



**HAL**  
open science

## À propos de la ballote : Ballota nigra L

Anne-Lise Enderlin Segret

► **To cite this version:**

Anne-Lise Enderlin Segret. À propos de la ballote : Ballota nigra L . Sciences pharmaceutiques. 1996.  
dumas-01768421

**HAL Id: dumas-01768421**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01768421v1>**

Submitted on 17 Apr 2018

**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.

## AVERTISSEMENT

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

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

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

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

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



D 115 018548 6

UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I

2<sup>e</sup> exemplaire

U.F.R. de PHARMACIE

Domaine de la Merci - LA TRONCHE

ANNEE 1996

N° d'ORDRE : 7037

**A PROPOS DE LA BALLOTE : BALLOTA NIGRA L**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

par

**Anne-Lise ENDERLIN épouse SEGRET**

[Données à caractère personnel]



Cette thèse sera soutenue publiquement le 8 octobre 1996

Devant : Madame le Professeur A.M. MARIOTTE

Monsieur le Professeur J. ROCHAS

Mademoiselle N. PEUILLON, Docteur en Pharmacie

Présidente du jury

Juge

Juge

UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I

U.F.R. de PHARMACIE

Domaine de la Merci - LA TRONCHE

ANNEE 1996

N° d'ORDRE :

**A PROPOS DE LA BALLOTE : BALLOTA NIGRA L**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

par

**Anne-Lise ENDERLIN épouse SEGRET**

[Données à caractère personnel]



Cette thèse sera soutenue publiquement le 8 octobre 1996

Devant : Madame le Professeur A.M. MARIOTTE

Monsieur le Professeur J. ROCHAS

Mademoiselle N. PEUILLON, Docteur en Pharmacie

Présidente du jury

Juge

Juge

A Madame le Professeur A.M. MARIOTTE

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre thèse et, nous vous exprimons notre profonde gratitude pour vos conseils, votre disponibilité et pour la diligence avec laquelle vous avez supervisé notre travail.

A Monsieur le Professeur J. ROCHAT

Nous avons pu, tout au long de nos études, apprécier votre extrême sympathie et nous sommes très honorés que vous ayez accepté de juger ce travail. Soyez assuré de notre plus sincère reconnaissance.

A Mademoiselle N. PEUILLON

Qui a accepté de se déplacer depuis Bellignat pour prendre part à notre jury de thèse, qu'elle trouve ici le témoignage de nos sincères remerciements, et de toute notre sympathie.

A mes parents

pour la confiance et le soutien qu'ils m'ont manifestés  
durant toutes ces années.

A Delphine, Angélique et Gilles

qui m'ont supportée et encouragée tout au long de mes  
études.

A mes grands parents

A Valérie et Frédéric

Qui m'ont aidée dans la réalisation de cette thèse.

A tous mes autres Amis.

# SOMMAIRE

	Page
<b>INTRODUCTION</b>	8
<b>CHAPITRE I : HISTORIQUE</b>	10
<b>CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE</b>	13
<b>A- LA PLANTE</b>	14
1- La systématique	14
1.1- Place du genre <i>Ballota</i> dans la classification botanique	14
1.1.1- Classification	14
1.1.2- Description de la famille des Lamiacées	14
1.2- Les différentes sous familles des Lamiacées	15
1.3- Le genre <i>Ballota</i>	18
1.4- Description des différentes espèces du genre <i>Ballota</i>	18
2- L'anatomie de <i>Ballota nigra</i>	26
2.1- Anatomie de la tige	26
2.2- Anatomie de la feuille	29
2.3- Anatomie des poils	31
2.4- La poudre	33
3- Station et répartition géographique	34
4- Culture et récolte	36
4.1- Culture	36
4.2- La récolte	37
<b>B- LA DROGUE <i>BALLOTA NIGRA</i></b>	37
1- Description	37
2- Essai	38
<b>CHAPITRE III : ETUDE CHIMIQUE</b>	39
<b>A- <i>BALLOTA NIGRA</i></b>	40
1- Travaux anciens	40
2- Travaux récents	41
2.1- Les diterpènes	41

2.1.1- Généralités	41
2.1.2- Les différents diterpènes rencontrés chez <i>Ballota nigra</i>	42
2.1.3- Extraction et purification	42
2.1.4- Identification	43
2.2- Les flavonoïdes	47
2.2.1- Généralités	47
2.2.2- Les différents flavonoïdes présents chez <i>Ballota nigra</i>	47
2.2.3- Extraction et purification	48
2.2.4- Identification	50
2.3- Les phénylpropanoïdes	51
2.3.1- Acides hydroxycinnamiques	51
2.3.2- Ester d'acide quinique	52
2.3.3- Esters hétérosidiques phénylpropanoïques	53
2.4- Des composés lipophiles	54
2.4.1- Un alcool gras : le phytol	55
2.4.2- Un stérol : le bêta-sitostérol	55
2.4.3- Des acides gras	55
<b>B- LES AUTRES ESPECES DU GENRE <i>BALLOTA</i></b>	<b>57</b>
1- Les diterpènes	57
1.1- De nouveaux diterpènes chez le genre <i>Ballota</i>	57
1.2- Extraction et purification	58
1.3- Récapitulatif des diterpènes chez le genre <i>Ballota</i>	63
2- Les flavonoïdes	64
2.1- De nouveaux flavonoïdes chez le genre <i>Ballota</i>	64
2.2- Récapitulatif des flavonoïdes chez le genre <i>Ballota</i>	65
<b>CHAPITRE IV : ETUDE PHARMACOLOGIQUE</b>	<b>70</b>
<b>A- LES PREMIERS TRAVAUX PHARMACOLOGIQUES</b>	<b>71</b>
1- Extrait aqueux	71
2- Alcoolature	72
<b>B- ETUDES PHARMACOLOGIQUES ULTERIEURES SUR LE RAT ET LA SOURIS</b>	<b>72</b>
1- Recherche d'un effet myorelaxant : test de traction	72
2- Recherche d'un effet psycholeptique	74
2.1- Test de la potentialisation du sommeil	74
2.2- Test de "la planche à trous" : étude de la mobilité et de la curiosité chez la souris	78



2.3- Test de la mobilité spontanée de la souris à l'activographie	82
2.4- Test de l'actimétrie photoélectrique pour souris	85
2.5- Test de l'open-field	89
2.6- Test des quatre plaques	93
3- Recherche d'une activité spasmodique	97
3.1- Test de la bouillie de charbon	97
3.2- Etude de l'activité in vitro	102
4- Recherche de propriétés anticonvulsivantes	107
5- Recherche d'une activité antifongique	108
6- Récapitulatif des différentes activités pharmacologiques de <i>Ballota nigra</i>	112

## **CHAPITRE V : ETUDE TOXICOLOGIQUE** 116

1- Matériel et méthode de chacune des deux études	117
2- Résultats de ces deux études	118
3- Conclusion de ces deux études	118
4- Discussion	118

## **CHAPITRE VI : ETUDE CLINIQUE** 120

### **A- PREMIERE ETUDE** 120

1- Protocole	120
2- Résultats	123
2.1- Evaluation par l'échelle de Hamilton	123
2.2- Autoévaluation par les patients	124
2.3- Effets secondaires	125
3- Conclusion	125

### **B- DEUXIEME ETUDE** 126

1- Protocole	126
2- Résultats	128
3- Conclusion	129

### **C- DISCUSSION** 130

## **CHAPITRE VII : UTILISATIONS THERAPEUTIQUES** 131

### **A- LES SPECIALITES A BASE DE *BALLOTA NIGRA*** 132

1- Euphytose	132
2- Phytocalm	133
3- La Sédibaine	134
4- Ballote arkogélules	135
5- Ballote Natura médica	136
<b>B- LES SPECIALITES HOMEOPATHIQUES A BASE DE <i>BALLOTA NIGRA</i></b>	136
1- Homéogène 46	136
2- Boribel n° 41	137
<b>CONCLUSION</b>	139
<b>ANNEXES</b>	144
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	147

# INTRODUCTION

Au sein de la famille des Lamiacées, anciennement Labiées, se trouve le genre *Ballota*, dont le nom vient du grec et signifie : je repousse.

Les représentants de ce genre se rencontrent dans de nombreux pays : il a été décrit 26 espèces qui croissent surtout en Europe, mais également en Asie et en Afrique. Nous en décrivons seulement quelques unes dans la partie botanique.

Une de ces espèces est essentiellement connue depuis l'antiquité pour ses vertus thérapeutiques, et notamment anxiolytiques et spasmolytiques. Il s'agit de *Ballota foetida* Lam. ou vulgairement ballote, ballote fétide, marrube noir ou marrube puant, souvent indiqué dans les flores sous le nom de *Ballota nigra* L.

De plus, les publications scientifiques dont ce genre fait l'objet sont peu nombreuses et concernent surtout cette espèce : à ce jour, aucune étude pharmacologique, toxicologique et clinique n'a été entreprise sur les autres. C'est pourquoi nous développerons tout particulièrement, au cours de ce travail, *Ballota nigra*.

Les premiers travaux chimiques sur la ballote sont réalisés en 1934 par BALANSARD. Depuis, les terpènes et les polyphénols sont décrits : c'est ce que nous détaillerons dans la partie chimique.

LECLERC, dans les années 1920, l'emploie avec succès comme antispasmodique, et dans le traitement de toutes sortes d'états de perturbations psychiques, en particulier contre l'anxiété.

En 1980, l'équipe roumaine de RACZ-KOTILLA publie l'étude d'une recherche d'activité sédatrice chez 50 Lamiacées et conclut que cette propriété pouvait être considérée comme un caractère pharmacotaxonomique de la famille : la ballote y est citée comme une des 6 espèces les plus actives selon les tests de réduction de la motilité spontanée du rat.

Dans la partie pharmacologique, nous nous proposons de relater l'ensemble des travaux entrepris depuis, qui confirmeront tout d'abord son activité sédatrice, puis mettront en évidence sa faible activité spasmolytique, son absence d'effet myorelaxant et d'action anticonvulsivante, ainsi qu'une forte activité antifongique sur certains champignons laissant alors présager une nouvelle utilisation.

L'ensemble des investigations toxicologiques et cliniques démontrant, d'une part sa très faible toxicité, et d'autre part son activité sur l'anxiété généralisée pouvant s'accompagner de troubles somatiques, d'états dépressifs ou de troubles du sommeil, sont rapportées dans les parties toxicologique et clinique.

Le but de cet ouvrage est d'effectuer une mise au point bibliographique concernant tous les travaux publiés jusqu'à aujourd'hui sur la ballote, afin de mettre en évidence l'intérêt de cette plante dans le domaine de la phytothérapie

CHAPITRE 1:  
HISTORIQUE

Parmi le genre *Ballota*, *Ballota nigra L.*, appelée communément ballote, est l'espèce la plus utilisée depuis plusieurs siècles, et ce, pour de nombreuses vertus.

L'histoire de la ballote est intimement liée avec celle du marrube. Ces deux plantes, d'ailleurs voisines, ont été longtemps confondues. De plus, n'oublions pas que la ballote est aussi appelée : marrube Noir (64).

Autrefois, en Haute-Egypte et plus particulièrement à Thèbes, on brûlait des marrubes dans les cérémonies qui célébraient la fusion du Dieu-Epervier Horus avec Ammon-Râ (64).

En Egypte toujours, pour accéder au temple de Karnak, on empruntait une célèbre avenue bordée de béliers. Lors de certaines fêtes, les prêtres solaires défilaient le long de cette avenue, avec au milieu d'eux, des béliers vivants, à qui l'on donnait à brouter des marrubes (64).

D'un point de vue thérapeutique, le marrube est prescrit depuis la plus haute Antiquité comme tonique amer, stomachique et dépuratif. On l'utilise aussi comme succédané très apprécié du Castoreum, de l'Asa foetida et du Galbanum (4).

Au Moyen-Age, la ballote est alors encore confondue avec le marrube blanc : on emploie tantôt l'une, tantôt l'autre pour les mêmes maladies (64).

Au 16<sup>ème</sup> siècle, on insiste peu sur ses vertus thérapeutiques (64).

Au 17<sup>ème</sup> siècle, on utilise le marrube noir puant (*Marrubium nigrum foetidum*) comme vulnéraire :

“Elle est propre pour déterger et modifier les vieux ulcères, appliquée avec du miel. Ses feuilles broyées avec du sel, et appliquées, guérissent la morsure des chiens ; amorties sous la cendre chaude, elles sont bonnes à réprimer les crevasses et les durillons qui sont au fondement” (64).

Selon RAY, célèbre naturaliste anglais du 17<sup>ème</sup> siècle, la décoction de marrube noir est très utile dans l'affection hypocondriaque et dans la passion hystérique (64).

Pour d'autres auteurs de cette époque, le marrube noir, appliqué extérieurement, est résolutif et anodin. Quelques uns recommandent l'infusion des feuilles de l'un et de l'autre marrube avec celle de bétoine dans l'eau bouillante, pour rendre les attaques de la goutte moins fréquentes et moins dangereuses (64).

Taberna MONTANUS assure : “que les feuilles du marrube noir, séchées sous la cendre chaude, incorporées ensuite avec le miel, guérissent les hémorroïdes sur lesquelles on les applique” (64).

Le marrube noir n'est pas d'un usage ordinaire pour l'intérieur, à cause de sa mauvaise odeur et de son âcreté ; on l'emploie plus communément à l'extérieur : il est détersif et vulnéraire, et peut s'appliquer sur la teigne avec succès (64).

Au 18<sup>ème</sup> siècle, BOERHAAVE, médecin et botaniste hollandais, ami et disciple de LINNÉE, préconise la ballote contre les névroses, l'hystérie et l'hypochondrie (64).

De son côté, TOURNEFORT conseille comme préventif de la goutte, 3 à 4 verres par jour d'une infusion de ballote, marrube et bétoine (64).

Au début de ce siècle, Henri LECLERC considère la ballote comme un antispasmodique.

Il confirme l'utilisation de RAY et de BOERHAAVE et l'utilise lui-même chez une pithiatique atteinte de spasmes oesophagiens et d'incontinence d'urine ainsi que chez deux malades présentant des troubles nerveux intenses liés à la ménopause. Les résultats ne sont pas moins favorables chez deux phobiques anxieux et dans plusieurs cas de bourdonnements d'oreille où le médicament se montre réellement efficace pour faire taire ou, du moins, pour atténuer "la plainte du nerf auditif". Un fort coefficient d'autosuggestion serait facilement soupçonné si le même médicament n'avait pas réussi dans la coqueluche des enfants, c'est à dire chez des malades que leur âge mette à l'abri de toute suggestibilité ; sous son influence, les quintes diminuent d'intensité et de fréquence, les sujets accusent moins d'anxiété avant l'accès, moins d'abattement après, souvent même une crise imminente avorte immédiatement après l'ingestion du remède.

La seule préparation de ballote que juge Leclerc "potable" et la plus efficace est l'alcoolature : XX gouttes par jour et par année d'âge dans la coqueluche, 1 à 2 cuillères à café dans les névroses des adultes (33).

*Ballota acétabulosa* est également connue depuis le temps de DIOSCORIDE. D'une part, les infusions préparées à partir de ses feuilles sont rapportées comme ayant des propriétés antiulcéreuses, antispasmodiques et sédatives et d'autre part, celles préparées à partir des parties aériennes de la plante sont rapportées comme ayant des propriétés antihémorroïdaires (39).

*Ballota africana* est utilisée depuis toujours pour le traitement des coliques, des morsures de serpents, de l'asthme, de la grippe et de l'insomnie (23).

CHAPITRE II :

ETUDE BOTANIQUE



# **A- LA PLANTE**

## **1- La systématique**

### **1.1- Place du genre *Ballota* dans la classification botanique**

#### **1.1.1- Classification (d'après GUIGNARD) (29)**

Le genre *Ballota* appartient à la famille des Lamiacées.

Ce sont des gamopétales tétracycliques superovariés à préfloraison généralement imbriquée. La fleur est zygomorphe et on observe quatre loges uniovulées (fausse cloison).

Le genre *Ballota* est placé dans la tribu des Stachyoïdeae et dans la sous-tribu des Lamiinae.

#### **1.1.2- Description de la famille des Lamiacées (1)**

La famille des Lamiacées regroupe environ 2700 espèces répandues dans presque tout le globe mais c'est une famille exceptionnellement homogène.

Ce sont des plantes herbacées ou ligneuses inférieurement, souvent aromatiques, à tiges et à rameaux quadrangulaires.

Les feuilles sont opposées et ordinairement simples.

Les fleurs sont irrégulières, de toute les couleurs, presque toujours disposées en faux verticilles, formant des grappes, des épis ou des capitules.

Le calice est persistant, tubuleux ou en cloche, à 5 dents, plus rarement de 4 à 12 dents ou à 2 lèvres.

La corolle monopétale est presque toujours caduque, parfois en entonnoir ou à 1 lèvre mais le plus souvent à 2 lèvres avec la supérieure qui est entière ou échancrée ou l'inférieure qui est trilobée.

L'androcée est composée de 4 étamines didynames, insérées sur le tube de la corolle et présentant des anthères à 1 ou 2 loges s'ouvrant en long.

L'ovaire est libre, divisé en 4 lobes. Au centre de celui-ci naît un style simple, à stygmate bifide.

Le fruit est sec et formé de 4 carpelles monospermes, indéhiscent, libres entre eux et inclus au fond du calice : il s'agit d'un tétrakène.

Parsemées de glandes sous-épidermiques dans toutes leurs parties, ces plantes renferment une huile essentielle qui leur confère des propriétés excitantes, toniques, stomachiques, sudorifiques. Les unes sont donc employées en médecine, les autres introduites dans nos jardins comme ornement ou dans nos mets comme un condiment agréable.

## **1.2- Les différentes sous-familles des Lamiacées (20)**

Les Lamiacées regroupent au total 8 sous-familles que nous allons énumérer ci-dessous en fonction de leurs propres caractéristiques :

### **1.2.1- Ajugoïdées**

- Style subterminal,
- Graine avec albumen.

- ❖ Genre *Ajuga* (Bugles)
- ❖ Genre *Teucrium* (Germandrées)
- ❖ Genre *Rosmarinus* (Romarin)

### **1.2.2- Prostanthéroïdées**

- Style subterminal,
- Graine avec albumen,
- Arbustes exclusivement australiens.

### **1.2.3- Prasioïdées**

- Style gynobasique,
- Le fruit est une drupe,
- Plantes surtout intertropicales,
- Certains genres sont représentés dans la région méditerranéenne.

### **1.2.4- Scutellarioïdées**

- Style gynobasique,
- Embryon courbe.

- ❖ Genre *Scutellaria*

### 1.2.5- Lavanduloïdées

- Style gynobasique,
- Embryon droit,
- Lobes du disque réceptaculaire coïncidant avec ceux de l'ovaire.

#### ❖ Genre *Lavandula*

### 1.2.6- Catophéroidées

- Graine dressée,
- Embryon courbe.

#### ❖ Genre *Catopheria*

### 1.2.7- Ocimoïdées

Les caractères concordent avec ceux des Stachioïdées, que nous allons détailler juste ci-dessous, mais les étamines sont inclinées sur la lèvre inférieure de la corolle.

### 1.2.8- Stachioïdées

- Style gynobasique,
- Les Stachioïdées se différencient des Lavanduloïdées par les lobes du disque réceptaculaire qui alternent avec ceux de l'ovaire,
- Etamines relevées contre la lèvre supérieure de la corolle,
- Les Stachioïdées comprennent la majeure partie des genres des Labiées. Beaucoup d'espèces trouvent des emplois, mais souvent mineurs, en thérapeutique et parfois dans l'alimentation. Tels sont le *Marrubium vulgare* (Europe), plante fébrifuge, le *Nepeta cataria* (Europe), antispasmodique, le *N Glechoma* (*Glechoma hederacea*) ou Lierre terrestre (Europe, Asie tempérée, Amérique du Nord), plante antispasmodique.

#### ❖ Genre *Lamium*

Il comprend des herbes dont les inflorescences sont des verticilles, rapprochés au sommet de la tige. Le tube du calice se termine par 5 dents égales ; la corolle possède une lèvre supérieure en forme de casque, une lèvre inférieure à 3 lobes, le médian élargi, bilobé et les 2 latéraux très petits, en forme de dents ; les akènes sont tronqués au sommet.

Le *Lamium album* ou Ortie blanche est commun en Europe, au bord des haies. C'est une herbe vivace, velue, à feuille pétiolées et à limbe ovale et denté ; ses fleurs sont blanches. C'est un astringent.

Le *Lamium purpureum*, le *Lamium amplexicaule* et le *Lamium galéobdolon* sont également communs en France.

#### ❖ Genre *Ballota*

*Ballota foetida* ou *Ballota nigra*, herbe à odeur désagréable, à calice plissé longitudinalement, est un antispasmodique et un cholérétique.

#### ❖ Genre *Stachys*

Les *Stachys* (Epiaires) sont intéressantes par le *Stachys Tuberifera* (Chine, Japon) dont les rizhomes tubérifiés et moniliformes servent dans l'alimentation sous le nom de crosnes du Japon et par le *Stachys betonica* (Europe, Algérie, Caucase) qui a des propriétés vulnéraires.

#### ❖ Genre *Thymus*

Les *Thymus* ont des tiges ligneuses, des fleurs en faux verticilles, eux-mêmes groupés en un pseudo-capitule ou un épi terminal ; le *Thymus vulgaris* (Thym) est un sous-arbrisseau dressé, à feuilles sessiles, linéaires, à bord enroulés, à fleurs roses ou blanches (Europe méridionale et cultivée) ; son essence, riche en thymol, en fait un condiment et un stomachique.

Pour l'extraction du thymol, on peut faire appel au *Thymus zygis* (Thym espagnol).

Le *Thymus serpyllum* (Serpolet) est un sous-arbrisseau couché, à feuilles planes, ovales, ciliées (Europe, régions tempérées) ; il possède des propriétés vulnéraires.

#### ❖ Genre *Origanum*

Les *Origanum* sont caractérisés par leurs fleurs disposées en faux épis dressés, entourés de bractées grandes et souvent colorées.

L'*Origanum vulgare* (Origan), herbe d'Europe et d'Asie centrale, l'*Origanum majorana* ou marjolaine à coquilles (région méditerranéenne) et l'*Origanum dictamnus* ou dictame de Crète ont des propriétés aromatiques ou vulnéraires.

Certains Origans contiennent, dans leurs essences, une quantité appréciable de thymol.

## ❖ Genre *Mentha*

Les *Mentha* sont des herbes vivaces, stolonifères, s'hybridant facilement, souvent stériles. Très communes en Europe et dans le nord de l'Afrique, elles sont caractérisées par leur corolle presque régulière à 4 ou 5 lobes aplatis et leurs 4 étamines presque égales. Parmi les nombreuses espèces que le genre comprend, il convient de citer le *Mentha piperita* (Menthe poivrée) dont on cultive des hybrides dans le sud-est de la France, en Italie, en Angleterre et en Allemagne ; les faux verticilles de fleurs sont rapprochés, dans cette espèce, en épis terminaux, de même que chez le *Mentha pulegium* (Menthe pouliot).

On cultive également, en Amérique, le *Mentha viridis* qui donne l'essence de *Menthe verte* (Spearmint). La Menthe poivrée est surtout un stomachique.

Les essences des diverses espèces ont une finesse variant particulièrement avec leur teneur en menthol.

### **1.3- Le genre *Ballota* (13)**

Les plantes de ce genre sont vivaces, velues, rameuses, très feuillées.

Les feuilles sont pétiolées et leur limbe est bordé de larges crênelures.

Les fleurs, purpurines ou blanches, sont disposées en groupes écartés les uns des autres et portant chacun, à leur base, 2 feuilles florales assez semblables aux feuilles ordinaires.

Le calice est un peu en forme d'entonnoir, à 10 nervures principales longitudinales et terminées par 5 dents, alternant parfois avec 3 à 5 autres dents plus petites ; toutes ces dents sont pliées en long, très élargies à leur base et terminées par une petite pointe.

La corolle présente un tube qui n'est pas plus long que le calice et qui est pourvu en dedans d'un anneau de poils ; la lèvre supérieure est dressée, un peu concave, portant en dehors des poils blancs, entière ou échancrée au sommet.

Il y a 4 étamines à filets rapprochés et parallèles, les 2 plus longues non rejetées en dehors après la floraison ; chaque paire d'anthères présente des loges très divergentes, s'ouvrant chacune par une fente longitudinale distincte.

Les quatre parties du fruit, qui est une nucule, sont à 3 angles et arrondies à leur sommet.

### **1.4- Description des différentes espèces du genre *Ballota***

On a décrit 26 espèces de ce genre, qui croissent en Europe, en Asie et en Afrique. Ici, nous décrirons seulement les plus communes (13) → (67).

### 1.4.1- *Ballota frutescens* (L.)

(synonyme : *Ballota spinosa*)

C'est un petit sous-arbrisseau très rameux, de 10 à 50 cm de hauteur.

- ❖ Les tiges : elles sont nombreuses, divariquées et crêpues.
- ❖ Les feuilles : elles ont toutes un court pétiole, de 5 à 6 mm et un limbe portant sur les bords 2 à 8 grosses crénelures, sans compter la crénelure terminale.
- ❖ Le calice : il est poilu, à 8 ou 10 dents épineuses, dont 5 beaucoup plus grandes que les autres.
- ❖ Les fleurs : elles sont blanches, et se montrent du mois de Mai au mois de Juillet. Elles sont regroupées en faux verticilles de 1 à 3 fleurs, à l'aisselle d'une feuille florale. Les petites bractées de 7 à 10 mm, qui accompagnent les fleurs, sont épineuses, sans poil, blanches.
- ❖ La corolle : de 12 à 15 mm, elle forme un tube qui est enfermé dans le calice. Elle présente une lèvre supérieure plus ou moins rejetée en arrière qui porte extérieurement une houpe élégante de poils blancs ; la lèvre inférieure de la corolle a le lobe médian plus ou moins profondément échancré.

### 1.4.2- *Ballota acetabulosa* (L.) Benth

C'est une plante vivace, de 60 à 80 cm et ligneuse à la base.

- ❖ Les tiges : elles sont grisâtres, laineuses, avec des poils simples et étoilés.
- ❖ Les feuilles : caulinaires et de 3 à 5 cm de long sur 3 à 4 cm de large, elles sont situées en haut et au milieu de la tige. Généralement cordiformes à la base, elles sont suborbiculaires, et crénelées-dentées. Le pétiole mesure 5 à 15 mm.
- ❖ Le calice : de 12 à 15 mm, il est hypocotyliforme.
- ❖ Les fleurs : les verticilles présentent 6 à 12 fleurs. Les bractéoles, de 4 à 8 mm, sont linéaires à spatulées et membraneuses.
- ❖ La corolle : de 15 à 18 mm, elle est violette et blanche.

### 1.4.3- *Ballota pseudodictamnus* (L.) Benth

Elle est identique à *Ballota acetabulosa*, mais c'est une plante de 30 à 50 cm.

- ❖ Les tiges : elles sont jaunâtres et tomenteuses.
- ❖ Les feuilles : de 2 à 3 cm de long sur 1,5 à 2 cm de large, elles sont situées au milieu de la tige. Elles sont généralement ovales-suborbiculaires et subcordiformes à la base.
- ❖ Le calice : de 8 à 10 mm, il est infundibuliforme.
- ❖ La corolle : 14 à 15 mm

#### **1.4.4- *Ballota hirsuta* Bentham**

(Synonyme : *Ballota hispanica*)

Il s'agit d'une plante vivace de 60 à 80 cm et ligneuse à la base.

- ❖ Les tiges : elles sont hirsutes, avec des poils glandulaires à aglandulaires.
- ❖ Les feuilles : les feuilles caulinaires, de 3 à 6 cm de long sur 3 à 5 cm de large sont au bas et au milieu de la tige. Elles sont ovales suborbiculaires, crênelées et cordées ou tronquées à la base.
- ❖ Le calice : de 10 à 12 mm, il est campanulé.
- ❖ Les fleurs : elles sont regroupées en verticilles comprenant de nombreuses fleurs. De 3 à 8 mm, les bractéoles sont linéaires-subulées et membraneuses.
- ❖ La corolle : De 14 à 16 mm, elle est violette ou blanche.

#### **1.4.5- *Ballota rupestris***

C'est une plante vivace atteignant jusqu'à 70 cm et qui est ligneuse à la base.

- ❖ Les tiges : elles sont pubescentes, avec des poils glandulaires et aglandulaires simples.
- ❖ Les feuilles : de 4 à 6 cm de long sur 4 à 5 cm de large, elles se situent en bas et au milieu de la tige. Elles sont ovales ou ovales-lancéolées, obtues ou subaiguës, grossièrement et irrégulièrement crênelées, et cordiformes à la base. Le pétiole : 10 à 25 mm.
- ❖ Le calice : de 8 à 10 mm, il est subcylindrique.
- ❖ Les fleurs : les verticilles de fleurs sont très garnis. De 5 à 8 mm, les bractéoles sont linéaires et membraneuses.

- ❖ La corolle : de 12 à 14 mm, elle est pourpre et blanche.

#### 1.4.6- *Ballota macedonica*

Elle est identique à *Ballota rupestris* mais les feuilles sont différentes.

- ❖ Les feuilles : de 3 à 5,5 cm de long sur 2,5 cm de large, les feuilles caulinaires se situent au milieu de la tige. Elles sont ovales ou triangulaires- ovales, aiguës, et cordiformes ou tronquées à la base. Le pétiole : 10 mm.
- ❖ Le calice : 7 à 8 mm
- ❖ La corolle : 11 à 15 mm

#### 1.4.7- *Ballota nigra* L. (Synonyme : *Ballota foetida* Lam.) (figure 3)

Noms vulgaires : ballote ; ballote noire ; ballote fétide ; ballote puante ; marrube noir ; marrube fétide.

Il s'agit d'une plante vivace.

- ❖ Les tiges : quadrangulaires, elles atteignent 30 à 85 cm. Elles sont velues, rameuses et feuillées jusqu'à la base (4). Les internœuds de la partie inférieure atteignent 10 cm. Ceux de la partie supérieure sont plus courts.
- ❖ Les feuilles : elles sont vert-sombre, ovales, crénelées ou sinueuses sur les bords, recouvertes de poils sur les deux faces, molles et ridées. Elles ne dépassent guère 40 mm de long sur 30 mm de large. Le pétiole atteint 40 mm.



- ❖ Le calice : il est tubuleux, en forme d'entonnoir, avec 10 nervures et 5 dents pliées en long.
- ❖ Les fleurs (figure 1) : Assez grandes, purpurines, elles sont exceptionnellement blanches. Elles s'épanouissent au mois de Mai, parfois encore jusqu'au début de l'hiver. Elles sont presque sessiles, disposées en glomérules unilatéraux de plus de 3 à l'aisselle des feuilles. Elles ont de petites bractées vertes, molles et ciliées, non épineuses, ce qui la distingue

**Figure 1:** Les fleurs de *Ballota nigra* L (31)





de *Ballota spinosa* L. chez laquelle ces bractées deviennent épineuses.

- ❖ La corolle : garnie de poils blancs appliqués en dehors sur la lèvre supérieure, elle est nettement bilabée.
- ❖ L'androcée : il y a 4 étamines parallèles, portant des anthères rapprochées 2 à 2 .
- ❖ Le gynécée (figure 2) : il est celui de la plupart des Lamiacées. Le style se partage supérieurement en 2 petits lobes subulés et à peu près égaux. Autour de l'ovaire, un bourrelet nectarifère sécrète un liquide sucré apprécié des abeilles.

**Figure 2** : Le gynécée de *Ballota nigra* L. (31)

Certains auteurs ne distinguent pas de variétés au sein de l'espèce *nigra* L (31). Par contre, d'autres auteurs comme ceux de FLORA EUROPEA (67) : TUTIN, HEYWOOD, BURGESS et MOORE, divisent cette espèce en 6 sous-espèces, et ce pour des raisons morphologiques. Nous allons les décrire ci-dessous :

#### **a- Sous-espèce *nigra***

Pubescente à subglabre, avec des papilles et des glandes non brillantes.

- ❖ Les tiges : elles atteignent 120 cm. Les internoeuds de la partie inférieure atteignent jusqu'à 10 cm; ceux de la partie supérieure sont plus courts.
- ❖ Les feuilles : le pétiole atteint 50 mm.
- ❖ Le calice : 9 à 13 mm.
- ❖ La corolle : de 12 à 14 mm, elle est lilas.

#### **b- Sous-espèce *sericea***

Soyeuse, avec de nombreuses glandes sessiles qui brillent.

- ❖ Les tiges : elles atteignent 70 cm, avec de petites ramifications. Les internoeuds de la partie inférieure atteignent 10 cm ; ceux de la partie supérieure sont plus courts.

- ❖ Les feuilles : le pétiole est très court.
- ❖ Le calice : de 8 à 10 mm, à peine élargi au dessus.
- ❖ La corolle : de 11 à 12 mm, elle est lilas.

**c- Sous-espèce *velutina***

Grisâtre, tomenteuse-velouteuse, elle a de nombreuses glandes sessiles et brillantes.

- ❖ Les tiges : elles atteignent 30 cm et sont un peu ramifiées.
- ❖ Le calice : 7 à 8 mm.
- ❖ La corolle : de 14 mm, elle est lilas.

**d- Sous-espèce *uncinata***

Pubescente à subglabre, rarement soyeuse, sans glande sessile.

