de l'aescine

Des comprimés dosés à 50 mg d'aescine sont administrés à 18 personnes volontaires sains d'origine caucasienne (hommes et femmes). L'étude est randomisée (répartition au hasard) et ouverte. Les évaluations cinétiques étaient sur 24 heures et les deux tests réalisés se sont révélés équivalents.

Après avoir injecté une première dose, la concentration maximale ( $C_{\max}$ ) obtenue est située entre 16 et 18 ng/ml et la concentration moyenne est d'environ 10 ng/ml. Lors de l'injection de la deuxième dose, on remarque une diminution de  $C_{\max}$  à 10-11 ng/ml et de la concentration moyenne à 7 ng/ml. Les auteurs expliquent cette réduction par l'effet possible de la nourriture plutôt que par les rythmes circadiens (alternance jour/nuit).

L'expérience est répétée en continu sur les 7 jours suivants, les résultats ne montrent aucun changement significatif avec l'obtention d'une concentration moyenne de 8 ng/ml. Cette étude confirme les données des essais cliniques précédents avec un  $T_{\max}$  proche des 2 heures et un  $t_{1/2}$  entre 6 et 8 heures. [66]

Dans une autre étude, un comprimé d'aescinate de sodium contenant 60 mg d'aescine avec de l'aescine Ia, Ib et l'isoaescine Ia et Ib est administré à 10 hommes volontaires sains. Cette méthode a permis de détecter les quatre saponines jusqu'à 36 heures après l'administration de la dose.

La  $C_{\max}$  varie selon le composé ; la plus importante est obtenue pour l'isoaescine Ia avec 1.82 ng/ml. Le  $T_{\max}$  correspond au temps où la concentration est maximale, c'est-à-dire le temps au bout duquel on atteint l'activité pharmacologique. Ce dernier est sensiblement le même pour tous, il est d'environ 2 heures. Le  $t_{1/2}$  (durée de l'effet pharmacologique) est quant à lui variable avec un minimum de 4,7 heures pour l'aescine Ib et un maximum de 13,7 heures pour l'isoaescine Ia. L'A.U.C. permet d'apprécier le degré d'exposition de l'organisme à la molécule étudiée. Dans le cas présent, on a une plus forte exposition avec l'isoaescine Ia.

Lors de cette étude, chez certains sujets, les résultats de concentration plasmatique en fonction du temps présentaient plusieurs pics suggérant une forme de redistribution ou de recyclage entéro-hépatique. [70]

**Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques de l'aescine Ia, Ib et l'isoaescine Ia, Ib après administration d'un comprimé avec 60 mg d'aescine à 10 hommes volontaires sains [70]**

Parameters	Escin Ia	Escin Ib	Isoescin Ia	Isoescin Ib
$T_{max}$ (h)	$2.6 \pm 0.8$	$2.1 \pm 0.7$	$2.4 \pm 0.8$	$2.1 \pm 0.1$
$C_{max}$ (ng/mL)	$0.77 \pm 0.64$	$0.38 \pm 0.26$	$1.82 \pm 1.60$	$0.74 \pm 0.73$
$t_{1/2}$ (h)	$8.5 \pm 3.2$	$4.7 \pm 3.0$	$13.7 \pm 3.8$	$8.4 \pm 2.5$
$\lambda_z$ (1/h)	$0.10 \pm 0.05$	$0.21 \pm 0.12$	$0.05 \pm 0.01$	$0.09 \pm 0.03$
$V_z/F$ (L)	$1530 \pm 680$	$1110 \pm 680$	$1110 \pm 500$	$2750 \pm 1380$
$CL/F$ (mL/min)	$1020 \pm 410$	$2900 \pm 1360$	$964 \pm 426$	$3890 \pm 1940$
$AUC_{0-t}$ (ngh/mL)	$5.2 \pm 3.6$	$1.6 \pm 0.9$	$19.3 \pm 12.4$	$5.6 \pm 3.8$
$AUC_{0-\infty}$ (ngh/mL)	$5.7 \pm 3.9$	$1.8 \pm 0.9$	$22.4 \pm 13.6$	$5.8 \pm 3.8$

Lors de deux études effectuées chez des rats, il fut constaté, grâce aux paramètres pharmacocinétiques, que l'administration d'aescine « pure » a une plus grande durée d'action que celle de chaque isomère seul. [70] [71]

Afin d'évaluer l'effet de différentes doses sur le comportement pharmacocinétique, l'aescine Ia (composé actif majeur) est pris comme objet lors de cette étude. L'administration s'est faite par la veine caudale, à trois groupes de 6 rats aux doses suivantes : 0,5, 1,0 et 2,0 mg/kg.

Après administration intraveineuse, l'aescine Ia est rapidement et largement convertie en isoaescine Ia quelques soient les doses. Les résultats montrent que la  $C_{max}$  et le  $t_{1/2}$  évoluent avec l'augmentation des doses. La clairance et le volume de distribution sont variables, suggérant un effet dose-dépendant de l'aescine. [72]

La dose recommandée chez un Homme adulte est de 100 mg/jour, soit sous forme orale ou cutanée. [64]

**Tableau 7 : Paramètres pharmacocinétiques de l'aescine Ia chez les rats après administration intraveineuse aux doses 0,5, 1,0 et 2,0 mg/kg [72]**

Parameters	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	2.0 mg/kg
$C_{max}$ (ng/mL)	2280 ± 485	4362 ± 1298	11,220 ± 2330
$t_{1/2}$ (h)	7.5 ± 2.1	9.6 ± 1.9	12.2 ± 1.7
$AUC_{0-48\text{ h}}$ (ng h/mL)	10,036 ± 4203	12,989 ± 3101	29,156 ± 6495
$AUC_{0-\infty}$ (ng h/mL)	10,145 ± 4270	13,185 ± 3302	29,941 ± 6753
CL (mL/min/kg)	4.82 ± 2.13	6.05 ± 1.95	5.81 ± 1.30
$V_d$ (L/kg)	2.86 ± 1.39	5.02 ± 3.85	6.16 ± 3.53
MRT (h)	5.46 ± 1.54	5.39 ± 0.880	6.29 ± 1.16

Ces études montrent que l'aescine possède une excellente biodisponibilité afin d'apporter un bénéfice thérapeutique. Celui-ci est optimal quand la prise d'aescine se fait à distance des repas. La  $\beta$ -aescine est éliminée plus vite que l' $\alpha$ -aescine, ceci indique que l'aescine a une configuration d'élimination spécifique.

#### 2.4.3.2 La DL 50

La dose létale 50 (DL 50) ou concentration létale médiane (CL 50) correspond à la dose d'une substance provoquant la mort de 50% des individus d'une population donnée.

Chez les rongeurs, la DL 50 est équivalente, en voie intraveineuse, à 28 fois la dose thérapeutique recommandée de l'homme. En voie orale, à dose supérieure à 100 mg/kg, la DL 50 est supérieure à 58 fois la dose thérapeutique préconisée. [66]

#### 2.4.3.3 Les effets indésirables

L'aescine contenue dans les graines de marronnier d'inde est très souvent bien tolérée. Quelques effets indésirables ont été décrits dans certaines études.

Lors d'une expérience, il y a eu une administration en continu, pendant 1 mois, d'une dose de 1,1 mg/kg (équivalent à 10 fois la dose thérapeutique). Les résultats obtenus sont une légère hémolyse et une augmentation de l'érythropoïèse sans observation clinique significative. Les manifestations toxiques des fortes doses en aescine injectées en I.V. provoquent généralement des hémorragies massives. [66]

Dans six études, les effets indésirables recensés sont des troubles gastro-intestinaux, des maux de têtes, des vertiges, des démangeaisons, des réactions allergiques incluant des réactions anaphylactiques avec une fréquence d'apparition chez 1 à 36 % des patients traités.

Des lésions des reins et du foie ont été observées après l'injection d'extraits purifiés d'*Aesculus hippocastanum*. Des cas d'insuffisance rénale aiguë (I.R.A) ont été signalés chez des enfants, ayant reçus une injection d'aescine à la dose de 0,5 mg/kg (soit 2 à 3 fois la dose recommandée), pendant 4 jours environ. Dans une autre étude, l'injection de 10 à 25 mg d'aescine, tous les jours en I.V., pendant 3 à 10 jours chez des patients en insuffisance ou non. Les résultats finaux ne montrent aucun changement de la fonction rénale chez les patients sains, ni d'aggravation chez les patients en insuffisance rénale.

Une autre expérience a montré des lésions hépatiques chez un homme de 37 ans après l'administration d'une dose unique, en intramusculaire (I.M.), d'un extrait standardisé avec 65 mg d'aescine. Des tests hépatiques ont été réalisés 17 jours après l'injection, on a constaté une augmentation des enzymes hépatiques (A.L.A.T., A.S.A.T.), de la bilirubine et des éosinophiles. Une biopsie du foie a montré une cholestase avec une nécrose zonale dans les zones centrolobulaires mais rien n'a été remarqué au niveau du système porte. [73]

#### **2.4.3.4 Térogénicité**

L'administration à des lapins et des rats, par voie orale, de Venostasin® (extrait de graines de marronnier d'inde contenant de l'aescine) à la dose de 100 à 300 mg/kg (comparé aux animaux témoins) ne fait pas apparaître d'effet significatif de la térogénicité.

Chez les lapins, à 300 mg/kg, seule une diminution du poids corporel des fœtus a été observée ; sachant que cette dose est 30 fois la dose recommandée chez les humains.

Une autre expérience : chez des jeunes rats de 32 jours, l'injection quotidienne de deux fois 5 mg/kg d'aescine est analysée. Après avoir atteint l'âge de la fertilité, les reins, les testicules et le sperme ont été analysés. Les résultats montrent qu'une dose élevée d'aescine n'affecte en rien la fertilité, ni la fonction rénale. [74]

#### **2.4.4 Action sur les cytochromes P450 (chez le rat)**

Dans cette expérience, on a étudié l'influence de l'aescine sur le cytochrome P450 notamment les CYP 1A2, CYP2C9, CYP2E1 et CYP3A4.

Les cytochromes P450 ou CYP450 sont une grande famille de protéines possédant l'hème comme cofacteur. Leur principale fonction est de catalyser l'oxydation d'un grand nombre de composés organiques de nature exogène ou endogène. Ils sont d'une importance capitale en pharmacologie car il sont impliqués dans la dégradation des médicaments, le rendant plus actif ou inactif. [75]

Dans une étude, l'administration en I.V. d'une solution à 5 ml/kg contenant un mélange de phénacétine (20 mg/kg), du tolbutamide (5 mg/kg), du chlorzoxazone (20 mg/kg) et du midazolam (10 mg/kg) à des rats préalablement traités par des doses uniques ou multiples d'aescine est analysée. Le traitement a eu des effets inductifs sur le CYP1A2, des effets inhibiteurs sur le CYP3A4 et le CYP2C9 tandis que pour le CYP2E1, aucun effet (inhibiteur ou inducteur) n'a été mis en évidence. On remarque aussi que les effets de l'aescine sur les CYP sont plus importants quand il y a eu plusieurs administrations. [76]

Cette étude nous a montré qu'il faut être vigilant à la prise concomitante d'aescine et de médicaments métabolisés par les CYP décrits. Une modification de la posologie peut-être réalisée pour contrebalancer l'effet de l'interaction (augmenter en cas d'inducteur et diminuer en cas d'inhibiteur). L'arrêt de l'inducteur ou de l'inhibiteur entraîne le retour à la posologie initiale de la molécule associée.