- ❖ Les tiges : elles atteignent 80 cm, et sont très ramifiées.
- ❖ Les feuilles : le pétiole est court.
- ❖ Le calice : 9 à 11 mm.
- ❖ La corolle : de 12 à 14 mm, elle est lilas.

**e- Sous-espèce *anatolica***

Hirsute, avec quelques glandes sessiles.

- ❖ Les tiges : elles atteignent 70 cm, et sont brusquement ramifiées au dessus.
- ❖ Les feuilles : le pétiole atteint 40 à 50 mm.
- ❖ Le calice : 7 à 8 mm.
- ❖ La corolle : de 9 à 12 mm, elle est rose.

**f- Sous-espèce *foetida Hayek***

Pubescentes à subglabres, elle présente des papilles et des glandes non brillantes.

- ❖ Les tiges : elles atteignent 100 cm. Les internoeuds de la partie inférieure atteignent 10 cm. Ceux de la partie supérieure sont plus courts.
- ❖ Les feuilles : le pétiole atteint 40mm.
- ❖ Le calice : de 7 à 12 mm, il est infundibuliforme.
- ❖ La corolle : de 12 à 15 mm, elle est souvent lilas et rarement blanche.



**Figure 3** : *Ballota nigra* L (28)

## **2- L'anatomie de *Ballota nigra***

Nous nous attacherons tout particulièrement à *Ballota nigra*, qui est la seule jusqu'alors, à avoir été étudiée du point de vue anatomique.

BALANSARD, en 1934, dans sa thèse de pharmacie (4), réalise des coupes dans la tige et dans la feuille, et décrit leur anatomie.

Puis en 1982, JOANNY complète cette étude dans sa thèse de pharmacie (31).

### **2.1- Anatomie de la tige** (figures 4 et 5)

Elle possède toutes les caractéristiques des Lamiacées. L'aspect général d'une coupe de la tige est celui d'un carré à 4 angles très proéminents, portant 4 bourrelets de collenchyme angulaire.

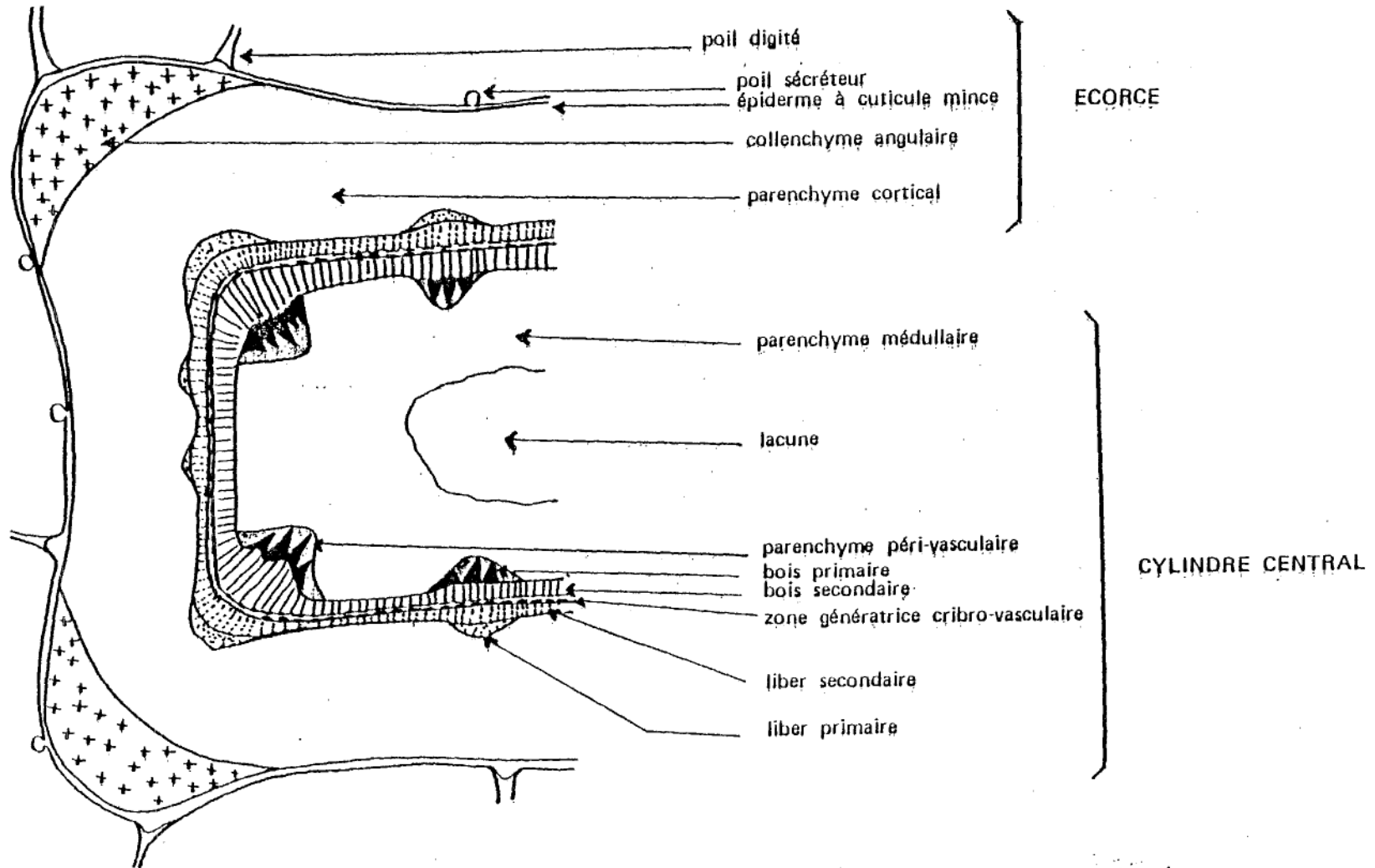
On trouve de l'extérieur vers l'intérieur :

- 1- Un épiderme cutinisé portant de nombreux poils ;
- 2- Une écorce avec :
  - le collenchyme (une ou deux assises)
  - le parenchyme cortical ;
- 3- Un endoderme dont les parois sont minces ;
- 4- Un péricycle ;
- 5- Un liber constitué de 6 à 8 assises de cellules à parois déformées et ondulées ;
- 6- Le bois est différent dans la tige jeune et âgée :
  - la tige jeune ne présente des faisceaux libéro-ligneux qu'au niveau des quatre angles.
  - dans la tige âgée, on observe un anneau libéro-ligneux qui fait tout le tour de la tige.

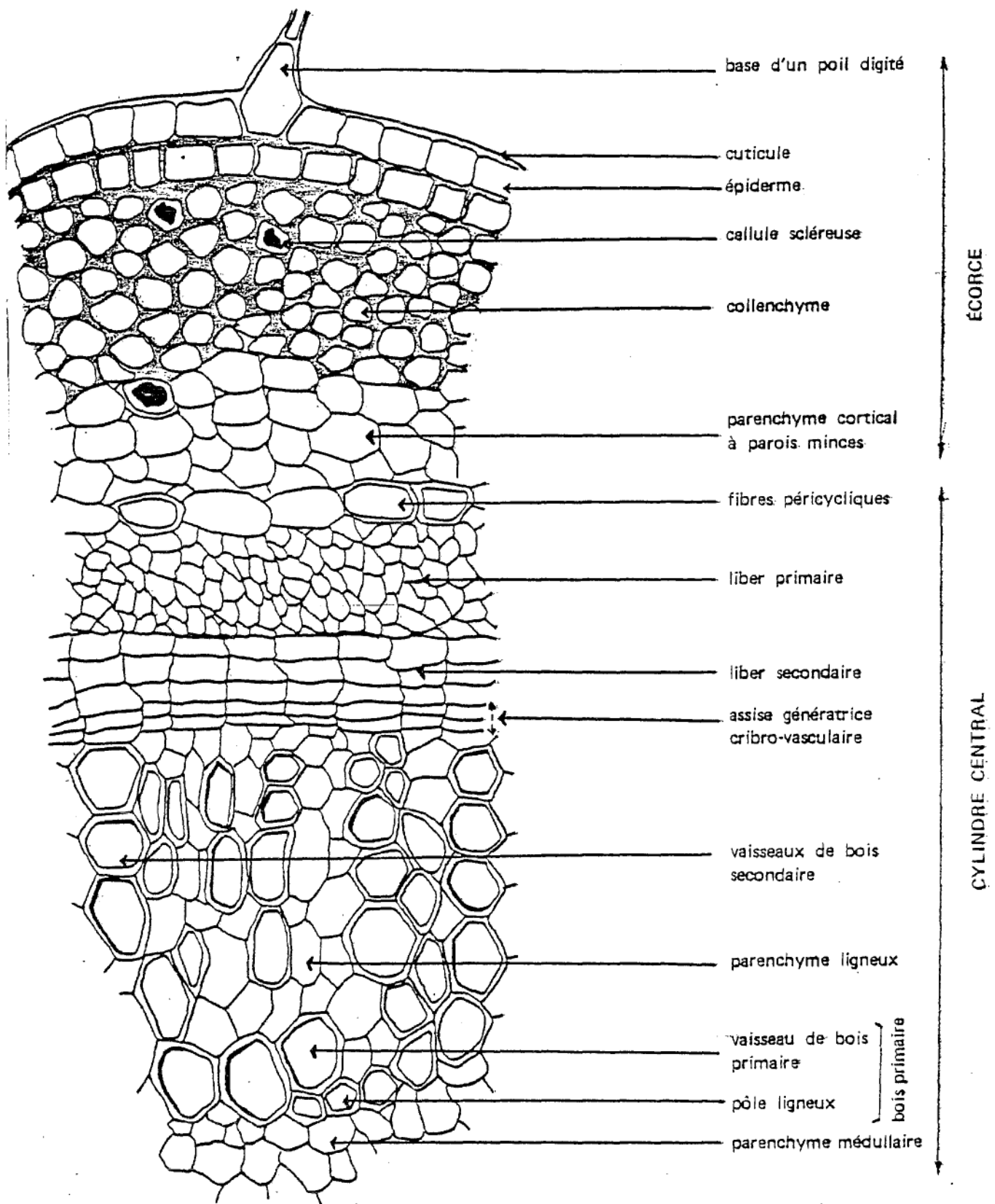
Les formations secondaires correspondent à un sclérenchyme formé de cellules empilées.

Au voisinage du parenchyme de la moëlle, on observe des pointements de bois primaires.

- 7- La moëlle formée de cellules polyédriques ou plus ou moins arrondies.



**Figure 4** : Coupe transversale dans la tige de *Ballota nigra*  
 Coloration au Carmino-vert (31)



**Figure 5 :** Coupe transversale d'une tige de *Ballota nigra* vue de détail au niveau d'un angle (31)

## **2.2- Anatomie de la feuille** (figure 6)

La structure de la feuille est particulièrement simple. On distingue :

- 1- Un épiderme supérieur fortement cutinisé, à cellules grandes, très allongées, de tailles irrégulières, portant de nombreux poils;
- 2- Un tissu palissadique réduit à une seule assise de grandes cellules;
- 3- un épiderme inférieur, d'aspect bosselé, formé de petites cellules plus ou moins cubiques, portant également de nombreux poils.



Face supérieure

épiderme supérieur à cuticule épaisse

parenchyme palissadique

parenchyme lacuneux

épiderme inférieur

poil digité (nombreux)

poil sécréteur

Face inférieure

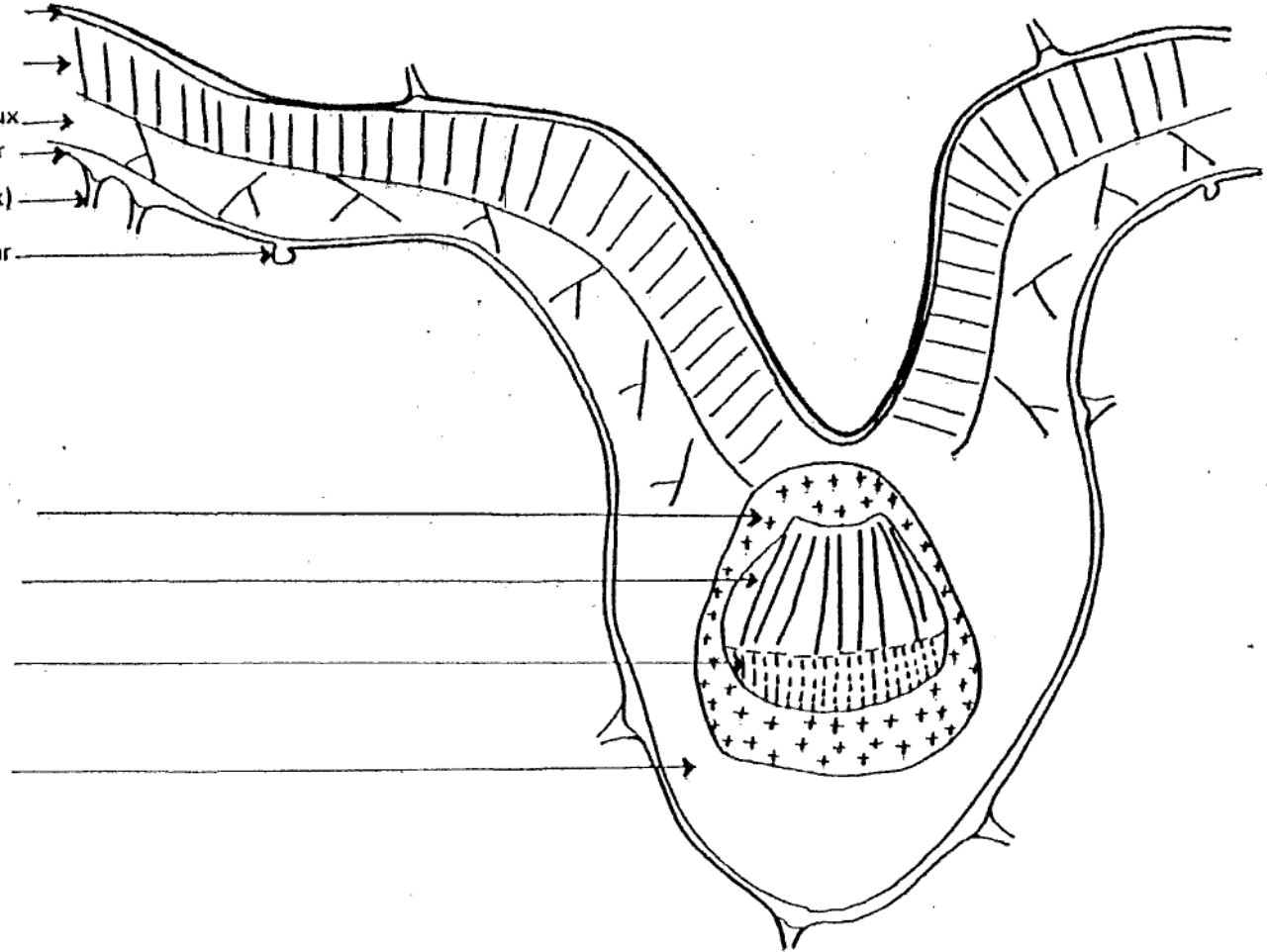
tissu collenchymateux à grosses  
c/rondes

arc ligneux

arc libérien

parenchyme fondamental

Nervure centrale



**Figure 6 :** Coupe transversale au niveau de la nervure centrale d'une feuille de *Ballota nigra* (31)

### **2.3- Anatomie des poils** (4) (figures 7, 8 et 9)

Chez *Ballota nigra*, les poils particulièrement abondants sont de 2 sortes. On les rencontre aussi bien sur la tige que sur le pétiole et la feuille. On distingue :

1- Des poils digités, de structures ordinaires, très longs.

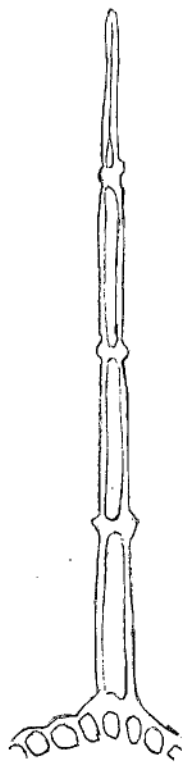
Au niveau de l'insertion de ces poils sur l'épiderme, les cellules qui constituent celui-ci prennent une forme caractéristique : elles font saillie et se disposent par exemple en une rosette au sommet de laquelle s'insère le poil.

2- Des poils très petits, capités, qui sont des poils glanduleux.

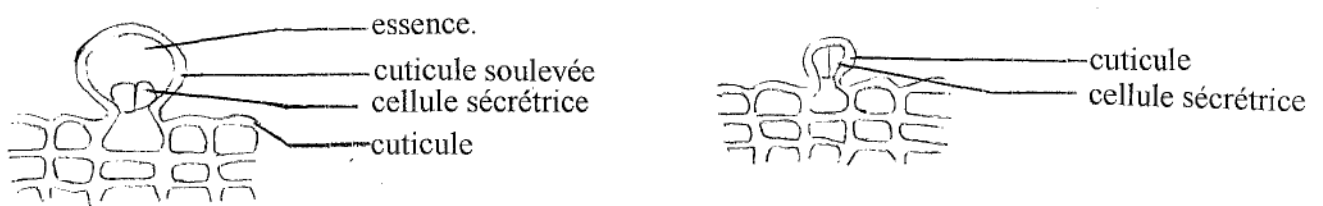
L'épiderme ne fait pas saillie au niveau de l'insertion des poils capités. Leur structure est la suivante: ils comprennent une cellule basilaire, incluse entre les cellules épidermiques, qui supporte 2 petites cellules sécrétrices. C'est tout ce que l'on voit lorsque le poil ne sécrète pas d'essence. Mais si il y a sécrétion, on voit la cuticule, qui recouvre les cellules sécrétrices, se soulever, se distendre, créant ainsi un réservoir où se loge l'essence.

Dans les exemplaires récoltés au mois d'Octobre, BALANSARD n'observe, à de rares exceptions près, que des poils capités dont les cellules sécrétrices ne fonctionnent pas. En effet, seule la cellule basilaire, surmontée de 2 cellules sécrétrices, est présente. Ceci paraît être en concordance avec le fait que la plante n'émet aucune odeur en cette saison.

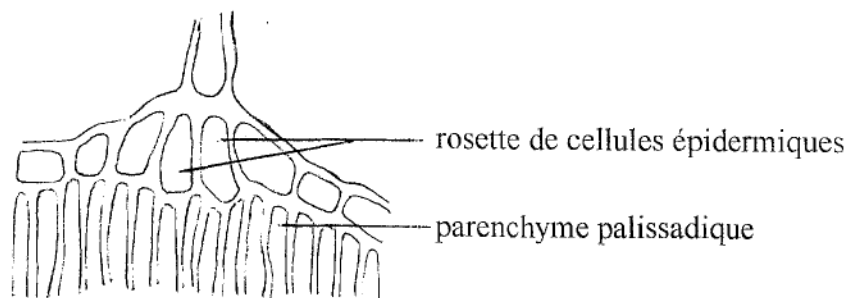
Ces poils glanduleux, très nombreux sur la feuille et le pétiole, paraissent plus rares sur la tige.



**Figure 7 :** Poil digité de *Ballota nigra* (4)



**Figure 8 :** Poil glanduleux de *Ballota nigra* (4)



**Figure 9 :** Disposition d'insertion d'un poil digitale de *Ballota nigra* (4)

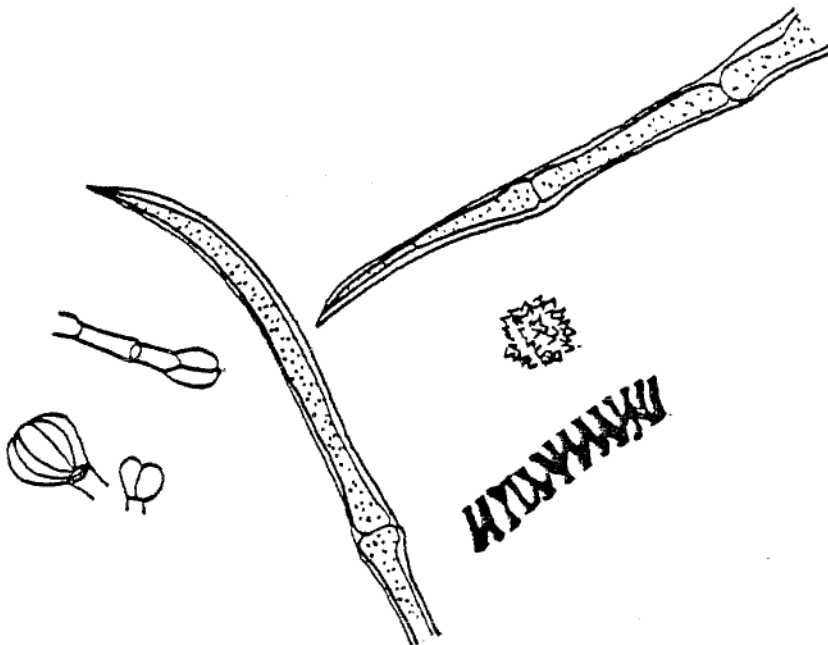
## 2.4- La poudre

Une étude microscopique est réalisée par JOANNY dans le cadre de sa thèse sur *Ballota nigra* (31).

Après broyage de la plante entière, elle effectue un examen microscopique de la poudre (figure 10).

Elle observe :

- ◆ des poils tecteurs pluricellulaires monosériés et ponctués avec des renflements entre les articles, caractéristiques de cette drogue;
- ◆ des poils sécréteurs :
  - + à tête bicellulaire et pied monocellulaire,
  - + à tête bicellulaire et pied pluricellulaire,
  - + à tête pluricellulaire et pied monocellulaire ;
- ◆ des grains de pollen hérissés ;
- ◆ des vaisseaux rayés.



**Figure 10** : La poudre

### **3- Station et répartition géographique (67)**

#### **3.1- *Ballota spinosa* ou *Ballota frutescens* (L.)**

Elle pousse sur les rochers ombragés et dans les endroits rocaillieux en Europe, dans la zone subalpine :

- en France : Alpes de Provence et Alpes maritimes ;
- en Italie

#### **3.2- *Ballota acetabulosa* (L. Bentham)**

Elle pousse dans le sud et l'est de la Grèce et de la région d'Aegean, en Crète et en Turquie.

#### **3.3- *Ballota pseudodictamnus* (L.)**

Dans le sud de la région d'Aegean, en Crète, en Grèce. Il semblerait qu'on la retrouve également en Italie et en Sicile.

#### **3.4- *Ballota hirsuta* Bentham**

Sur les bords de routes, sur les murs et dans les endroits déserts, incultes, dans le centre et le sud du Portugal, le centre, le sud et l'est de l'Espagne, dans les îles Baléares.

#### **3.5- *Ballota rupestris***

Dans les endroits rocaillieux, dans le centre et le sud de l'Italie et de la Sicile, dans l'ouest de l'ex Yougoslavie et dans le nord de l'Albanie.

#### **3.6- *Ballota macedonica***

Sur les pentes rocailleuses, dans les broussailles. On la trouve à l'ouest de la péninsule des Balkans, en Albanie, en Grèce et en ex Yougoslavie.

#### **3.7- *Ballota nigra* (L.)**

On la rencontre dans presque toute l'Europe, en Asie occidentale et en Afrique septentrionale. C'est une plante extrêmement commune en France. Elle affectionne les décombres, les bords de chemins et de haies, les terrains vagues et les lieux incultes. Il s'agit d'une plante rudérale, aimant les sols azotés, légers et un peu humides où elle croît par grosses touffes.

### **a- Sous-espèce *nigra***

En Europe, de la Suède en direction de l'Allemagne et de l'Albanie. C'est une plante acclimatée dans le nord-ouest de l'Europe.

### **b- Sous-espèce *sericea***

En Albanie, en Macédoine.

### **c- Sous-espèce *velutina***

Ouest de l'ex Yougoslavie

### **d- Sous espèce *uncinata***

Sud de l'Europe

### **e- Sous-espèce *anatolica***

En Turquie européenne.

### **f- Sous-espèce *foetida Hayek***

En Europe, depuis l'Allemagne, l'Italie, en direction de l'ouest de l'Albanie. Elle est acclimatée dans le sud de la Scandinavie et l'ouest de l'Estonie.

## **4- Culture et récolte**

En France, on ne cultive et on ne récolte seulement que *Ballota nigra*. Compte-tenu de sa disparition progressive, sa mise en culture est absolument nécessaire.

### **4.1- Culture (36)**

#### **a- Le sol**

Tous les sols conviennent à cette culture, à condition de lui réserver une bonne exposition au midi, et à l'abri des vents du nord.

## **b- Multiplication**

Les 2 méthodes, semis et éclats de touffes, peuvent être utilisées pour la propagation de *Ballota nigra*.

### **- Semis :**

- ◆ le semis direct est peu pratiqué, compte-tenu des soins nécessaires et dans un souci d'économiser la semence.
- ◆ le semis en pépinière est la meilleure méthode; il s'effectue en Mars-Avril.

**- Eclat des touffes** : cette méthode se pratique au printemps, mais la végétation obtenue est assez chétive. On n'a intérêt à la pratiquer que si l'on ne possède pas de semence.

## **c- Espacement**

En fonction de la largeur des instruments mécaniques de binage, les rangs seront espacés de 50 à 60 cm.

Le bon développement de chaque pied nécessite un écart d'environ 30 cm sur le rang.

La densité optimale d'une plantation sera de 60000 pieds/ha.

## **d- La fertilisation**

La nutrition minérale de cette culture n'est pas encore totalement étudiée.

Compte-tenu de la richesse du sol en divers éléments nutritifs, on doit lui assurer :

- 80 à 100 unités d'azote à 2 reprises (au démarrage de la végétation et après la première coupe) ;
- 80 à 120 unités d'acide phosphorique (lors du labour et avant le démarrage de la végétation de la deuxième année) ;
- 80 à 120 unités de potasse (dans les mêmes conditions que pour l'acide phosphorique).

## **e- Entretien**

Il se borne à l'arrosage par temps sec, et surtout, lors de la mise en place définitive, au repiquage.

Des sarclages et binages sont nécessaires au début de la végétation, avant couverture du sol par celle-ci.

Les désherbants sélectifs d'un certains nombre de Lamiacées, tels le Linuron ou le Terbacile, se révèlent phytotoxiques vis à vis de *Ballota nigra* L.

#### **4.2- La récolte**

La partie aérienne sera récoltée à la floraison, à l'aide d'instruments de coupe manuels (faux ou faucille) ou mécaniques (barre de coupe).

Deux coupes sont possibles la première année, à la mi juillet et en Octobre. La seconde année de végétation, une seule coupe peut-être faite, vers la mi-juin. La seconde coupe fournirait très peu de matières à récolter.

Vu la baisse considérable des rendements la troisième année, la culture ne devra plus être conservée en place.

### **B- LA DROGUE *BALLOTA NIGRA***

La partie utilisée de *Ballota nigra* est constituée par la tige feuillée ; la drogue est mentionnée dans le codex de 1976.

#### **1- Description**

Les tiges quadrangulaires rameuses portent des feuilles opposées, longuement pétiolées. Le limbe ovale, arrondi, de 2 à 5 cm de long sur 2 à 4 cm de large, à marge irrégulièrement crénelée, présente une nervation réticulée.

A l'état sec, les feuilles, recroquevillées, sont de couleur vert-grisâtre avec des nervures blanchâtres saillantes à la face inférieure. Des poils blanchâtres sont visibles, à la loupe, sur les tiges et les nervures.

A l'état frais, la drogue dégage une odeur fétide, peu marquée à l'état sec. La saveur est âcre, amère et désagréable.

#### **2- Essai**

##### **a- Diamètre des tiges**

La proportion de tiges d'un diamètre supérieur à 2 mm devra être inférieur à 5 %.



## **b- Chromatographie**

On préconise une chromatographie sur couche mince en utilisant des plaques recouvertes de gel de silice G (R).

- ◆ *Solution à examiner* : faire macérer, pendant 24 heures, 2 g de sommités fleuries de *Ballota nigra*, grossièrement pulvérisée, dans 10 ml d'alcool à 60 % v/v en agitant de temps à autres. Filtrez, rincez le marc et complétez à 10 ml avec le même solvant.
- ◆ *Solution témoin* : solution de chlorhydrate de bétaine 0,1 %.

Déposez séparément sur une première plaque 20 µl de solution à examiner et 20 µl de solution témoin. Développez avec un mélange de 40 volumes de butanol (R), 10 volumes d'acide acétique (R) et 50 volumes d'eau sur un parcours de 10 cm environ. Séchez ; pulvérisez de la solution d'iodobismuthate de sodium (R). Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner devra présenter une tâche orangée, d'un Rf voisin de 0,25, identique à celle du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

Déposez sur une seconde plaque, 20 µl de solution à examiner. Développer avec un mélange de 50 volumes de chloroforme (R) et de 50 volumes d'acétone (R) sur un parcours de 10 cm environ. Séchez. Pulvérisez une solution d'acide sulfurique (R) à 10 % p/v. Portez quelques minutes à l'étuve à 100°-105° : il devra apparaître une série de tâches noires de Rf compris entre 0,70 et 0,90.

CHAPITRE III :

ETUDE CHIMIQUE

Les scientifiques s'intéressent tout d'abord à *Ballota nigra*, espèce la plus étudiée. C'est seulement beaucoup plus tard, dans les années 70, qu'ils élargissent leur recherche en travaillant sur d'autres représentants du genre *Ballota*.

## A- BALLOTA NIGRA

### 1- Travaux anciens

CHARAUX, en 1910, sépare de l'acide caféique (31).

Cependant, les premières études chimiques approfondies sur *Ballota nigra* sont réalisées par BALANSARD en 1934 (4) : effectivement, dans sa thèse de pharmacie, il effectue d'une part une recherche de certains principes actifs minéraux sur les cendres, et d'autre part, réalise une recherche sur les liqueurs d'épuisement par l'acétone, par l'eau sodique et par l'eau.

Et au cours de ses investigations, il met en évidence la présence des composés suivants :

<b>Eléments minéraux :</b>	
- SiO <sub>2</sub>	3,2 %
- P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,4 %
- MgO	0,7 %
- N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	2,4 %
- Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,3 %
- K <sub>2</sub> O	2,6 %
- Cl <sub>2</sub>	0,31 %
- CaO	3,7 %
- Na <sub>2</sub> O	1,0 %
<b>Acides organiques :</b>	
- acide malique	+
- acide citrique	+
- acide oxalique	+
<b>Bases aminées :</b>	
- choline	+
- stachydrine	+
<b>Divers :</b>	
- une lactone	+
- un phytostérol	+
- un polysaccharide	+
- un tanin mixte pyrogallique et catéchique	+
- une saponine	+

Deux ans plus tard, ce même auteur signale par ailleurs un glucoside hydrosoluble (1,10 g par kg de drogue sèche) et un saponoside acide (2,10 g) (31).

En 1959, la présence d'une saponine chez *Ballota nigra* est remise en cause par ZINCHENKO (72) : effectivement, chercheur à Kiev, il étudie plusieurs genres de la famille des Lamiacées, et ne décèle, en aucun cas, de saponine chez cette espèce.

## **2- Travaux récents**

D'autres travaux, plus récents, entre 1970 et 1990, sont effectués sur *Ballota nigra*.

### **2.1- Les diterpènes**

Une grande série d'études dirigée par SAVONA en 1976 et en 1977 (50) à (53), permet d'identifier de nombreux dérivés terpéniques chez le genre *Ballota*.

Effectivement, SAVONA et son équipe, de l'Institut de Chimie Organique à Palerme, en Italie, réalisent des recherches chimiotaxonomiques à propos des Lamiacées méditerranéens en s'attachant tout particulièrement aux composés diterpéniques de ces plantes, et ce, essentiellement chez le genre *Ballota*.

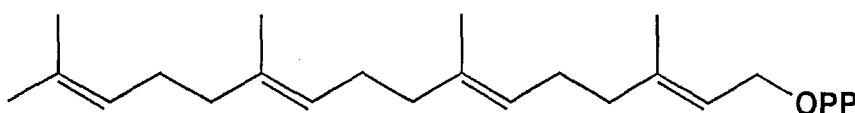
Puis vingt ans plus tard, dans le cadre de standardisation d'une monographie pour les pharmacopées européennes, SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN, du Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Pharmacie de Lille, montrent la présence chez *Ballota nigra* d'un diterpène majoritaire (60).

#### **2.1.1- Généralités (15)**

Les diterpènes font partis des terpènes. Ces derniers constituent un vaste ensemble de métabolites secondaires des végétaux.

La grande majorité des terpènes est spécifique du règne végétal mais cette spécificité n'est pas absolue : sesquiterpènes et diterpènes de structures variées ne sont pas rares chez les animaux marins et il n'est pas certain que les phéromones monoterpéniques connues chez les insectes soient toutes élaborées à partir de monoterpènes végétaux apportés à ces insectes par leur alimentation.

Les diterpènes forment un ensemble de composés en C<sub>20</sub>, issus du métabolisme du géranylgeranylpyrophosphate (GGPP).



Ils peuvent être linéaires, macrocycliques ou polycycliques.

## 2.1.2- Les différents diterpènes rencontrés chez *Ballota nigra*

Les différents diterpènes rencontrés chez *Ballota nigra* sont de nature furanolabdanique, excepté la préleosibirine qui elle, est de nature préfuranolabdanique.

Ceux-ci ne sont pas confinés à ce genre puisque des composés similaires sont isolés d'autres membres de la tribu des Stachyoïdeae, comme par exemple les genres *Marrubium*, *Galéopsis* et *Salvia* (48).