**Tableau 8 : Données récapitulatives de l'étude des cytochromes chez le rat [75] [76] [77]**

<u>TYPE DE CYTOCHROME</u>	<u>INDUCTEUR / INHIBITEUR</u>	<u>MOLÉCULE TESTÉE</u>	<u>MEDICAMENTS METABOLISES</u>
CYP 2E1	Absence d'effet	Chlorzoxazone	Zopiclone, Paracétamol, ...
CYP 1A2	Inducteur	Phénacétine	Théophylline, Paracétamol, Imipramine, ...
CYP 2C9	Inhibiteur	Tolbutamide	Phénytoïne, Losartan, Glipizide, ...
CYP 3A4	Inhibiteur	Midazolam	Ciclosporine, Warfarine, Codéine, ...

### **3. Les utilisations thérapeutiques de l'aescine**

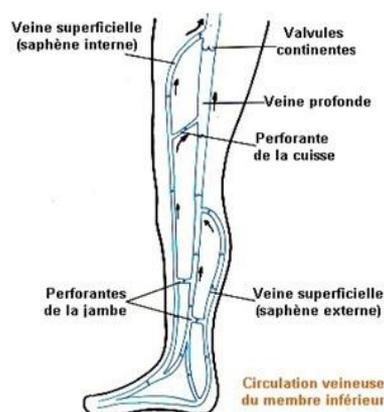
#### **3.1 L'insuffisance veineuse chronique**

##### **3.1.1 Physiopathologie**

L'insuffisance veineuse chronique (ou I.V.C.) concerne plusieurs millions de personnes en France. On a une prévalence de 10-15 % pour les hommes adultes et 20-25 % pour les femmes adultes.

Il s'agit d'une maladie évolutive dont l'origine est mal définie mais qui serait certainement multifactorielle. Il faut prendre en considération plusieurs facteurs : l'atteinte pariétale (modification des parois veineuses comme les varices), les variations hormonales (grossesse et contraception hormonale à l'origine de l'augmentation de l'élasticité des parois veineuses), le dysfonctionnement valvulaire, les altérations enzymatiques, l'atteinte articulaire, l'hérédité (20 % des femmes ayant des varices ont des antécédents familiaux), le mode de vie (sédentarité, obésité, grossesses multiples, ...). [78]

L'homme possède au niveau des membres inférieurs, deux réseaux veineux : le réseau veineux profond (90 % du sang veineux) et le réseau veineux superficiel constitué par les veines saphènes (qui drainent les 10 % du sang veineux restant). Ces deux réseaux veineux sont reliés par un système de veines perforantes.



**Figure 19 : Le système veineux des membres inférieurs** [79]

Le retour veineux est assuré par la semelle plantaire (= semelle de Lejar), la pompe musculaire du mollet et le système abdomino-diaphragmatique. La présence de valvules (anti-reflux) au niveau des veines empêchent le retour du sang.

### **3.1.2 Les conséquences de l'I.V.C. et les traitements**

L'I.V.C. a pour conséquence une hyperpression veineuse, une dilatation et une élongation des veines sinueuses, une diminution de la vitesse dans les veines (provoquant une stase et une augmentation de la dilatation), une hyperpression capillaire, des œdèmes, une hypoxie tissulaire, des troubles trophiques (eczéma, kératose, ...).

Les signes cliniques sont une sensation de jambes lourdes, des douleurs, des fourmillements, un gonflement ressenti plutôt en soirée, des picotements, un prurit, un syndrome de jambes sans repos, ... A partir de l'examen clinique et de l'interrogatoire du patient, on peut établir un stade de gravité parmi les quatre existants. [80]

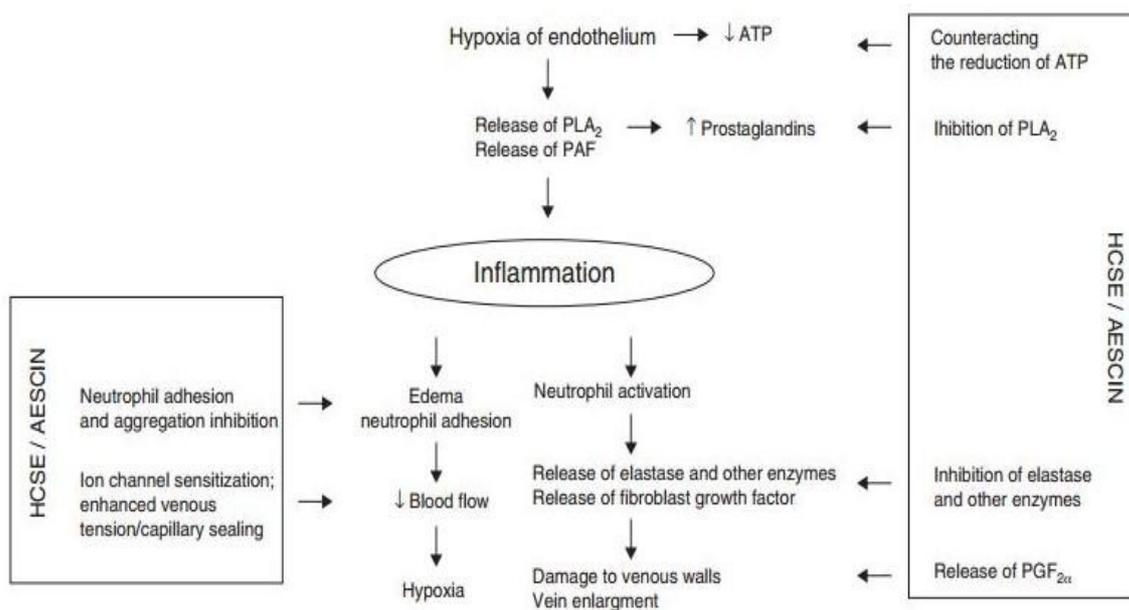
Le traitement de l'insuffisance veineuse repose sur l'utilisation des veinotoniques, de la contention, la correction de l'hygiène de vie et des facteurs de risques.

### **3.1.3 L'aescine dans l'insuffisance veineuse chronique**

Pour connaître le mécanisme d'action de l'aescine dans l'insuffisance veineuse chronique, il faut revenir sur celui de l'I.V.C. Les modifications pariétales des veines entraînent une stase veineuse conduisant elle-même à une hypoxie tissulaire : on a une diminution de l'A.T.P conduisant à une diminution de l'activité des pompes ATPases dépendantes. Par conséquent, on a une entrée d'eau et de sodium dans la cellule (œdème) ainsi qu'une augmentation du calcium intracytosolique.

Le calcium active la phospholipase A2 (enzyme qui libère l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires) induisant elle-même la libération du P.A.F. (facteur d'activation plaquettaire). Ce dernier est un médiateur de l'inflammation à l'origine de l'adhésion des neutrophiles à l'endothélium ; ils vont libérer à leur tour des enzymes comme l'élastase qui dégrade la paroi des veines et produire des facteurs de croissance type F.G.F. (fibroblastes) provoquant l'élargissement de la veine. La fixation des neutrophiles réduit le débit sanguin et stimule l'hypoxie tissulaire.

L'aescine va agir à plusieurs niveaux de cette cascade : antagoniste de la diminution de l'A.T.P. et elle inhibe la phospholipase A2, l'élastase et la fixation des neutrophiles à l'endothélium. [81] [82]



**Figure 20 : Mode d'action de l'aescine dans l'insuffisance veineuse chronique [81]**

Un très grand nombre d'essais ont été menés chez les patients atteints d'insuffisance veineuse chronique. On peut en citer quelques uns :

- Par *Neiss et Böhm* (1976) : on a administré des capsules contenant 300 mg d'H.C.S.E. avec 50 mg d'aescine, 2 fois/jour pendant 20 jours. Les résultats montrent une atténuation significative des douleurs, des œdèmes et du prurit de la jambe chez les patients traités par rapport au groupe placebo.
- Par *Lorh et al* (1986) : on a utilisé les mêmes quantités que l'étude précédente, seule la durée diffère (8 semaines ici). Le résultat est la réduction du volume de la jambe (6 fois plus que les patients non traités par l'aescine).
- *Pilz* (1990) : On a les mêmes conditions de doses et de durée que dans la première étude. On a une réduction significative de la circonférence de la jambe.
- *Diehm et Schmidt* (2001) : on a comparé l'effet de l'aescine par rapport à la compression (bandage ou bas de contention). L'effet est similaire entre les deux méthodes.
- *Koch* (2002) : on compare l'effet du pycnogénol (360 mg/jour) à l'aescine sous forme d'H.C.S.E. aux doses décrites précédemment pendant 4 semaines. On a les mêmes effets pour les deux molécules avec de meilleurs résultats pour le pycnogénol (molécule dans l'écorce de pin maritime). [81]

### **3.2 Action sur l'œdème post-opératoire**

Une première étude comptant 72 patients vont subir différentes interventions : 33 personnes d'une herniotomie (ablation d'une hernie), 24 personnes d'une ménisectomie (ablation du ménisque) et 15 personnes une réduction d'une fracture de la jambe. Certains vont être traités avec de l'aescine et d'autres non.

Les patients traités ont reçu en I.V. 5 mg d'aescine la veille, 10 mg le matin et 5 mg le soir de l'opération puis 5 mg le soir les six jours suivants. Le principal critère d'efficacité retenu est la différence de température entre la partie de la jambe opérée et le côté controlatéral. La température est plus faible du côté opéré avec la présence d'aescine.

Dans la deuxième étude, les patients ont subi différentes opérations de la main. Le même paramètre de différence de température entre le côté opéré et l'autre a été évalué par thermographie infrarouge. On dénombre 27 patients ayant reçu 10 mg d'aescine et 26 patients dans le groupe placebo (absence de traitement). On constate une différence de l'évolution de la température entre les deux groupes. Celui traité avec l'aescine a un pic de température au niveau du 2<sup>ème</sup> jour post-opératoire puis elle diminue rapidement. Mais le groupe n'ayant rien reçu voit un pic de température au 4<sup>ème</sup> jour post-opératoire et prend plus de temps pour s'atténuer. [66]

L'aescine est une molécule entrant dans le champ de la prévention et du traitement de l'œdème. L'effet est lié à une perméabilité vasculaire choisie, induisant l'augmentation du tonus veineux. L'aescine réduit la fragilité capillaire et évite l'extravasation du liquide.