Chez *Ballota nigra* L, ces diterpènes sont bicycliques :

- balloténoï : 0,060 % de la feuille (53),
- ballotinone : 0,050% de la feuille (50),
- ballonigrinone : 0,030% de la feuille (51) et (52),
- ballonigrine : 0,025 % de la feuille (51) - (52) - (57) - (58),
- 13-hydroxyballonigrinolide : 0,011 % des parties aériennes. Ce composé est considéré par SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN comme caractéristique de *Ballota nigra*, et par conséquent, utile pour la standardisation de cette drogue (60).
- préleosibirine : 0,0006% des parties aériennes (16),
- 7-alpha-acétoxy-marrubiine (52) : il s'agirait du principe amer identifié par BALANSARD jusqu'alors inconnu, c'est à dire de la lactone que l'on pensait être la marrubiine (45).
- traces de marrubiine (50) : il est probable que ces traces de marrubiine proviennent de la dégradation du 7-alpha acétoxy-marrubiine ou d'une confusion avec ce dernier. Effectivement, dans une étude ultérieure concernant les diterpènes de cette espèce, seule la 7-alpha-acétoxy-marrubiine sera détectée (4).

Les structures de ces différents diterpènes seront exposées plus loin (figure11).

## 2.1.3- Extraction et purification

### a- Extraction

L'extraction de ces différents diterpènes, à l'exception du préleosibirine et du 13-hydroxyballonigrinolide, se fait à partir des feuilles ou des parties aériennes avec de l'acétate d'éthyle. Ensuite est réalisé un lavage avec des solutions aqueuses de carbonate de sodium (10 %) et d'acide chlorhydrique à (1 %). La concentration permet d'obtenir un résidu sec représentant 2,5 % des feuilles (50) - (52).

Quant au préleosibirine et au 13-hydroxyballonigrinolide, leur extraction se fait par l'acétone pour le premier, par le méthanol pour le deuxième et, dans les deux cas, à partir des parties aériennes. On obtient des résidus représentant respectivement 5 % et 3,3 % des parties aériennes (16) - (60).

## **b- Purification**

La purification se fait par chromatographie, sur colonne de silice Merk, des extraits secs obtenus lors de l'étape précédente. L'élution de la colonne avec des mélanges de polarité croissante va permettre d'extraire de façon sélective les différents diterpènes.

Une première colonne est éluee à l'aide d'un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole que l'on utilise dans des proportions différentes afin d'obtenir des polarités croissantes. Ainsi, on obtient respectivement :

- 0,025 % de ballonigrine, des traces de marrubiine puis 0,050 % de ballotinone avec le mélange en proportion 3:7 (50) - (52),
- 0,030 % de ballonigrinone puis 0,060 % de balloténo1 avec le mélange en proportion 5:5 (50)-(52).

Une deuxième colonne est éluee à l'aide d'un mélange d'acétate d'éthyle et de n-hexane en proportion 1:2 : on obtient ainsi 0,0006 % de préleosibirine (16).

Différemment des autres diterpènes, le 13-hydroxyballonigrinolide est purifié en deux temps : une troisième colonne est éluee avec un mélange de chloroforme et de méthanol que l'on utilise dans des proportions différentes, toujours pour obtenir des polarités croissantes. Après avoir mis en évidence par CCM les fractions contenant du 13-hydroxyballonigrinolide, celles-ci sont soumises à une deuxième chromatographie sur colonne en utilisant comme éluant cette fois-ci, un mélange de chloroforme, de méthanol et d'eau en proportion 87:13:1 : on obtient ainsi 0,011 % de 13-hydroxyballonigrinolide (60).

### **2.1.4- Identification (17)-(50)-(52)-(53)-(60)**

L'identification de ces différents composés se fait au moyen :

- du point de fusion
- du pouvoir rotatoire
- de l'analyse élémentaire
- de méthodes spectrales, à savoir
  - ↗ le spectre de masse,
  - ↗ le spectre IR,
  - ↗ le spectre UV,
  - ↗ le spectre RMN au H<sup>1</sup> ou/et au C<sup>13</sup>.

Toutes ces méthodes sont appliquées sur le produit natif mais également, dans certains cas, sur le produit ayant subi des transformations comme une acétylation (balloténo1 (53)), une réduction ( balloténo1 (53), ballotinone (50) et ballonigrine (52)).

A titre d'exemple, nous allons développer les résultats des différentes méthodes d'identification utilisées pour la ballotinone native puis pour la ballotinone réduite (50).

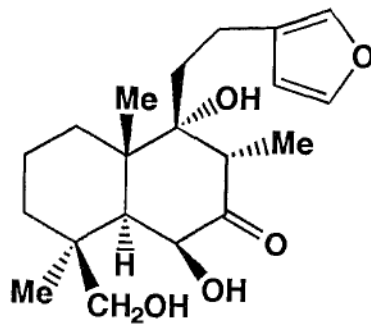
◆ ballotinone :

as prisms, m.p. 194°,  $[\alpha]_D^{20} +57^\circ$  (c 0.3) (Found: C, 68.9; H, 7.7.  $C_{20}H_{26}O_5$  requires C, 69.4; H, 7.5%),  $\nu_{max}$  3 550, 1 760, 1 700, and 875  $cm^{-1}$ ,  $\delta$  0.79 (3 H, s), 1.25 (3 H, d, J 8 Hz), 1.30 (3 H, s), 2.83 (1 H, q, J 8 Hz), 3.05 (1 H, d, J 7 Hz), 4.91 (1 H, d, J 7 Hz), 6.27 (1 H, m), 7.25 (1 H, m,  $W_{1/2}$  4 Hz), and 7.36 (1 H, m,  $W_{1/2}$  3 Hz),  $m/e$  346, 289, 251, 223, 177, 123, 109 (base peak), 95, and 81.

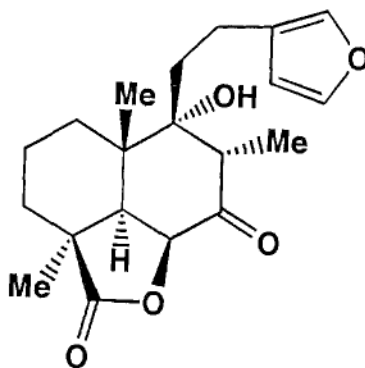
◆ ballotinone réduite

m.p. 169°  
(Found: C 68.7; H, 7.9.  $C_{20}H_{28}O_5$  requires C, 68.9; H, 8.1%),  $\nu_{max}$  3 590, 3 420br, 1 775, and 875  $cm^{-1}$ ,  $\delta$  1.09 (3 H, s), 1.19 (3 H, d, J 7 Hz), 1.32 (3 H, s), 2.31 (1 H, d, J 4 Hz), 3.68 (1 H, q, J 6 and 11 Hz), 4.84 (1 H, q, J 4 and 6 Hz), 6.28br (1 H, s), 7.25br (1 H, s), and 7.36br (1 H, s),  $m/e$  348, 330, 246, 235, 208, 207, 181, 123, 109, 95, and 81.

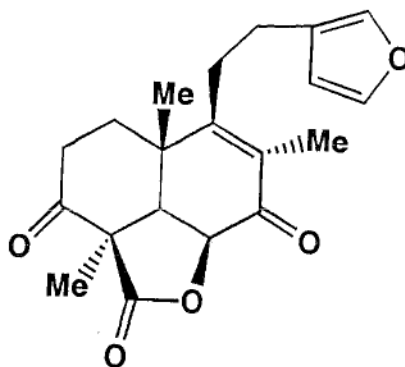
L'identification peut se faire également au moyen de la CCM et de l'HPLC, comme le recommande SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN pour le 13-hydroxyballonigrinolide dans le cadre de la standardisation de *Ballota nigra* (60).



Balloténol

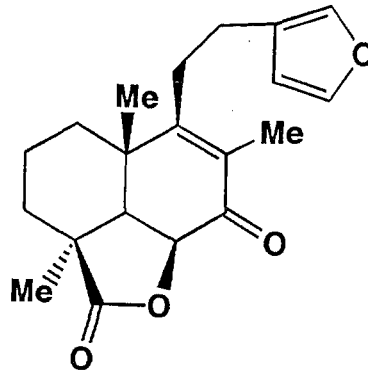


Ballotinone

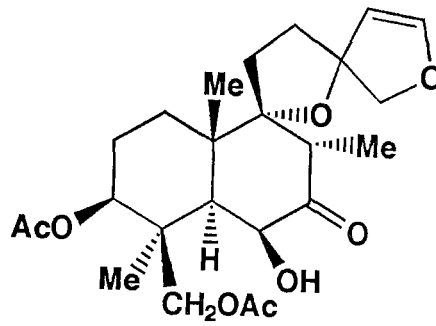


Ballonigrinone

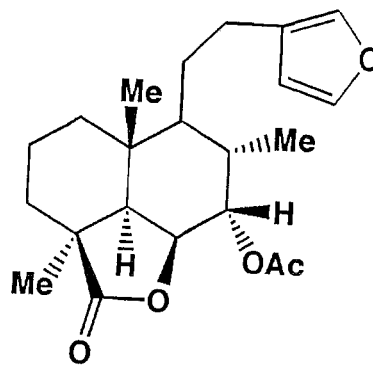




Ballonigrine



Préléosibirine



7-acetoxymarrubiine

**Figure 11** : Structure des diterpènes présents chez *Ballota nigra*

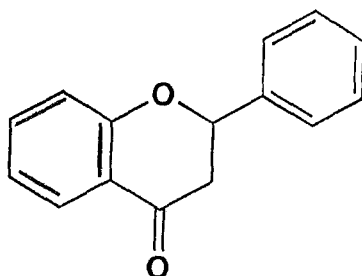
## **2.2- Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes du genre *Ballota* sont identifiés un peu plus tard que les diterpènes, à la fin des années 1980, par plusieurs équipes scientifiques. Celle de ZHUKOV, chercheur à Kiev ainsi que celle de DARBOUR, de la Faculté de Lyon, s'intéressent tout particulièrement à l'espèce *nigra* (22) et (71).

La présence de ces composés flavoniques pourraient être à l'origine des activités spasmolytiques de cette plante médicinale (22).

### **2.2.1- Généralités**

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques dont beaucoup sont des pigments responsables de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits. L'élément commun de ces composés est d'être rattaché à un noyau de base : le phényl-2-chromane (15).



### **2.2.2- Les différents flavonoïdes présents chez *Ballota nigra***

Les différents flavonoïdes répertoriés chez *Ballota nigra* se trouvent quasiment exclusivement sous forme d'hétérosides, excepté un : il s'agit d'un dérivé de la scutellarine, qui se trouve sous forme d'aglycone (71).

#### **a- Sous forme d'aglycone**

- un dérivé de la **scutellarine** : 0,33 % des fleurs (71).

#### **b- Sous forme d' hétérosides (71)**

Dans les travaux, les sucres ne sont pas été identifiés : les hétérosides sont donc répertoriés sous les termes génériques de monosides et de diosides.

#### **♦ Les monosides**

Un seul sucre est greffé sur la génine. Il semblerait que ce soient uniquement,

chez le genre *Ballota*, des O-hétérosides :

- monosides d'acétine : 0,33 % des fleurs,
- monosides de lutéoline : 0,02 % des fleurs,
- monosides d'apigénine : 0,28 % des fleurs. DARBOUR met également en évidence, au niveau des feuilles, la présence d'un monoside d'apigénine et détermine exactement sa structure : il s'agit du glucosyl-7-apigénine (22),
- monosides de chrysoériol : 0,03 % des fleurs.

#### ◆ Les diosides

Il s'agit d'hétérosides chez lesquels deux sucres sont greffés sur l'aglycone.

#### ❖ Les O-hétérosides

- diosides d'apigénine : 0,07 % des fleurs.
- diosides d'acétine : 0,12 % des fleurs.

#### ❖ Les C-hétérosides

A la différence des O-hétérosides, ceux-ci résistent à une hydrolyse acide prolongée.

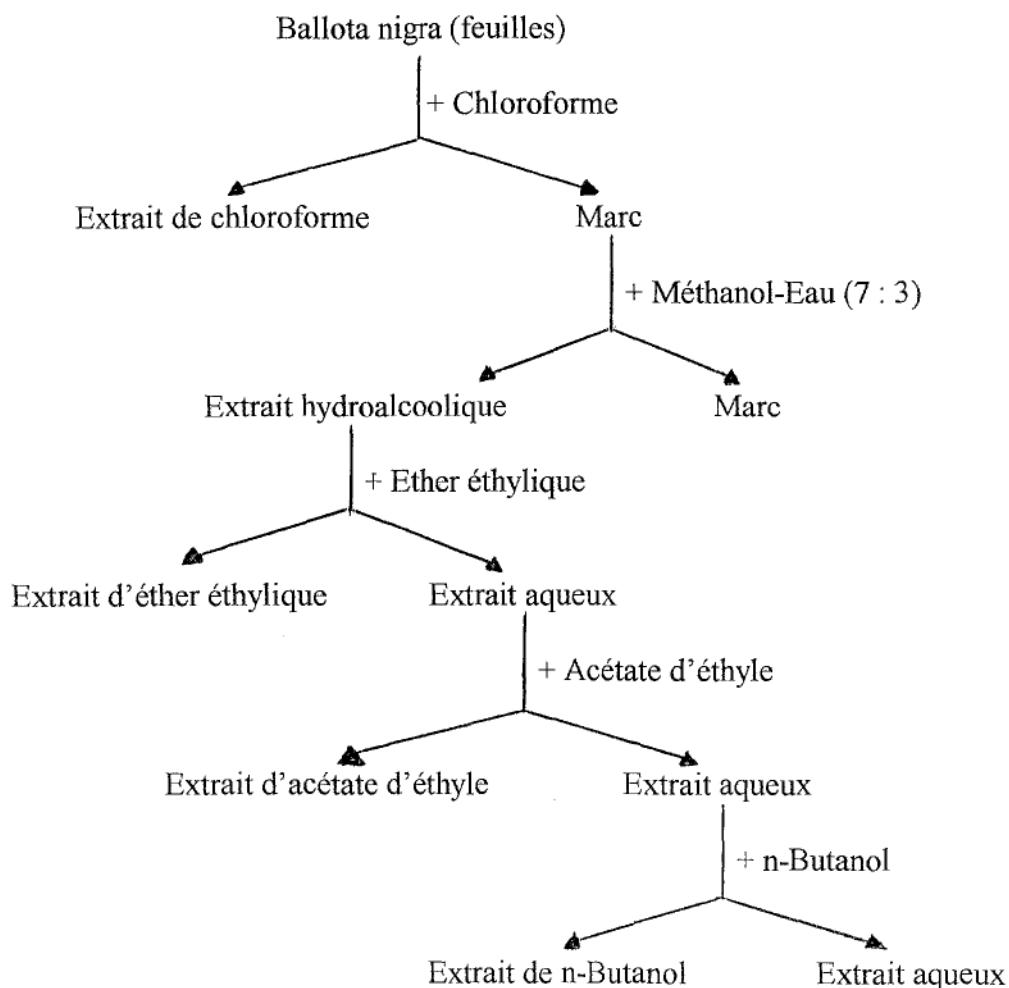
DARBOUR isole chez *Ballota nigra* le di C-glucosyl-6,8-apigénine ou vicénine 2. Sa présence est intéressante sur le plan chimiotaxonomique. C'est en fait la seconde mention de ce composé chez les Lamiacées : effectivement, DARBOUR et son équipe signalent déjà la présence de vicénine 2 dans les tiges feuillées de *Teucrium ramosissimum* (22).

## 2.2.3- Extraction et purification

### a- Extraction

L'extraction des flavonoïdes se fait grâce à l'utilisation de solvants de polarité croissante : sont extraites, tout d'abord, les aglycones avec le chloroforme, puis les monosides avec l'acétate d'éthyle et enfin, pour terminer, les diosides avec le n-butanol.

A titre d'exemple, nous développerons ici l'extraction du glucosyl-7-apigénine et de la vicénine 2 à partir des feuilles de *Ballota nigra* (22).

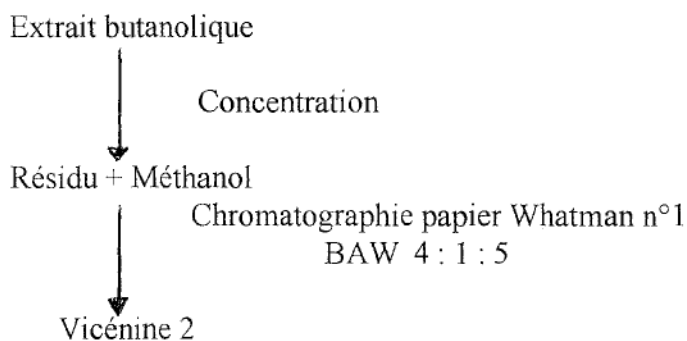
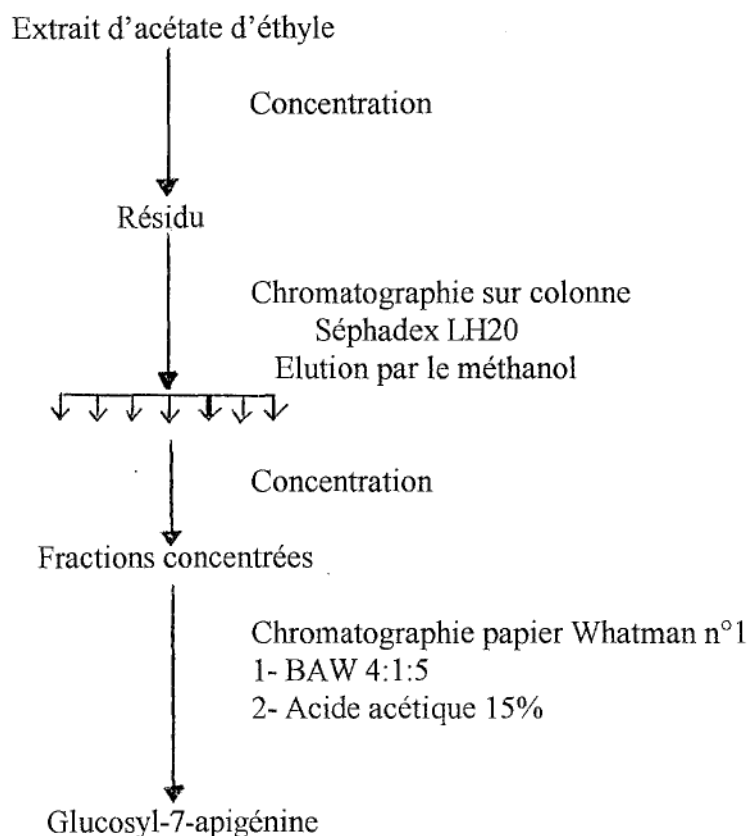


### **b- Purification**

La purification des aglycones se fait, en général, par chromatographie sur colonne de silice avec des solvants de polarité croissante : n-hexane, chloroforme, méthanol (24) ou un mélange de toluène et d'acétone toujours utilisé dans des proportions telles que l'on obtienne des polarités croissantes (9:1, 8:2, et 7:3) (39).

La purification des hétérosides peut se faire par chromatographie sur papier Whatman (24) en utilisant les solvants suivants : acide acétique 30 % et le mélange n-butanol-acide acétique - eau (4:1:5), mais également par chromatographie sur colonne de polyamide, avec comme solvant, le mélange eau - éthanol (9:1, 8:2, 7:3 et 6:4) (39).

Nous développerons ici la purification du glucosyl-7-apigénine et de la vicénine 2 (22).



A noter que BAW est un système de solvant comprenant du butanol, de l'acide acétique et de l'eau.

#### 2.2.4- Identification

L'identification des aglycones se fait par comparaison chromatographique des produits obtenus avec des témoins authentiques, au moyen de la chromatographie sur papier (39) ou au moyen de la chromatographie sur couche mince de silice avec le système BAW (4:1:5) (22).

Pour l'identification des hétérosides, en règle générale il est réalisé au préalable une hydrolyse acide et, seulement après, une identification de l'aglycone et du ou

des sucres libérés (CCM sur silicagel dans le système n-butanol / isopropanol / eau (10:6:2) en présence d'un sucre témoin (22)).

Dans certains cas, lorsqu'il s'agit d'un C-glucosyl, comme la vicénine 2, l'hydrolyse est impossible. Plusieurs CCM, en utilisant différents systèmes de solvants, sont alors effectuées pour un même produit. A titre d'exemple, pour la vicénine 2, trois CCM sont faites par DARBOUR et son équipe :  $R_f = 0,13$  avec BAW;  $R_f = 0,40$  avec de l'acide acétique 15 % et  $R_f = 0,45$  avec eau / éthanol / propanone / acétylacétone (13:3:1:1) (22).

Pour l'identification des flavonoïdes, des méthodes spectrales sont également employées :

- le spectre de masse : d'une part du produit natif et d'autre part des dérivés perméthylés (la vicénine 2 (22), l'apigénine (24)),
- le spectre UV avec différents réactifs (méthanol, acétate de sodium, acétate de sodium + acide borique, chlorure d'aluminium, chlorure d'aluminium + acide chlorhydrique, formiate, etc...) sont utilisés pour un même produit comme c'est le cas pour le glucosyl-7 apigénine(22),
- le spectre IR (39).

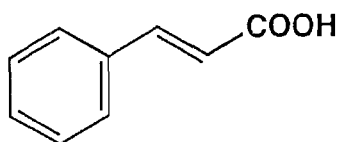
### **2.3- Les phénylpropanoïdes**

Ils peuvent exister sous formes d'acides phénols de la série cinnamique, d'esters d'acides phénols libres ou hétérosidiques.

Les dérivés des acides mono ou disubstitués en 3 et 4 (dihydroxy ou hydroxy et méthoxy) ont une distribution quasi universelle (15).

#### **2.3.1- Acides hydroxycinnamiques**

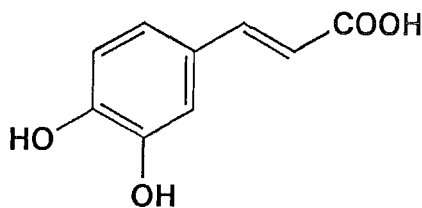
L'acide cinnamique a pour formule (15) :



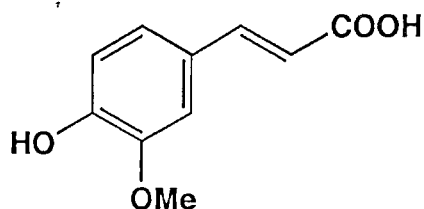
##### **a- Composition**

Des acides hydroxycinnamiques ont été isolés de *Ballota nigra* à partir des parties aériennes par ZHUKOV. Celles-ci contiennent (71) :

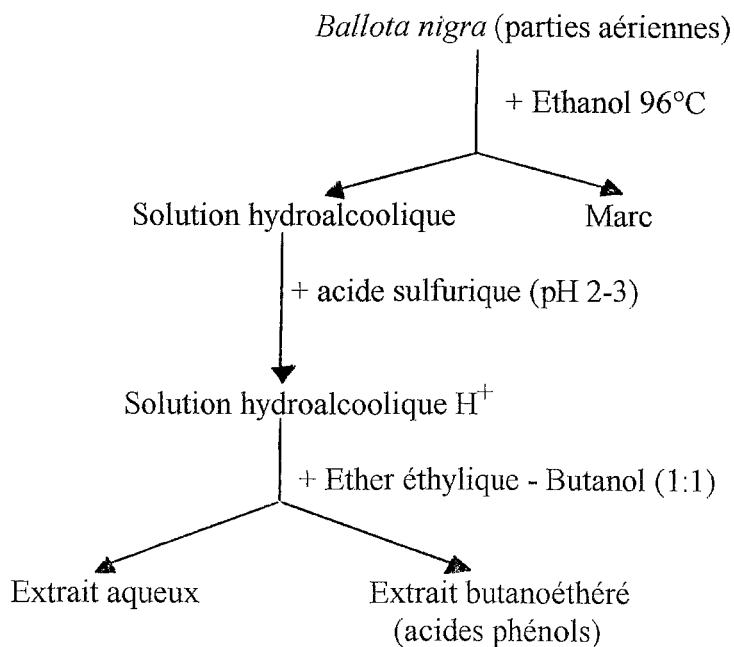
- acide caféique : 0,145 % pendant la floraison,



- acide férulique : 0,153 % pendant la floraison,



### b- Extraction (27)

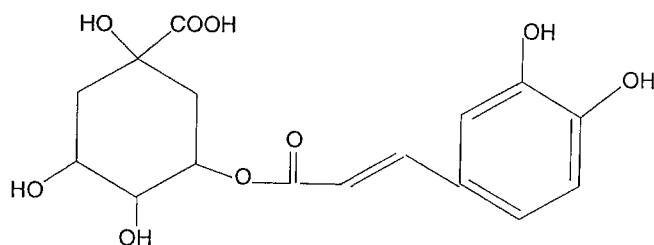


### c-Purification

Elle se fait au moyen de la chromatographie sur colonne d'alumine (26). Nous n'avons pas pu obtenir de précisions quant au solvant utilisé.

### **2.3.2- Ester d'acide quinique**

Les parties aériennes de *Ballota nigra* contiennent 3,850 % d'acide chlorogénique (acide quinique + acide caféique) pendant la floraison.



Pendant d'autres phases de croissance, les acides phénolcarboxyliques sont moins nombreux (71).

Ces dérivés d'acides cinnamiques sont identifiés par leurs propriétés chromatographiques et spectrales (71).

### 2.3.3- Esters hétérosidiques phénylpropanoïques

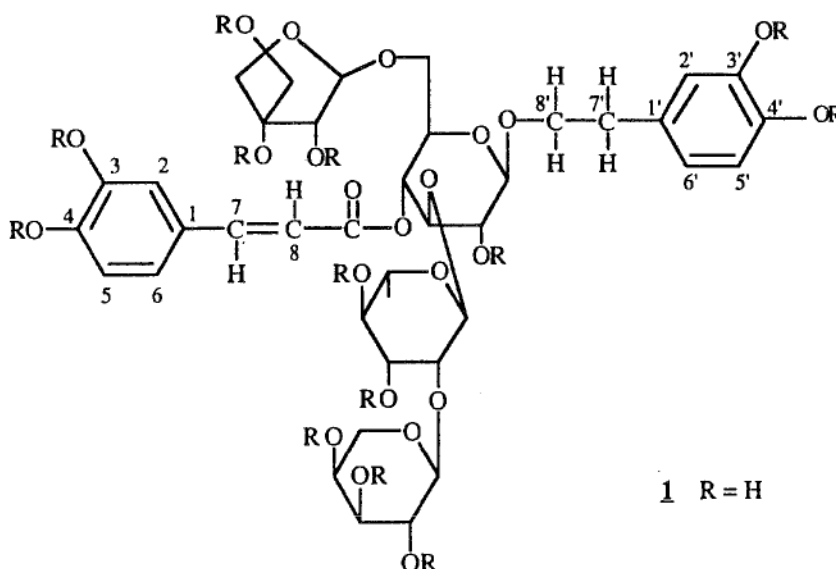
Jusqu'en 1996, seules des études chimiques approfondies portant sur les diterpènes et sur les flavonoïdes de cette plante ont été publiées. En l'absence de toute corrélation entre ces composés peu polaires et l'activité thérapeutique, SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN, du Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie à Lille, ont entrepris l'étude chimique de la fraction hydroalcoolique (59) et (61).

#### a- Composition (59) et (61)

Le fractionnement de l'extrait hydroalcoolique les a conduit à l'isolement de quatre composés polyphénoliques appartenant à la série des esters hétérosidiques phénylpropanoïques. Trois d'entre eux sont des composés connus :

- le verbascoside,
- le forsythoside B,
- l'arénarioside.

Le quatrième dérivé est un produit nouveau pour lequel les auteurs de cette étude proposent le nom de ballotétroside dont la formule est la suivante :



L'hydrolyse du ballotétroside conduit à l'obtention de l'acide caféique du dihydroxyphényléthanol, du glucose, du rahmnose, de l'apiose et de l'arabinose.

Ce produit constitue le premier tétrósíde décrit dans cette série chimique.



Ces résultats revêtent un intérêt phytochimique certain étant donné que des esters hétérosidiques phénylpropanoïques sont décrits pour la première fois d'une espèce du genre *Ballota*.

De plus, ces quatre esters hétérosidiques phénylpropanoïques peuvent justifier l'activité pharmacologique de *Ballota nigra* car PIERRETTI et DI GIANNUARIO, du Laboratoire de Pharmacologie à Rome, démontrent que le mélange de verbascoside et d'un autre ester hétérosidique phénylpropanoïque : l'orobanchoside, tous deux isolés auparavant de *Orobancha hederac*, prolonge de façon significative le sommeil induit par le pentobarbital, réduit l'activité motrice et entraîne un ralentissement de l'EEG chez la souris (42).

Par conséquent de nouvelles études pharmacologiques sont en route dans le Laboratoire de SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN pour étudier l'activité neurosédative de ces esters hétérosidiques chez *Ballota nigra*.

### **b- Extraction**

L'extraction de ces esters hétérosidiques se fait à partir des parties aériennes fleuries avec de l'éthanol. La concentration permet d'obtenir un résidu sec représentant 3,9 % des parties aériennes fleuries (59).

### **c- Purification**

La purification se fait par chromatographie sur colonne de silice et ce, en deux temps. La première élution est réalisée par un mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol que l'on utilise dans des proportions différentes afin d'obtenir des polarités croissantes. Puis, les fractions éluées avec ce mélange en proportion 9:1 et 8:2 sont soumises à un second fractionnement sur colonne de silice permettant ainsi l'obtention de 0,07 % de verbascoside, 0,05 % de forsythoside B et 0,19 % d'arénarioside (59).

### **d- Identification**

Les structures ont été élucidées par comparaison spectroscopique des produits naturels mais également des dérivés peracétylés, avec des témoins authentiques (59) :

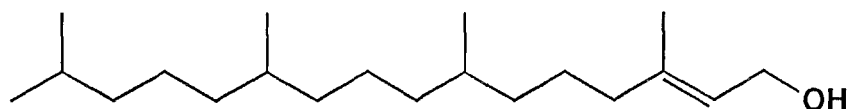
- spectre de masse,
- spectre RMN au  $H^1$  et au  $C^{13}$ .

La position des liaisons interglycosidiques est déterminée par les techniques de COSY  $H^1-H^1$ , de DEPT  $C^{13}$ , d'HETCOR  $H^1-C^{13}$  et de COLOC (59).

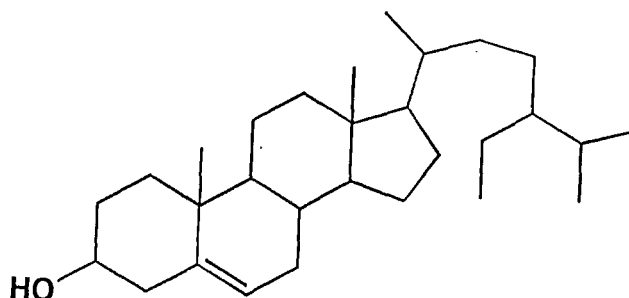
## **2.4- Des composés lipophiles**

Nous retrouvons chez *Ballota nigra* les composés lipophiles suivants :

#### 2.4.1- un alcool gras : le phytol



#### 2.4.2- un stérol : le béta-sitostérol



Le phytol et le béta-sitostérol sont isolés de l'extrait acétonique de *Ballota nigra* par POPA et PASECHNICK (43) : ils représentent successivement 0,04 % à 0,1 % et 0,06% à 0,08 % de cet extrait.

#### 2.4.3- Des acides gras : 14 mg/g de poids sec de nucules

En 1992, MARIN et son équipe, dans le cadre d'une recherche chimiotaxonomique de la tribu des Stachyoïdées (37), étudient la composition en acides gras des nucules des plantes de cette tribu dont entre autre *Ballota nigra*. Ces derniers travaillent à l'institut de Botanique à Belgrade.

##### a- Composition (37)

Les deux catégories majeures d'acides gras végétaux sont les acides gras saturés et les acides gras insaturés, les acides en C16 et en C18 étant largement majoritaires dans les deux séries.

Sont présents chez *Ballota nigra* :

- ◆ Des acides gras saturés, tels que:
  - l'acide hexadécanoïque en C16 qui est l'acide palmitique : 7,7 % des nucules. Celui-ci est de loin le plus largement distribué.
  - l'acide octadécanoïque en C18 qui est l'acide stéarique : 1,7 % des nucules.
- ◆ Des acides gras insaturés :  
Les plus importants sont les acides en C18 :
  - l'acide octadécaénoïque qui est l'acide oléique : 24,9 % des nucules,
  - l'acide octadécadiénoïque qui est l'acide linoléique : 63,9 % des nucules,
  - l'acide octadécatriénoïque : 1,8 % des nucules.