### **3.3 Action anti-inflammatoire**

Dans de nombreuses études, il est difficile de séparer les effets anti-inflammatoires des effets anti-œdémateux. L'inflammation fait partie du processus de la réponse immunitaire qui se produit en conséquence d'un dommage corporel. [82]

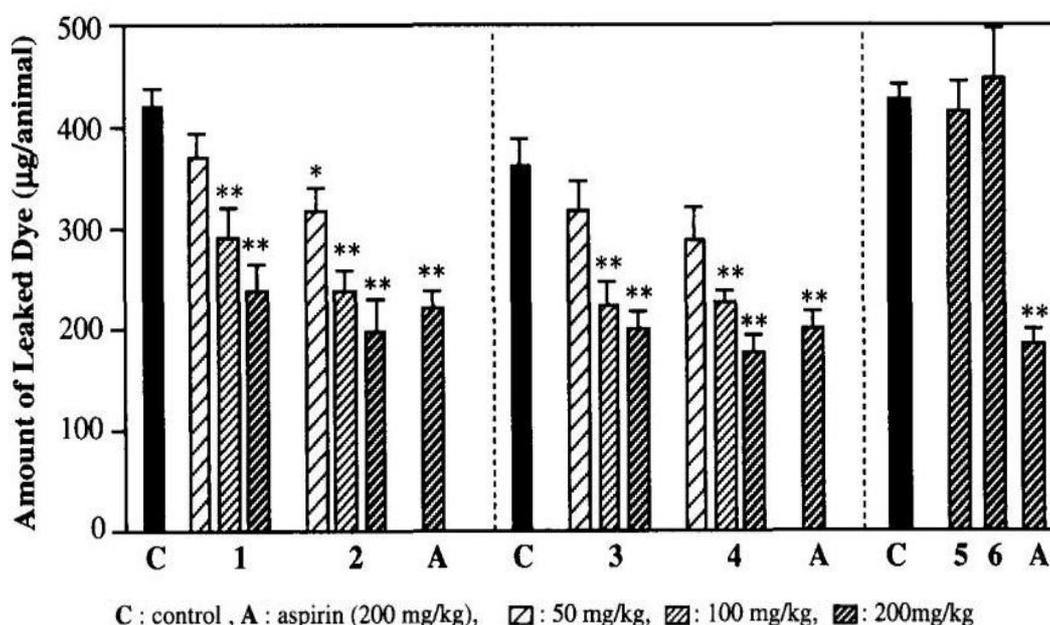
Le mécanisme inflammatoire se traduit par 2 phases :

- Une phase vasculaire : libération de molécules par les mastocytes (histamine et sérotonine), l'activation de protéines plasmatiques et sécrétion de médiateurs type prostaglandines.
- Une phase cellulaire : les leucocytes s'accrochent aux vaisseaux puis interagissent avec les cellules endothéliales. La diapédèse intervient ensuite. [83]

Dans cette expérience, on va comparer l'aescine au dexaméthasone ou DX (A.I.N.S utilisé dans les maladies inflammatoires) afin de vérifier le pouvoir anti-inflammatoire de la molécule étudiée. On a 30 souris mâles que l'on a divisé en 3 groupes : le groupe placebo, celui recevant une solution d'aescine (2 mg/kg), et le dernier qui reçoit 4 mg/kg de DX.

L'inflammation chez les souris est induite par une injection unique, sous le pied, de 30 µl d'une solution de carragénine à 2% (polysaccharide extrait d'algues rouges). Le volume de la patte a été mesuré avant puis à 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18 et 24 heures après le traitement. Les résultats montrent une réduction de l'œdème donc de l'inflammation chez le groupe aescine et DX ; on remarque aussi que, les résultats sont quasi-équivalents entre les deux groupes démontrant ainsi l'activité anti-inflammatoire de l'aescine. [84]

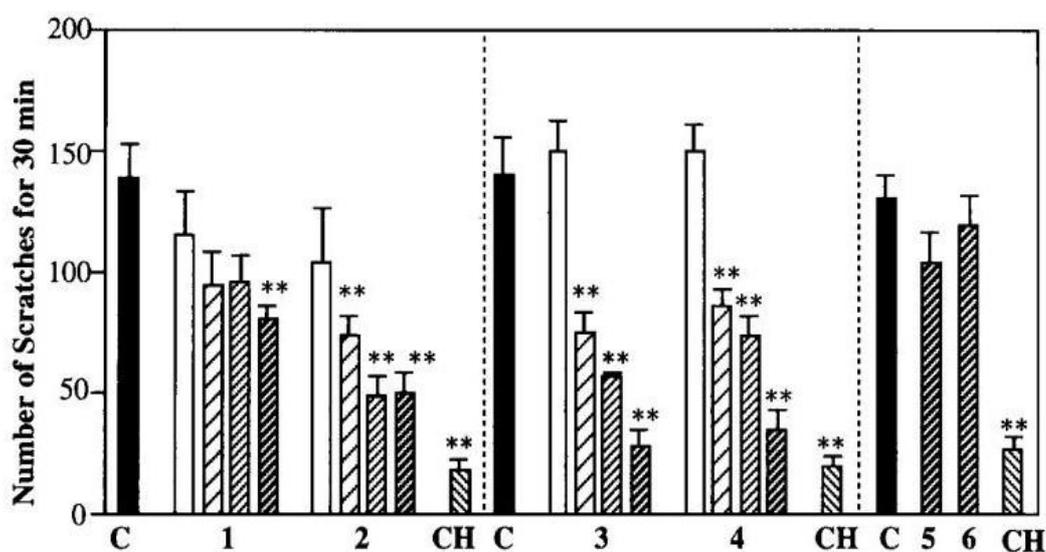
Dans une autre étude, le but est de mettre en évidence les effets anti-inflammatoires de l'aescine Ia (1), Ib (2), IIa (3) et IIb (4). Un œdème a été induit par l'injection intrapéritonéale d'acide acétique chez la souris. On injecte ensuite les molécules à des doses différentes : 50, 100 et 200 mg/kg. On teste également l'isoaescine I (5), II (6) et l'aspirine (A) 200 mg/kg. On évalue ici la perméabilité vasculaire par « la quantité de fuite » de colorant (ici il s'agit du bleu ciel de protamine) dans la cavité péritonéale. [85]



**Figure 21 : Effets de l'aescine et de l'isoaescine sur l'augmentation de la perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique chez la souris [85]**

Les résultats prouvent que les molécules de type aescine (quelque soit le dosage) ont un effet inhibiteur sur l'augmentation de la perméabilité membranaire. Néanmoins, les doses à 200 mg/kg montrent un résultat plus significatif ; le plus parlant est celui pour l'aescine IIb. Celle-ci possède la même réponse anti-inflammatoire que l'aspirine à la même dose (200 mg/kg). Par contre, l'isoaescine I et II n'ont pas d'effet sur la perméabilité vasculaire.

Dans une autre expérience, les composés sont testés aux mêmes doses (avec une dose supplémentaire de 25 mg/kg) afin de déterminer leurs activités sur la libération d'histamine et de sérotonine. En premier, l'aescine est injectée en I.V. chez des souris mâles et une heure après le composé 48/80 est administré. Ce composé est connu pour être un agent libérant des médiateurs chimiques tels que la sérotonine et l'histamine, entraînant des démangeaisons. L'injection est réalisée dans le dos de la souris et on va compter le nombre de grattages (présence de rayures) qu'elle effectue sur son dos grâce aux pattes arrières. L'aescine est comparée à la cyproheptadine (CH) (molécule anti-histaminique). [85]



C: control, CH: cyproheptadine HCl (5 mg/kg), □: 25 mg/kg, ▨: 50mg/kg, ▩: 100 mg/kg, ▪: 200 mg/kg. Each value represents the mean with S.E. (n=6 - 10), \*\* $p < 0.01$ .

**Figure 22 : Effets de l'aescine et de l'isoaescine sur les démangeaisons induites par le composé 48/80 chez la souris [85]**

Les composés de l'aescine ont un effet sur la diminution des démangeaisons mais l'aescine IIa à 200 mg/kg montre une plus grande efficacité. L'anti-histaminique injecté a un effet plus important que l'aescine. Les isoescines montrent quant à elles une très légère amélioration sur les démangeaisons.

Le développement de l'œdème induit par la carraghénine, l'augmentation de la perméabilité vasculaire par l'injection d'acide acétique ainsi que la libération de molécules inflammatoires par l'administration du composé 48/80 déclenchent l'étape précoce du mécanisme d'une inflammation. L'aescine a démontré son action dans le processus inflammatoire.

Une étude se base sur la proportion en leucocytes, macrophages et neutrophiles présents dans l'exsudat inflammatoire chez des patients atteints de I.V.C. L'injection en I.V. de 5 mg d'aescine toutes les 12 heures sur 7 jours induit une diminution de 50 % des macrophages, une augmentation de 46 % des neutrophiles. Les leucocytes ont une densité par unité de surface réduite de 33 %. L'aescine intervient également dans l'activation des leucocytes. [66]

### **3.4 Action anti-hémorroïdaire**

Les hémorroïdes sont la résultante d'une dilatation des veines de l'anus et du rectum. Il s'agit d'une pathologie très fréquente chez les adultes (une personne de plus de 50 ans sur deux) ; les causes sont multiples : la constipation, la grossesse, la perte de tissu avec l'âge, ... Les symptômes décrits sont des démangeaisons anales, un inconfort en position assise, des saignements au niveau des selles, ...

Lors d'une étude en double aveugle, chez 80 patients souffrant de symptômes d'hémorroïdes aigus, 40 mg d'aescine en comprimés est administré à la moitié d'entre eux sur une période de 2 mois. L'efficacité thérapeutique est évalué en fonction de l'opinion des patients, de la gravité des symptômes et de l'examen endoscopique. Cet examen est effectué au départ de l'expérience : dans le groupe aescine, 28 patients ont des saignements et 34 des gonflements ; pour le groupe placebo, on compte respectivement 18 et 33 patients. A la fin de l'étude, 38 patients dans le groupe aescine et 34 autres dans le groupe placebo ont été évaluables.

Dans le groupe aescine, 36 patients (81,6%) ont ressenti une amélioration importante des symptômes contrairement au groupe placebo, ou seulement 11 patients (32,4%) ont enregistré cet effet. L'examen endoscopique final vient affirmer les résultats précédents : on obtient dans le groupe aescine, une amélioration des saignements chez 26 patients (94,8%) et des gonflements chez 29 patients (86,9%). Dans le groupe placebo, on observe une amélioration des saignements pour 13 patients (61,8%) et une diminution du gonflement pour 12 malades (38,3%). L'amélioration des symptômes a été rapportée au bout de 6 jours et l'examen endoscopique final a été réalisé au bout de 2 semaines. [66]

### 3.5 Action dans le stress oxydant

Le stress oxydant est une forme d'agression des constituants de la cellule par des radicaux que l'on appelle généralement des espèces réactives oxygénées ou R.O.S. Il peut devenir une situation pathologique quand le système inflammatoire ne peut plus faire face à l'afflux des R.O.S. Le stress oxydant peut devenir un facteur de maladies importantes comme le cancer, la polyarthrite, les A.V.C., ... [86]

Parmi les graisses, on retrouve le cholestérol qui est un lipide important dans notre quotidien. Il est transporté par des lipoprotéines parmi lesquelles on peut distinguer le H.D.L. ou « bon cholestérol » responsable de transporter le cholestérol en excès contrairement au L.D.L. ou « mauvais cholestérol » dont le rôle est d'apporter celui-ci aux cellules qui en ont besoin. Le L.D.L. est une cible de choix pour l'oxydation ; les L.D.L. oxydés sont des marqueurs du stress oxydant et un facteur majeur dans les maladies cardiovasculaires. Les taux de L.D.L. et de H.D.L. sont influencés par la quantité de graisses ingérées. [87]

Dans cette étude, il s'agit de vérifier si l'aescine contenue dans les graines de marronnier d'inde possédait une action anti-oxydante. A fin d'évaluer cet effet, deux groupes de souris ont été nourris différemment : le premier dit normal a été nourri par une alimentation standard tandis que le deuxième représente le groupe des souris pathologiques, elles ont été nourries par une alimentation riche en graisses.