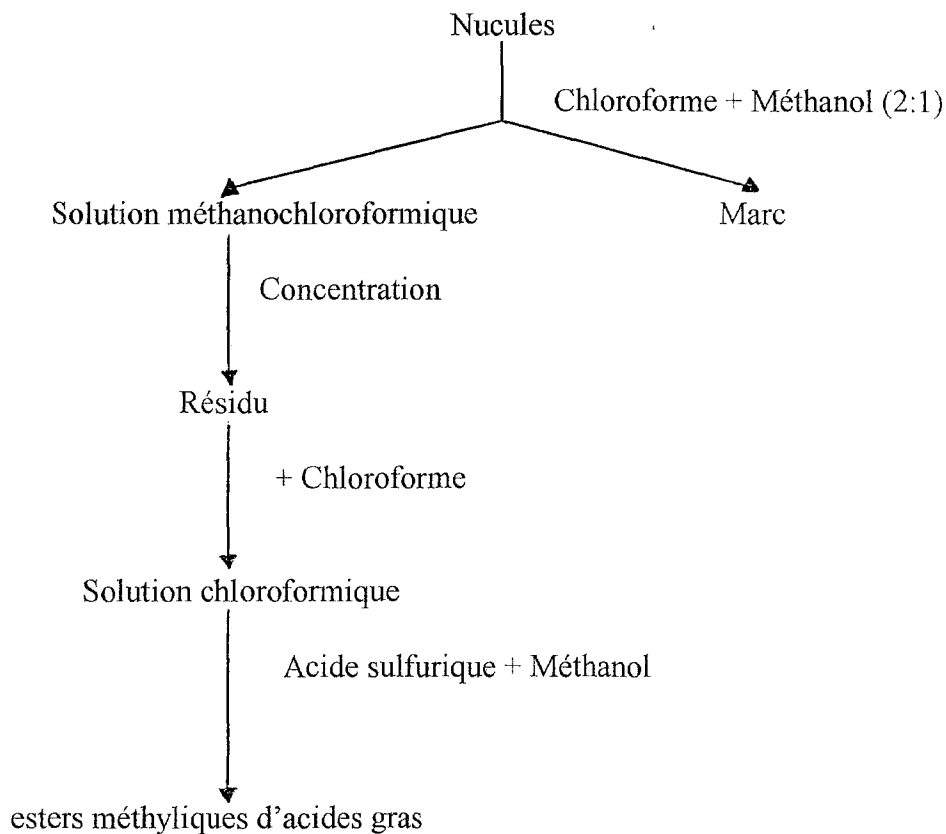
MARIN remarque que dans toutes les espèces de cette tribu, y compris les espèces de *Ballota*, l'acide octadécadiénoïque (18 : 2) est dominant.

Il remarque également que, comme chez *Plomis*, *Galeopsis*, *Léonorus*, *Stashys*, le genre *Ballota* contient de l'acide octadécatriénoïque (18:3) en quantité mineure contrairement aux genres *Physostégia* et *Lamium*.

Par conséquent, chez *Ballota*, le rapport 18:3 / 18:2 est faible, égal à 0,03 %, ce qui est caractéristique de la tribu des Stachyoïdées.

Les résultats de l'étude de MARIN suggèrent que la composition des acides gras ainsi que le rapport 18:3 / 18:2 puissent être utilisés comme des marqueurs taxonomiques chez la tribu des Stachyoïdées : effectivement, beaucoup de taxa ont une grande quantité d'acide octadécadiénoïque. Cependant, certains genres sont vraiment différents et la classification de cette tribu est encore difficile.

### **b- Extraction de ces acides gras (37)**



### **c- Purification des acides gras**

La purification des acides gras se fait par chromatographie en phase gazeuse (Packard 427 avec FID). Leur quantité est déterminée en utilisant un étalon interne : l'heptadécanoate de méthyle (37).

## **B- LES AUTRES ESPECES DU GENRE *BALLOTA***

### **1- Les diterpènes**

Un petit peu plus tard, en 1979-1980, toujours dans le cadre de cette grande étude chimiotaxonomique à propos des Lamiacées, SAVONA et son équipe poursuivent leur recherche sur le genre *Ballota* en étudiant d'autres représentants que l'espèce *nigra* : *Ballota rupestris*, *Ballota hispanica*, *Ballota acetabulosa*, *Ballota lanata*, *Ballota andreuzziana* et *Ballota pseudodictamnus*. Ainsi, découvrent-ils de nouveaux composés diterpéniques chez ce genre (47)-(51)-(52)-(54)-(55)-(56)-(57)-(58).

Puis d'autres chimistes, comme RUSTAIYAN, de l'Institut de Chimie Organique à Berlin (47) et (48), et DAVIES-COLEMAN et MICHAEL, de l'Université des Sciences Pharmaceutiques à Grahamstown (Afrique du sud) (23), mettent en évidence de nouveaux diterpènes chez *Ballota aucheri* et *Ballota africana* dans les années 1990. Ces diterpènes sont, tout comme chez l'espèce *nigra*, de nature furanolabdanique à l'exception du balloauchérolide, de nature furanosécolabdane.

Nous ne parlerons ici que des diterpènes absents de l'espèce *nigra*. Un récapitulatif des différents composés diterpéniques respectivement présents chez chacune des espèces sera présenté un peu plus loin.

#### **1.1- De nouveaux diterpènes chez le genre *Ballota***

- marrubérol : il est extrait des parties aériennes de *Ballota pseudodictamnus* ; présent à l'état de traces chez cette espèce poussant en Lybie, il se trouve en quantité plus importante chez cette même espèce poussant en Grèce près d'Athènes. Le marrubérol a été trouvé auparavant chez *Marrubium vulgare* (famille des Lamiacées) (58),
- 18-hydroxyballonigrine : elle est d'abord isolée de *Ballota acetabulosa* (0,1 % de ses feuilles) (56) puis de *Ballota pseudodictamnus* (0,025 % de ses parties aériennes) (58),
- acide rupestralique : il est trouvé chez *Ballota rupestris* (54),
- hispanolone : est d'abord extrait de *Ballota hispanica* (55) puis de *Ballota andreuzziana* (0,17 % de ses parties aériennes) (57) et pour terminer de *Ballota africana* (2,6 % de ses parties aériennes) (23),
- acide hispanonique : il est isolé de *Ballota hispanica* (0,0009 % de ses parties aériennes) (47),
- acide hispaninique : il est isolé de *Ballota hispanica*,
- hispanoate de méthyle : il est trouvé chez *Ballota hispanica* (35),
- balloauchérolide : il est extrait de *Ballota aucheri* (0,0019 % de ses parties aériennes) (49) ;
- cinq autres diterpènes, auxquels encore aucun nom commun n'a été attribué, sont isolés de *Ballota aucheri* dans les

proportions suivantes : 0,016 % pour le premier, 0,0031 % pour le deuxième, 0,0031 % pour le troisième, 0,0016 % pour le quatrième, 0,00063 % pour la forme épimère du quatrième et 0,00063 % pour le cinquième (49).

Les structures de ces différents diterpènes seront exposées plus loin (figure11).

## 1.2- Extraction et purification

### 1.2.1- Extraction

Produits	Extraction
- 18-hydroxyballonigrine	Elle est identique à celle utilisée pour isoler la préleosibirine si ce n'est qu'après l'extraction des feuilles à l'acétone, un lavage au carbonate de sodium (10%) et à l'acide chlorhydrique (1%) est réalisé en plus (16)-(56).
- hispanolone - acides hispanonique et hispaninique	Extraction de la plante à l'acétone. L'extrait acétonique est lavé par l'acétate d'éthyle. Les solutions d'acétate d'éthyle lavées à l'eau sont concentrées et le résidu est chromatographié (47).
- balloauchérolide - 5 autres diterpènes	Extraction à partir des parties aériennes par un mélange d'éther éthylique et de méthanol en proportion 1:1 (49).

**Tableau 1 :** Extraction des diterpènes présents chez les autres espèces du genre *Ballota*

### 1.2.2- Purification

Elle se fait également sur colonne de silice avec différents mélanges d'éluants en fonction des diterpènes que nous voulons isoler.

Produits	Mélanges d'éluants	Proportion de ces mélanges	Quantité purifiée en %	Référence
18-hydroxyballonigrine	acétate d'éthyle-éther de pétrole	3 : 7	0,1 %	(56)
Hispanolone	acétate d'éthyle-éther de pétrole	1 : 9	0,2 %	(47)
Acide hispanonique	acétate d'éthyle-éther de pétrole	2 : 3	0,0009 %	(47)
Acide hispaninique	acétate d'éthyle-éther de pétrole	2 : 3	x %	(47)

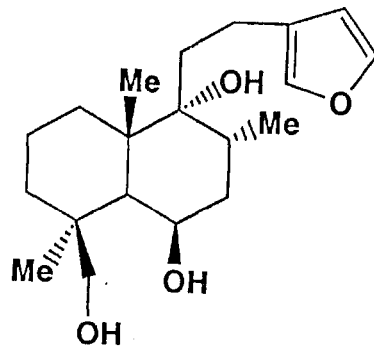
**Tableau 2 :** Purification des diterpènes présents chez les autres espèces du genre *Ballota*

La purification du balloauchérolide et des cinq autres diterpènes ne se fait pas sur colonne de silice.

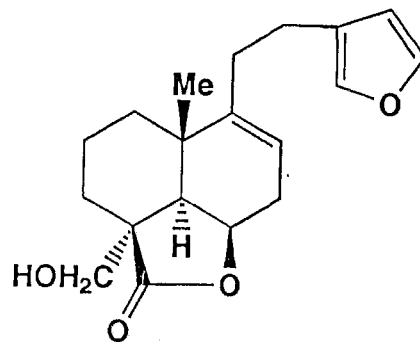
Effectivement, le balloauchérolide est purifié au moyen de l'HPLC en utilisant comme solvant un mélange de méthanol et d'eau en proportion 9:1.

Les cinq autres diterpènes sont purifiés soit au moyen de l'HPLC avec le même solvant que précédemment mais en proportion différente, soit au moyen de la CCM avec comme solvant un mélange d'éther éthylique et de pétrole en proportion 1:1 (49).

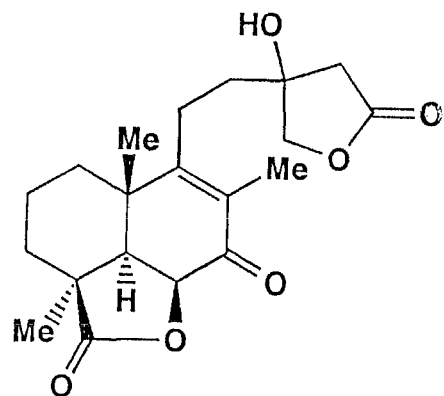
L'identification de ces différents composés se fait avec les mêmes méthodes que celles utilisées pour l'espèce *nigra*. De la même façon, ces méthodes peuvent s'appliquer sur le produit natif ainsi que sur le produit transformé : produit réduit (hispanolone (47)), produit halogéné (18-hydroxyballonigrine (56)), etc...



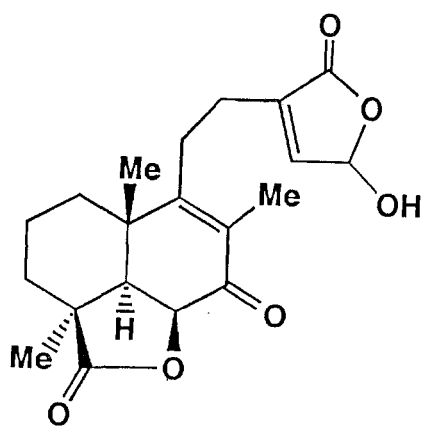
Marrubénol



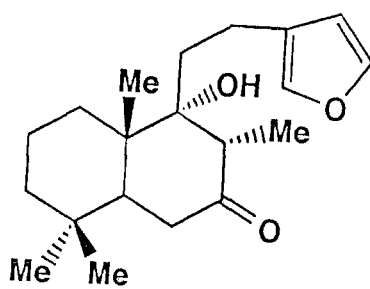
18-hydroxyballonigrine



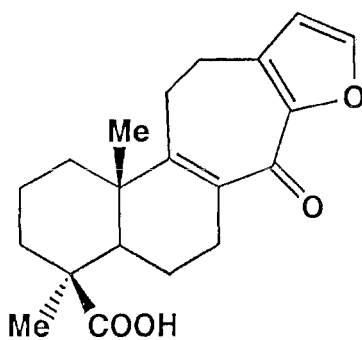
13 hydroxyballonigrinolide



Acide rupestralique

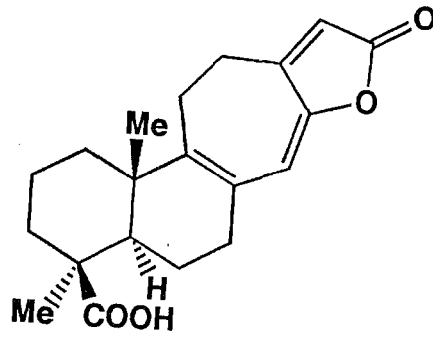


Hispanolone

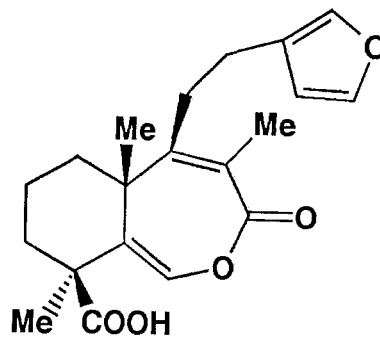


acide hispanonique





Acide hispanique



Balloaucherolide

**Figure 12** : Structure des diterpènes présents chez les autres espèces du genre *Ballota*

	<b>Ballota nigra</b> (feuilles)	<b>Ballota rupes-tris</b> (feuilles)	<b>Ballota hispani-ca</b> (fleurs +feuilles)	<b>Ballota aceta-bulosa</b> (feuilles)	<b>Ballota lanata</b> (feuilles)	<b>Ballota andreuz-ziana</b> (parties aériennes)	<b>Ballota pseudo-dictamnus</b> (parties aériennes)	<b>Ballota aucheri</b> (parties aériennes)	<b>Ballota africana</b> (feuilles + tiges)
<b><u>Diterpènes de nature furano-labdanique :</u></b>									
- Marrubénol							x (58)		
- 7- acétoxy-marrubiine	x (52)								
- Balloténol	x (53)								
- Ballotinone	x (50)							x (48)	
- Ballonigrine	x (51)	x (51)(52)			x (57)		x (58)		
- Ballonigrinone		x (51)(52)							
- 18-hydroxy-ballonigrine				x (56)			x (58)		
- 13-hydroxy-ballonigrinolide	x (60)				x (57)				
- Acide rupestralique		x (54)							
- Hispanolone			x (47),(55)			x (58)			x (23)
- Acide hispanonique			x (47)						
- Acide hispaninique			x (47)						
- Hispanoate de méthyle			x (35)						
<b><u>Diterpènes de nature préfurano-labdanique :</u></b>									
- Préléosibirine	x (16)								
<b><u>Diterpènes de nature furano-sécolabdane :</u></b>									
- Balloauchérolide								x (49)	

**Tableau 3 : Récapitulatif de la répartition des diterpènes dans le genre Ballota**

## **2- Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes des autres espèces du genre *Ballota*, contrairement aux diterpènes, sont étudiés à peu près à la même époque que ceux de l'espèce *nigra* : à la fin des années 80, FERRERES et MERICLI, travaillant respectivement au Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de Segura en Espagne et au Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie d'Istanbul, s'intéressent à *Ballota hirsuta* (1986) (24) puis à *Ballota acetabulosa* (1989) (39).

Tout comme pour les diterpènes, nous ne parlerons ici que des flavonoïdes absents de l'espèce *Ballota nigra*. Un récapitulatif des différents flavonoïdes respectivement présent chez chacune des espèces sera présenté un peu plus loin.

### **2.1- De nouveaux flavonoïdes rencontrés chez le genre** **Ballota**

#### **2.1.1- Les aglycones**

Chez le genre *Ballota*, nous trouvons essentiellement des flavones :

- apigénine : trouvée chez *Ballota hirsuta* (24) et chez *Ballota acetabulosa* (39),
- lutéoline : isolée de chez *Ballota hirsuta* (24),
- genkwanine : extraite de *Ballota hirsuta* (24),
- kumatakénine : isolée de *Ballota hirsuta* (24),
- isokaempféride : trouvée chez *Ballota hirsuta* (24),

Le kumatakénine et l'isokaempféride sont des flavones qui n'ont été trouvées auparavant que seulement chez *Salvia glutinosa*.

- ladaneine : extraite de *Ballota hirsuta* (24),
- nuchensine : isolée de *Ballota hirsuta*. Elle n'a auparavant été trouvée que seulement chez *Teucrium nuchense* (24).
- salvigénine : trouvée chez *Ballota hirsuta* (24).

Les 6-hydroxyflavonoïdes (telles la ladaneine et la nuchenseine) et les 6-méthoxyflavonoïdes (telle la salvigénine) constituent les marqueurs chimiotaxonomiques les plus caractéristiques chez les Lamiacées. Les 6-hydroxyflavonoïdes et les 6-méthoxyflavonoïdes distinguent *Ballota* d'un genre étroitement voisin du point de vue taxonomique : il s'agit du genre *Phlomis*, auquel il manque ces composés substitués en 6 (24).

- 7,4-di-o-méthyl apigénine : isolée de *Ballota pseudodictamnus* (58);
- 4',7 diméthyl scutellareine : extrait de *Ballota acetabulosa* (0,4 % des parties aériennes). Il s'agit d'un composé rare qui semble être le composé principal de la plante (39).

Les structures de ces différents flavonoïdes seront exposées plus loin (figure13).

## 2.1.2- Les hétérosides

### ◆ Les monosides

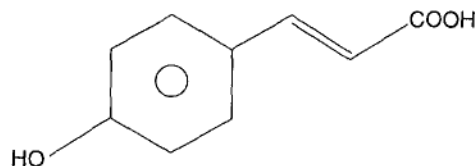
Il en existe deux catégories :

#### ❖ Non acylés

Parmi les flavonoïdes présents chez les autres espèces du genre *Ballota* que l'espèce *nigra*, un seul seulement n'a pas été retrouvé chez cette dernière : il s'agit du glucosyl-3-quercétine. A l'heure actuelle, celui-ci n'a été isolé que chez *Ballota hirsuta* (24).

#### ❖ Acylés

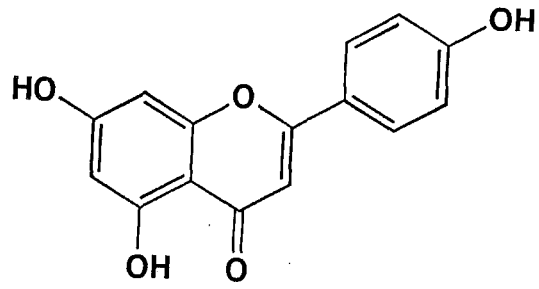
Ces monosides sont acylés par l'acide paracoumarique. L'acide coumarique présente la structure suivante :



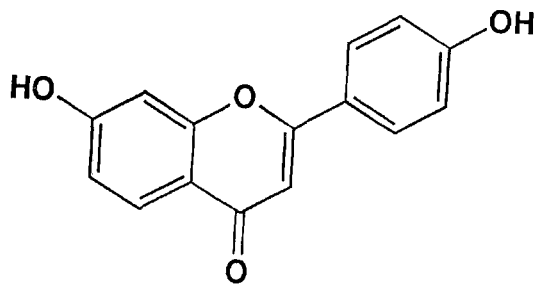
Chez *Ballota*, seulement 3 flavonoïdes p-coumaroyl glucosides sont isolés : ils le sont de l'espèce *hirsuta* (64). Il s'agit de :

- apigénine-7-(p-coumaroyl)-glucoside,
- lutéoline-7-(p-coumaroyl)-glucoside,
- chrysoériole-7-(p-coumaroyl)-glucoside.

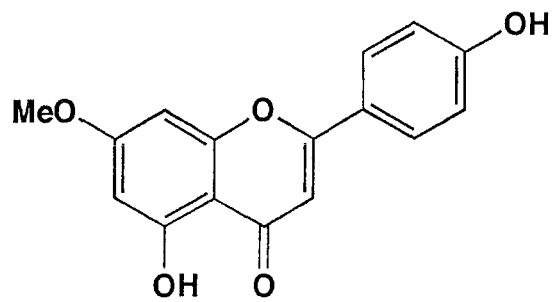
Les méthodes d'extraction, de purification, d'identification et de détermination de ces flavonoïdes sont identiques à celles des flavonoïdes de *Ballota nigra* (24)-(39).



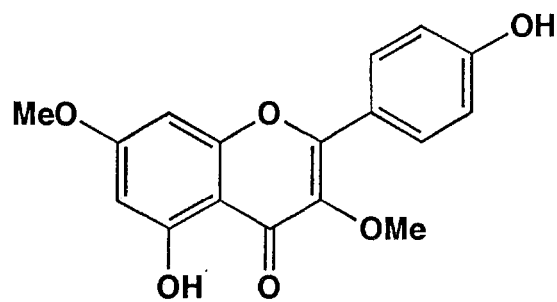
Apigénine



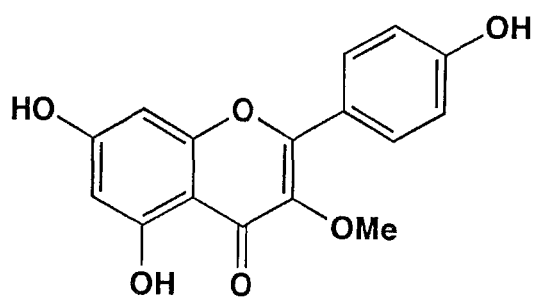
Lutéoline



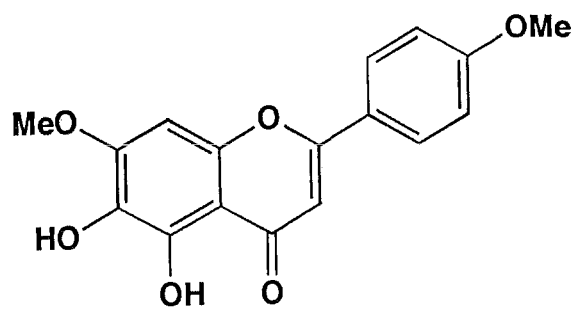
Genkwanine



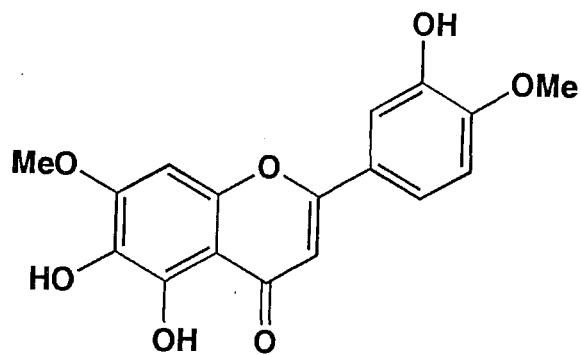
Kumatakénine



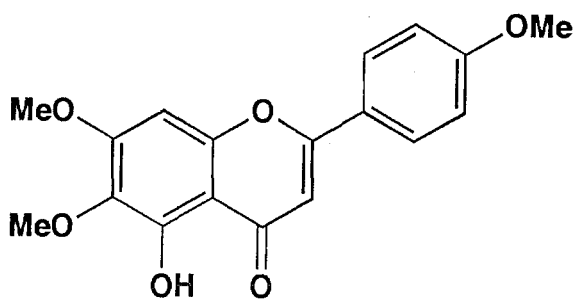
Isokaempféride



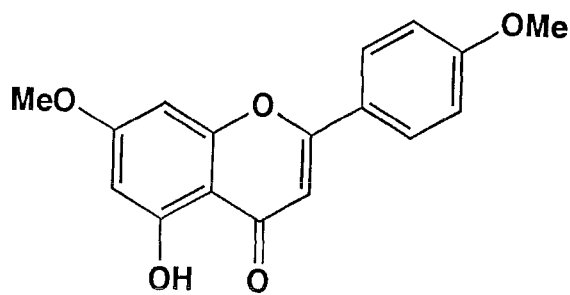
Ladaneine



Nuchensine



Salvigénine



7,4'-di-O-méthylapigénine

**Figure 13** : Structure des flavonoïdes présents chez les autres espèces du genre *Ballota*

	<b>Ballota nigra</b> (fleurs + feuilles)	<b>Ballota hispanica</b> (parties aériennes)	<b>Ballota acetabulosa</b> (parties aériennes)	<b>Ballota pseudodictamnus</b> (parties aériennes)
<b>Flavonoïdes aglycones :</b>				
- apigénine		x (24)	x (39)	
- lutéoline		x (24)		
- genkwanine		x (24)		
- kumatakénine		x (24)		
- isokaempféride		x (24)		
- ladaneine		x (24)		
- nuchensine		x (24)		
- salvigénine		x (24)		
- 7,4'-di-O-méthylapigénine				x (58)
- éther de la 4',7-diméthylscutellareine			x (39)	
<b>Flavonoïdes hétérosides :</b>				
<i>1- chaîne sucrée non acylée :</i>				
- monosides d'acacétine	x (71)		x (39)	
- monosides de lutéoline	x (71)	x (24)	x (39)	
- monosides d'apigénine	x (71),(22)	x (24)	x (39)	
- monosides de chrysoériol	x (71)		x (39)	
- monosides de quercétine		x (24)		
- biosides d'apigénine	x (71)			
- biosides d'acacétine	x (71)	x (24)		
- vicénine 2	x (22)			
<i>2- chaîne sucrée acylée :</i>				
- 7-(p-coumaroyl)-glucosides d'apigénine		x (24),(65)		
- 7-(p-coumaroyl)-glucosides de lutéoline		x (65)		
- 7-(p-coumaroyl)-glucosides de chrysoériol		x (65)		

**Tableau 5 : Récapitulatif de la distribution des flavonoïdes  
dans le genre Ballota**



CHAPITRE IV :

ETUDE  
PHARMACOLOGIQUE

Seule l'espèce *Ballota nigra* a été étudiée du point de vue pharmacologique.

Les premiers travaux pharmacologiques publiés sur *Ballota nigra*, communément appelée ballote, ont été réalisés vers 1934 par BALANSARD, qui après avoir procédé à une analyse des constituants chimiques de la plante, a recherché expérimentalement les activités que laissait présager la nature de ces constituants sur l'appareil cardiovasculaire, sur la respiration, sur le tonus intestinal et sur la diurèse.

Par la suite, d'autres travaux ont complété ces études, en recherchant sur l'animal, des effets myorelaxants, psycholeptiques et spasmolytiques.

Nous allons donc, dans la suite de ce chapitre, faire une synthèse de l'ensemble des travaux pharmacologiques réalisés à ce jour, en commençant, tout d'abord, par les travaux de BALANSARD (4).

## **A- LES PREMIERS TRAVAUX PHARMACOLOGIQUES**

BALANSARD, dans sa thèse, a expérimenté l'extrait aqueux de ballote, ainsi que l'alcoolature de cette plante sur le chien chloralosé (4).

### **1- Extrait aqueux**

#### **- Action sur l'appareil cardiovasculaire :**

Injecté chez un chien par voie intraveineuse, l'extrait aqueux de ballote manifeste une action nettement cholinique.

A la dose de 25 mg/kg, on constate une hypotension artérielle brusque et passagère s'accompagnant de bradycardie. Cette phase d'hypotension résulte d'une excitation vagale passagère qui provoque l'arrêt momentané de l'oreillette, cette hypotension cholinique étant suivie d'une hypertension compensatrice en majeure partie sous la dépendance d'une décharge d'adrénaline.

Lorsque l'on fait une injection plus forte, soit 50 mg/kg d'extrait par exemple, l'hypotension se prolonge très longtemps et la pression artérielle ne remonte à sa valeur normale que très lentement.

La saponine, isolée par BALANSARD, renforce l'action vagale de la choline ; il semblerait donc que la saponine ait une action sensibilisante nette sur les effets choliniques de la plante.

#### **- Action sur la respiration :**

Même pour des doses d'extraits relativement faibles n'amenant qu'une chute de pression très légère, l'injection entraîne une excitation respiratoire, qui se traduit par des

inspirations beaucoup plus profondes et rapprochées et qui s'atténuent d'ailleurs rapidement. Cette polypnée est due à l'hyperadrénalinémie.

### **- Action sur l'intestin :**

A la suite d'une injection intraveineuse de 25 ou 50 mg/kg, on observe souvent une chute brusque du tonus intestinal avec arrêt momentané des mouvements circulaires de l'intestin. Cette inhibition dure pendant la chute de pression et toute la durée de l'hypertension. Ce phénomène s'explique par l'hyperadrénalinémie consécutive à l'injection d'extrait de ballote.

### **- Action sur la diurèse :**

D'un certain nombre d'expériences analogues et donnant des résultats comparables, BALANSARD a conclu que l'extrait injecté ne possédait pas d'action diurétique ou n'avait qu'une action très faible.

## **2- Alcoolature de ballote**

L'alcoolature de feuilles, utilisée en thérapeutique, a été essayée dans les mêmes conditions que l'extrait, c'est à dire sur des chiens chloralosés et par voie intraveineuse.

Les modifications cardiovasculaires sont dans l'ensemble assez semblables à celles observées avec l'extrait si ce n'est que l'hypotension est en général plus prolongée avec l'alcoolature.

L'inhibition et la chute du tonus intestinal qui sont constantes avec l'extrait, ne s'observent presque jamais avec l'alcoolature.

L'alcoolature est plus riche en choline, ne contient que des traces de nitrate, de potassium et pas de triméthylamine.

## **B- ETUDES PHARMACOLOGIQUES ULTERIEURES SUR LE RAT ET LA SOURIS**

### **1- Recherche d'un effet myorelaxant : test de traction**

Cette recherche a été effectuée par SERRANO, du Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Montpellier, en appliquant le test de COURVOISIER ET JULOU (6)-(19)-(40).

## **1.1- Principe**

Un effet myorelaxant est recherché ici par le test de traction. Ce test, qui étudie chez la souris les réflexes d'équilibration et le tonus musculaire, permet de mettre en évidence l'effet myorelaxant d'un produit.

La recherche d'un éventuel effet relaxant est nécessaire car l'activité anxiolytique recherchée dans les tests de screening des psychotropes (tests des quatre plaques, test de la planche à trous) pourrait être masquée par l'immobilité forcée de l'animal.

## **1.2- Matériel et méthode**

### **a- Choix des animaux**

Cette étude est réalisée avec des souris mâles de souche EOPS (10 par lot) provenant du centre d'élevage de Montpellier. En début d'essai, les animaux pèsent en moyenne 24 grammes. Ils sont maintenus en observation pendant 4 jours avant le début des essais, période pendant laquelle ils sont répartis par cages de 10, reçoivent nourriture et eau de boisson *ad libitum*, et sont soumis à une température ambiante comprise entre 21 et 23 °C et à un cycle jour/obscurité de 12 heures.

### **b- Produits et doses utilisés**

Cette étude est réalisée en utilisant un extrait hydroalcoolique de ballote NATURA MEDICA mis en solution dans l'eau pour préparation injectable, aux doses de 200 et 400 mg/kg.

### **c- Protocole expérimental**

On vérifie préalablement que tous les animaux aient bien un réflexe normal. Pour cela, les souris sont saisies par la peau du dos et la queue et sont présentées au fil de traction par les pattes antérieures. En un temps inférieur à 5 secondes, l'animal normal effectue un rétablissement.

Les souris sont traitées, par voie intrapéritonéale, 30 minutes avant le test. Un lot témoin reçoit l'excipient seul.

Les animaux sont ensuite présentés, selon le protocole énoncé ci-dessus, à un fil de traction de 2 mm de diamètre, de 25 cm de longueur, et tendu à 30 cm de hauteur.

### **d- Expression des résultats :**

On calcule le pourcentage des animaux ayant une réaction négative.

### **1.3- Résultats**

L'administration de ballote NATURA MEDICA, aux doses de 200 et 400 mg/kg, n'entraîne aucune altération du réflexe d'agrippement : le rétablissement s'effectue en un temps inférieur à 5 secondes.

### **1.4- Conclusion**

L'extrait de ballote NATURA MEDICA étudié ici ne présente pas, dans ces conditions expérimentales, d'effet myorelaxant aux doses de 200 et 400 mg/kg.

Cette recherche d'effet myorelaxant a été faite en préalable de celle d'un effet psychotrope. L'absence de myorelaxation, observée ici, permet de valider les tests de comportement en éliminant un biais que constituerait l'immobilisation forcée de l'animal.

## **2- Recherche d'un effet psycholeptique**

Une partie des études qui vont suivre utilisent des tests d'évaluation de l'activité anxiolytique d'un produit. Ils se basent sur le principe que les anxiolytiques libèrent les comportements inhibés par la peur et l'anxiété.

Cette anxiété peut-être provoquée en exposant l'animal à un nouvel environnement, à un nouveau contexte social ou à une situation dans laquelle l'animal subit des stimulations aversives (punitions) (45).

Dans les essais réalisés ici, les propriétés psycholeptiques ont été recherchées en expérimentation animale par le test de potentialisation du sommeil, le test de la planche à trous, le test de l'open-field et le test des quatre plaques (40), par les techniques d'activographie et d'actimétrie (31) - (45).

### **2.1- Test de la potentialisation du sommeil**

Trois essais ont été réalisés, selon la méthode de WINTER (69), pour mettre en évidence cet effet : le premier, réalisé par JOANNY (31), le deuxième par PORTE (45), reprenant exactement le même protocole et confirmant de ce fait les premiers résultats, le troisième, le plus récent, réalisé par SERRANO.

Etant donné que ces 3 essais aboutissent exactement à la même conclusion finale, même si le protocole n'est pas tout à fait identique pour tous, nous n'exposerons ici que l'essai réalisé par SERRANO (40) - (62).

#### **2.1.1- Principe**

Il est le même pour les 3 études.

Le test de potentialisation du sommeil, utilisé dans l'étude des psycholeptiques, est un test qui permet de mesurer l'influence d'un médicament sur la durée du sommeil induit par un hypnotique (10).