La dose journalière de 100 mg/kg (dose recommandée) d'aescine a été administré aux deux groupes pendant 5 semaines et on a prélevé des échantillons de cœur, de foie, de reins et de sang au début et à la fin de la période expérimentale. Les paramètres étudiés sont : la superoxyde dismutase (**SOD**), le glutathion réduit (**GSH**), la catalase (**CAT**) et le malondialdéhyde (**MDA**). La CAT et la SOD sont des enzymes impliquées dans la dégradation des R.O.S. Le GSH intervient dans des réactions de détoxification et d'élimination des radicaux. Le MDA est l'expression du stress oxydant.

Dans les deux groupes, une diminution du stress oxydant ( $\downarrow$  MDA) et une augmentation de la GSH ont été remarqués dans tous les échantillons. Dans le groupe « graisse », la SOD et la CAT diminuent nettement au niveau hépatique (lieu de métabolisation des graisses). Cela peut s'expliquer par le fait que l'apport en graisse à générer une augmentation de radicaux libres entraînant un surplus d'activité pour ces deux enzymes.

D'un point histopathologique, l'observation des coupes de foie chez le groupe « grasse » avant et après traitement montre un effet bénéfique de l'aescine sur la structure du foie. [88]

### **3.6 Action sur le cancer**

Les lésions oxydatives peuvent conduire à la mort cellulaire et/ou à la mutagenèse. Cette dernière est définie comme la survenue d'une mutation d'une manière naturelle ou non (lésion de l'A.D.N.).

Dans une étude, des souches d'*Escherichia coli* ont été mutées. Différentes concentrations en *Aesculus hippocastanum* ont été testées : 1, 5 et 10 mg/ml. Il est remarqué une légère diminution de la survie des cellules mutées à la plus forte concentration (10 mg/ml), suggérant qu'une voie de réparation a été établie pour certaines lésions de l'A.D.N.

Dans une autre expérience, des souches de *Salmonella typhimurium* notées TA97a, TA98, TA100, TA102 ont été utilisées. Chaque souche est capable de détecter une mutation spécifique (substitution de paires de bases, transitions, transversions). Elles sont traitées avec les mêmes concentrations en *Aesculus hippocastanum* que dans l'étude précédente. Il est uniquement constaté une augmentation du nombre de colonies révertantes (subit une mutation qui rétablit la séquence sauvage à partir de celle mutée) pour TA98 suggérant que l'aescine peut agir comme un faible agent mutagène, sans activation métabolique. [89]

Dans une étude, l'usage de 2,8 mg/kg d'aescine chez des souris atteintes de carcinome hépatocellulaire entraîne la diminution de 43,5% sur la croissance des tumeurs. L'aescine intervient dans le cycle cellulaire au niveau du checkpoint G1/S induisant l'apoptose de la cellule tumorale. [90]

Le mode d'action de la  $\beta$ -aescine varie selon le type de cellule, la concentration et le temps de traitement. Elle peut inhiber la croissance de cellules tumorales comme les cellules d'un cancer du foie chez la souris, un adénocarcinome du poumon ou encore une cellule humaine de la cavité buccale. [91]

### **3.7 Action sur l'infertilité en cas de varicocèle**

La varicocèle est la présence de varices au niveau des veines du cordon spermatique situé à l'intérieur et entourant chaque testicule. Cette pathologie concerne environ 15-20 % des hommes mais elle représente 30-40 % des cas d'infertilité .

Plusieurs mécanismes peuvent en être la cause : la présence de métabolites toxiques issus des glandes surrénales ou du rein, un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-gonadique, un stress oxydant au niveau des testicules, la présence d'une stase veineuse provoquant une hypoxie et une augmentation de la température (des troubles de la spermatogenèse). Les conséquences sont des douleurs, une diminution du volume des testicules ou une stérilité.

Par exemple, dans une étude comprenant 219 patients d'origine chinoise souffrant d'une infertilité causée par un varicocèle. Les patients sont répartis au hasard dans trois groupes : le contrôle (65 patients), la chirurgie (48 patients) et le groupe aescine (106 patients).

Le groupe aescine est composé de personnes d'environ 30 ans présentant une période d'infertilité d'environ 5 ans. Ils reçoivent, par voie orale, une dose journalière de 60 mg répartie en deux prises de 30 mg espacées de 12 heures, en continu pendant 2 mois. Tous les groupes ont reçu en plus un traitement favorisant la qualité du sperme. Les paramètres étudiés sont le diamètre de la veine spermatique (exprimée par l'amélioration de la gravité de la varicocèle uniquement pour le groupe aescine) et la qualité du sperme avant et après traitement. [92]

**Tableau 9 : Résultats des différents paramètres étudiés avec utilisation d'aescine versus chirurgie dans la varicocèle [92]**

	Groupe contrôle	Groupe chirurgie	Groupe aescine
Taux d'amélioration de la densité de spermatozoïdes	38,5%	68,8%	57,5%
Taux d'amélioration de la motilité des spermatozoïdes	46,2%	77,1%	55,7%
Amélioration de la gravité légère			41,7%
Amélioration de la gravité modérée			64,4%
Amélioration de la gravité grave			20,0%

L'aescine améliore le nombre de spermatozoïdes mais pas leur motilité. Les meilleurs résultats sont obtenus en cas de varicocèle à gravité modérée. Néanmoins, la chirurgie obtient de meilleurs résultats sur la qualité du sperme mais celle-ci a comme principal inconvénient d'être invasive.

Durant cette étude, un autre paramètre a été surveillé : les effets indésirables. Dans le groupe aescine, peu de patients en ont ressenti ; si c'était le cas, cela se traduisait par des douleurs abdominales (5,7 %), de la fatigue (4,7 %), des nausées (3,8 %), des vomissements (1,9 %) et de l'anorexie (2,8 %). Ces derniers disparaissaient sans traitement dès que le patient prenait sa dose d'aescine plutôt après le repas.

L'aescine est une molécule adéquate dans l'amélioration de la qualité du sperme et du diamètre de la veine spermatique chez des patients souffrant d'infertilité avec un varicocèle associé.

### **3.8 Action dans l'ischémie rétinienne**

L'ischémie rétinienne se définit comme une difficulté du retour veineux au niveau des veines rétiniennes, une dilatation, un œdème et/ou une hémorragie par une rupture de la barrière hémato-rétinienne (B.H.R.) . Les signes cliniques se manifestent par une vue trouble et une baisse de l'acuité visuelle.

Précédemment, il a été démontré que l'aescine possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-œdémateuses. Dans cette étude, on a voulu démontrer l'effet synergique de l'association aescine-glucocorticoïde sur la protection de la B.H.R. Pour cela, une ischémie rétinienne est provoquée chez des rats. L'acétonide de triamcinolone (glucocorticoïde) et l'aescine soit seule ou en association sont testés.

Les résultats montrent que seule l'association aescine-glucocorticoïde à faibles doses réduit la perméabilité de la B.H.R. suite à une ischémie. Elle permet l'augmentation de l'occludine, une protéine transmembranaire qui assure la cohésion cellulaire au niveau de la B.H.R. L'utilisation concomitante d'aescine peut diminuer les doses utilisées en glucocorticoïdes dans le traitement de l'œdème maculaire. [93]

### **3.9 Action dans la perfusion de l'oreille interne**

Dans une étude randomisée, comprenant deux groupes de 34 patients, il est testé d'un coté l'association aescine-troxérutine en capsule (25 mg/450 mg) et de l'autre la pentoxifylline (600 mg) (vasodilatateur). La dose journalière est dans le premier groupe de 5 capsules soit 125 mg d'aescine et 2 250 mg de troxérutine ; dans le deuxième groupe, une dose de 600 mg par jour est donnée.

L'amélioration de l'audition au bout de 40-44 jours de traitement met un terme à l'étude. Le critère d'amélioration est l'augmentation de 10 décibels entre le début et la fin de l'expérience.

Dans le groupe de l'association, 23 des 34 patients sont positifs à l'amélioration de 10 décibels contre 6 sur 34 dans le groupe de la pentoxifylline. Ces résultats concluent sur l'efficacité de l'association étudiée dans la perfusion de l'oreille interne. [94]

### **3.10 Action au niveau gastro-intestinal**

Au niveau gastro-intestinal, plusieurs actions de l'aescine ont été décrits, nous les verrons à travers différentes études.

#### **3.10.1 Effet hypoglycémique**

Dans cette étude, on veut observer si l'aescine a une action inhibitrice sur le taux de glucose sanguin et au niveau de l'intestin grêle. On s'intéresse en particulier à l'aescine Ia et IIa. On prend comme molécule comparative le tolbutamide (hypoglycémiant, il va stimuler la synthèse d'insuline par le pancréas).

Des rats mâles ont subi un jeun d'une journée avant le début de l'expérience. On teste séparément les deux paramètres étudiés (le glucose sanguin et celui intestinal). La dose orale ou injectée au niveau intrapéritonéal est la même soit 5 ml/kg d'une solution concentrée de glucose à 10% et 30 minutes plus tard, on administre l'aescine Ia et IIa à la concentration de 100 mg/kg et pour le tolbutamide 50 mg/kg.

Les résultats nous montrent une action significative des aescines testées (surtout l'aescine IIa) au niveau du taux de glucose sanguin lors de l'administration orale « forcée ». Mais, dans le cas du glucose injecté en intrapéritonéal, l'aescine n'a pas d'effet contrairement au tolbutamide. L'aescine ne stimule pas l'insuline pour réguler la glycémie. Dans la même publication, l'action de l'aescine sur la vidange gastrique a été démontrée. [95]

#### **3.10.2 Effet anti-ulcéreux**

L'étude a été réalisée chez des rats mâles ; ils ont été privés de nourriture pendant 24 heures avant de leur injecter soit une solution contenant de l'aescine ou une autre molécule : l'oméprazole (I.P.P. utilisé dans le traitement des ulcères). [96]

Les lésions gastriques ont été induites par l'ingestion d'1,5 ml d'éthanol. Une heure après l'administration des molécules étudiées à des concentrations différentes (de 2,5 à 50 mg/kg pour les aescines et 30 mg/kg pour l'oméprazole), les animaux sont sacrifiés et le foie est analysé selon plusieurs critères : le nombre et la taille des lésions, la quantité d'acide et de pepsine.

Les résultats nous indiquent un effet dose-dépendant de l'aescine (surtout l'aescine Ia et IIa) sur les lésions hépatiques. A la plus haute dose, les meilleurs résultats sont obtenus avec l'aescine par rapport à l'oméprazole. Les isoescines I et II n'ont pas d'action anti-ulcéreuse. Par contre, les aescines ont tendance à provoquer une légère augmentation en acide et pepsine sans modification du pH contrairement à l'oméprazole. L'action de l'aescine ne se fait pas sur la sécrétion gastrique. [97]

Dans le cas d'un pré-traitement des rats avec soit : la capsaïcine (125 mg/kg) ou l'indométacine (10 mg/kg) ou du n-éthylmaléimide (10 mg/kg) ou du L-NAME (70 mg/kg) ; l'aescine perd son pouvoir anti-ulcérogène uniquement avec la capsaïcine. Son mécanisme d'action repose sur l'activation de neurones sensoriels au niveau du récepteur TRPV1 induisant une dépolarisation de la membrane par entrée de calcium et de sodium conduisant à des sensations de brûlures. L'aescine intervient au niveau des neurones sensoriels et certainement sur le récepteur TRPV1.

Le L-NAME augmente le nombre de lésions présentes même avec la présence d'aescine. Ce composé inhibe la NO synthase. Par conséquent, l'aescine intervient avec le NO et sûrement les prostaglandines pour diminuer l'effet ulcéreux. [98] [99]

### **3.11 Action dans la maladie de Parkinson**

#### **3.11.1 Physiopathologie**

La maladie de Parkinson est la deuxième cause de Handicap moteur chez le sujet âgé. Cette pathologie a une prévalence de 150 pour 100 000 habitants avec une évolution à 150 personnes atteintes pour 1 000 habitants au-dessus de 65 ans.

Il s'agit d'une maladie neurologique dégénérative d'origine multifactorielle due à la perte progressive des neurones au niveau de la substance noire. Cela engendre un déficit en dopamine et par conséquent un déséquilibre avec les autres neurotransmetteurs d'où une hyperactivité cholinergique (acétylcholine).

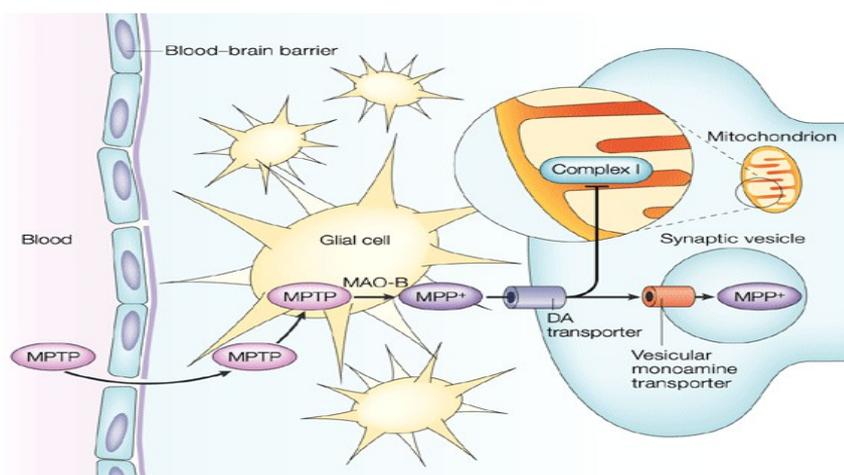
Le processus pathologique de la maladie de Parkinson est associé à un stress oxydant anormal et un dysfonctionnement mitochondrial. Il faut différencier la maladie de Parkinson du syndrome Parkinsonien, celui-ci est engendré par la prise de médicaments tels que les neuroleptiques et les I.R.S.

La dopamine joue un rôle dans les fonctions motrices, la cognition, le comportement, le sommeil, la mémoire, ... Les symptômes sont souvent moteurs : akinésie (difficulté à l'initiation du mouvement) ou bradykinésie (lenteur du mouvement) ou hypokinésie (mouvement écourté). A cela, peuvent-être associés une rigidité, des tremblements au repos, une perte de motivation, de l'anxiété, des troubles du sommeil, un amaigrissement, ... [100]

### 3.11.2 L'aescine dans la maladie de Parkinson

Dans cette étude, on a étudié l'effet neuroprotecteur de l'aescine. Le modèle de la maladie Parkinson a été réalisé sur des souris par l'administration de M.P.T.P.

Le M.P.T.P ou 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine est une toxine utilisée dans ce modèle pour induire les symptômes permanents de la Maladie de Parkinson. Le M.P.T.P. franchit la barrière hémato-encéphalique (B.H.E.) pour être métabolisé en MPP<sup>+</sup> au niveau des cellules gliales grâce à la MAO-B. Le MPP<sup>+</sup> est capté par le DAT (transporteur de la dopamine) afin de rentrer dans le bouton synaptique du neurone. Une fois dans ce dernier, le MPP<sup>+</sup> va interagir avec le complexe I au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale induisant la production de radicaux libres et induire une neurotoxicité dans la cellule. Le MPP<sup>+</sup> est stocké dans les vésicules synaptiques ; il entre dans celle-ci grâce à son affinité avec le transporteur vésiculaire de la monoamine (VMAT) et en particulier le VMAT-2. [101]



**Figure 23 : Mode d'action du M.P.T.P. dans le modèle de la maladie de Parkinson [102]**

Le stress oxydant active les cellules gliales notamment la microglie (défense immunitaire du S.N.C. constituée de macrophages). Cela engendre l'augmentation de la production de médiateurs inflammatoires comme les cytokines ainsi que des facteurs de transcription qui régule l'I.N.O.S. (l'Oxyde Nitrique Synthase) et les C.O.X.

L'I.N.O.S. va produire de manière incontrôlée le NO (monoxyde d'azote), le NO réagit avec l'O<sub>2</sub><sup>-</sup> (ion superoxyde produit par les mitochondries) pour donner des peroxinitrites qui vont donner le signal de l'apoptose donc la mort cellulaire neuronale.

L'aescine a démontré son action en tant qu'agent anti-oxydant et anti-inflammatoire. L'effet neuroprotecteur a été démontré dans certaines études : diminution du traumatisme crânien, effet anti-inflammatoire sur des neurones de l'hippocampe de souris et diminution de l'ischémie cérébrale chez le rat grâce à ses propriétés anti-apoptotiques.

Dans une première expérience, l'action de l'aescine sur le taux de dopamine a voulu être vérifiée. Pour cela, des souris ont été préalablement avec du M.P.T.P. (25 mg/kg) pendant 3,5 jours pendant 35 jours. Le groupe ayant reçu seulement du M.P.T.P. a un taux de dopamine très diminué. Les groupes ayant reçus un pré-traitement par aescine à différentes doses ont un taux de dopamine plus important que le dernier. Il y a peu de différence entre les résultats des doses 4 et 8 mg/kg pour les souris traitées par aescine. La dose de 4 mg/kg a été choisie comme dose efficace.

**Tableau 10 : Variations du taux de dopamine en fonction de la dose d'aescine sous contrôle de M.P.T.P. [103]**

Groupes	Dopamine (ng/mg tissu)
Contrôle	11.17±0.55
MPTP	4.64±0.92
MPTP/p+Escin (2 mg/kg)	5.89±0.44
MPTP/p+Escin (4 mg/kg)	7.53±0.57
MPTP/p+Escin (8 mg/kg)	7.00±0.53
Escin	11.26±0.97

Les souris des différents groupes ont subi quelques tests pratiques comme le test de la natation, la mobilité (test de la catalepsie), l'épreuve de la poutre (on contrôle le temps de traversée et les erreurs de glissement du pied) et le test de suspension.

Dans le test de la catalepsie (arrêt du mouvement volontaire des muscles dans la position où il se trouve = position figée), le groupe M.P.T.P. seul, a une latence du mouvement augmentée ; celle-ci se trouve réduite en présence d'aescine (meilleur résultat obtenu à la dose de 4 mg/kg).

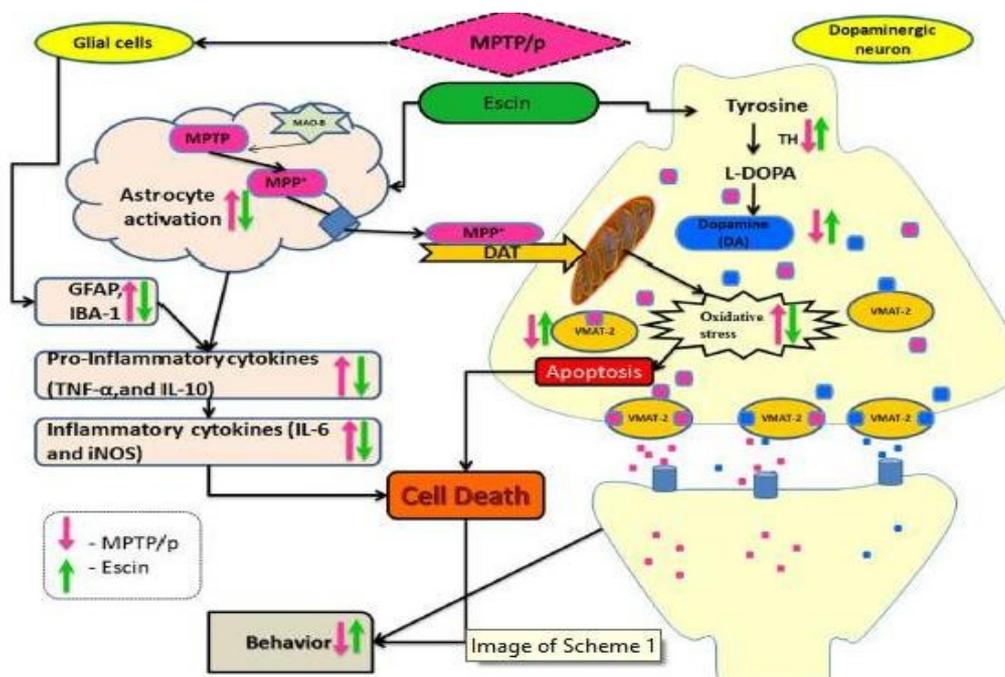
Toutes les expériences ont montré un résultat significatif sur l'amélioration des mouvements en terme de rapidité et de précision. A savoir, que l'aescine seule a été testée à chaque fois ; les mêmes résultats sont obtenus que dans le groupe contrôle. La molécule d'intérêt n'est pas nocive et présente un bénéfice sur les problèmes moteurs de la maladie de Parkinson.

Le M.P.T.P. engendre une diminution considérable des D.A.T., des V.M.A.T. et de la T.H. (Tyrosine Hydroxylase : enzyme responsable de la transformation de la tyrosine en dopamine). En présence d'aescine, tous les taux remontent significativement.

L'effet de l'aescine dans le stress oxydant n'est plus à démontrer. Dans le cas de la maladie de Parkinson, il appartient de déterminer son action sur les composants du stress oxydant. Pour cela, on étudie les paramètres suivants : TBARS (produit du stress oxydant), G.S.H. (glutathion réduit), GPx (glutathion peroxydase, enzyme dégradant les R.O.S.) et la Catalase. Des groupes de souris sont pré-traités par l'aescine à différents dosages (2, 4 et 8 mg/kg) avant l'induction de la maladie par le M.P.T.P. En présence de notre molécule, les TBARS, SOD et catalase diminuent tandis que G.S.H. et GPx augmentent. Ces résultats prouvent une action dans le stress oxydant induit dans la maladie de Parkinson mais les valeurs obtenues aux doses de 4 et 8 mg/kg sont équivalentes.

L'administration d'aescine permet une diminution des marqueurs de l'inflammation comme le TNF-  $\alpha$  (facteur de nécrose tumorale), des interleukines 6 et 10, du G.F.A.P. (protéine gliale), de I.B.A.-1 (protéine inflammatoire) et INOS.