Chez le rat, le sommeil induit par un hypnotique peut-être prolongé sous l'effet d'un prétraitement par neuroleptique ou tranquillisant (40). Dans les 3 essais, cette prémédication est faite avec de l'extrait hydroalcoolique de *Ballota nigra*.

## **2.1.2- Matériel et méthode**

### **a- Choix des animaux**

Cette étude est réalisée sur des rats mâles, de souche Wistar, d'un poids moyen de 200 grammes, provenant du centre d'élevage de Montpellier.

Les animaux sont maintenus en observation pendant 4 jours avant le début des essais. Pendant cette période, ils sont répartis par cages de 5, reçoivent nourriture et eau de boisson *ad libitum*, et sont soumis à une température ambiante comprise entre 21 et 23 °C et à un cycle jour/obscurité de 12 heures.

### **b- Produits et doses utilisés**

Cette étude est réalisée en utilisant un extrait hydroalcoolique lyophilisé de ballote, préparé par les Laboratoires NATURA MEDICA, en solution dans de l'eau pour préparation injectable, aux doses de 100 et 200 mg/kg, par voie intrapéritonéale.

### **c- Protocole expérimental**

Les rats (10 par lot) sont mis à jeûn de nourriture 16 heures avant le test.

Le jour du test, après avoir été pesés, les rats sont traités préventivement avec les substances à l'essai administrées par voie intrapéritonéale, les animaux témoins ne recevant que le solvant.

La dose d'hypnotique engendrant une narcose de 40 minutes environ est déterminée chez les animaux témoins avant chaque essai. Cette détermination préalable est nécessaire car il existe de nombreuses variations en fonction de la saison, du sexe et de la souche animale utilisée.

Durant l'expérience, les animaux sont regroupés par 5 dans des boîtes dont le fond est recouvert de coton. Un chauffage par lampe évite tout refroidissement.

L'apparition du sommeil est évaluée par la disparition du réflexe de redressement (righting reflex) : l'animal placé sur le dos est incapable de se rétablir sur ses pattes. Le retour du réflexe de redressement marque le réveil de la souris.

Le paramètre évalué est le temps de sommeil, c'est à dire l'intervalle de temps compris entre la disparition et la réapparition du réflexe de redressement.

#### **d- Expression des résultats**

Le temps de sommeil des animaux traités et des animaux témoins est comparé par les tests statistiques t de Student et F de Snedecor.

Le calcul des moyennes de chacun de ces 2 paramètres permet de calculer le pourcentage d'allongement du sommeil des animaux traités par rapport aux animaux témoins.

#### **2.1.3- Résultats**

Les résultats sont consignés dans le tableau et le graphique reproduits aux pages suivantes (40).

#### **2.1.4- Conclusion**

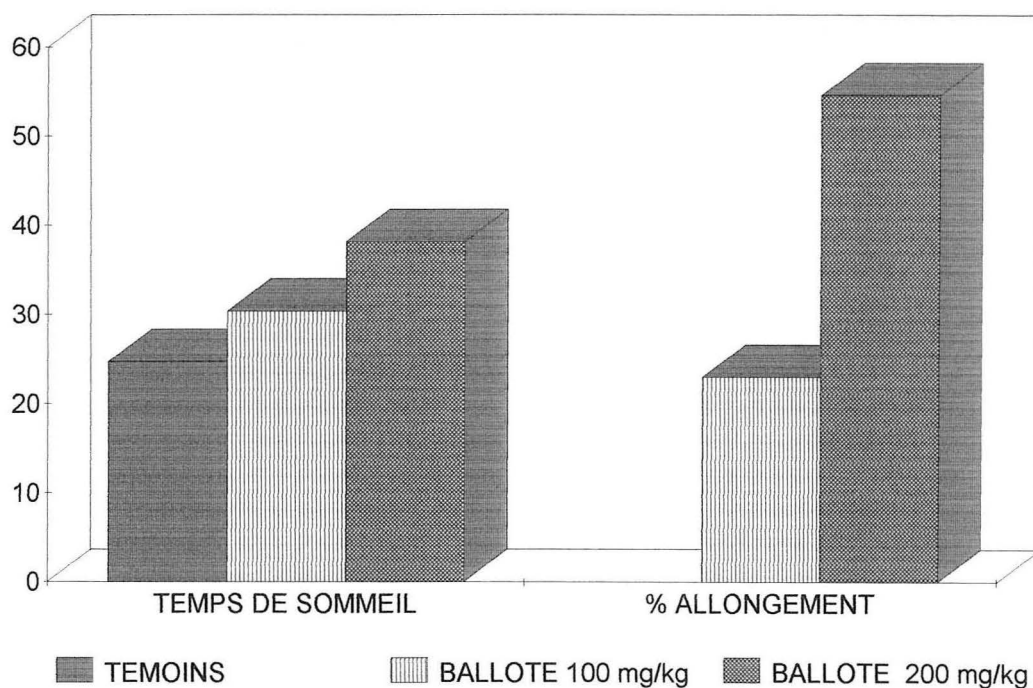
Ces résultats montrent de façon significative que, dans ces conditions expérimentales, la ballote, à la dose de 200 mg/kg provoque un allongement significatif du temps de sommeil. Elle potentialise donc la narcose induite par des hypnotiques barbituriques.

### Test de la potentialisation du sommeil (40)

	Temps de sommeil	% allongement du sommeil
<b>Témoins</b>	2468 (+) ou (-) 516	*****
<b>Ballote 100 mg/kg</b>	3036 (+) ou (-) 1061	23
<b>Ballote 200 mg/kg</b>	3816 (+) ou (-) 939*	54,6*

\* Différence significative par rapport aux témoins

**Tableau 5 :** Temps (en secondes) et allongement (en %) du sommeil



**Figure 14 :** Temps (en secondes) et allongement (en %) du sommeil



## **2.2- Test de “la planche à trous” : étude de la mobilité et de la curiosité chez la souris**

Ce test a été réalisé au Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Montpellier, sous les directives du professeur SERRANO (63).

### **2.2.1- Principe**

On étudie dans ce test, le comportement de souris “naïves” en évaluant leur mobilité et leur curiosité à l’aide d’une planche à trous automatisée.

L’administration préalable de substances psycholeptiques peut modifier ces 2 paramètres.

### **2.2.2- Matériel et méthode**

#### **a- Choix des animaux :**

Cette étude est réalisée sur des souris mâles, de souche EOPS provenant du centre d’élevage de Montpellier. Ces animaux, d’un poids moyen de 20 grammes, sont maintenus en observation pendant 4 jours avant le début des essais.

#### **b- Protocole expérimental :**

Pendant la période d’observation, les animaux sont répartis en groupe de 10 par cage, reçoivent nourriture et eau de boisson *ad libitum*, et sont soumis à une température ambiante comprise entre 21 et 23 °C et à un cycle jour/obscurité de 12 heures. Les animaux sont mis à jeûn 16 heures avant le test. Le jour du test, après avoir été pesées, les souris sont traitées par voie intrapéritonéale 30 minutes avant d’être déposées sur la planche, et ce, pour une période de 5 minutes. Le lot témoin reçoit l’excipient seul.

#### **c- Matériel utilisé :**

Ce test est réalisé en utilisant une “planche à trous” automatisée APELAB, dont le plateau est percé de 16 trous équidistants. Ces trous sont équipés de cellules photoélectriques reliées à un compteur d’impulsions permettant de comptabiliser le nombre d’explorations effectuées par la souris, et donc, d’évaluer le paramètre curiosité.

Le plateau est, d’autre part, divisé par deux faisceaux photoélectriques également reliés à un compteur d’impulsions permettant d’évaluer les déplacements de la souris, et donc, le paramètre mobilité.

#### **d- Produits et doses utilisés**

Un extrait lyophilisé de ballote NATURA MEDICA, en solution dans de l'eau pour préparation injectable, aux doses de 100 et 400 mg/kg, est utilisé pour cette étude.

#### **e- Expression des résultats**

Le nombre de trous explorés, ainsi que le nombre de déplacements des animaux traités et des animaux témoins, sont comparés par les tests t de Student et F de Snedecor.

Le calcul des moyennes de chacun de ces 2 paramètres permet d'autre part d'évaluer un pourcentage de diminution de la curiosité et de la mobilité des animaux traités, par rapport aux animaux témoins.

### **2.2.3- Résultats**

Les résultats de cette étude sont consignés dans les tableaux et les graphiques reproduits aux pages suivantes.

### **2.2.4- Conclusion**

L'examen des résultats montre que, dans ces conditions expérimentales, la ballote, aux doses de 200 et 400 mg/kg, présente un effet sédatif important, se traduisant par une diminution hautement significative de la curiosité et de la mobilité.

### Test de la planche à trous (63)

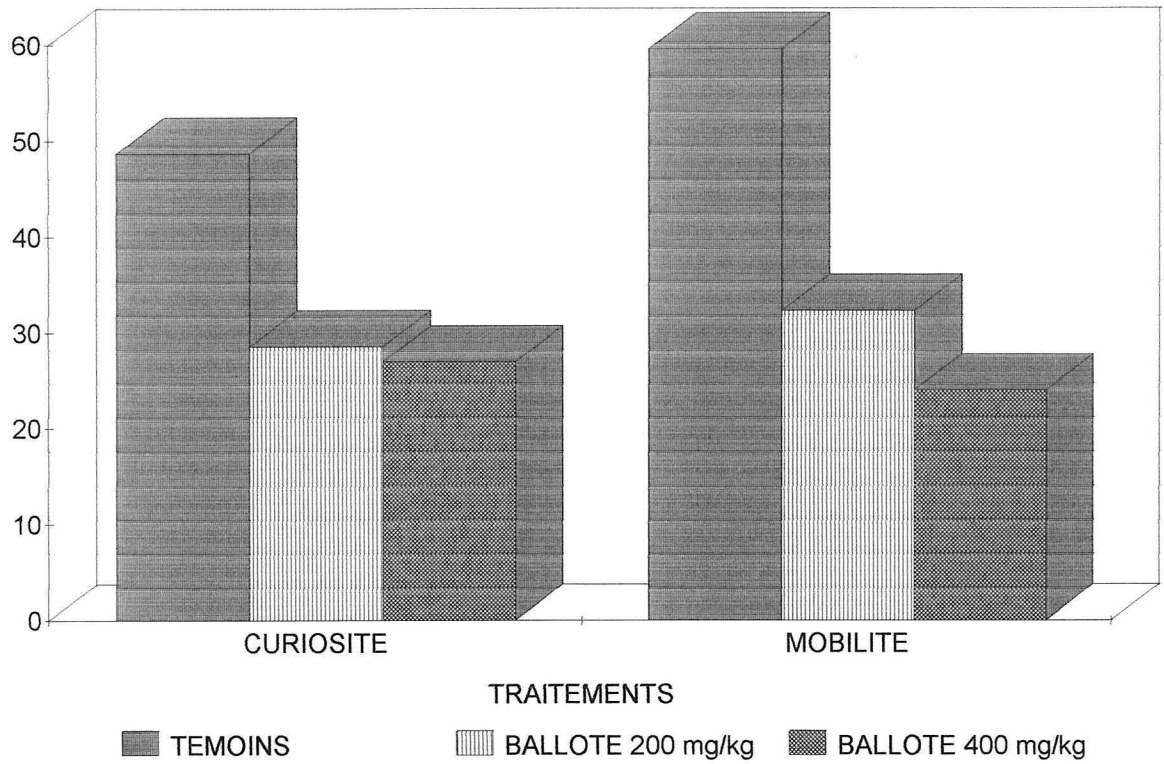
<b>TRAITEMENTS</b>	<b>CURIOSITE</b>	<b>MOBILITE</b>
Témoins	48,7	59,5
Ballote 200 mg/kg	28,6 *	32,3 *
Ballote 400 mg/kg	27,0 *	24,0 *

\* Différence significative par rapport aux témoins.

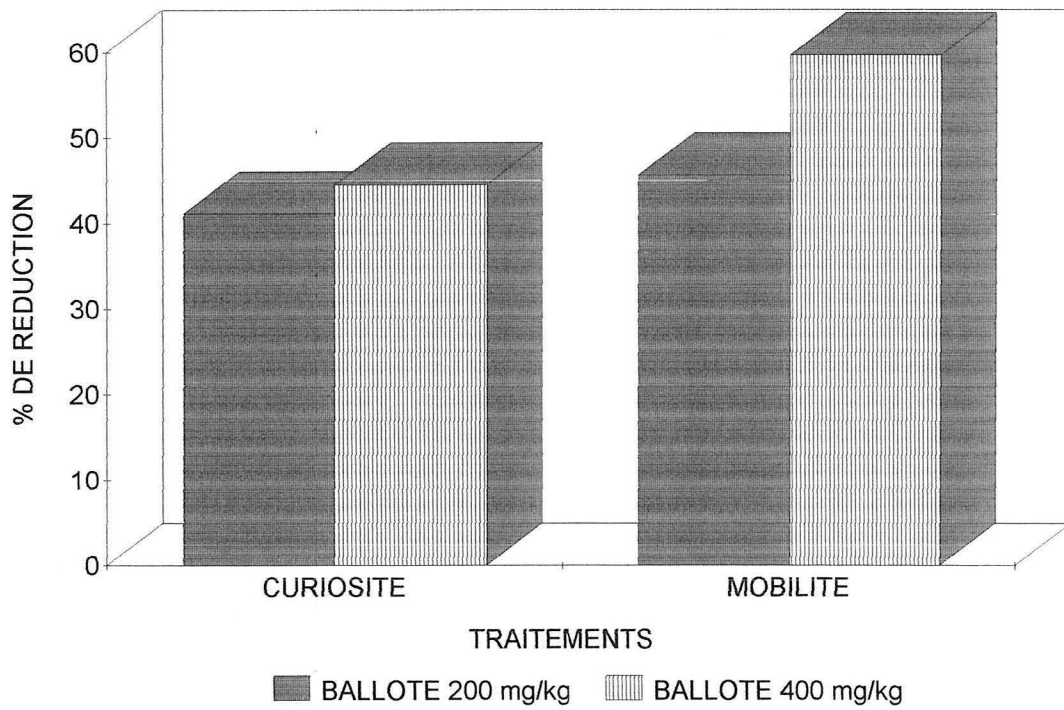
**Tableau 6 :** Nombre moyen d'explorations et de déplacements

<b>TRAITEMENTS</b>	<b>CURIOSITE</b>	<b>MOBILITE</b>
Ballote 200 mg/kg	41,14 %	45,66 %
Ballote 400 mg/kg	44,55 %	59,66 %

**Tableau 7 :** Pourcentage de réduction de la curiosité et de la mobilité par rapport aux témoins



**Figure 15** : Nombre moyen d'explorations (curiosité) et de déplacements (mobilité)



**Figure 16** : % de réduction de la curiosité et de la mobilité par rapport aux témoins

## **2.3- Test de la mobilité spontanée de la souris à l'activographie**

Ce test a été réalisé par JOANNY dans le cadre de sa thèse en pharmacie (31).

### **2.3.1- Principe**

L'étude de l'effet psycholeptique est réalisée à l'activographie selon la méthode de Boissier (5).

Chez l'animal, la réduction de l'activité motrice spontanée est le signe de sédation le plus banal.

Dans cette étude, il a été fait appel à la méthode des cages tremblantes (activographie) afin d'étudier l'effet de la ballote sur la mobilité spontanée des souris.

### **2.3.2- Matériel et méthode**

#### **a- Choix des animaux :**

Cette étude est réalisée sur des souris albinos de souche Ifa Credo OF1, pesant de 18 à 22 grammes.

#### **b- Produits et doses utilisés :**

Les animaux traités le sont avec un extrait hydroalcoolique de ballote (appelée Ba1 par l'auteur) en suspension dans du sérum, à la dose de 100 mg/kg.

Les animaux témoins reçoivent du sérum physiologique.

#### **c- Appareillage :**

L'appareillage se compose d'une cage en métal léger perforé et d'un bras horizontal pouvant osciller autour d'un axe horizontal. Le bras est suspendu à une potence par un ressort très souple. Il supporte la cage et un stylet enregistreur qui inscrit, sur un kinétographe noirci, le tracé correspondant aux oscillations.

#### **d- Protocole :**

Les temps d'enregistrements sont de 15 minutes. Ils sont de courte durée afin d'éviter que la curiosité de l'animal ne s'émousse, ce qui amènerait une réduction de la mobilité spontanée.

Un premier enregistrement témoin est effectué avec deux souris de même sexe, pendant 15 minutes. Passé ce temps, les souris sont sorties de la cage et reçoivent per os les produits à tester : du sérum physiologique pour le lot témoin, les produits étudiés pour les lots traités. Ensuite, 30 minutes après l'administration du produit à tester, les animaux sont réunis dans la cage d'expérience et la motricité est à nouveau enregistrée pendant 15 minutes, à la suite de l'enregistrement témoin.

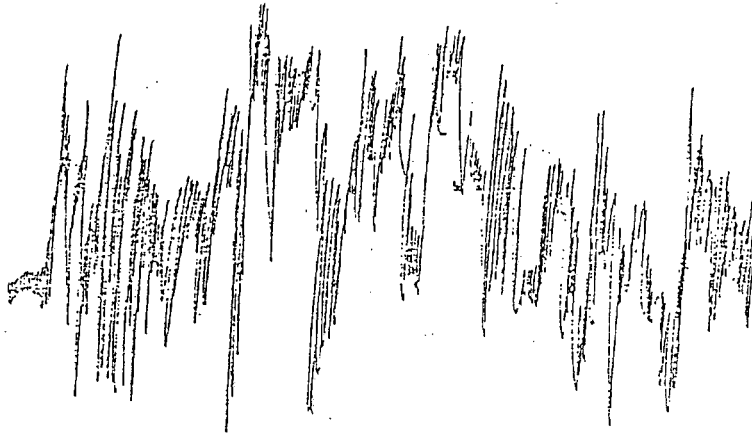
### **2.3.3- Résultats**

Les résultats obtenus sont consignés sur des graphiques à la page suivante.

### **2.3.4- Conclusion**

L'administration d'extrait hydroalcoolique de ballote, dans ces conditions expérimentales, provoque une très nette inhibition de l'activité motrice spontanée.

**Tracés d'activographie (31)**



**Figure 17** : Témoin



**Figure 18** : *Ballote* (100 mg/kg per os)

## **2.4- Test de l'actimétrie photoélectrique pour souris**

Ce test a été également réalisé par JOANNY dans le cadre de sa thèse en pharmacie (31).

Cette étude a été effectuée selon la méthode décrite par BOISSIER et SIMON (8), (9), (10),(12).

### **2.4.1- Principe**

Certaines substances peuvent accroître ou diminuer la motilité spontanée des souris, selon qu'elles sont excitantes ou sédatives.

Les substances à tester sont administrées préventivement à un lot de souris ; leurs influences sont appréciées en comparant les résultats obtenus avec les souris traitées et ceux obtenus avec un lot de souris témoin.

### **2.4.2- Matériel et méthodes**

#### **a- Choix des animaux :**

Cette étude est réalisée sur des souris albinos de souche Ifa Credo OF1 pesant 18 à 22 grammes et provenant d'un élevage homogène.

#### **b- Produits et doses utilisés :**

Les animaux traités le sont avec un extrait hydroalcoolique de ballote (appelé BA1 par l'auteur), en solution dans du sérum physiologique, aux doses de 200 et 300 mg/kg.

Les témoins reçoivent du sérum physiologique.

#### **c- Appareillage :**

L'appareillage est composé d'une cage en plexiglass transparent munie de cellules photoélectriques procurant 2 faisceaux lumineux croisés à angle droit. Chaque passage des souris à travers un faisceau lumineux est enregistré, et leur nombre est totalisé automatiquement.

Cet appareillage permet d'évaluer la motilité des animaux étudiés sans avoir à les surveiller.

#### **d- Protocole expérimental :**

Les temps d'enregistrements sont limités à 15 minutes afin d'éviter que la curiosité des animaux ne s'émeusse, ce qui aurait pour conséquence une diminution de l'activité motrice spontanée.



Les animaux sont mis à jeûn de nourriture 5 heures avant le test.

Une heure avant le test, les animaux reçoivent, par sonde gastrique, les produits à tester :

- ◆ du sérum physiologique pour le lot témoin ;
- ◆ le produit étudié pour le lot traité.

Le test est renouvelé pendant 3 jours, à la recherche d'un effet cumulatif du produit testé.

### **2.4.3- Résultats**

Les résultats de cette expérimentation sont rapportés dans des tableaux et sur un graphique reproduits aux pages suivantes.

Le pourcentage moyen de l'inhibition de la motilité est évalué selon la formule suivante :

$$\frac{N(\text{souris traitées})-N'(\text{souris témoins})}{N(\text{souris témoins})} \times 100$$

N et N' étant le nombre de passages en 5 minutes.

### **2.4.4- Conclusion**

Dans ces conditions expérimentales, la ballote montre une activité psycholeptique à la dose de 300 mg/kg.

On remarque un effet cumulatif au troisième jour du traitement.

Le lot témoin, testé tous les jours, montre que cette variation du nombre de passages n'est pas attribuable à l'habitude acquise par l'animal au cours de l'expérimentation.

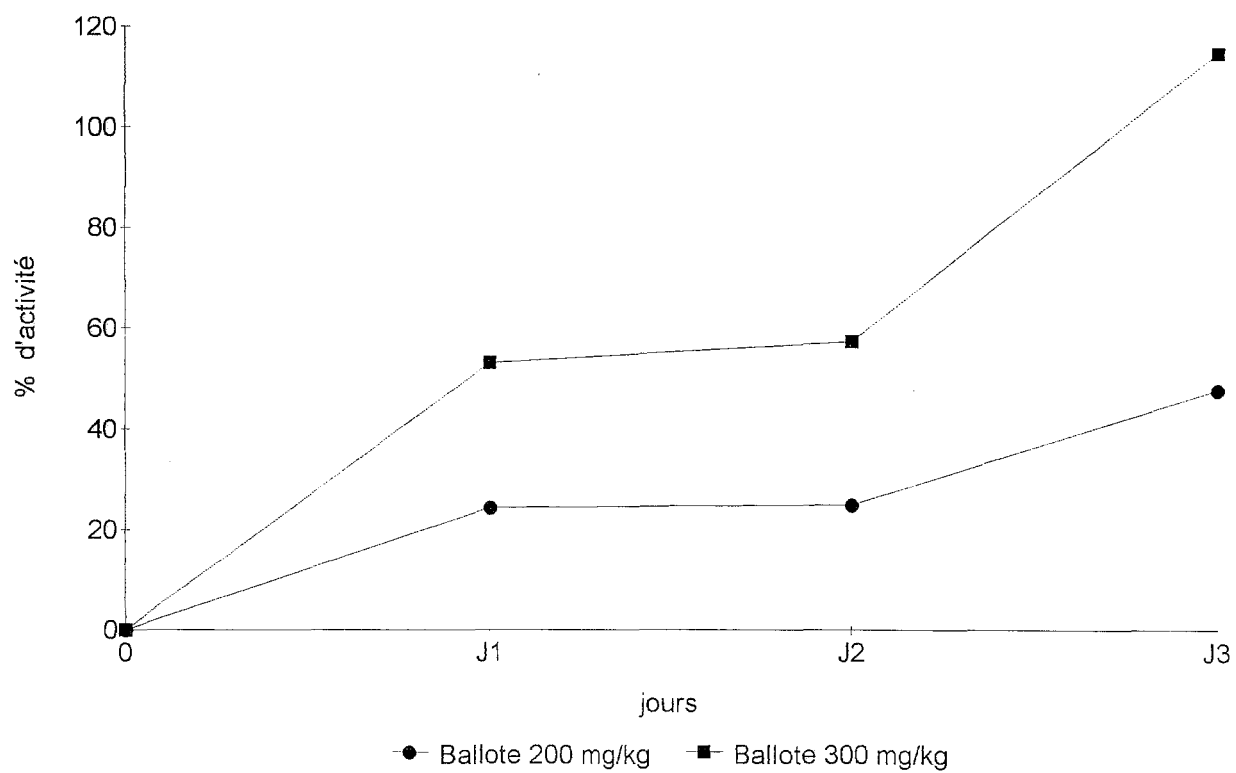
**Actimétrie photoélectrique (31)**

Substances expérimentées	Doses mg/kg	Nombre d'expériences	Nombre de passages en 5 mn		% d'activité/ aux témoins	Taux de significativité (p)
			M	$\Delta m$		
<b>Témoins</b>	-	10	143,5	18,1	-	-
<b>Ballote BA<sub>1</sub></b>	J <sub>1</sub> 200	10	108,6	7	24,32	< 0,001
	J <sub>2</sub> 200	10	107,9	15,3	24,8	0,001 < p < 0,005
	J <sub>3</sub> 200	10	75	13,8	47,73	< 0,001

**Tableau 8**

Substances expérimentées	Doses mg/kg	Nombre d'expériences	Nombre de passages en 5 mn		% d'activité/ aux témoins	Taux de significativité (p)
			M	$\Delta m$		
<b>Témoins</b>	-	11	77,8	5,9	-	-
<b>Ballote BA<sub>1</sub></b>	J <sub>1</sub> 300	5	60,4	11,9	28,8	0,001 < p < 0,005
	J <sub>2</sub> 300	4	52,5	11,1	32,5	< 0,001
	J <sub>3</sub> 300	5	25,8	9,8	66,8	< 0,001

**Tableau 9**



**Figure 19**

## **2.5- Test de l'open-field**

L'étude que nous allons décrire à présent a été réalisée au Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Montpellier, par SERRANO (40).

### **2.5.1- Principe**

Il consiste à étudier les variations au cours du temps des 3 paramètres suivants :

- ◆ activité locomotrice (ou mobilité)
- ◆ curiosité
- ◆ anxiété

Un rat, déposé au centre d'une enceinte circulaire anxiogène qu'il découvre, déambule (paramètre de mobilité), se dresse sur ses pattes (paramètre de curiosité), et défèque (signe caractéristique d'anxiété).

A fortes doses, les psycholeptiques (neuroleptiques et tranquillisants) diminuent à la fois déplacements et redressements.

Les anxiolytiques à faibles doses, comme les psychoanaleptiques, augmentent l'activité locomotrice et la curiosité ; les défécations sont moins nombreuses lorsque l'anxiété diminue.

### **2.5.2- Matériel et méthode**

#### **a- Choix des animaux :**

Cette étude est réalisée sur des rats.

#### **b- Produits et doses utilisés :**

Le produit utilisé est un extrait hydroalcoolique lyophilisé de ballote, aux doses de 100 et 200 mg/kg.

Le produit de référence choisi est du méprobamate, à la dose de 100 mg/kg.

Ces produits sont mis en solution dans de l'eau pour préparation injectable et administrés par voie intrapéritonéale.

#### **c- Appareillage :**

L'open-field est constitué d'une surface circulaire d'un mètre de diamètre limitée par un cylindre de 50 cm de hauteur. La surface intérieure de l'ensemble est peinte en noir et le cercle porte, peints en blanc, 3 diamètres équidistants. Une source unique de

lumière, constituée par une ampoule de 150 watts disposée à 50 cm du fond du cercle, éclaire violemment la partie centrale du sol.

Un buzzer, proche de l'enceinte, émet un son strident et permanent. Deux compteurs permettent, l'un de totaliser les passages du rat sur les diamètres peints en blanc, l'autre de comptabiliser les redressements sur les pattes postérieures.

L'ensemble est disposé dans une pièce très faiblement éclairé.

#### **d- Protocole expérimental :**

Chaque animal, traité préventivement par la substance à étudier, est délicatement déposé au centre de l'open-field.

L'observateur compte, de minute en minute pendant 3 minutes, d'une part le nombre de rayons traversés par le rat et, d'autre part, le nombre de fois où l'animal se dresse sur ses pattes postérieures et appuie ses pattes antérieures le long des parois de l'enceinte.

En fin de test, au bout de 3 minutes, les défécations sont comptées et éliminées.

#### **e- Expression des résultats :**

Les résultats concernant l'activité locomotrice (nombre de rayons traversés), la curiosité (nombre de redressements), et l'anxiété (nombre de défécations) sont étudiés au cours des 3 minutes de l'observation et comparés à ceux des animaux témoins. Ils sont exprimés en pourcentage de variation.

### **2.5.3- Résultats**

Les résultats obtenus sont portés sur les tableaux et la figure reproduits à la page suivante.

### **2.5.4- Conclusion**

La ballote entraîne une diminution significative de l'anxiété à la dose de 200 mg/kg. L'activité anxiolytique du méprobamate n'est pas significative à la dose de 100 mg/kg.

Le test de l'open-field, très spécifique de l'anxiolyse, révèle une diminution significative de l'anxiété de respectivement 28 et 75 % pour les lots traités avec de la ballote aux doses de 100 et 200 mg/kg sans mettre en évidence d'atteinte psychomotrice.

### Test de l'open-field (40)

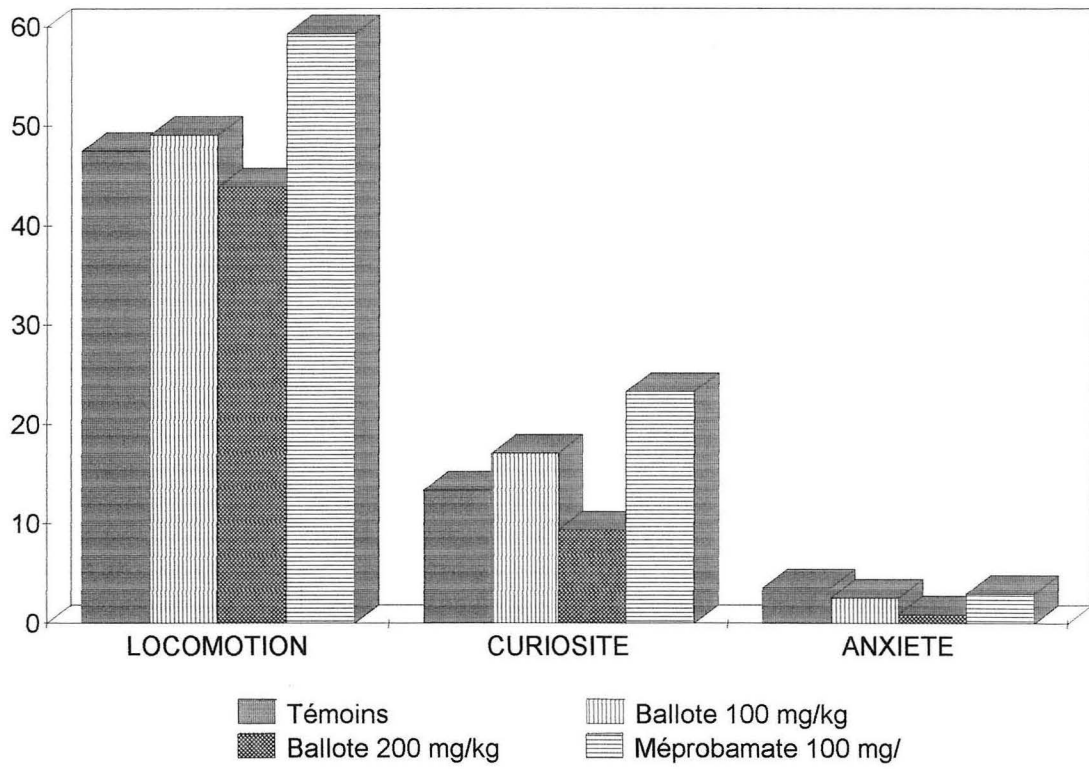
<b>Lots</b>	<b>Activité locomotrice</b>	<b>Curiosité</b>	<b>Anxiété</b>
<b>Témoins</b>	47,5 (+) ou (-) 3,5	13,4 (+) ou (-) 1,8	3,6 (+) ou (-) 0,6
<b>Ballote 100 mg/kg</b>	49,1 (+) ou (-) 3,2	17,1 (+) ou (-) 2,3	2,6 (+) ou (-) 0,3
<b>Ballote 200 mg/kg</b>	43,9 (+) ou (-) 5,4	9,39 (+) ou (-) 0,8	0,9 (+) ou (-) 0,3 *
<b>Méprobamate 100 mg/kg</b>	59,3 (+) ou (-) 3,0	23,3 (+) ou (-) 2,0	3,0 (+) ou (-) 0,6
* Différence significative par rapport aux témoins			

**Tableau 10**

<b>Lots</b>	<b>Anxiété</b>
<b>Ballote 100 mg/kg</b>	28
<b>Ballote 200 mg/kg</b>	75
<b>Méprobamate 100 mg/kg</b>	16

**Tableau 11** : Pourcentage de diminution de l'anxiété

## OPEN-FIELD



**Figure 20**

## **2.6- Test des quatre plaques**

De même que la précédente, l'étude que nous allons décrire, a été réalisée au Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté de Montpellier par SERRANO (11) - (17)

### **2.6.1- Principe**

La recherche d'un effet psycholeptique est faite ici par un test de conditionnement suppressif, le test des quatre plaques, réalisé sur des souris.

Dans ce test, l'animal est soumis à 2 motivations opposées : l'envie d'explorer la boîte d'expérience (motivation positive) et la peur de recevoir un choc électrique (motivation négative).

Sous tranquillisant, le nombre d'explorations "punies" d'un choc électrique est augmenté de façon significative pendant la première minute, un peu moins pendant la deuxième minute; l'effet disparaît à la troisième : à ce moment là, comme les témoins, les animaux ne bougent plus.

Sous neuroleptique, au contraire, on note d'emblée une diminution de ce nombre de chocs correspondant à une diminution de l'activité de la souris.

### **2.6.2- Matériel et méthode**

#### **a- Choix des animaux**

Dans cette étude, on utilise des souris mâles de souche EOPS (10 par lot) provenant du centre d'élevage de Montpellier. En début d'essai, les animaux pèsent en moyenne 24 grammes. Ils sont maintenus en observation pendant 4 jours avant le début des essais, période pendant laquelle ils sont répartis par cage de 10, reçoivent nourriture et eau de boisson *ad libitum*, et sont soumis à une température ambiante comprise entre 21 et 23 °C et à un cycle jour/obscurité de 12 heures.

#### **b- Produits et doses utilisés**

Les animaux traités le sont :

- ◆ soit par un extrait hydroalcoolique lyophilisé de Ballote (préparé par les Laboratoires NATURA MEDICA) aux doses de 200 et 400 mg/kg.
- ◆ soit avec du méprobamate à la dose de 100 mg/kg.

Ces produits sont administrés en solution dans de l'eau pour préparation injectable.



Un lot témoin reçoit l'excipient seul.

### **c- Appareillage :**

L'appareillage utilisé pour ce test est réalisé par APELAB. Il est constitué d'une boîte parallélépipédique en plexiglass de dimensions suivantes : 25 cm de longueur, 18 cm de largeur, 16 cm de hauteur. Le fond est constitué de 4 plaques en métal conducteur de dimensions suivantes : 11,3 mm de longueur, 7,7 mm de largeur. Ces plaques sont séparées les unes des autres et des bords de la boîte par des interstices de 0,5 cm de large.

Un circuit d'alimentation électrique fournit des impulsions d'une intensité de 0,6 milliampère et d'une durée de 0,6 seconde ; la différence de potentiel à vide entre 2 plaques adjacentes est de 180 volts. Elle est nulle entre 2 plaques placées en diagonale. Un conducteur relié au circuit d'alimentation permet de déclencher les chocs électriques.

### **d- Protocole expérimental :**

La souris est placée sur une des plaques du plancher, face à un coin de la boîte, et un temps d'exploration "libre" de 15 secondes lui est laissé. Ensuite, le passage d'une plaque à l'autre est "puni" d'un choc électrique, l'électrification étant déclenchée au moment où la souris est en pont entre 2 plaques.

Les animaux sont répartis par lot de 10. Ils sont mis à jeûn de nourriture 16 heures avant le test. Le jour du test, ils sont pesés et traités par voie intrapéritonéale 30 minutes avant d'être déposés sur le fond de la boîte, et ce pour une période d'observation de 3 minutes.

### **e- Expression des résultats :**

Le nombre de "punitions" des animaux traités et des animaux témoins sont comparés par les tests statistiques t de Student et F de Snedecor.

Le calcul des moyennes de chacun des lots permet d'évaluer un pourcentage moyen de chocs ainsi qu'un pourcentage de variation du nombre de chocs des animaux traités par rapport aux animaux témoins.

## **2.6.3- Résultats**

Les résultats obtenus sont consignés dans un tableau et un graphique reproduits à la page suivante.

## **2.6.4- Conclusion**

L'examen des résultats montre une augmentation significative du nombre de

chocs électriques chez les lots traités avec l'extrait lyophilisé de ballote NATURA MEDICA durant la première minute d'observation. Cette augmentation, de l'ordre de 50-60 % (contre 150 % pour le méprobamate) exprime une réduction de la peur du choc électrique ; c'est un effet psycholeptique. En revanche, l'absence de significabilité à 2 et 3 minutes ne permet pas à l'étude de conclure si l'action est anxiolytique ou neuroleptique.

Les résultats de ce test, associés à ceux obtenus avec le test de traction (absence de propriétés myorelaxantes de la ballote), permettent de conclure que, dans ces conditions expérimentales, la ballote présente une activité psycholeptique.

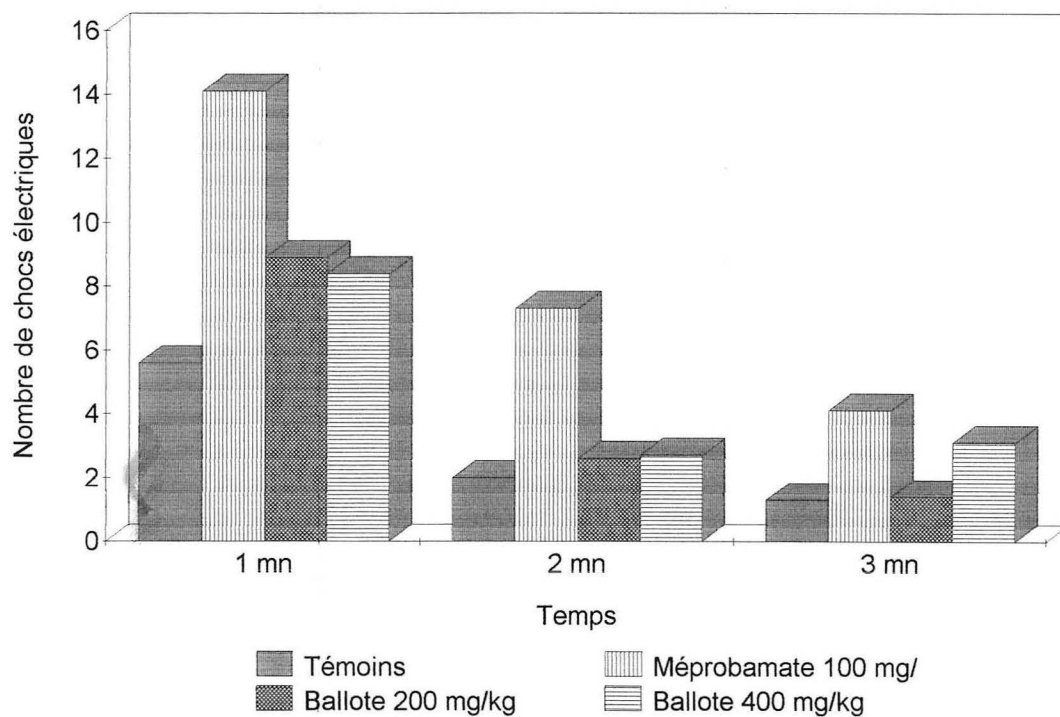
## Test des quatre plaques (17)

**Nombre moyen de chocs électriques en fonction du traitement :**

Traitements	1 mn	2 mn	3 mn
<b>Témoins</b>	5,6 (+) ou (-) 0,6	2,0 (+) ou (-) 0,3	1,3 (+) ou (-) 0,3
<b>Méprobamate 100 mg/kg</b>	14,1 (+) ou (-) 1,2 *	7,3 (+) ou (-) 1,0 *	4,1 (+) ou (-) 0,6 *
<b>Ballote 200 mg/kg</b>	8,9 (+) ou (-) 1,1 *	2,6 (+) ou (-) 0,6	1,4 (+) ou (-) 0,5
<b>Ballote 400 mg/kg</b>	8,4 (+) ou (-) 0,8 *	2,7 (+) ou (-) 0,7	3,1 (+) ou (-) 0,9

\* Différence significative par rapport aux témoins

**Tableau 12**



**Figure 21**

### **3- Recherche d'une activité spasmolytique**

PORTE, dans le cadre de sa thèse en pharmacie, a mis en évidence une faible activité spasmolytique, *in vivo*, chez l'animal, par le test à la bouillie de charbon et, *in vitro*, par un test sur duodénum isolé de rat (45).

#### **3.1- Test de la bouillie de charbon** (70)

##### **3.1.1- Principe :**

Le péristaltisme intestinal est partiellement inhibé par une drogue spasmolytique.

Cette drogue, administrée 30 minutes avant l'épreuve à la bouillie de charbon, s'opposera à la progression de ce bol alimentaire.

L'autopsie pratiquée 20 minutes après le gavage révèle, chez l'animal traité par une substance spasmolytique, un segment contenant la bouillie beaucoup plus court que chez les animaux témoins.

##### **3.1.2- Matériel et méthode**

###### **a- Choix des animaux**

Ce test est réalisé sur des souris albinos pesant 18 à 22 grammes.

###### **b- Produits et doses utilisés**

Le lot témoin reçoit 0.5 ml d'eau distillée.

Les lots de référence sont traités avec de l'atropine diluée dans de l'eau distillée, aux doses de 0,5 et 1 mg/kg.

Les lots traités le sont avec, respectivement, 50 et 100 mg/kg d'extrait hydroalcoolique de ballote (que l'auteur nomme BA2) en suspension dans de l'eau.

Le "bol alimentaire" utilisé est une bouillie de charbon à 10 % dans du sirop de gomme préparée selon la formule suivante :

- ◆ 10 g d'extrait de charbon végétal;
- ◆ 2.5 g de gomme arabique;
- ◆ eau distillée qsp 100 ml.

### **c- Protocole expérimental**

Les souris sont mises à jeûn de nourriture avant l'expérimentation : diète alimentaire de 24 heures et diète hydrique de 12 heures.

Elles reçoivent, 30 minutes avant la bouillie, de l'eau distillée (lot témoin), de l'atropine (lot de référence) ou d'extrait de ballote (lot traité).

Différents essais sont effectués avec les produits administrés per os puis par voie intrapéritonéale.

Ensuite, on administre, par intubation, 0,5 ml de bouillie à toutes les souris.

On sacrifie les animaux 20 minutes plus tard, et on isole leur intestin grêle que l'on déroule sur la paillasse en prenant soin de ne pas exercer de traction. On note ensuite la longueur d'intestin imprégnée de bouillie de charbon.

#### **3.1.3- Résultats**

Les résultats de ce test sont consignés dans des tableaux reproduits aux pages suivantes.

Le pourcentage de pénétration est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\frac{\text{Longueur imprégnée de bouillie de charbon}}{\text{Longueur totale de l'intestin}} \times 100$$

Le pourcentage de pénétration est d'autant plus grand que la motricité intestinale a été importante.

#### **3.1.4- Conclusion**

Un effet spasmolytique peut-être observé, variable selon la dose de ballote et sa voie d'administration.

Administrée per os, elle a un effet spasmolytique nul aux doses de 50 et 100 mg/kg, et faible à la dose de 500 mg/kg (16 % d'inhibition).

La voie intrapéritonéale donne d'assez bons résultats : 25 % d'inhibition pour une dose de 100 mg/kg.

## Test à la bouillie de charbon (45)

♦ *Administration par voie intrapéritonéale*

Lot n° 1	T	A <sub>E</sub> 1 mg/kg			A <sub>E</sub> 0,5 mg/kg		BA <sub>2</sub> 50 mg/kg			
souris n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L	35	32	27,5	25	38	41,5	36,5	36,5	37	
I	28,5	20	18	19	31	34	31	28,5	29	
(I x 100) / L	81	63	65	76	81	72	85	78	78	

Moyenne : 78 ; écart-type : 6,5 ; % d'inhibition : 3,7 %

**Tableau 13**

Lot n° 2	T	A <sub>E</sub> 1 mg/kg			A <sub>E</sub> 0,5 mg/kg		BA <sub>2</sub> 100 mg/kg			
souris n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L	46,5	33	27	42,5	42	29,5	28	30	33	
I	34	29,5	21	30,5	32	14	16,5	22,5	19	
(I x 100) / L	73	89	77	71	76	47	59	75	57	

Moyenne : 59,5 ; écart-type : 9 ; % d'inhibition : 26,5 %

**Tableau 14**



♦ Administration per os

Lot n° 1	T		A <sub>E</sub> 0,5 mg/kg		A <sub>E</sub> 1 mg/kg		BA <sub>2</sub> 50 mg/kg			
souris n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L	38	35	36	34	37	37	37	36,5	38,5	36
I	30	26	23,5	27,5	27	27	33	25	25	29
(I x 100) / L	79	74	65	80	73	73	89	68	65	78

Moyenne : 75 ; écart-type : 10 ; % d'inhibition : 1,9 %

**Tableau 15**

Lot n° 2	T		A <sub>E</sub> 1 mg/kg		A <sub>E</sub> 0,5 mg/kg		BA <sub>2</sub> 100 mg/kg			
souris n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
L	34,5	33	24	26	42	33,5	35	33		
I	26	22	18	17,5	28	24	29	24		
(I x 100) / L	75	60	73	67	66	67	82	72		

Moyenne : 77 ; écart-type : 5 ; % d'inhibition : 0

**Tableau 16**

souris n°	T		BA <sub>2</sub> 500 mg/kg			6	7	8	9	10
	1	2	3	4	5					
L	36,5	35	37	40	42					
I	28,5	25	23,5	25,5	26					
(I x 100) / L	78	71	63	63	62					

Moyenne : 63 ; écart-type : 1 ; % d'inhibition : 16 %

Tableau 17



## **3.2- Etude de l'activité in vitro**

### **3.2.1- Principe**

Cette étude est basée sur une méthode utilisant le duodénum isolé du rat, d'après COHEN (18).

Des fragments d'intestin sont maintenus en survie en les immergeant dans un liquide nourricier isotonique, de température adéquate, et aéré.

Des spasmes sont provoqués par de l'acétylcholine d'une part (recherche d'un effet spasmolytique neurotrope), et d'autre part, par du chlorure de baryum (recherche d'un effet spasmolytique musculotrope).

En comparant les résultats obtenus vis à vis de ces deux sortes de spasmes, il est possible de déterminer l'action prédominante de la substance à étudier et d'apprécier quantitativement son activité.

### **3.2.2- Matériel et méthode**

#### **a- Choix des animaux :**

Les prélèvements d'intestin ont été faits sur des rats albinos pesant 250 à 300 grammes, mis à la diète hydrique depuis 24 heures, et sacrifiés par section des carotides.

#### **b- appareillage :**

Il comporte un bain-marie contenant de l'eau maintenue à la température de 37 °C par une résistance munie d'un thermostat. Dans cette cuve baigne un serpentín relié d'une part à un flacon réservoir surélevé contenant le liquide nourricier, et d'autre part à la cuve à organe isolé. Dans cette cuve à organe plonge une tige creuse à extrémité recourbée par laquelle arrive l'air et servant de porte organe.

L'arrivée et le départ de liquide nutritif sont réglés par des pinces de Mohr.

Les enregistrements se font grâce à un système comprenant un levier inscripteur relié à l'une des extrémités du fragment d'organe, et un kymographe avec papier noirci au noir de fumée sur lequel s'inscrivent les mouvements de l'organe.

La cuve d'expérience contient 20 ml de solution mère de tyrode.

#### **c- Produits et doses utilisés :**

Les substances spasmogènes choisies sont les suivantes :

- ◆ chlorure de baryum aux doses de 1 à 2 µg/ml
- ◆ chlorhydrate d'acétylcholine à la dose de 1 µg/ml dilué dans du Tyrode.

Les substances antispasmodiques utilisées sont les suivantes :

- ◆ extrait hydroalcoolique de ballote (appelé BA2 par l'auteur), à doses croissantes allant de 0,5 à 10 mg ;
- ◆ atropine ;
- ◆ chlorhydrate de papavérine à des doses de 80 à 100 µg.

#### **d- Protocole expérimental**

On prélève rapidement 8 à 10 cm de duodénum immédiatement après le sphincter pylorique.

On l'immerge dans la solution mère de Tyrode et on le lave à la seringue.

On en isole une portion de 1,5 à 2 cm. On monte cette portion entre 2 hameçons, et on la place dans la cuve de bain-marie.

L'intestin isolé, reste au repos 20 à 30 minutes.

L'expérimentation ne commence que lorsque l'organe a des contractions régulières.

Pour étudier l'action d'une substance sur la motilité spontanée, on examine l'effet propre de doses croissantes de cette substance (de 0,5 à 10 mg).

Pour étudier l'activité spasmolytique d'un produit, on recherche la dose de ce produit qui, introduite 30 secondes avant le contracturant, diminue de moitié la contraction provoquée par ce dernier.

Avec le chlorhydrate d'acétylcholine, on répète l'essai jusqu'à obtention, pour une même dose, d'une réponse identique. Le spasmolytique à tester est introduit 30 secondes avant une nouvelle addition d'acétylcholine. Chaque introduction de produit doit-être encadrée par 2 pics d'acétylcholine. On observe, d'après l'enregistrement, le pourcentage d'inhibition. Le produit de référence est l'atropine.

Avec le chlorure de baryum, on utilise le même procédé, mais avec des lavages plus fréquents. Le produit de référence est le chlorhydrate de papavérine.

### **3.2.3- Résultats et conclusion**

L'extrait hydroalcoolique de ballote introduit dans la cuve d'expérience à des doses de 0,5 à 10 mg n'a aucune action sur la motilité spontanée du duodénum isolé du rat (figure 22).

Des doses de 1 à 10 mg n'ont pas d'effet spasmolytique musculotrope net (effet inférieur à 10 %) (figure 23).

Des doses de 1 à 5 mg n'ont qu'un léger effet spasmolytique neurotrope (figure 24).

Etude de l'activité spasmodique in vitro (45)

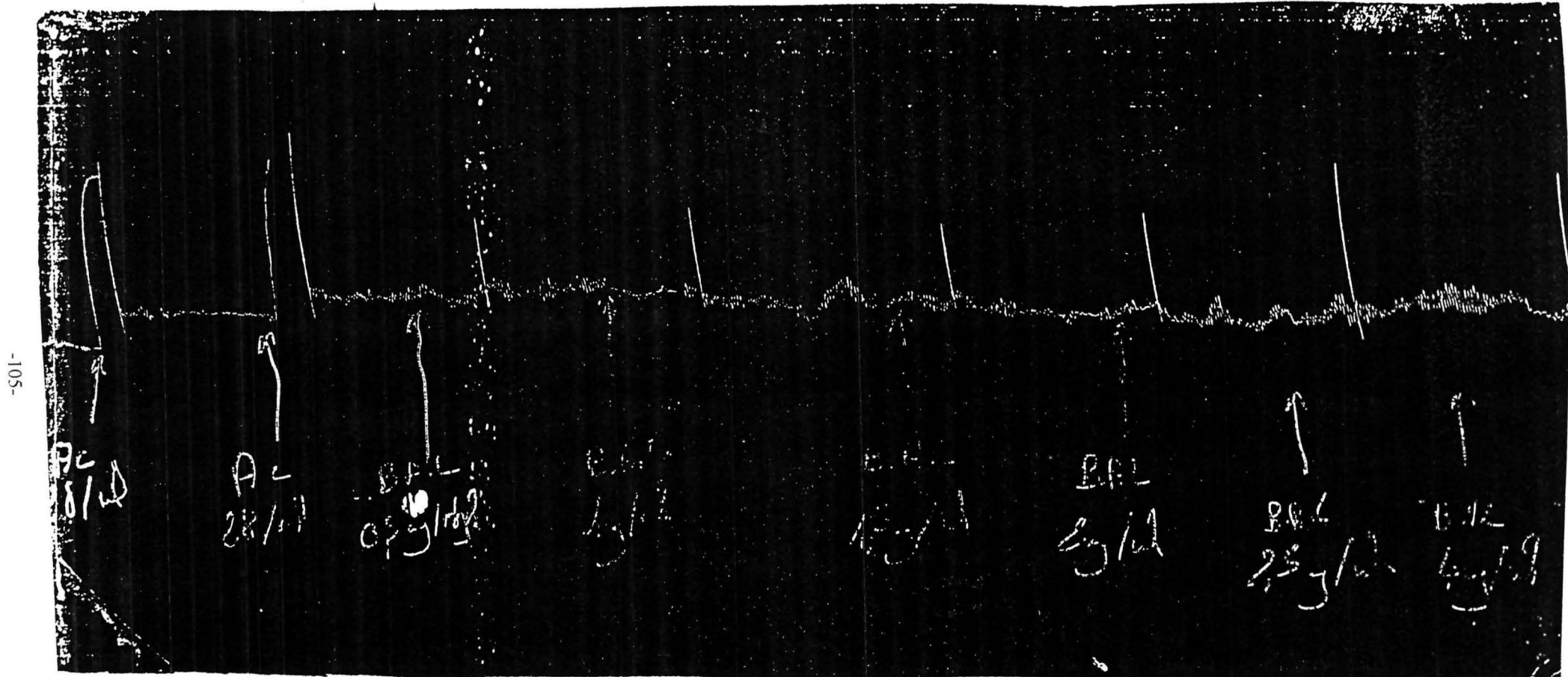
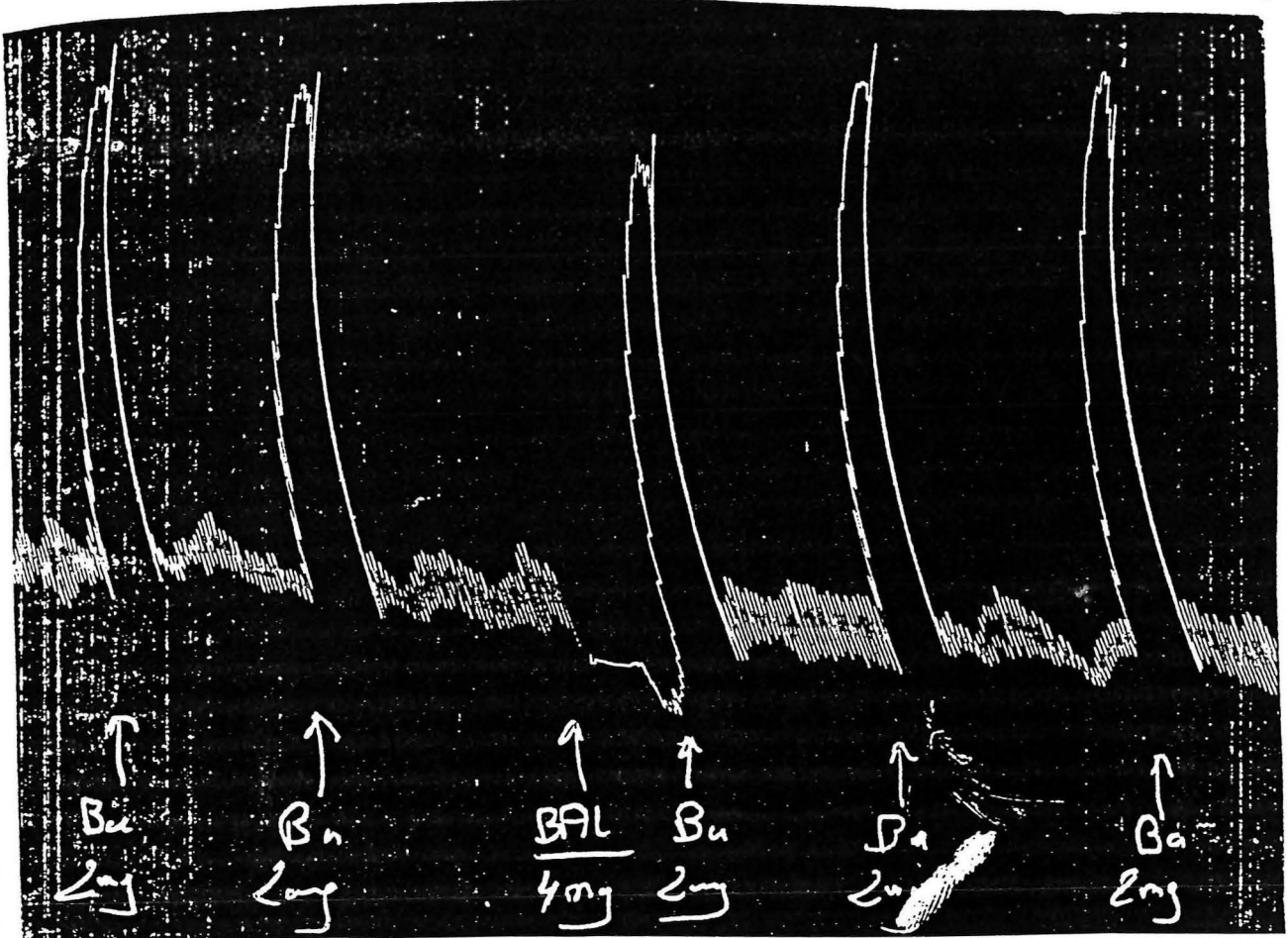
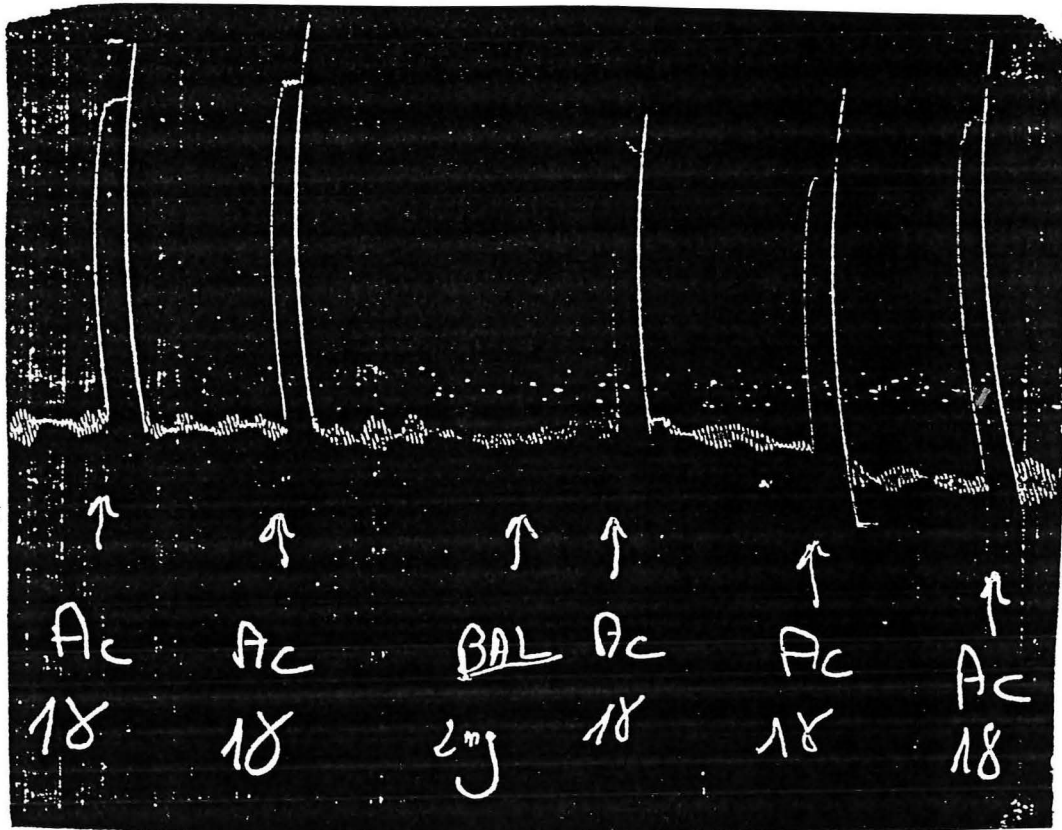


Figure 22 : Effet spasmodique propre



**Figure 23** : Antagonisation au chlorure de baryum



**Figure 24** : Antagonisation à l'acétylcholine

## **4- Recherche de propriétés anticonvulsivantes**

L'étude présentée ici a été réalisée par SERRANO au Laboratoire de Pharmacologie à Montpellier (14).

### **4.1- Principe**

L'antagonisme éventuel de la ballote vis à vis de la crise convulsive a été recherché par le test de la crise au cardiazol.

### **4.2- Matériel et méthode**

#### **a- Choix des animaux :**

Cette étude est réalisée sur trois lots de 10 souris EOPS, provenant du centre d'élevage de Montpellier. Ces animaux, d'un poids moyen de 20 grammes, sont maintenus en observation pendant quatre jours avant le début des essais. Les animaux, pendant la période d'observation, sont répartis en groupe de 10 par cage. Ils reçoivent nourriture et eau de boisson *ad libitum* et sont soumis à une température ambiante comprise entre 21 et 23 °C ainsi qu'à un cycle jour/obscurité de 12 heures.

#### **b- Produits et doses utilisées :**

Cette étude est réalisée en utilisant d'une part un extrait hydroalcoolique lyophilisé de ballote (préparé par les Laboratoires Natura Medica) en solution aqueuse aux doses de 100 et 400 mg/kg (lots traités), ou bien de l'eau seulement (lot témoin), et d'autre part du cardiazol à la dose de 100 mg (lots traités et lot témoin).

L'excipient dans lequel sont dilués ces produits est de l'eau pour préparation injectable, pour un volume total de 10 ml/kg.

#### **c- Protocole expérimental :**

Les trois lots reçoivent un prétraitement 30 minutes avant l'administration de cardiazol.

L'administration de ces produits se fait par voie intrapéritonéale.

Le lot de témoins ne reçoit que l'excipient (soit de l'eau, à raison de 10 ml/kg).

Les deux autres lots reçoivent respectivement 100 et 400 mg/kg d'extrait de ballote.

Le délai d'apparition de la première crise, le nombre et la durée des crises, et le délai d'apparition de la mort sont notés pour chaque animal.

### **4.3- Résultats**

Il n'a pas été constaté de différence significative entre les animaux traités et les animaux témoins.

### **4.4- Conclusion**

Dans ces conditions expérimentales, la ballote ne présente pas de propriétés anticonvulsivantes.

## **5- Recherche d'une activité antifongique**

L'activité antifongique de 12 espèces représentant 7 genres de la famille des Lamiacées, dont la ballote, a été étudiée par LAMER-ZARAWSKA. Il semblerait que la fraction polyphénolique des taxa examinées ait une forte influence sur l'activité antifongique (32).

### **5.1- Principe**

L'activité antifongique de nombreux Lamiacées dépend des composés de l'huile éthérée et plus exactement de la fraction polyphénolique, principalement constituée de flavonoïdes et d'acides phénoliques.

Par conséquent, cette étude a pour objet la recherche d'une activité antifongique aussi bien de la fraction d'huile éthérée que des fractions polyphénoliques des extraits de benzène et de méthanol obtenus, en débarrassant au préalable la première fraction de ses huiles, sur 3 espèces de champignons pathogènes : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Rhodotorula rubra*.

### **5.2- Matériel et méthode**

#### **a- Préparation des produits utilisés comme antifongique**

- ◆ Fraction huileuse : 20 g d'herbe séchée de ballote sont soumis à 3 heures de distillation avec de la vapeur d'eau dans l'appareil Dering afin d'obtenir la fraction huileuse.
- ◆ Extraits de benzène et de méthanol : après la distillation huileuse, la drogue est séchée et ultérieurement extraite dans l'appareil Soxhlet, successivement par le benzène et le méthanol.

Aussi bien à partir des extraits de benzène qu'à partir des extraits de méthanol, les fractions de flavonoïdes sont isolées comme suit : le solvant est distillé sous pression réduite. Le résidu est chauffé avec de l'eau bouillante puis mis de côté pendant 24 heures. Les substances caillouteuses sont alors filtrées et chaque filtrat est intensivement extrait avec de l'acétate d'éthyle.

Les fractions d'acétate, provenant aussi bien des extraits de benzène que des extraits de méthanol, sont concentrées et soumises à une analyse chromatographique. La CCM de ces fractions montre la présence de composés flavonoïdes, principalement des dérivés du lutéolin ainsi que des acides phénoliques.

### **b- Culture des champignons pathogènes :**

L'activité antifongique est testée sur 3 espèces : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Rhodotorula rubra*. Les champignons poussent pendant 5 jours sur des plaques d'agar : 3 g de NaNO<sub>3</sub>, 1 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5 g de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,5 g de KCl, 0,01 g de FeSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, 30 g de sucrose, 15 g d'agar et de l'eau en quantité suffisante pour 1000 cm<sup>3</sup>. Après incubation des germes, les suspensions de champignons examinées sont préparées dans de l'eau distillée et transférées en quantité de 1 cm<sup>3</sup> dans des boîtes de Pétri, sur des cultures contenant 25 g d'extrait de Malt, 20 g d'agar et 1000 cm<sup>3</sup> d'eau distillée.

### **c- Protocole :**

L'activité antifongique est mesurée en incisant aseptiquement des ouvertures de 10 cm de diamètre sur les boîtes de Pétri contenant les souches de champignons cultivés. Les fractions d'acétate d'éthyle provenant des extraits de benzène et de méthanol dilués à 0.5 % ainsi que la fraction huileuse concentrée à 0.001 % sont introduites dans ces ouvertures.

Les plaques sont incubées à une température de 28 °C.

Un biotest est accompli après 4 à 6 jours d'incubation. Les diamètres (en mm) des zones d'inhibition de croissance des champignons, autour des ouvertures, sont mesurés. Les observations sont réalisées à deux reprises, utilisant l'acétate d'éthyle comme témoin de l'essai. Le diamètre des ouvertures est déduit des résultats obtenus.

## **5.3- Résultats**

Les résultats sont consignés dans le tableau à la page suivante.

## **5.4- Conclusion**

Il semblerait que la ballote ait une forte activité antifongique principalement sur *Aspergillus fumigatus* mais également sur *Candida albicans*. Par contre, son action sur *Rhodotorula rubra* serait quasiment nulle.



Son activité antifongique est surtout attribuée aux composés de l'huile étherée universellement présents dans cette famille : en effet, le diamètre d'inhibition de croissance d'*Aspergillus fumigatus* et de *Candida albicans* sont respectivement 30 et 25-30 mm, ce qui est relativement important (37 et 25 mm respectivement avec 1000 U de Nystatine).

Cependant, une participation significative à cette activité de la fraction polyphénolique est constatée :

- ◆ L'extrait de benzène entraîne un diamètre d'inhibition de croissance d'*Aspergillus fumigatus* de 20-30 mm. Cependant il s'avère quasiment inefficace vis à vis de *Candida albicans*.
  