Le stress oxydant et les voies pro-inflammatoires jouent un rôle pathologique dans le développement de la maladie de Parkinson. L'aescine intervient dans ces processus en jouant sur différentes composantes mais elle n'interfère pas avec l'homéostasie normale et l'équilibre antioxydant. En conclusion, nous pouvons affirmer que l'aescine a un rôle neuroprotecteur dans la maladie de Parkinson grâce à ses propriétés anti-apoptotiques, anti-oxydantes et anti-inflammatoires. Son action thérapeutique pourra être confirmée et appréciée dans des études plus approfondies notamment chez d'autres sujets animaux et par la suite humains. [103]



**Figure 24 : Mécanisme d'action de l'aescine dans un modèle induit de la maladie de Parkinson chez la souris [103]**

### 3.12 Quelques utilisations pharmaceutiques

#### 3.12.1 Les compléments alimentaires

##### ARKOGELULES Marronnier d'inde ®

Médicament des laboratoires Arkopharma, il est utilisé en cas de crise hémorroïdaire et de sensations de jambes lourdes. Deux formats existent : le conditionnement 45 gélules et celui avec 150 gélules. La composition pour une gélule est de 275 mg de poudre d'écorce de marronnier d'Inde.

Le traitement est par voie orale et réservé à l'adulte. La posologie recommandée est d'une gélule trois fois par jour au cours des repas mais elle peut-être augmentée au maximum à 6 gélules par jour. Ceci-doit s'accompagner de mesures hygiéno-diététiques. [104]

##### ELUSANES Marronnier d'inde ®

Mises sur le marché par le laboratoire PIERRE FABRE, les gélules ELUSANES sont indiquées dans l'insuffisance veineuse et contre les hémorroïdes. La posologie est de deux fois par jour (matin et soir) dans la limite de 4 semaines de traitement. Une gélule contient 200 mg d'extrait sec aqueux d'écorce de marronnier. Le conditionnement se fait sous format 30 ou 60 gélules.

L'utilisation concomitante d'un traitement anticoagulant ou anti-plaquettaire doit-être prise en compte à cause de l'augmentation du risque de saignement. Ce médicament est à éviter lors de la grossesse ou de l'allaitement. Attention à la présence d'un E.E.N. (Excipient à Effet Notoire) : le lactose. [105]

### **3.12.2 Usage externe**

#### **RÉPARIL® :**

Ce médicament est un gel dosé à 1 % à base d'aescine (1 g) et du salicylate de diéthylamine (5 g). Il est utilisé dans le traitement de la douleur engendrée par les œdèmes, les hématomes d'origine traumatique et les varices.

La posologie est d'une application 1 à 3 fois par jour et la durée du traitement est limitée à 5 jours. Ce médicament ne doit pas être utilisé sur les plaies ou les muqueuses à cause de la présence d'alcool qui pourrait entraîner des brûlures. Il est contre-indiqué en cas d'allergie ou d'asthme déclenché par des substances apparentées aux A.I.N.S. ainsi qu'aux femmes enceintes de plus de 6 mois. [106]

#### **HIRUCREM PROTECT® :**

Comme son nom l'indique, il s'agit d'une crème, en format de 100 ml, qui est employée dans le cas des jambes lourdes. Ses composants actifs sont l'aescine, l'extrait de *Ginko biloba* et le menthol qui assure une sensation de fraîcheur à l'application. On remarque aussi la présence de *Centella asiatica* (Gotu kola) qui possède une double action : limite l'insuffisance veineuse et l'échauffement des jambes par la présence de filtres infrarouges.

On recommande une application le matin, à renouveler si nécessaire lors de la réapparition des symptômes au cours de la journée. L'application peut se faire avant le port de bas de contention. [107]

### **3.12.3 Homéopathie**

#### **AESCLUS COMPOSÉ®**

Fabriqué par le laboratoire BOIRON, Aesculus composé® contient 4 souches différentes : *Aesculus hippocastanum*, *Hammamélis virginiana*, *Hydrastis canadensis* et *Viburnum prunifolium*.

Il existe sous forme de teinture mère (T.M.), comprimés, solution buvable, pommade, tubes granules et tubes doses. Les dilutions vont de 2 CH à 30 CH et de 4 DH à 60 DH. Son usage se fait en cas d'insuffisance veineuse et d'hémorroïdes. Aesculus composé ® est disponible en demande spontanée et sur prescription médicale (son remboursement par la Sécurité Sociale est de 30 %). [108]

### **AVENOC®**

Fabriqué par les laboratoires BOIRON, sous forme de pommade ou de suppositoire. C'est uniquement dans la forme suppositoire que l'on retrouve le marronnier d'inde. Les principes actifs retrouvés dans un suppositoire adulte (3g) sont : *Paeonia officinalis* 1 DH – 0,01 g (Pivoine officinale), *Ratanhia* 3 CH – 0,01 g, *Aesculus hippocastanum* 3 CH – 0,01 g et *Hamamélis virginiana* 1 DH – 0,01g. Il s'agit d'un traitement anti-hémorroïdaire dont la posologie est d'un suppositoire matin et soir. [109]

### **CLIMAXOL®**

Ce médicament est fabriqué par le laboratoire LEHNING ; ce dernier a obtenu l'A.M.M. dans le cadre du traitement des troubles de la circulation veineuse (ecchymoses et jambes lourdes). Il s'agit d'un regroupement de cinq plantes à proportions variables : l'Hamamélis (28 %), le Fragon (28 %), l'Hydrastis (8 %), la Viorne (8 %) et bien entendu le Marronnier d'Inde (28 %).

Le CLIMAXOL ® est une solution buvable, conditionné en flacon de 60 ml soit 2 400 gouttes. La posologie dans l'insuffisance veineuse est de 20 gouttes, 2 à 3 fois/jour et dans la fragilité capillaire de 25 gouttes, 2 fois par jour.

## **3.13 Quelques conseils aux patients**

### **3.13.1 En cas d'insuffisance veineuse**

- Lutter contre la sédentarité.
- Effectuer une marche journalière (minimum 30 minutes).
- Éviter les sports brutaux (tennis, football, ...) et préférer les activités douces comme le vélo, la natation, ...
- Éviter la chaleur, le port de vêtements trop serrés, les talons hauts, le surpoids, la constipation, ...

- Préconiser le port d'une contention et/ou l'utilisation d'un veinotonique.
- Surélever les jambes dès que le moment le permet.
- Préférer une alimentation riche en fruits et en légumes et bien s'hydrater. [110]

### **3.13.2 En cas d'hémorroïdes**

- Éviter l'alcool, le tabac, les repas riches en graisses, les plats épicés, ...
- Préférer les repas riches en fibres (fruits frais, légumes verts, son, ...)
- Manger à heures fixes, dans le calme.
- Éviter la station assise prolongée.
- Préférer les antalgiques type paracétamol et éviter l'aspirine.
- Pratiquer une activité physique régulière. [111]

### **3.13.3 Dans la maladie de Parkinson**

- Pratiquer une activité physique adaptée en fonction de l'état clinique.
- Adapter l'habitat pour faciliter la vie quotidienne.
- Aide à l'habillage.
- Existence d'association telle que France Parkinson afin de proposer leur aide et leur écoute.
- Prévenir l'entourage sur la physiopathologie et les risques de la maladie.
- Plusieurs professionnels de santé peuvent intervenir comme le kinésithérapeute ou l'orthophoniste. [100]

# CONCLUSION

Le marronnier d'Inde est un arbre de grande envergure, très largement répandu en Europe et notamment en France. Très riche en différents composés, tels que les flavonoïdes, les coumarines, ... c'est l'aescine qui suscite le plus grand nombre d'études.

Ce saponoside triterpénique est un ensemble de plusieurs molécules dont la formule générale est constituée d'une partie aglycone (génine), d'oses et d'un acide organique. Après analyse, la  $\beta$ -aescine s'est révélée être la forme active contrairement à son isomère, l'  $\alpha$ -aescine.

L'étude pharmacocinétique et de la toxicité montre que l'aescine agit rapidement avec une durée d'action assez conséquente. On a recensé peu d'effets indésirables souvent exprimés sous forme de douleurs abdominales, de nausées, de vomissements et de céphalées. Toutefois, on déconseille son utilisation chez la femme enceinte, l'insuffisant rénal, en cas d'allaitement et de traitement anticoagulant.

On retient surtout, son implication dans l'insuffisance veineuse, la réduction de l'œdème et l'inflammation. Mais elle a su montrer depuis de nombreuses années, son utilité dans le domaine médical par son efficacité dans différentes pathologies.

L'effet de l'aescine sur différents modes d'action dans la maladie de Parkinson est une découverte majeure. Même si les essais restent sur le modèle animal pour l'instant, elle représente un véritable espoir dans la thérapeutique à cause de la limite des médicaments existants.

L'aescine est une molécule du passé, du présent et de l'avenir, qui je pense nous apportera dans les maladies impliquant des mécanismes inflammatoires, un nouvel atout pharmaceutique.

# BIBLIOGRAPHIE

- [1] <http://www.lesarbres.fr/marronnier.html>  
(Dernière consultation le 03 Juillet 2015)
- [2] VON HELDREICH T. L'origine du marronnier d'inde. *Mémoires de la Société botanique de la province de Brandebourg*. p.125-132.  
Disponible sur : [retro.seals.ch/cntmng?pid=bsn-001:1879-1882:12::1034](http://retro.seals.ch/cntmng?pid=bsn-001:1879-1882:12::1034)
- [3] DEBUIGNE G, COUPLAN F. *Petit Larousse des Plantes Médicinales*. Paris :France Loisirs, 2009, p. 26.
- [4] <https://naturando.wordpress.com/le-marronnier/>  
(Dernière consultation le 03 Juillet 2015)
- [5] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Hippocastanaceae>  
(Dernière consultation le 04 Juillet 2015)
- [6] Cours sur la biologie et phylogénie des embryophytes du Docteur DECOCQ G., Faculté de Pharmacie, Amiens 2006.
- [7] [http://fr.wikipedia.org/wiki/Classification\\_de\\_Cronquist](http://fr.wikipedia.org/wiki/Classification_de_Cronquist)  
(Dernière consultation le 04 Juillet 2015)
- [8] <http://www.catoire-fantasque.be/jardin/marronnier.html>  
(Dernière consultation le 05 Juillet 2015)
- [9] Cours sur la racine du Docteur DECOCQ G., Faculté de Pharmacie, Amiens 2006.
- [10] GAMBIER D. *Mini-Encyclopédie des médecines naturelles*. Paris : France Loisirs, 1986, p. 32.
- [11] [http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/arbres/marronnier\\_inde.htm](http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/arbres/marronnier_inde.htm)  
(Dernière consultation le 06 juillet 2015)
- [12] Photographie prise par moi-même à la faculté de Pharmacie d'Amiens le 01/09/15 (80).
- [13] <http://www.psn3.com/Marronnier,dInde/fiche,detaillee.html>  
(Dernière consultation le 07 Juillet 2015)
- [14] Cours sur la feuille du Docteur DECOCQ G., Faculté de Pharmacie, Amiens 2006.

- [15] <http://www.herborist.eu/pertes-de-memoire.html>  
(Dernière consultation le 09 Juillet 2015)
- [16] Cours sur la fleur du Docteur DECOCQ G., Faculté de Pharmacie, Amiens 2006.
- [17] <https://fr.wiktionary.org/wiki/thyrse>  
(Dernière consultation le 10 Juillet 2015)
- [18] <https://sites.google.com/site/abeillecool/plantes-melliferes>  
(Dernière consultation le 10 Juillet 2015)
- [19] DUNAL M-F. *Considérations sur la nature et les rapports de quelques uns des organes de la fleur*. Paris, 1829, p. 43.
- [20] <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Fruits/marron.htm>  
(Dernière consultation le 11 Juillet 2015)
- [21] [http://www.plante-sante.net/modules/mdc\\_Fiches\\_Plantes/detail\\_plante.php](http://www.plante-sante.net/modules/mdc_Fiches_Plantes/detail_plante.php)  
(Dernière consultation le 13 Juillet 2015)
- [22] Définition cultivar. *Encyclopédie universelle Larousse*. Paris : Larousse, 1997, vol. 5, p.1492
- [23] [http://nature.jardin.free.fr/arbre/ft\\_aesculus\\_hi.html](http://nature.jardin.free.fr/arbre/ft_aesculus_hi.html)  
(Dernière consultation le 15 Juillet 2015)
- [24] (a) <https://www.rhs.org.uk/Plants/91606/Aesculus-hippocastanum-Baumannii->  
(Dernière consultation le 18 Juillet 2015)
- (b) [http://gallery.hd.org/\\_c/natural-science/\\_more2002/\\_more08/Aesculus/](http://gallery.hd.org/_c/natural-science/_more2002/_more08/Aesculus/)  
(Dernière consultation le 18 Juillet 2015)
- (c) <http://botany.cz/cs/aesculus-hippocastanum/>  
(Dernière consultation le 18 Juillet 2015)
- (d) <http://www.br.fgov.be/RESEARCH/COLLECTIONS/LIVING/LIVCOL/>
- [25] <https://lapassiondesjardins.files.wordpress.com/2014/04/aesculus-flava.pdf>  
(Dernière consultation le 20 Juillet 2015)
- [26] [https://fr.wikipedia.org/wiki/Pavier\\_rouge](https://fr.wikipedia.org/wiki/Pavier_rouge)  
(Dernière consultation le 24 Juillet 2015)

- [27] [http://www.obs-saisons.fr/aesculus\\_hippocastanum](http://www.obs-saisons.fr/aesculus_hippocastanum)  
(Dernière consultation le 27 Juillet 2015)
- [28] <http://jardinage.comprendrechoisir.com/plante/voir/410/marronnier-d-inde>  
(Dernière consultation le 06 Août 2015)
- [29] <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-1053-synthese>  
(Dernière consultation le 06 Août 2015)
- [30] WICHTL M., ANTON R. *Plantes thérapeutiques*. 3e éd. Paris : Tech & Doc, 1999, 636 p.
- [31] EUROPEAN MEDICINES AGENCY. *Community herbal monograph on Aesculus hippocastanum L., Cortex*. 22 Mai 2012, 5 p. Disponible sur : [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_Community\\_herbal\\_monograph/2012/06/WC500129249.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_Community_herbal_monograph/2012/06/WC500129249.pdf)
- [32] EGGER K., WOLLENWEBER E., TISSUT M. Free flavonol aglycones in the secretion of the buds of *Aesculus* spp. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 1970 ; 62 (5) : 464-6.
- [33] DELI J., MATUS Z., TOTH G. Comparative Study on the Carotenoid Composition in the Buds and Flowers of Different *Aesculus* species. *Chromatographia* 2010 ; 51 :179-82.
- [34] OSZMIANSKI J., KALISZ S., WOJDYLO A. The Content of Phenolic Compounds in Leaf Tissues of White (*Aesculus hippocastanum* L.) and Red Horse Chestnut (*Aesculus carea* H.). *Molecules* 2014 ; 19 : 14625-14636.
- [35] GULZ P-G, MULLER E., HERRM T. Chemical Composition and Surface Structures of Epicuticular Leaf Waxes from *Castanea sativa* and *Aesculus hippocastanum*. *Naturforsch* 1992 ; 47 : 661-666.
- [36] DUDEK-MAKUCH M., MATLAWSKA I. Coumarins in horse chestnut flowers : isolation and quantification by UPLC method. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 2013 ; 70 : 517-22.
- [37] DUDEK-MAKUCH M., MATLAWSKA I. Flavonoids from the flowers of *Aesculus hippocastanum*. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 2011 ; 68 (3) : 403-408.

- [38] Cours sur le fruit du Docteur DECOCQ G., Faculté de Pharmacie, Amiens 2006.
- [39] VERLANT C. *Contribution à l'étude du marronnier d'inde*. 55 p. Thèse : Pharmacie : Amiens : 1992.
- [40] HRICOVINIOVA Z., BABOR K. Saccharide constituents of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) seeds I. Monosaccharides and their isolation. *Chemistry Papers* 1991 ; 45 (4) : 553-558.
- [41] BRUNETON J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4e éd. Paris : Tec & Doc, 2009, 1269 p.
- [42] KAPUSA I., JANDA B., SZAJWAJ B. Flavonoids in Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum*) Seeds and Powdered Waste Water Byproducts. *Food Chemistry* 2007 ; 55 (21) : 8485–8490.
- [43] AZARKOVICHA M-I, GUMILEVSKAYAB N-A. Proteins of Cotyledons of Mature Horse Chestnut Seeds. *Russian Journal of Plant Physiology* 2006 ; 53 (5) : 629-637.
- [44] JIROVETZ L., WASICKY M., NIKIFOROV A. Volatiles of Common Horsechestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) (Hippocastanaceae) Peels and Seeds. *Journal of Essential Oil Research* 1994 ; 6(5) : 507-511.
- [45] STANKOVIC M., BASTIC B., JOVANOVIC J. Composition of the triterpene alcohol fraction of horse chestnut seed. *Phytochemistry* 1985 ; 24 (1) : 119-121.
- [46] SLOBODAN K, STANKOVIC M., JOVANOVIC J. Composition of the sterol fraction in horse chestnut. *Phytochemistry* 1984 ; 23 (11) : 2677-2679.
- [47] ZLATANOV M- D., ANTOVA G-A., ANGELOVA-ROMOVA M-J. Lipid composition of *Castanea sativa* Mill. and *Aesculus hippocastanum* fruit oil. *J. Sci. Food Agri* 2013, 93 : 661-6.
- [48] GHEDIRA K. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* 2005, 4 : 162-169.
- [49] ZEGHAD N. *Étude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne*. 129 p. Thèse : Sciences : Constantine : 2009.

- [50] Rapport sur Horse chestnut par Provital Group, natural efficacy ; Mars 2012
- [51] Cours de Pharmacognosie sur les flavonoïdes de la faculté de Pharmacie, Monastir, 2013.  
Disponible sur : <http://pharmask.tn/PharmaskSynchro/3eme-annee-pharmacie/premier-semestre/pharmacognosie/chapitre-7-les-flavonoides.pdf>
- [52] DJEMOUI D. *Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées*. 53 p. Thèse : Sciences : Ouargla : 2012.
- [53] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Esculine>  
(Dernière consultation le 14 Août 2015)
- [54] Laboratoire INDENA. Esculoside : Vasoactive, anticellulite, microcirculation improver. Décembre 2004.
- [55] STANIC G., JURISIC B., BRKIC D. HPLC Analysis of Esculin and Fraxin in Horse-Chestnut Bark (*Aesculus hippocastanum* L.). *Croatia Chemica Acta* 1999, 72 (4) : 827-834.
- [56] MANASE M-J. *Étude chimique et biologique de saponines isolées de trois espèces malgaches appartenant aux familles des Caryophyllaceae, Pittosporaceae, et Solanaceae*. 222 p. Thèse : Pharmacie : Dijon : 2014.
- [57] AMZAL H. *Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier*. 149 p. Thèse : Biologie : Rabat, 2010.
- [58] Cours sur les saponosides de Monsieur ROLAND M., cinquième année, Faculté de Pharmacie, Amiens 2013.
- [59] TIMITE G. *Isolement et caractérisation des saponosides de plantes de la famille des Alliaceae, Caryophyllaceae et Polygalaceae et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales*. 307 p. Thèse : Pharmacie : Dijon : 2012.
- [60] KOUGAN NKWOKAP G-B. *Isolement et caractérisation des saponosides de trois plantes de la famille des araliaceae et dracaenaceae et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales*. 186 p. Thèse : Pharmacie : Dijon : 2010.
- [61] Cours de Pharmacognosie sur les drogues à saponosides de la faculté de Pharmacie, Monastir, 2013.

Disponible sur : <http://pharmask.tn/PharmaskSynchro/3eme-annee-pharmacie/premier-semestre/pharmacognosie/chapitre-4-drogues-a-saponosides.pdf>

- [62] BOUGANDOURA N. *Pouvoir antioxyant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales Saturejacalaminthassnepta (nabta) et Ajugaiva L. (chendgoura) de l'ouest de l'Algérie*. 125 p. Thèse : Biologie : Tlemcen : 2011.
- [63] ADENIYI S-A, ORJIEKWE C-L, EHIAGBNONARE J-E. Evaluation oh chemical composition of the leaves of *Ocimum gratissimum* and *Vernonia amygdalina*. *International Journal of Biology and Chemical Sciences* 2012, 6 (3) : 1316-1323.
- [64] VIEU C. *Le marronnier d'inde (Aesculus hippocastanum L.) : études botaniques, chimiques et thérapeutiques*. 90 p. Thèse : Pharmacie : Grenoble : 2014.
- [65] CHARONNAT R. Sur le marron d'inde. *Bulletin des sciences pharmacologiques : organe scientifique et professionnel* 1940. 354 p.
- [66] CESARE R. SIRTORI. Aescin : pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacological Research* 2001, 4 (3) : 183-193.
- [67] GRUZA M-M., JATCZAK K., ZAGRODZKI B. Preparation, Purification and Regioselective Functionalization of Protoescigenin—The Main Aglycone of Escin Complex. *Molécules* 2013, 18 : 4389-4402.
- [68] WU X-J., ZHANG M-L., CUI X-Y. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of escin Ia and isoescin Ia after administration of escin and of pure escin Ia and isoescin Ia in rat. *Journal of ethnopharmacology* 2012, 139 (1) : 201-206.
- [69] <http://www.google.com/patents/EP1487847B1?cl=en>  
(Dernière consultation le 22 Août 2015)
- [70] XIUJUN W., LIDONG L., MENG-LIANG Z. Simultaneous analysis of isomers of escin saponins in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry : Application to a pharmacokinetic study after oral administration. *Journal of ethnopharmacology* 2010, 878 (11-12) : 861-867.
- [71] XIUJUN W., MENG-LIANG Z., CUI X-Y. Comparative pharmacokinetics and the bioavailability of escin Ib and isoescin Ib following the administration of escin, pure escin Ib and isoescin Ib in rats. *Journal of ethnopharmacology* 2014, 151 (2) : 839-845.