- ◆ L'extrait de méthanol entraîne les diamètres d'inhibition suivants :
  - 30 mm pour *Aspergillus fumigatus*;
  - 25 mm pour *Candida albicans*.

Par conséquent, la fraction polyphénolique de la ballote présente une forte influence sur l'activité antifongique.

Les données obtenues ouvrent la possibilité d'une nouvelle utilisation de la ballote en thérapeutique, par exemple en stomatologie comme remèdes antimycosiques ou en phytopharmacie pour protéger les plantes de l'action des champignons pathogènes.

Plantes	Aspergillus fumigatus			Candida albicans			Rhodotorula rubra		
	Extraits								
	OI	Bo	Mo	OI	Bo	Mo	OI	Bo	Mo
	Inhibition de la croissance (en mm)								
<b>Ajuga reptans L.</b>	10	10	5	0	0	5	0	0	0
<b>Ballota nigra L.</b>	30	20-30	30	25-30	5	25	0	5	0
<b>Betonica officinalis L.</b>	15	25	15	0	10	0	5	10	5
<b>Prunella vulgaris L.</b>	5	20	15	10	10-15	10	15	10-15	15
<b>Salvia officinalis L.</b>	20	20	30	10	10	10	10	10	10
<b>Salvia sclarea L.</b>	0	15-20	35	0	10	20-25	0	10-20	20-25
<b>Stachys lanata Jacq.</b>	15-20	20	10	5-10	20-25	10	15-20	0	10
<b>Teucrium botrys L.</b>	5	34-40	15-20	10	40	0	10	10-15	8
<b>Teucrium chamaedrys L.</b>	0	30-40	0	20-25	15-20	15-20	15	0	10
<b>Teucrium divaricatum Sieb.</b>	0	30	15-20	10-15	0	0	10	5	5-10
<b>Teucrium massiliense L.</b>	5	25-30	20	15	0	0	20	0	0
<b>Nystatin 1000 u.</b>		35-40			25			30-35	

Avec : OI = fraction huileuse ; Bo = extrait de Benzène ; Mo = extrait de Méthanol

**Tableau 18** : Effet de l'activité antifongique d'extraits sur trois espèces de champignons pathogènes

## **6- Récapitulatif des différentes activités pharmacologiques de la ballote**

Les propriétés pharmacologiques sont répertoriées dans le tableau consigné à la page suivante :

<b>EFFET</b>	<b>TEST</b>	<b>FORME, DOSE ET VOIE UTILISEES</b>	<b>RESULTATS</b>
<b>Sur l'appareil cardiovasculaire</b>		25 mg/kg d'extrait aqueux par voie IV	hypotension
<b>Sur la respiration</b>		25 mg/kg d'extrait aqueux par voie IV	excitation respiratoire avec des inspirations beaucoup plus profondes et rapprochées
<b>Sur l'intestin</b>		25 mg/kg d'extrait aqueux par voie IV	chute brusque du tonus intestinal avec arrêt momentané des mouvements circulaires de l'intestin
<b>Myorelaxant</b>	Test de traction	200 et 400 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	pas d'effet myorelaxant
<b>Psycholeptique</b>	Test de potentialisation du sommeil	200 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	potentialisation de la narcose induite par des hypnotiques barbituriques
	Test de l'activographie	100 mg/kg d'extrait hydroalcoolique per os	très nette inhibition de l'activité motrice spontanée
	Test de l'actimétrie photoélectrique	300 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par sonde gastrique	très nette diminution de la mobilité spontanée avec un effet cumulatif au troisième jour

<b>EFFET</b>	<b>TEST</b>	<b>FORME, DOSE ET VOIE UTILISEES</b>	<b>RESULTATS</b>
<b>Psycholeptique</b>	Test de la planche à trous	200 et 400 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	effet sédatif important se traduisant par une diminution hautement significative de la curiosité et de la mobilité
	Test de l'open-field	200 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	diminution significative de l'anxiété (également de la mobilité et de la curiosité)
	Test des quatre plaques	200 et 400 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	réduction significative de la peur du choc électrique
<b>Spasmolytique</b>	Test de la bouillie de charbon	50 à 100 mg/kg d'extrait hydroalcoolique per os	effet spasmolytique nul
		500 mg/kg d'extrait hydroalcoolique per os	effet spasmolytique faible
		100 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	25 % d'inhibition du péristaltisme intestinal
	Test de l'activité in vitro	0,5 à 10 mg/kg d'extrait hydroalcoolique	aucune action sur la mobilité spontanée du duodénum isolé
		1 à 10 mg/kg d'extrait hydroalcoolique	pas d'effet musculotrope net
		1 à 5 mg/kg d'extrait hydroalcoolique	léger effet spasmolytique neurotrope

EFFET	TEST	FORME, DOSE ET VOIE UTILISEES	RESULTATS
<b>Anticonvulsivant</b>	Test de la crise au cardiazol	100 et 400 mg/kg d'extrait hydroalcoolique par voie IP	pas de propriété anticonvulsivante
<b>Antifongique</b>	Test de culture dans des boîtes de pétri	Les tests n'ayant pas encore été effectués chez l'animal, les doses efficaces n'ont pas encore été déterminées	

**Tableau 19**

CHAPITRE V :

ETUDE TOXICOLOGIQUE

Pour qu'un produit puisse être utilisé comme un médicament, il est nécessaire que son activité pharmacologique apparaisse à des doses pour lesquelles la toxicité est négligeable.

L'étude d'une drogue doit donc nécessairement comporter des études de toxicité.

En ce qui concerne la ballote, deux études toxicologiques ont été rédigées à ce jour : la première par JOANNY en 1982 (31), la deuxième par MONGOLD ET SERRANO en 1989 (40).

La première étape de tout programme de screening ou d'étude pharmacodynamique d'une substance médicamenteuse consiste dans un premier temps, à déterminer la dose létale 50 (DL50) qui représente la dose en mg/kg susceptible de tuer 50 % des animaux, après administration en une seule fois de doses croissantes de la substance à l'essai.

Elle consiste également à déterminer la DL0 et la DL100 qui constituent respectivement la plus grande dose qui n'entraîne pas de mortalité, et de la plus petite dose qui entraîne la mortalité de tous les animaux du lot.

Les auteurs de ces 2 études, concernant la toxicité aiguë de la ballote, ont procédé à un essai pour déterminer la zone de l'essai définitif. Celle-ci doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu et la plus faible à laquelle tous ont succombé.

Nous allons maintenant procéder à une synthèse de ces 2 études.

## **1- Matériel et méthode de chacune des 2 études**

### **a- Choix des animaux :**

JOANNY utilise des souris albinos Ifa Credo OF1 pesant 18 à 20 grammes, provenant du même élevage, soumises à un régime alimentaire identique et réparties en 3 lots (31).

MONGOLD et SERRANO, quant à eux, réalisent leur étude sur des souris mâles et femelles de souche EOPS (10 par lot provenant du centre d'élevage de Montpellier) (40).

Ces animaux, d'un poids moyen de 20 grammes, sont maintenus en observation pendant quatre jours avant le début des essais.

Pendant la période d'observation, les animaux, répartis en groupe de 10 par cage, reçoivent nourriture et eau de boisson *ad libitum*, et sont soumis à une température ambiante comprise entre 21 et 23 °C ainsi qu'à un cycle jour/obscurité de 12 heures.



## **b- Produits et doses testés :**

JOANNY teste des doses croissantes de produits en solution dans du sérum physiologique, ces doses allant de 3 à 5 g/kg de poids corporel.

MONGOLD et SERRANO utilisent un extrait hydroalcoolique lyophilisé de ballote (préparé par les Laboratoires NATURA MEDICA) en solution dans de l'eau pour préparation injectable, à la dose de 2 g/kg après avoir, au préalable, effectué un essai préliminaire avec des doses croissantes de 0,5 à 2 g/kg n'ayant entraîné aucune mortalité.

## **c- Protocoles expérimentaux :**

Ce qui diffère surtout entre les 2 protocoles, c'est la voie d'administration employée.

JOANNY administre les produits en solution dans du sérum physiologique, à l'aide d'une sonde gastrique, et ce, à doses croissantes.

MONGOLD et SERRANO, quant à eux, administrent une dose unique de 2 g/kg à 10 souris mâles et à 10 souris femelles par voie intrapéritonéale, après un jeûne hydrique de 18 heures. Ils ont, en plus de JOANNY, effectué des observations à 30 et 60 minutes, puis toutes les heures pendant 6 heures. Et après une période d'observation de 15 jours, les animaux sont soumis à un examen nécropsique.

## **2- Résultats de ces 2 études**

JOANNY n'observe aucune souris succomber à 5g/kg.

MONGOLD et SERRANO ne notent aucune modification du comportement durant la période d'observation de 15 jours, ni de signes de toxicité. Aucune mortalité n'a été constatée durant cette période d'observation de 15 jours. De plus, les examens nécropsiques réalisés à la fin de la période d'observation ne révèlent pas d'anomalies.

## **3- Conclusion de ces 2 études**

Ces 2 études aboutissent à la même conclusion : la ballote ne présentent pas de toxicité aiguë pour la souris à la dose de 5 g/kg par voie orale et à la dose de 2 g/kg par voie intrapéritonéale. Par conséquent, il semblerait que la ballote n'ait qu'une très faible toxicité aiguë.

## **4- Discussion**

Cependant, de par la variabilité des réponses d'une espèce à une autre, et de l'animal à l'homme, cette recherche de toxicité devra aussi se faire sur une autre espèce animale (carnivore).

De plus, cette étude de la toxicité aiguë devra être complétée par une recherche de toxicité chronique, la toxicité aiguë étant insuffisante pour dévoiler toutes les potentialités toxiques d'un produit.

Effectivement, certains centres de pharmacovigilance ont noté, depuis mars 1996, l'apparition d'hépatites chez des utilisateurs de spécialités neurosédatives contenant de la ballote.

Il semblerait que soient incriminés les diterpènes de la ballote, qui comme ceux de la germandrée petit chêne, sont toxiques in vitro sur les hépatocytes.

On se souvient que la germandrée petit chêne est depuis 1992 interdite en France. En effet, lors de consommation prolongée, plusieurs cas d'hépatites avec cytolyse se sont manifestées. L'atteinte hépatique survient environ quelques semaines après le début de la prise de germandrée. Elle se caractérise par un ictère avec forte élévation des transaminases (34).

De façon évidente, ces dernières affirmations remettent en cause l'utilisation à plus ou moins long terme de la ballote que l'on pensait être, jusqu'alors, inoffensive et totalement dénuée de risque. Or la ballote ne fait-elle pas partie, comme tout anxiolytique, des produits destinés à une utilisation périodique ou prolongée ?

Affaire à suivre...

CHAPITRE VI :

ETUDE CLINIQUE

A notre connaissance, 2 essais cliniques ont été réalisés à ce jour concernant le genre *Ballota* : il portent tous deux sur *Ballota nigra*.

Le premier a été mis en oeuvre par MAUREL (17) - (38) et le deuxième par HURIEZ (30).

## **A- PREMIERE ETUDE**

Il s'agit d'une étude clinique présentée par CABAILLET dans sa thèse de pharmacie (17).

### **1- Protocole**

#### **1.1- Objectif de l'étude**

Cette étude porte sur l'activité de la ballote dans les états anxieux.

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'efficacité thérapeutique de MDE *Ballota* dans les diverses manifestations de l'anxiété.

#### **1.2- Méthode**

Cette étude est un essai multicentrique non contrôlé de phase II, réalisé en cabinet libéral de médecine générale par 30 médecins. Le traitement à étudier est prescrit sur une période de 45 jours consécutifs.

#### **1.3- Sujets entrant dans cet essai**

##### **a- Critères d'inclusion**

Sont retenus pour cette étude les patients :

- consultant pour un état anxieux, accompagné ou non d'autres troubles psychiques ou somatiques,
- âgés de 18 à 65 ans,
- ayant obtenu une note minimum de 20 sur l'échelle d'anxiété de Hamilton,
- ayant poursuivi l'essai thérapeutique jusqu'à la fin.

##### **b- Critères d'exclusion**

Sont exclus du premier essai, les patients :

- refusant de participer à cette étude,

- présentant de lourds antécédents de pathologie psychiatrique,
- présentant un traitement psychotrope classique ne pouvant pas être interrompu (en cas d'interruption possible, l'entrée dans l'essai était différée de 15 jours).

### **c- Nombre de sujets**

Cette étude porte sur 101 patients.

## **1.4-Traitement**

### **a- Produit**

Le produit administré est un extrait hydroalcoolique de Ballote en solution hydroalcoolique (MDE *Ballota*), de composition suivante :

- ballote noire (poids de sommités fleuries)..... 10 g
- sorbate de potassium.....0.2 g
- éthanol à 95 %..... 14 ml
- eau purifiée.....qsp 100 ml

Les auteurs de cette étude préfèrent l'utilisation d'une forme liquide permettant l'absorption sublinguale, afin d'éviter l'hydrolyse des éléments chimiques responsables de l'activité dans l'estomac et leur dégradation par les lipases pancréatiques.

### **b- Doses**

La posologie quotidienne est de 10 ml.

### **c- Protocole d'administration**

Cet essai thérapeutique est réalisé sur une durée de 45 jours consécutifs ; le traitement quotidien est réparti en 2 prises (5 ml matin et soir).

## **1.5- Critères de jugements**

### **a- Outils d'évaluation**

Les échelles d'évaluation utilisées pour suivre l'évolution de l'état des patients sont les suivantes :

- l'échelle d'évaluation de l'anxiété de **Hamilton**, constituée de 14 items notés de 0 à 3, selon l'intensité des troubles (Annexe I)

Codage de l'intensité des symptômes :

- 0 pas de signe clinique
- 1 symptôme minima
- 2 symptôme d'intensité moyenne
- 3 symptôme majeur

- **l'échelle d'autoévaluation de Feighner**, constituée de 7 items.

## **b- Rythme d'évaluation**

L'échelle de Hamilton est remplie par les médecins, pendant les consultations, aux jours J0 et J45.

L'échelle d'autoévaluation de Feighner est remplie par les patients, à chaque consultation, aux jours J0, J15, J30 et J45.

## **2- Résultats**

Les sujets perdus de vue ou sortis en cours d'essai ne sont pas retenus pour l'analyse des résultats.

Aucune des sorties d'essai n'est liée à l'apparition d'effets secondaires.

### **2.1- Evaluation par l'échelle de Hamilton**

#### **2.1.1- Evolution globale de l'ensemble des items tant psychiques que somatiques**

J0 : 27,75

J45 : 14,72

Amélioration de 47 % ( $p < 0,0001$  %)

(le facteur p est un facteur statistique appelé Ki, qui traduit la significabilité du chiffre auquel il est annexé. Plus p est faible, plus le chiffre correspondant a une valeur statistique élevée)

#### **2.1.2- Evaluation spécifique de certains symptômes**

- ♦ **Anxiété** (correspondant aux symptômes suivants : humeur anxieuse, inquiétude, attente du pire, appréhension, peur, irritabilité) :

J0 : 2,752

J45 : 1,376

Amélioration de 50 % ( $p > 0,0001$ %)

- ◆ **Dépression** (correspondant aux symptômes suivants : humeur dépressive, perte des intérêts, insomnie matinale, variation de l'humeur dans la journée, plus aucun plaisir aux passe-temps favoris) :

J0 : 2,079

J45 : 1,128

Amélioration de 46 % ( $p < 0,0001$ )

- ◆ **Insomnie** (correspondant à des difficultés d'endormissement, un sommeil interrompu ou non satisfaisant avec fatigue au réveil, rêves pénibles, cauchemars, terreurs nocturnes) :

J0 : 2,594

J45 : 1,257

Amélioration de 52 % ( $p < 0,0001$ )

## **2.2- Autoévaluation par les patients**

La population des 101 malades est scindée en 2 sous-ensembles en fonction du motif de consultation.

Le premier groupe concerne les évolutions de l'humeur et du sommeil.

Le second groupe concerne l'évolution d'un état dépressif et est évalué sur la somme de 3 items : oralité, mémoire et intérêt.

Les résultats ont été consignés aux jours J0, J15, J30 et J45.

### **2.2.1- Groupe "Troubles de l'humeur et/ou du sommeil"**

Ce groupe comporte 66 cas.

- ◆ **Trouble de l'humeur** :

J0 : 2,272

J45 : 0,894

Amélioration de 61 % ( $p < 0,01$ )

Evolution de l'amélioration pendant le traitement :

J0 à J15 : très significatif ( $p < 0,001$ )

J15 à J30 : très significatif ( $p < 0,001$ )

J30 à J45 : significatif ( $p < 0,05$ )

L'amélioration est surtout marquée de J0 à J30.

#### ◆ Troubles du sommeil

J0 : 2,439

J45 : 0,727

Amélioration de 70 % ( $p < 0,0001$ )

Evolution de l'amélioration pendant le traitement :

J0 à J15 : très significatif ( $p < 0,001$ )

J15 à J30 : hautement significatif ( $p < 0,0001$ )

J30 à J45 : très significatif ( $p < 0,001$ )

### 2.2.2- Groupe "Etat dépressif"

Ce groupe comporte 35 cas.

J0 : 6,529

J45 : 3,353

Amélioration de 49 % ( $p < 0,0001$ )

Evolution de l'amélioration pendant l'essai :

J0 à J15 : significatif ( $p < 0,05$ )

J15 à J30 : très significatif ( $p < 0,001$ )

J30 à J45 : très significatif ( $p < 0,001$ )

Le syndrome dépressif s'améliore lentement les 15 premiers jours, puis d'une façon plus importante au-delà (de J15 à J45).

### 2.3- Effets secondaires

Aucune sortie d'essai n'est liée à l'apparition d'effets secondaires.

Aucun signe d'intolérance, de troubles de la vigilance, n'est observé pendant l'étude.

## 3- Conclusion

Dans cette étude, l'efficacité de MDE *Ballota* ressort comme hautement significative, qu'il s'agisse du score de Hamilton ou de l'échelle d'autoévaluation, et dans l'un et l'autre cas, des scores globaux ou des scores spécifiques.

Pour les deux types d'évaluation utilisés, l'efficacité est comparable quels que soient le sexe ou l'âge des patients.

L'analyse détaillée des étapes successives du traitement (J0, J15, J30 et J45) fait apparaître des nuances dans l'évolution des symptômes :

- le sommeil s'améliore régulièrement,
- les troubles de l'humeur s'améliorent surtout au cours des premiers mois,
- le syndrome dépressif commence à s'améliorer après le 15<sup>ème</sup> jour.



Dans tous les cas, mais plus particulièrement pour les troubles du sommeil et le syndrome dépressif, l'amélioration aurait été plus importante avec un traitement plus long, de 60 à 90 jours selon les cas.

Par conséquent, d'après son auteur, cette étude met en évidence de façon indiscutable l'activité SEDATIVE, ANXIOLYTIQUE et ANTIDEPRESSIVE de MDE *Ballota* en clinique.

Toujours d'après son auteur, cette activité thérapeutique va de pair avec une parfaite tolérance. Sans doute aurait-il fallu plus de recul, en tout cas plus de 45 jours, pour affirmer la parfaite innocuité de MDE *Ballota*...

## **B- DEUXIEME ETUDE**

Cette étude a été réalisée en 1991 par HURIEZ (30).

### **1- Protocole**

#### **1.1- Objectif de l'essai**

HURIEZ souhaite montrer l'efficacité thérapeutique d'un extrait hydroalcoolique de ballote sur l'anxiété.

#### **1.2- Méthode**

L'auteur réalise un essai clinique de phase II, d'une durée fixée à 90 jours.

#### **1.3- Sujets entrant dans l'étude**

##### **a- Critères d'inclusion**

Sont retenus pour cette étude des patients :

- volontaires,
- âgés de plus de 18 ans,
- consultant pour un état anxieux généralisé, pouvant s'accompagner de troubles somatiques, d'état dépressif ou de troubles du sommeil,
- présentant, à la première consultation, au moins 6 des 18 critères de la classification de l'anxiété généralisée du DSM III-R (Annexe II ) (3) .

## **b- Critères d'exclusion**

Sont exclus, du premier essai, les patients :

- refusant de participer à cette étude,
- présentant de lourds antécédents de pathologie psychiatrique,
- prenant un traitement psychotrope classique ne pouvant pas être interrompu (en cas d'interruption possible, l'entrée dans l'essai était différée de 15 jours).

Par contre, un traitement antérieur par benzodiazépines pour anxiété ou insomnie n'est pas un critère d'exclusion pour cette deuxième étude (dans ce cas là, un sevrage progressif est tenté).

## **c- Nombre de sujets**

Cette étude est réalisée sur 28 patients.

### **1.4- traitement étudié**

#### **a-Produit**

Le produit administré est un extrait de ballote en solution hydroalcoolique (MDE *Ballota*), conditionné en flacon de 125 ml, et de composition suivante :

- *Ballota nigra* (poids de sommités fleuries)...10 g
- sorbate de potassium.....0.2 g
- éthanol à 95 %.....14 ml
- eau purifiée.....qsp 100 ml

#### **b- Dose**

La posologie quotidienne est de 15 ml.

#### **c- Protocole d'administration**

Le traitement est réparti en 3 prises de 5 ml pris matin, midi et soir par voie perlinguale.

## **1.5- Critères de jugement**

### **a- Outils d'évaluation**

Le dossier de chaque patient contient une fiche clinique standard et une grille de critères de la classification de l'anxiété généralisée du DSM III-R, remplies toutes les deux par le médecin à chaque consultation (Annexe II et III).

### **b- Rythme des évaluations**

Chaque patient est vu aux jours J0, J15, J30, J60 et J90.

A chaque consultation, un examen clinique général et un interrogatoire reprenant les différents items de la classification du DSM III-R sont remplis à ce moment là par le médecin.

## **2- Résultats**

Une sortie en cours d'essai est notée et un patient n'est pas revenu à la consultation.

Cette étude a pu être réalisée chez 28 patients, 12 hommes et 16 femmes, âgés de 24 à 62 ans (42 % d'hommes et 58 % de femmes). L'âge moyen de l'ensemble des patients est de 40 ans.

Dix patients prenaient des benzodiazépines avant le traitement : chez trois d'entre eux, le traitement a été interrompu, quatre patients ont diminué d'au moins 50 % leur traitement antérieur, et trois n'ont rien modifié à leur traitement.

Dans un certain nombre de cas, il est constaté l'apparition d'une fatigue d'intensité variable ; dans la moitié des cas étudiés, les symptômes disparaissent à la poursuite du traitement.

Quelques patients signalent des problèmes digestifs à type de nausées ou d'éructions, s'atténuant à la prise postprandiale du traitement.

Sur les 28 patients traités avec MDE *Ballota*, l'auteur note une amélioration très nette; 65 % d'entre eux obtiennent une note inférieure à 6 à J30, et 72,5 % à J90.

Les résultats moins bons sont obtenus chez des patients présentant beaucoup de critères, ayant des antécédents très lourds ou encore chez qui l'observance du traitement a pu être mise en doute.

Les résultats de cette étude sont récapitulés dans le tableau se trouvant à la page suivante.

### 3- Conclusion

D'après son auteur, cette étude montre une efficacité de MDE *Ballota* dans un traitement de l'anxiété généralisée telle qu'elle est définie dans DSM III-R, avec une prise quotidienne de 10 ml.

L'auteur note, chez 73 % de ces patients, une amélioration très nette de leur état morbide initial ; les autres patients présentent une évolution insuffisante quoique positive.

L'action de MDE *Ballota* est souvent spectaculaire sur les troubles du sommeil et permet même, à certains patients, un sevrage de leur traitement antérieur par benzodiazépines.

	Patients	Age	Traitement	J0	J15	J30	J60	J90	Remarques
1	B. Monique	42	BZD	12	5	5	3	1 (3)	Diminution BZD
2	C. Jacqueline	32		8	7	5	6	4	
3	F. Régis	37	Noctran	9	9	7	6	5	1/2 Noctran
4	D. Florence	25		6	5	3	3	1	
5	L. Philippe	29	BZD	10	8	7	4	4	Arrêt BZD
6	B. Dominique	42	BZD	10	8	6	4	2	Diminution BZD
7	M. Daniel	44	BZD	13	12	5 (4)	1 (5)	1 (2)	Arrêt BZD
8	L. Claudine	53	BZD	7	5	5	3	3	Arrêt BZD
9	L. Thierry	27		6	6	8	6	6	
10	L. Patrice	38	Halcion	6	5	5	5	4	autant d'Halcion
11	H. Pierre	57	BZD	7	8	6	4	4	Diminution BZD
12	L. Serge	62		12	10	8	7	7	
13	J. Janine	44	Halcion	6	4	4	3	3	1/2 Halcion
14	M. Nathalie	25	BZD	14	14	12	9	9	autant de BZD
15	D. Lucie	44	BZD	9	9	7 (2)	6	6	autant de BZD
16	D. Lucienne	57		6	6	4	2	2	
17	W. Dorothée	24	Mogadon	8	7	6	5	5	Arrêt Mogadon
18	B. Murielle	29	BZD	11	10	8	8	8	Diminution BZD
19	T. Valérie	28		7	6	4	1	1	
20	B. Pierre	47		11	10	9	8	6	
21	B. Sylvie	32		8	6	4	4	3	
22	H. Jean-Luc	36		8	4	3	1	0	
23	E. Pascal	26		6	6	1	1	1	
24	P. Charles	60		7	5	3	4	5	
25	E. Jean	41	BZD	13	10	8	9	8	autant de BZD
26	S. Irma	43		10	4	2	2	1	
27	G. Christine	29		10	10	7	7	7	
28	R. Odette	59		6	5	2	2	1	

**Tableau 20 :** Tableau récapitulatif des 28 patients (30)

## C- DISCUSSION

Il est vrai que ces deux études tendent à prouver l'action bénéfique de MDE *Ballota* dans l'anxiété mais également dans la dépression et la sédation. Cependant afin de rendre indiscutable l'évidence de cette action, il serait bon, dans un premier temps, de réaliser un essai clinique randomisé et en double insu dans le but d'écarter toutes possibilités d'effet placebo pouvant intervenir dans les deux études déjà faites.

D'autre part, dans ces deux études, la ballote est administrée en solution hydroalcoolique. Les auteurs de ces deux études préfèrent l'utilisation de cette forme liquide qui permettait une absorption sublinguale, afin d'éviter l'hydrolyse dans l'estomac des éléments chimiques responsables de l'activité, et leur dégradation par les lipases pancréatiques.

Cependant, le fait que cette préparation contiennent de l'alcool, même en faible quantité, peut introduire un biais, certes peu probable mais possible, dans l'interprétation de l'action psychotrope de la plante.

Si les principes actifs de la ballote sont en effet dégradés par leur passage dans l'estomac de l'homme, ce qu'il faut établir, il conviendra alors de trouver une forme galénique qui évite ce passage sans toutefois contenir d'alcool. Cette préparation devra de plus, être présentée de telle manière qu'elle puisse convenir à une étude en aveugle, ce qui implique qu'elle puisse permettre la fabrication d'un placebo qui ne lui soit pas distinguable par les utilisateurs. De par le goût et l'odeur de ballote et de ses extraits, la présentation qui semble la meilleure pour son étude est certainement la gélule.

CHAPITRE VII :

UTILISATIONS  
THERAPEUTIQUES

De nombreuses espèces de *Ballota*, que ce soit en Europe, en Asie ou en Afrique, ont été utilisées à des fins thérapeutiques depuis des années déjà.

Pour la plupart, il s'agit seulement encore, à l'heure actuelle, d'une utilisation empirique. Par exemple, *Ballota acetabulosa*, qui pousse le long de la côte sud-ouest de la Turquie, est connue depuis le temps de Dioscoride, et les infusions, préparées à partir des feuilles, sont rapportées comme ayant des propriétés antiulcéreuses, antispasmodiques et sédatives ; les infusions, préparées à partir des parties aériennes de la plante, sont rapportées comme ayant des propriétés antihémorroïdaires (39).

*Ballota Africana*, qui est une plante indigène de l'Afrique du Sud, est utilisée pour le traitement des coliques, des morsures de serpents, de l'asthme, de la grippe et de l'insomnie (23).

Cependant, seule l'espèce *Ballota nigra*, qui pousse communément en France, dans presque toute l'Europe et que l'on retrouve même en Asie occidentale, en Afrique septentrionale, a fait l'objet d'un certain nombre d'études scientifiques.

Des études pharmacologiques et cliniques, que nous venons par ailleurs de décrire, tendent à prouver principalement les effets sédatifs et anxiolytiques de *Ballota nigra*, et nous permettent ainsi d'envisager son intérêt thérapeutique. *Ballota nigra* est d'ailleurs déjà présente à l'heure actuelle dans des spécialités commercialisées sous forme d'extrait hydroalcoolique ou aqueux en phytothérapie, homéopathie et pharmacie vétérinaire (65)-(68).

## **A- LES SPECIALITES A BASE DE BALLOTA NIGRA**

On retrouve la ballote dans quelques spécialités, à savoir l'EUPHYTOSE (Laboratoires Sakami-Lefrancq), le PHYTOCALM (Laboratoire UPSA), la SEDIBAINE (Laboratoire Marion Merel Dow), BALLOTE arkogélules (Laboratoires arkopharma) et Ballote Natura médica.

### **1- Euphytose** (65)

L'Euphytose se présente sous forme de comprimés dragéifiés ou de solution buvable.

#### **a- Composition**

##### **◆ Comprimés dragéifiés :**

	par unité
- Extrait sec d'aubépine.....	0,010 g
- Extrait sec de passiflore.....	0,040 g
- Poudre de paullinia.....	0,015 g
- Poudre de kola.....	0,060 g
- Extrait sec de valériane officinale stabilisée.....	0,050 g

- Extrait sec de ballote.....0,010 g

◆ **Solution buvable**

par cuillerée à café

- Extrait d'aubépine.....0,28 g  
- Extrait fluide de passiflore.....0,45 g  
- Extrait fluide de paullinia.....0,03 g  
- Extrait fluide de kola.....0,11 g  
- Extrait mou de valériane officinale stabilisée.....0,11 g  
- Alcoolature de ballote.....0,87 g

**b- Propriétés**

L'Euphytose présente des propriétés sédatives et antispasmodiques.

**c- Indications**

L'Euphytose est indiqué dans :

- les états anxieux légers,
- les dystonies neurovégétatives,
- les troubles légers du sommeil,
- l'irritabilité, la nervosité et notamment en cas de palpitations.

**d- Posologie**

- 2 à 6 comprimés à avaler sans croquer par jour
- ou - 3 cuillères à café dans un peu d'eau sucrée ou dans une infusion chaude par jour.

**2- Phytocalm (68)**

Le Phytocalm se présente sous forme de solution buvable en gouttes.

**a- Composition**

par flacon (60ml)

- Extrait sec de valériane.....1,10 g  
- Teinture de ballote.....8,82 g  
- Teinture de crataegus.....8,82 g  
- Teinture de passiflore.....8,82 g



## **b- Propriétés**

Le phytocalm est une association à visée sédative.

## **c- Indication**

Le Phytocalm est traditionnellement indiqué dans le traitement symptomatique des états neurotoniques, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil.

## **d- Posologie**

A partir de 13 ans, 3 cuillères à café par jour diluées dans un peu d'eau sucrée de préférence.

## **3- La Sédibaïne (68)**

La Sédibaïne se présente sous forme de comprimés dragéifiés.

### **a- Composition**

	par comprimé
- Extrait de strophantus.....	0,25 mg
- Phénobarbital.....	15 mg
- Extrait de jusquiame.....	5 mg
- Extrait de crataegus.....	20 mg
- Extrait de ballote.....	20 mg
- Extrait de valériane.....	20 mg
- Extrait de belladone.....	5 mg

### **b- Propriétés**

Par l'association de sédatifs du système nerveux central (phénobarbital, extrait de valériane, extrait de ballote), de parasympholytiques (poudre de belladone, extrait de jusquiame), de 2 cardiotoniques légers (crataegus, strophantus), la Sédibaïne agit sur certains symptômes traduisant une excitabilité nerveuse exagérée.

### **c- Indication**

La sédibaïne est indiquée dans les manifestations fonctionnelles des dysneurotonies : émotivité, nervosité, anxiété, irritabilité, palpitation, insomnie.

#### **d- Posologie**

2 à 4 comprimés par jour, de préférence avant les repas ou le soir au coucher.

### **4- Ballote arkogélules** (65)

#### **a- Composition**

230 mg de poudre totale cryobroyée, titrée à 4 % de polyphénols totaux.

La partie utilisée est la sommité fleurie.

#### **b- Propriétés**

La ballote possède des propriétés sédatives, anxiolytiques et antidépressives mises à profit en cas de nervosité, d'anxiété, d'angoisse et de troubles nerveux liés à la ménopause. C'est l'une des plantes les plus sédatives. Dans le cas de troubles du sommeil, on l'utilise pour favoriser l'endormissement chez les anxieux. Dénuée de toxicité, on peut l'employer chez les enfants et comme alternatives aux benzodiazépines.

Antispasmodique puissant, la ballote calme les quintes de toux et les contractions digestives douloureuses.

Cholérétique, la ballote peut tripler le volume de bile excrétée par demi heure et favoriser la digestion.

La ballote serait également un vermifuge énergique utilisé contre les vers : ascaridés et oxyures.

#### **c- Indication**

- ◆ **En première intention :**
  - Insomnies des anxieux,
  - Nervosité,
  - Dépression.
- ◆ **En deuxième intention :**
  - Mauvaise digestion,
  - Vers.

#### **d- Posologie**

Adulte : 2 gélules avant le dîner et 3 au coucher.