- [72] XIUJUN W., CUI X-Y., TIAN L-T. Pharmacokinetics of escin Ia in rats after intravenous administration. *Journal of ethnopharmacology* 2014,156 : 125-129.
- [73] GARDNER Z., MCGUFFIN M. *American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook*. 2e éd. New-York : CRC Press, 2013, 1072 p.
- [74] Committee on herbal medicinal products, Assessment report on *Aesculus hippocastanum* L.,semen, European Medicines Agency, 2009.
- [75] Cours sur la biotransformation des médicaments : les cytochromes, de Madame LIABOEUF S., Faculté de Pharmacie, Amiens, 15/09/2011.
- [76] HUANG Y., ZHENG S.-L., ZHU H.-Y. Effects of aescin on cytochrome P450 enzymes in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2014, 151 (1) : 583-590.
- [77] [https://fr.wikipedia.org/wiki/Cytochrome\\_P450](https://fr.wikipedia.org/wiki/Cytochrome_P450)  
(Dernière consultation le 26 Août 2015)
- [78] Cours sur l'anatomie veineuse des membres inférieurs dans le cadre du D.U. Orthopédie 2015 par Madame DOUTRELLOT.
- [79] <http://traitement-varices.com/anatomie-et-physiologie/>  
(Dernière consultation le 28 Août 2015)
- [80] CARETTE R. *Intérêts des veinotoniques dans le traitement des pathologies veineuses. Véritable arsenal thérapeutique ou simple placebo*. 100 p. Thèse : Pharmacie : Amiens : 2003.
- [81] DUDEK-MAKUCH M., STUSZINSKA-SROKA E. Horse chestnut – efficacy and safety in chronic venous insufficiency : an overview. *Revista Brasileira Revista de Farmacognosia* 2015, 26 (1) : 9 p.
- [82] [http://www.etatpur.com/media/synthese\\_biblio/Fiche-Escine.pdf](http://www.etatpur.com/media/synthese_biblio/Fiche-Escine.pdf)  
(Dernière consultation le 30 Août 2015)
- [83] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Inflammation>  
(Dernière consultation le 31 Août 2015)

- [84] WANG T., FU F., ZHANG L. Effects of escin on acute inflammation and the immune system in mice. *Pharmacological Reports* 2009, 61 (4) : 697-704.
- [85] MATSUDA H., LI Y., MURAKAMI T. Antiflammatory effects of escins Ia, Ib, Ila, and IIb from horse chestnut, the seed of *Aesculus hippocastanum* L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 1997, 7 (13) : 1611-1616.
- [86] [https://fr.wikipedia.org/wiki/Stress\\_oxydant](https://fr.wikipedia.org/wiki/Stress_oxydant)  
(Dernière consultation le 1<sup>er</sup> septembre 2015)
- [87] [www.123bio.net](http://www.123bio.net)  
(Dernière consultation le 1<sup>er</sup> septembre 2015)
- [88] KUCUKKURT I., INCE S., KELES H. Beneficial effects of *Aesculus hippocastanum* L. seed extract on the body's own antioxidant defense system on subacute administration. *Journal of Ethnopharmacology* 2010, 129 (1) : 18-22.
- [89] FELIPE M-B, CARVALHO F., FELIX-SILVA J. Evaluation of genotoxic and antioxidant activity of an *Aesculus hippocastanum* L. (Sapindaceae) phytotherapeutic agent. *Biomedicine & Preventive Nutrition* 2013, 3 (3) : 261-266.
- [90] ZHOU X, FU F-H, LI Z. Escin, a Natural Mixture of Triterpene Saponins, Exhibits Antitumor Activity Against Hepatocellular Carcinoma. *Planta Medica* 2009, 75 (15) : 1580-1585.
- [91] PATLOLLA J., RAO C. Anti-inflammatory and Anti-cancer Properties of  $\beta$ -Escin, a Triterpene Saponin. *Current Pharmacology Reports* 2015, 1 (3) : 170-178.
- [92] FANG Y., ZHAO L., YAN F. Escin improves sperm quality in male patients with varicocele-associated infertility. *Phytomédecine* 2010, 17 (3-4) : 192-196.
- [93] ZHANG F., LI Y., ZHANG L. Synergistic protective effects of escin and low-dose glucocorticoids on blood-retinal barrier breakdown in a rat model of retinal ischemia. *Molecular Medicine Reports* 2013, 7 (5) : 1511-5.
- [94] SIEGERS C-P., SYED ALI S., TEGTMEIER M. Aescin and troxerutin as a successful combination for the treatment of inner ear perfusion disturbances. *Phytomedicine* 2008, 15 (3) : 160-163.

- [95] MATSUDA H., MURAKAMI T., LI Y. Mode of action of escins Ia and IIa and E,Z-senegin II on glucose absorption in gastrointestinal tract. *Bioorganic & Medical Chemistry* 1998, 6 (7) : 1019-1023.
- [96] MATSUDA H., LI Y., YOSHIKAWA M. Gastroprotections of escins Ia, Ib, IIa, and IIb on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *European Journal of Pharmacology* 1999, 373 : 63-70.
- [97] MATSUDA H., LI Y., YOSHIKAWA M. Effects of escins Ia, Ib, IIa, and IIb from horse chestnuts on gastric emptying in mice. *European Journal of Pharmacology* 1999, 368 : 237-243.
- [98] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Capsa%C3%AFcine>  
(Dernière consultation le 03 septembre 2015)
- [99] MATSUDA H., LI Y., YOSHIKAWA M. Roles of endogenous prostaglandins and nitric oxide in inhibitions of gastric emptying and accelerations of gastrointestinal transit by escins Ia, Ib, IIa, AND IIb in mice. *Life Sciences* 2000, 66 (3) : 41-46.
- [100] Guide du parcours de soin de la maladie de Parkinson. Haute Autorité de Santé (H.A.S.). Juin 2014. 85 p.
- [101] <https://fr.wikipedia.org/wiki/MPTP>  
(Dernière consultation le 04 septembre 2015)
- [102] [http://www.nature.com/nrn/journal/v4/n5/box/nrn1100\\_BX2.html](http://www.nature.com/nrn/journal/v4/n5/box/nrn1100_BX2.html)  
(Dernière consultation le 05 septembre 2015)
- [103] SELVAKUMARA G-P, JANAKIRAMANA U., ESSAB M-M. Escin attenuates behavioral impairments, oxidative stress and inflammation in a chronic MPTP/probenecid mouse model of Parkinson's disease. *Brain Research* 2014, 1585 : 23-36.
- [104] <http://www.arkopharma.fr/produits/medicaments/arkogelules-marronnier-d-inde.html>  
(Dernière consultation le 06 septembre 2015)
- [105] Notice ELUSANES Marronnier d'inde ®.
- [106] Notice RÉPARIL ®.

- [107] Fiche VIDAL HIRUCREMPROTECT®  
<http://www.eurekasante.fr/paraphramacie/vidal/produits-id13924-HIRUCREMPROTECT.html>
- [108] [http://www.ansm.sante.fr/searchengine/detail/\(cis\)/69543062/\(limit\)/14](http://www.ansm.sante.fr/searchengine/detail/(cis)/69543062/(limit)/14)  
(Dernière consultation le 06 septembre 2015)
- [109] Fiche VIDAL AVENOC®  
<http://www.eurekasante.fr/medicaments/vidal-famille/medicament-oaveno01-AVENOC-suppositoire.html>  
(Dernière consultation le 07 septembre 2015)
- [110] Fiche VIDAL CLIMAXOL®  
<http://www.eurekasante.fr/medicaments/vidal-famille/medicament-oclima01-CLIMAXOL.html>
- [110] MOREDDU F. *Le conseil associé : à une demande spontanée*. Tome 2, 3e éd. Paris :  
Le moniteur des pharmacies, 2011, 212 p.
- [111] Cours sur la crise hémorroïdaire par Madame BRETON, filière officine, 2013.

# ANNEXE

## 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 amylicés, 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.*

Pharmacopée française 1995

recouverte de *gel de silice G R*.

*Solution à examiner*. Solution S.

*Solution témoin*. Dissolvez 50 mg d'*aescine R* dans de l'*éthanol à 70 pour cent V/V R* et complétez à 10 mL avec le même solvant.

Déposez séparément sur la plaque, en bandes, 5 µL de chacune des solutions. Développez sur un parcours de 15 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. Pulvériser la *solution d'aldéhyde anisique R*. Chauffez à 100-105 °C pendant 10 min. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente une bande principale bleu violacé, semblable quant à sa position et sa coloration à celle du chromatogramme obtenu avec la solution témoin. Il présente également trois bandes vert foncé, de dimensions voisines, situées au-dessous de la bande d'*aescine* et deux bandes vert clair, plus petites, situées au-dessus de la bande d'*aescine*.

**Perte à la dessiccation (2.2.32)**. Déterminée à l'étuve à 105 °C sur 1,000 g de drogue pulvérisée, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 11,0 pour cent.

**Cendres totales (2.4.16)**. Déterminée sur 1,00 g de drogue pulvérisée, le taux de cendres totales n'est pas supérieur à 4,0 pour cent.

#### DOSAGE

*Solution à examiner*. Chauffez à ébullition, sous réfrigérant à reflux pendant 30 min, environ 0,5 g de drogue pulvérisée, exactement pesée, avec 30 mL d'*éthanol à 70 pour cent V/V R*. Laissez refroidir et filtrez. Répétez cette extraction à 2 reprises. Réunissez les solutions alcooliques, puis éliminez le solvant par distillation sous pression réduite. Reprenez le résidu avec 20 mL puis avec 2 fois 5 mL d'*acide chlorhydrique dilué R*. Réunissez ces solutions dans une ampoule à décantation et agitez avec un mélange de 20 mL de *propanol R* et de 50 mL de *chloroforme R*. Recueillez la couche organique inférieure. Répétez cette extraction à 2 reprises. Réunissez les trois solutions organiques dans un ballon à fond rond et évaporez sous vide à siccité à une température comprise entre 40 °C et 50 °C. Lavez le résidu avec 3 fois 10 mL d'*éther R* et éliminez les liquides de lavage. Dissolvez le résidu dans 20 mL d'*acide acétique glacial R* puis rincez le ballon avec 2 fois 10 mL du même solvant. Récupérez les solutions extractives dans une fiole jaugée de 50 mL et complétez jusqu'au trait avec le même solvant. À 1,0 mL de la solution obtenue, ajoutez 4,0 mL de la *solution acéto-sulfurique de chlorure ferrique R*. Chauffez au bain-marie à 60 °C pendant 25 min. Refroidissez rapidement.

*Solution témoin*. Dissolvez 10 mg d'*aescine R* dans l'*acide acétique glacial R* et complétez à 50,0 mL avec le même solvant. À 1,0 mL de cette solution, ajoutez 4,0 mL de la *solution acéto-sulfurique de chlorure ferrique R*. Chauffez au bain marie à 60 °C pendant 25 min. Refroidissez rapidement. Mesurez l'absorbance (2.2.25) des deux solutions à 540 nm en utilisant 1,0 mL d'*acide acétique glacial R* et 4,0 mL de la *solution acéto-sulfurique de chlorure ferrique R* traités dans les mêmes conditions, 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.*

Pharmacopée française 1995

En tenant compte des absorbances mesurées et de la concentration des solutions, calculez la teneur en saponosides totaux, exprimés en aescine anhydre, à l'aide de l'expression :

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 100}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  : absorbance de la solution à examiner,

$A_2$  : absorbance de la solution témoin,

$m_1$  : masse de la prise d'essai, en gramme,

$m_2$  : masse de l'aescine anhydre dans la solution témoin, en gramme.

#### CONSERVATION

A l'abri de la lumière et de l'humidité.

---

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

**Pharmacopée française 1995**