Enfant : 1 ou 2 gélules par jour selon l'âge.

A prendre avec un grand verre d'eau.

## **5- Ballote Natura médica (65)**

L'extrait hydroalcoolique de ballote se présente sous forme de coffrets de 20 ampoules buvables (NATURA MEDICA) et sous forme de flacons de 125 ml et 625 ml (MDE Ballota, laboratoires NATURA MEDICA).

### **a- Composition**

- Sommités fleuries de ballote.....10 g
- Sorbate de potassium.....0,01 g
- Ethanol à 95 % vol. ....14 ml
- Eau purifiée qsp.....100 ml

### **b- Indication**

Cet extrait est indiqué pour réduire la nervosité chez l'adulte et chez l'enfant, notamment en cas de troubles du sommeil.

## **B- LES SPECIALITES HOMEOPATHIQUES A BASE DE BALLOTA NIGRA**

L'utilisation en homéopathie de la ballote est quasiment inexistante puisqu'on ne la trouve qu'à une dilution de 3 décimales uniquement, dans 2 produits : l'Homéogène n°46 (Laboratoire Boiron-LHF) et les granules Boribel n°41 (Laboratoire Monnal).

### **1- Homéogène 46 (65)-(68)**

L'Homéogène 46 se présente sous forme de comprimés.

#### **a- Composition**

- Stramonium.....3 DH
- Hyosciamus.....3 DH
- Passiflora.....3 DH
- Ballota.....3 DH
- Nux moschata.....4 DH
- aa 1,2mg
- Excipients qsp 1 comprimé de 0,20 g.

## **b- Propriétés**

Il s'agit d'un médicament homéopathique à visée sédatrice et antispasmodique.

Sans effet indésirable ou contre-indication connus, Homéogène 46 peut-être administré à l'enfant comme à l'adulte (femmes enceintes, personnes âgées).

## **c- Posologie**

2 comprimés 3 fois par jour à distance des repas. Reprendre 2 comprimés le soir au coucher s'il y a troubles du sommeil. Les comprimés, de saveur légèrement sucrée, doivent être sucés ou peuvent être dissous dans un peu d'eau.

## **2-Boribel n° 41 (65)-(68)**

Boribel n° 41 se présente sous forme de granules.

### **a- Composition**

- Ballota D3.....	20 g
- Passiflora incarnata D3.....	20 g
- Crataegus oxyacantha D3.....	20 g
- Solidagovirga aurea D3.....	20 g
- Majorana D3.....	20 g

### **b- Indication**

Les granules Boribel n° 41 sont indiqués dans :

- L'anxiété, l'angoisse,
- L'insomnie,
- Les dystonies neurovégétatives : éréthisme cardiaque, syndrome prémenstruel, mal de mer.

## **C- SPECIALITES VETERINAIRES**

### **1- Nervicanis Biocanina**

Le Nervicanis se présente sous forme de comprimés.

#### **a- Composition**

- Méprobamate.....10 mg

- Phénobarbital..... 15 mg
- Bromure de sodium.....75 mg
- Poudre de belladone..... 10 mg
- Poudre d'aubépine.....5 mg
- Extrait de ballote.....4 mg
- Extrait de gelsénium.....5 mg

A l'heure actuelle, les quatre derniers composants ne sont plus cités dans la formule, alors qu'en réalité, ils sont toujours bien présents dans Nervicanis : en fait, ils sont inclus dans les excipients.

### **b- Propriétés**

L'association de 2 tranquillisants à actions complémentaires permet de rétablir l'équilibre nerveux des animaux en adaptant la posologie à chaque cas.

### **c- Indication**

Le Nervicanis est un tranquillisant pour chiens et chats utilisé contre les troubles nerveux chroniques et le mal des transport.

# CONCLUSION

Parmi le genre *Ballota*, c'est principalement l'utilisation de *Ballota nigra* encore appelée *Ballota foetida* ou plus communément ballote, qui a été rapportée.

Il s'agit d'une plante médicinale dont les vertus thérapeutiques sont vantées par des médecins célèbres dans les siècles passés, pour traiter des troubles nerveux.

Cependant, il faut le dire, cette plante médicinale a été relativement peu utilisée : son odeur fétide serait à l'origine, en grande partie, de son oubli.

Seule *Ballota nigra*, espèce la plus commune en France, a fait l'objet d'études scientifiques approfondies, dont certaines sont récentes.

Sur le plan chimique, la composition reste encore relativement succincte, même pour *Ballota nigra*.

Tout d'abord, Balansard s'intéresse, en 1934, à la ballote. Il est l'un des rares auteurs à avoir approfondi des recherches dans ce domaine : il révèle la présence de principes pouvant être à l'origine des activités physiologiques de cette plante, à savoir la choline et la saponine (laquelle renforce l'action cardiovasculaire de la choline).

C'est seulement beaucoup plus tard, à partir des années 1970, et dans le cadre de recherches chimiotaxonomiques chez la famille des Lamiacées, qu'un certain nombre d'espèces sont étudiées.

En premier lieu, l'équipe de SAVONA identifie les premiers diterpènes de ce genre chez l'espèce *nigra* : la ballonigrine, ballonigrinone, le balloténol, la ballotinone, la 7-acétoxymarrubiine et la préleosibirine. Puis élargissant leur recherche à d'autres espèces, aidée par les équipes de RUSTAIYAN et DAVIES-COLEMAN, d'autres nouveaux dérivés terpéniques sont mis en évidence : l'hispanolone, les acides hispanonique et hispaninique, l'hispanoate de méthyle et le balloauchérolide.

Récemment, le 13-hydroxyballonigrinolide, après avoir été isolé de *Ballota lanata* par SAVONA, est mis en évidence chez l'espèce *nigra* par SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN comme composant diterpénique majoritaire : il pourrait servir de référence dans le cadre de la standardisation d'une monographie concernant cette dernière pour les pharmacopées européennes.

A la fin des années 1980, des flavonoïdes dont la présence pourraient être à l'origine des activités spasmolytiques de cette plante médicinale, sont isolés.

- DARBOUR et ZHUKOV s'intéressent à l'espèce *nigra* chez laquelle ils trouvent un aglycone : un dérivé de la scutellarine, et de nombreux hétérosides : des monosides d'acacétine, de lutéoline, d'apigénine et de chrysoériol, des diosides d'apigénine, d'acacétine, et de la vicénine 2.

- Les équipes de FERRERES et MERICLI étudient à peu près à la même époque, les autres espèces. Ils identifient de nombreux aglycones : l'apigénine, la lutéoline, la genkwanine, la kumatakénine, l'isokaempfériol, la ladaneine, la nuchensine, la salvigénine, la 7,4'-di-O-méthyl apigénine et la 4',7 diméthyl scutellareine ainsi que quelques hétérosides : le glucosyl-3-quercétine, l'apigénine-7-(p-coumaroyl)-glucoside, le lutéoline-7-(p-coumaroyl)-glucoside et le chrysoériole-7-(p-coumaroyl)-glucoside.

Au cours de son étude sur les flavonoïdes, ZHUKOV met également en évidence des acides hydroxycinnamiques, à savoir les acides caféique, férulique et chlorogénique.

De façon beaucoup plus récente, en 1996, SEIDEL, BAILLEUL et TILLEQUIN publient une étude dans laquelle ils montrent la présence d'une autre catégorie de composés chez *Ballota nigra* : des esters hétérosidiques phénylpropanoïques à savoir : le verbascoside, le forsythoside B, l'arenarioside et le ballotétroside.

Cette découverte semble être révolutionnaire dans le monde de la ballote puisque le verbascoside et un autre ester hétérosidique phénylpropanoïque : l'orobanchoside, présents chez une autre plante : l'Orobanche hedereae, sont déjà rapportés comme ayant des propriétés sédatives. Or, il s'agirait des premiers composés qui expliqueraient l'action pharmacologique principale de la ballote. En effet, jusqu'à présent, aucune activité biologique n'avait été encore attribuée aux diterpènes ou aux flavonoïdes, si ce n'est une légère action spasmodique pour ces derniers.

Des composés lipophiles sont également détectés chez *Ballota nigra* :

- POPA et PASCHNICK, en 1974, isolent du phytol et du béta-sitostérol.

- MARIN, en 1992, détecte des acides gras saturés : acides palmitique et stéarique, et des acides gras insaturés : acides oléique et linoléique.

Dans le cadre de sa recherche chimiotaxonomique sur la tribu des Stachyoïdées, il conclut que la composition des acides gras ainsi que la rapport 18:3 / 18:2 peuvent être utilisés comme des marqueurs taxonomiques chez cette tribu.

Des études pharmacodynamiques portant uniquement sur l'espèce *nigra* sont menées, et ce, de manière plus approfondie que les études chimiques.

Par le biais de l'utilisation de tests pharmacologiques classiques, une activité psycholeptique conséquente et une activité spasmodique modérée sont démontrées : les travaux réalisés par JOANNY, PORTE et SERRANO mènent à des résultats allant dans le même sens et permettent ainsi, d'affirmer l'intérêt thérapeutique de cette plante.

Une activité antifongique est également révélée par LAMER-ZARAWSKA : elle serait due à des composés polyphénoliques. La ballote présente une forte activité antifongique principalement sur *Aspergillus fumigatus* mais également sur *Candida albicans*. Ces données ouvrent la possibilité d'une nouvelle utilisation de la ballote en thérapeutique, par exemple en stomatologie comme remède antimycosique ou en phytopharmacie pour protéger les plantes de l'action des champignons pathogènes.

Concernant toujours la ballote, à l'heure actuelle deux essais cliniques, sont réalisés respectivement par MAUREL et HURIEZ sur un extrait hydroalcoolique de ballote. Les résultats de ces études tendent à démontrer l'efficacité de la ballote dans l'anxiété généralisée.

Elle est encore, à l'heure actuelle, peu mais présente dans le commerce sous forme d'extrait hydroalcoolique (*Ballota Natura Medica* et MDE *Ballota*) et entre dans la composition de plusieurs spécialités en phytothérapie : Euphytose, Phytocalm, Sédibaine, et



tout récemment Ballote arkogélules ainsi qu'en homéopathie : Homéogène 46, Boribel n°41 et, en vétérinaire : Nervicanis Biocanina.

Son intérêt, dans le domaine de la phytothérapie, mérite à nos yeux quelques commentaires.

L'ensemble des activités démontrées de ballote rappelle une classe thérapeutique des plus utilisées aujourd'hui en médecine : celle des benzodiazépines.

Qui plus est, l'intérêt de la ballote réside non seulement dans la possibilité qu'elle offre de se substituer aux benzodiazépines mais également dans l'absence d'effets secondaires propres à la chimiothérapie : à savoir effet amnésiant, trouble de la vigilance, troubles psychomoteurs, apparition d'effets paradoxaux permettant ainsi un traitement à long terme sans risque d'épuisement de l'efficacité et surtout sans crainte de pharmacodépendance.

Il est donc tentant d'imaginer une nouvelle classe "d'hypnotiques" quasiment dénués d'effets indésirables à l'heure actuelle où un tiers des français se plaint de troubles chroniques ou transitoires du sommeil, où neuf millions de personnes prennent régulièrement ou non des somnifères ou des tranquillisants accordant ainsi à la France le record mondial de consommation avec 150 millions de boîtes dont 115 millions de benzodiazépines par an... .

La nature fait souvent bien les choses! Certes mais... restent peut être deux problèmes à résoudre :

- Dans sa thèse, CABAILLET réalise une étude comparative des propriétés pharmacologiques des benzodiazépines avec celles de la ballote. Elle avance d'ailleurs le terme "d'analogie d'action" mais cette analogie ne s'applique uniquement qu'à la qualité des propriétés pharmacologiques. En effet, en ce qui concerne l'aspect quantitatif de ces propriétés, aucune étude n'est réalisée à ce jour, permettant de comparer l'intensité des activités de la ballote et des benzodiazépines.

De plus, la ballote n'a été jusqu'ici utilisée que chez des patients présentant des symptômes d'anxiété, d'insomnie ou de dépression sans antécédent de pathologie psychiatrique lourde et sans traitement psychotrope classique.

Cependant des recherches encore plus approfondies quant à l'activité à la fois pharmacologique et clinique de la ballote permettraient peut-être d'élargir son champ d'action, ou d'y supprimer des restrictions.

- Quant à sa toxicité, nous n'avons, à ce jour, que deux publications concernant la détermination de la toxicité aiguë de la ballote. Ces travaux, réalisés séparément par JOANNY et MONGOLD, révèlent une très faible toxicité aiguë de cette plante. Cependant aucune étude de la toxicité chronique n'a encore été rapportée.

De plus, certains centres de pharmacovigilance viennent de noter depuis mars 1996, l'apparition d'hépatites chez des utilisateurs de spécialités neurosédatives contenant de la ballote. Il semblerait que soient incriminés les diterpènes de la ballote, qui comme ceux de la germandrée petit chêne, sont toxiques in vitro sur les hépatocytes.

Si cette toxicité de nature chronique devait s'avérer exacte, deux solutions pourraient peut-être, être proposées : celle de se débarrasser des diterpènes toxiques dans la drogue finale ou celle d'isoler les esters hétérosidiques phénylpropanoïques responsables de l'activité biologique de la plante, afin de les utiliser en tant que tels dans une nouvelle classe de médicaments relevant du domaine de la chimiothérapie et non de la phytothérapie. Tout ceci, après s'être assuré, bien sûr, de la non toxicité de ces esters.

Mais une question reste ouverte : ces diterpènes n'auraient-ils pas un rôle à jouer dans la potentialisation des esters hétérosidiques phénylpropanoïques responsables de neurosédation ?

Affaire à suivre...

# ANNEXES

**Annexe I : Echelle d'évaluation de l'anxiété - Hamilton**

	<b>Absent</b>	<b>Léger</b>	<b>Moyen</b>	<b>Fort</b>	<b>Invali- dant</b>
<b>1- HUMEUR ANXIEUSE</b> Inquiétude, attente du pire, appréhension, anticipation avec peur, irritabilité.					
<b>2- TENSION</b> Sensations de tension, fatigabilité, impossibilité de se détendre, pleurs faciles, tremblements, incapable de rester en place.					
<b>3- PEURS</b> Du noir, des gens qu'on ne connaît pas, d'être abandonné seul, des gros animaux, etc... de la circulation, de la foule.					
<b>4- INSOMNIES</b> Difficultés d'endormissements, sommeil interrompu, sommeil non satisfait avec fatigue au réveil, rêves pénibles, cauchemars, terreurs nocturnes.					
<b>5- FONCTIONS INTELLECTUELLES (COGNITIVES)</b> Difficulté de concentration, mauvaise mémoire.					
<b>6- HUMEUR DEPRESSIVE</b> Perte des intérêts, ne prend plus plaisir à ses passe-temps, dépression, insomnie du matin, variation de l'humeur dans la journée.					
<b>7- SYMPTOMES SOMATIQUES GENERAUX</b> Douleurs et courbatures dans les muscles, raideurs musculaires, sursauts musculaires, secousses cloniques, grincement des dents, voie mal assurée.					
<b>8- SYMPTOMES SOMATIQUES GENERAUX</b> Traitement d'oreilles, vision brouillée, bouffée de chaleur ou de froid, sensations de faiblesse, sensations de picotement.					
<b>9- SYMPTOMES CARDIOVASCULAIRES</b> Tachycardie, palpitations, douleurs dans la poitrine, battements des vaisseaux, sensations syncopales, extra-systoles.					
<b>10- SYMPTOMES RESPIRATOIRES</b> Poids sur la poitrine ou sensation de constriction, sensation d'étouffement, soupirs, dyspnée.					
<b>11- SYMPTOMES GASTRO-INTESTINAUX</b> Difficultés pour avaler, vents, dyspepsie (douleur avant ou après le repas, sensations de brûlure, ballonnement, pyrosis, nausées, vomissements, creux à l'estomac), coliques abdominales, borborygmes, diarrhée, perte de poids, constipation.					
<b>12- SYMPTOMES GENITAUX URINAIRES</b> Mictions fréquentes, urgence de la miction, aménorrhée, ménorragies, apparition d'une frigidité, éjaculation précoce, absence d'érection, impuissance.					
<b>13- SYMPTOMES DU SYSTEME NERVEUX AUTONOME</b> Bouche sèche, accès de rougeur, pâleur, tendance à la sudation, vertiges, céphalées de tension, horripilation.					
<b>14-MODIFICATION DU COMPORTEMENT LORS DE L'ENTRETIEN</b> Général : tendu, mal à l'aise, signes d'agitation, tremblements, visage crispé, pâleur. Physiologie : pouls rapide, ROT vifs, transpiration, clignotement palpébral, respiration rapide.					

**Annexe II: Fiche clinique *Ballota nigra***

**ETAT CIVIL**

Nom :  
 Prénom :  
 Age :  
 Sexe :  
 Profession :

**ANTECEDENTS**

Médicaux :  
 Chirurgicaux :  
 Obstétricaux :

**TRAITEMENTS EN COURS**

Nature :	Début :	Motif :
Nature :	Début :	Motif :
Nature :	Début :	Motif :

**EXAMEN ET INTERROGATOIRE**

Inquiétude	Troubles de la libido
Peur	Inhibition
Angoisse	Excitation
Anxiété	

**REMARQUES PARTICULIERES**

J0 :                      J15 :                      J30 :                      J60 :                      J90 :

**Annexe III : Fiche d'analyse de l'anxiété généralisée selon DSM III R**

Patient n°

Consultations :	J0	J15	J30	J60	J90
-----------------	----	-----	-----	-----	-----

**TENSION MOTRICE**

Tremblements, tressaillements, impression de vacillements	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Tension musculaire, lourdeurs et douleurs	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Fébrilité	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Fatigabilité rapide	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐

**TROUBLES NEUROVEGETATIFS**

Respiration courte ou sensation d'étranglement	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Palpitations ou tachycardie	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Transpiration ou mains froides et moites	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Sécheresse de la bouche	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Etourdissements ou sensation de tête vide	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Nausées, diarrhée, ou gêne abdominale	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Bouffées de chaleur ou frissons	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Pollakiurie	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Difficultés de déglutition ou boule dans la gorge	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐

**EXPLORATION HYPERVIGILANTE DE L'ENVIRONNEMENT**

Sensation d'être bloqué ou à bout	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Hyperréactivité (sursauts)	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Difficultés de concentration ou sensation de tête vide à cause de l'anxiété	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Difficultés d'endormissement ou de maintien du sommeil	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐
Irritabilité	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐	┌┐

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABBE COSTE (H.)** - Flore descriptive et illustrée de la France - Tome III, Blanchard, Paris, 1975-1987, 118-122.
2. **ADEMA (F.)** - Iridoid glucosides of species of *Lamium* and some related genera - Acta Bot. Neer., 1968, 17 (5), 423-30.
3. **American Psychiatrist Association** - D.S.M III-R. Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux - Masson, Paris, 1987, 624.
4. **BALANSARD (J.)** - La Ballote fétide : étude chimique et pharmacodynamique - Thèse de doctorat en pharmacie, Marseille, 1934.
5. **BOISSIER (JR.)** - Etude d'une action sédatrice par activographie - Actualités pharmacologiques, 1959, 12, 1-69.
6. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.)** - L'utilisation du test de traction, test de JULOU-COURVOISIER, pour l'étude des psycholeptiques - Thérapie, 1960, 15, 1170-1174.
7. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.)** - L'actimétrie photoélectrique unitaire chez la souris - Arch. Int. Pharmacodyn., 1965, 158, 212.
8. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.)** - Recherche d'un effet sédatif par le test de l'actimétrie photoélectrique - Arch. Int. Pharmacodyn., 1964, 147, 372.
9. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.)** - L'utilisation d'une réaction particulière de la souris pour l'étude des médicaments psychotropes. Thérapie, 1964, 19, 571-583.
10. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.)** - Modification de l'épreuve d'évasion - Application à l'étude des substances psychotropes - Thérapie, 1965, 20, 895.
11. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.)** - La réaction d'exploration chez la souris - Thérapie, 1962, 17, 1226-1232.
12. **BOISSIER (JR.), SIMON (P.), TARDY (J.), DIVERRES (JC.)** - Test de l'actimétrie photoélectrique - Méd. Exp., 1960, 3, 81-84.
13. **BONNIER (G.)** - Flore complète de la France, de la Suisse et de la Belgique - Tome IV, Belin, Paris, 1988, 20-21.
14. **BOSSY (B.)** - *Ballota nigra* : revue bibliographique et perspectives - Thèse de doctorat en pharmacie, Montpellier, 1993.
15. **BRUNETON** - Eléments de phytochimie et de pharmacognosie - Edition Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 1987.
16. **BRUNO (M), SAVONA (G.), PASQUAL (C.), RODRIGUEZ (B)** - Preleosibirin, a prefuranic labdane diterpene from *Ballota nigra*, subsp. *foetida* - Phytochemistry, 1986, 25 (2), 538-539.

17. **CAILLABET (N.)** - Contribution à l'étude de la Ballote fétide - Thèse de doctorat en pharmacie, Bordeaux, 1990.
18. **COHEN**- Mesure d'une activité spasmodique in vitro - Fiche technique n°16, J. Pharmaco., 1971, (6).
19. **COURVOISIER (S.), DUCROT (R.), JULOU (L.)** - Le test de traction - Clin. Exp. Psychopath., 1956, 17, 25-37.
20. **CRETE (P.)** - Systématique des angiospermes - Tome II, 2<sup>ème</sup> édition, Masson, 1965 368-375.
21. **CUNNINGHAM (S.)** - L'encyclopédie des herbes magiques - Sand, Paris, 1987.
22. **DARBOUR (N.), BALTASSAT (F.), RAYNAUD (J.)** - The presence of apigenin O-heteroside and C-heteroside in the leaves of *Ballota foetida* Lamk. - Pharmazie, 1986, 41 (8), 605-606.
23. **DAVIES-COLEMAN (M.), RIVETT (D.)** - Transformation of hispanolone from *Ballota africana* into 15, 16-epoxy-9-hydroxylabda-13 (16), 14-diene - S. Afr. J. Chem., 1990, 43 (3-4), 117-119.
24. **FERRERES (F.), TOMAS-BARBERAN (F.A.), TOMAS-LORENTE (F.)** - Flavonoid compounds from *Ballota hirsuta* - J. Nat. Prod., 1986, 49 (3), 554-555.
25. **FOURNIER (P.)** - Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France - Tome I, Edition Le Chevalier, Paris, 1947.
26. **GARNIER (G.), BEZANGER-BEAUSQUESNE (L.), Debraux (G.)** - Ressources médicinales de la Flore française - Vigot, Paris, 1961, 1156-1158.
27. **GELLA (E.V.), ZHUKOV (I.M.), GRIMOVA (T.A.), LITVINENKO (V.I.), PICHUGIN (V.V.)** - Hydroxycinnamic acids - USSR, from : Otkrytiya, Izobret, 1985, 25, 33.
28. **GRUND** - Plantes médicinales : 256 illustrations en couleurs - Artia, Prague, 1983, 91.
29. **GUIGNARD (J.L.)** - Abrégé de Botanique - 9<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris, 1994.
30. **HURIEZ (A.)** - L'utilisation de MDE *Ballota* chez des patients anxieux (à propos de 28 cas) - Phytotherapy, 1991, 36 (37), 12-19.
31. **JOANNY (MF.)** - La Ballote fétide : étude botanique et pharmacologique - Thèse de doctorat en pharmacie, Clermont-Ferrand, 1982.
32. **LAMER-ZARAWSKA (E.), RZADKOWSKA-BODALSKA (H.), KARLOWICZ (K.)** - Antifungal activity of some medicinal plants of Lamiaceae Family - Bull. Pol. Acad. Sci. : Biol. Sci., 1991, 39(4), 387-393.



33. **LECLERC (H.)** - Précis de phytothérapie - 5<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris, 1983, 209-210.
34. **LOEPER (J.), DESCATOIRE (V.), LETTERON (P.)** - Hepatotoxicity of *Germander* in mice - Gastroenterology 1994, 106, 464-472.
35. **LOPEZ DE LERMA (J.), GARCIA-BLANCO (S.), RODRIGUEZ (JG.)** - New compounds from *Ballota hispanica*. - X-ray crystal and molecular structure of hispanonic acid methyl ester (MEAH) - Tetrahedron Lett, 1980, 21 (13), 1273-1274.
36. **MAGHANI (P.)** - Culture et cueillette des plantes médicinales - Hachette, Paris, 1979.
37. **MARIN (PD.), SAJDL (V.), KAPOR (S.), TATIC (B.), PETKOVIC (B.), DULETIC (S.)** - Fatty acids of the Stachyoideae - Biochem. Syst. Ecol., 1992, 20(4), 389-392.
38. **MAUREL (JC.), ANAFELOS (P.), VIBES(J.), BOULOT (AF.)** - MDE *Ballota* : Etude clinique de l'activité dans les états anxieux - Laboratoires NATURA MEDICA, 1989.
39. **MERICLI (AH.), MERICLI (F.), TUZLACI (E.)** - Flavonoids of *Ballota acetabulosa* - Acta Pharm. Turc., 1988, 30 (3), 143-144.
40. **MONGOLD (JJ.), CAMILLIERI (S.), SERRANO (JJ.), TAILLADE (C.), MASSE (JP.), SUSPLUGAS (P.)** - Etude expérimentale de l'activité psychotrope de *Ballota nigra* - Phytothérapie, 1991, 36(37), 5-11.
41. **PERROT (E.)** - Matières premières usuelles du règne végétal : thérapeutique - hygiène - industrie - Tome II, Masson, Paris, 1943, 2030.
42. **PIRETTI (S.), DI GIANNUARIO (A.)** - Pharmacological effects of phenylpropanoid glycosides from *Orobancha hederæ* - Phytotherapy Research, 1992, 6, 89-93.
43. **POPA (DE.), PASECHNICK (GS.)** - Higher terpenoids of some species of Labiatae - Khim - Prir Soedin, 1974, 4, 529-530.
44. **PORSOLT (RD.)** - Méthodes d'étude des médicaments psychotropes chez l'animal - Encycl. Med. Chir., Psychiatrie, 1988, 4, A 20, 37860.
45. **PORTE (F.)** - La Ballote fétide : quelques études pharmacologiques - Thèse de doctorat en pharmacie, Clermont-Ferrand, 1983.
46. **RACZ-KOTILLA (E.), RACK (G.), JOZSA (J.)** - Activity of some species belonging to Labiatae on the central nervous system of mice - Herba Hungarica, 1980, 19, 49-53.
47. **RODRIGUEZ (B.), SAVONA (G.), PIOZZI (F.)** - Two new unusual diterpenoids from *Ballota hispanica*- J. Org. Chem., 1979, 44 (13), 2219-2221.

48. **RUSTAIYAN (A.), MOSSLEMIN-KUPAII (MH.), HABIBI (Z.)** - Two new diterpenes from *Ballota aucheri* - Iran. J. Chem. Eng., 1991, 10 (2), 72-77.
49. **RUSTAIYAN (A.), MOSSLEMIN-KUPAII (MH.), ZDERO (C.)** - Furolabdanes and related compounds from *Ballota aucheri* - Phytochemistry, 1991, 31 (1), 344-346.
50. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), HANSEN (Jr.), SIVERNS (M.)** - Structure of ballotinone, a diterpenoid from *Ballota nigra* - J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1976, 15, 1607-1609.
51. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), HANSON (JR.), SIVERNS (M.)** - New diterpenoids from species of genus *Ballota* - Chim. Ind. (Milan), 1976, 58 (5), 378.
52. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), HANSON (JR.), SIVERNS (M.)** - Structures of three new diterpenoids from *Ballota* species - J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1977, 3, 322-324.
53. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), HANSON (JR.), SIVERNS (M.)** - The structure of ballotenol, a new diterpenoid from *Ballota nigra* - J. Chim. Soc., Perkin Trans. 1, 1977, 5, 497-499.
54. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), MARINO (M.)** - Ruspectralic acid, a new diterpene lactone- Heterocycles, 1977, 7 (1), 161-164.
55. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), RODRIGUEZ (B.)** - Hispanolone, a new furanoditerpene - Heterocycles, 1978, 9 (3), 257-261.
56. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), HANSON (JR.), SIVERNS (M.)** - 18-Hydroxyballonigrin, a new diterpenoid from *Ballota acetabulosa* - J. Chim. Soc., Perkin Trans. 1, 1978, 10, 1271-1272.
57. **SAVONA (G.), PIOZZI (F.), HANSON (JR.)** - 13-Hydroxyballonigrinolide, a new diterpenoid from *Ballota lanata* - Phytochemistry, 1978, 17 (12), 2132-2133.
58. **SAVONA (G.), BRUNO (M.), PIOZZI (F.), BARBAGALLO (C.)** - Diterpenes from *Ballota* species - Phytochemistry, 1982, 21 (8), 2132-2133.
59. **SEIDEL (V.), BAILLEUL (F.), TILLEQUIN (F.)** - Phenylpropanoid glycosides from *Ballota nigra* - Planta medica, 1996, 62 (2), 186.
60. **SEIDEL (V.), BAILLEUL (F.), TILLEQUIN (F.)** - Isolation from *Ballota nigra* L. of 13-hydroxyballonigrinolide, a diterpene useful for the standardization of the drug - J. Pharm. Belg., 1996, 51 (2), 72-73.
61. **SEIDEL (V.), BAILLEUL (F.), TILLEQUIN (F.), LIBOT (F.)** - Esters hétérosidiques phénylpropanoïques de *Ballota nigra* - XVIII journées internationales groupe polyphénols - Bordeaux, 15-18 Juillet 1996, 78.
62. **SERRANO (JJ.)** - Etude de la potentialisation du sommeil sur un extrait de Ballote NATURA MEDICA - Laboratoire de pharmacologie, Faculté de Montpellier, 1989.

63. **SERRANO (JJ.)** - Etude de la motilité et de la curiosité chez la souris - Test de la planche à trous - Laboratoire de pharmacologie, Faculté de Montpellier, 1989.
64. **TESSIER (A.)** - La Ballote- Plantes et médecines associées Magazine, 1990, n°7.
65. **TREMBLAY (L.), BARDOULAT (M.), LOUVET (N.), DESWERT (C.)** - Théra - 8<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Paris, 1996.
66. **TOMAS-BARBERAN, (FA.), GIL (MI.), FERRERES (F.), TOMAS-LORENTE (F.)** - Flavonoid p-coumaroylglucosides and 8-hydroxyflavone allosylglucosides in some Labiatae - Phytochemistry, 1992, 31 (9), 3097-3102.
67. **TUTIN (TG.), HEYWOOD (VH.), BURGESS (NA.), MOORE (DM.), VALENTINE (DH.), WALTERS (SM.), WEBB (DA.)** - Flora europea - Tome III, Univ. Press, Cambridge, 1993, 149-151.
68. **VIDAL 1996**
69. **WINTER (CA.)** - Le test de potentialisation du sommeil - J. Pharmacol. Exp. Ther., 1948, 94, 7-11.
70. **WISSCHER et coll.** - Le test à la bouillie de charbon- J. Pharmacol., 1971, (2), 85-86.
71. **ZHUKOV (IM.), BELIKOV (VV.)** - Chromatospectrophotometric determination of flavonoids and dioxycinnamic acids in the above-ground part of *Ballota nigra* L. - Farm. Zh., 1989, 5, 55-58.
72. **ZINCHENKO (TV.)** - Preliminary chemical investigation of some plants of the family Labiatae - Inst. Farm. Zh, 1959, 14 (6), 47-51.



## SERMENT D'APOTHIKAIRE

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

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

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

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

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

AUTORISATION D'IMPRESSION  
ET DE  
SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

A propos de la ballote: Ballotanigral

CANDIDAT : M Anne Lise Enderlin ep. Segret

Vu

GRENOBLE, le 5/09/1996

Le Président du Jury

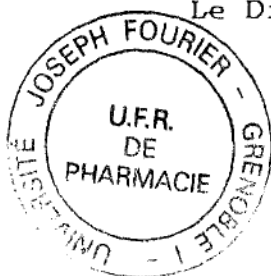
Mariotte

Vu

GRENOBLE, le 6/09/96

P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'U.F.R.  
Pharmacie



~~PT. A. FAVIER~~  
Directeur UFR Pharmacie

ENDERLIN (Anne-Lise), épouse SEGRET - A propos de la ballote : *Ballota nigra* L.  
Th. D. Pharm. ; Grenoble ; 1996 ; n°

RESUME :

La ballote, déjà utilisée en médecine au Moyen-Age, a été jusqu'à aujourd'hui relativement peu étudiée par les scientifiques.

Bien que quelques études chimiques aient été réalisées, les auteurs se sont le plus souvent intéressés à l'étude pharmacodynamique de cette plante, révélant ainsi une activité neurosédative, spasmolytique et antifongique.

Ce travail, après avoir situé la ballote au sein de la famille des Lamiacées et après avoir mis à jour ses différents constituants chimiques, relate l'ensemble de ces études tendant à prouver l'intérêt thérapeutique de cette plante dans le domaine de la phytothérapie.

Cependant, l'intérêt de toutes ces constatations risque d'être remis en cause par une toute récente observation des centres de pharmacovigilance...

MOTS-CLES :

Lamiacées  
Ballote  
*Ballota nigra* L.  
Phytothérapie

JURY :

Présidente : Madame le professeur A.M. MARIOTTE  
Juges : Monsieur le professeur J. ROCHAT  
Mademoiselle N. PEUILLON

DATE DE SOUTENANCE :

8 Octobre 1996

ADRESSE DE L'AUTEUR :

[Données à caractère personnel]