



HAL
open science

L'épilobe à feuilles étroites, *Epilobium angustifolium* L.
(Onagracées)

Catherine Brochier

► To cite this version:

Catherine Brochier. L'épilobe à feuilles étroites, *Epilobium angustifolium* L. (Onagracées). Sciences pharmaceutiques. 1992. dumas-03390278

HAL Id: dumas-03390278

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03390278>

Submitted on 21 Oct 2021

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.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

2^e exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER
Grenoble I - Sciences Technologie Médecine
U.F.R. de PHARMACIE - Domaine de la Merci - LA TRONCHE

Année 1992

N° D'ordre 7036

| L' EPILOBE A FEUILLES ETROITES |
| EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L. |
< ONAGRACEES >

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Melle BROCHIER Catherine
[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue le 11 septembre 1992

JURY : Mme le Professeur A.M. MARIOTTE, Président
et
Mme M.H. BARTOLI, Maître de conférences
Mme F. ARNAL, Pharmacien



UNIVERSITE Joseph FOURIER
Grenoble I - Sciences Technologie Médecine
U.F.R. de PHARMACIE - Domaine de la Merci - LA TRONCHE

Année 1992

N° D'ordre

L' EPILOBE A FEUILLES ETROITES
EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L.
(ONAGRACEES)

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE



115 012557 4

Melle BROCHIER Catherine

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue le 11 septembre 1992

JURY : Mme le Professeur A.M. MARIOTTE, Président
et
Mme M.H. BARTOLI, Maître de conférences
Mme F. ARNAL, Pharmacien



A Madame le Professeur Anne-Marie MARIOTTE,
qui a bien voulu assurer avec bienveillance la
direction et la présidence de cette thèse,
qu'elle reçoive ici l'assurance de ma
respectueuse reconnaissance et mes sincères
remerciements.

A Madame M.H. BARTOLI

A Madame F. ARNAL

qui ont bien voulu accepter d'être Membre du
Jury,

qu'elles reçoivent ici l'expression de mes
sincères remerciements.

A mes parents qui m'ont soutenu et aidé tout
au long de mes études.

A ma famille.

A mes amis.

A Christophe.

En témoignage de mon affection.





* * * * *
* * * * *
* PLAN *
* * * * *
* * * * *

*INTRODUCTION *	12
* BOTANIQUE *	15
I - GENERALITES	16
I.1 - NOMS LATINS	16
I.2 - NOMS VERNACULAIRES	16
I.3 - ETHYMOLOGIE	18
I.3.1 - FAMILLE	18
I.3.2 - GENRE ET ESPECE	18
I.4 - REPARTITION	19
I.4.1 - GEOGRAPHIE	19
I.4.2 - TERRAINS DE PREDILECTION	19
II - PLACE D'EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L DANS LA SYSTEMATIQUE	23
II.1 - CLASSIFICATION BOTANIQUE	23
II.2 - LA FAMILLE DES ONAGRACEES	23
II.2.1 - GENERALITES	23
II.2.2 - DESCRIPTION	24
II.3 - LE GENRE EPILOBIUM	25
III - EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L	29
III.1 - DESCRIPTION	29

<i>III.2 - POLLINISATION</i>	41
<i>IV - TABLEAU COMPARATIF DE QUELQUES EPILOBES</i>	42
<i>* CHIMIE *</i>	46
<i>I - GENERALITES</i>	47
<i>I.1 - PREMIERE ETUDE</i>	48
I.1.1 - EXTRACTION	48
I.1.2 - IDENTIFICATION	48
I.1.2.1 - LES ALCALOIDES	48
I.1.2.2 - LES STEROLS ET TRITERPENES	49
I.1.2.3 - LES FLAVONOIDES	49
I.1.2.4 - LES TANINS ET POLYPHENOLS	49
<i>I.2 - DEUXIEME ETUDE</i>	50
I.2.1 - EXTRACTION	50
I.2.2 - ISOLEMENT	50
<i>I.3 - CONCLUSION</i>	52
<i>II - LES TANINS</i>	53
<i>II.1 - INTRODUCTION</i>	53
<i>II.2 - STRUCTURES</i>	53
<i>II.3 - EXTRACTION</i>	54
<i>II.4 - IDENTIFICATION</i>	54
II.4.1 - IDENTIFICATION DU SUCRE	54
II.4.2 - IDENTIFICATION DE L'ACIDE GALLIQUE	55

II.4.3 - DETERMINATION DE LA STRUCTURE	55
<i>II.5 - CONCLUSION</i>	58
III - LES FLAVONOIDES	59
III.1 - INTRODUCTION	59
III.2 - STRUCTURES	60
III.3 - EXTRACTION	63
III.4 - ISOLEMENT	63
III.5 - IDENTIFICATION	63
III.6 - CAS DU GLUCURONIDE EN 3 DE LA MYRICETINE	67
III.6.1 - EXTRACTION	67
III.6.2 - SEPARATION ET IDENTIFICATION	67
III.7 - DOSAGE	69
III.8 - CONCLUSION	70
IV - TRITERPENES, STEROLS ET DERIVES	71
IV.1 - TRITERPENES	71
IV.1.1 - GENERALITES	71
IV.1.2 - STRUCTURES	71
IV.1.3 - EXTRACTION	72
IV.1.4 - ISOLEMENT ET IDENTIFICATION	72
IV.1.5 - CONCLUSION	75
IV.2 - STEROLS	75
IV.2.1 - STRUCTURES	75
IV.2.2 - EXTRACTION	76
IV.2.3 - ISOLEMENT	76

IV.2.4 - IDENTIFICATION	77
IV.2.5 - REPARTITION	78
IV.2.6 - CONCLUSION	80
IV.3 - APPARENTES	80
IV.3.1 - EXTRACTION	80
IV.3.2 - ISOLEMENT	80
IV.3.3 - IDENTIFICATION	81
IV.4 - TABLEAU RECAPITULATIF DES COMPOSES LIPOPHILES ISOLES CHEZ EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L	82
V - LES AROMES	83
V.1 - INTRODUCTION	83
V.2 - STRUCTURE	84
V.3 - RECOLTE ET PREPARATION DES PLANTES	85
V.4 - PREPARATION DU CONCENTRE D'AROMES	85
V.5 - IDENTIFICATION ET DOSAGE	86
V.6 - COMMENTAIRE	89
VI - TABLEAU RECAPITULATIF	90

* PHARMACOLOGIE *	91
I - PROPRIETE ANTI-INFLAMMATOIRE	92
I.1 - GENERALITES	92
I.2 - IDENTIFICATION DU PRINCIPE ACTIF	92
I.2.1 - LE β SITOSTEROL	92
I.2.2 - EFFET DES EXTRAITS D'EPILOBE SUR LA BIOSYNTHESE DES PROSTAGLANDINES	96
I.3 - MYRICETINE 3-O-β-D-GLUCURONIDE UN NOUVEAU PRINCIPE ACTIF ANTI-INFLAMMATOIRE	105
I.4 - CONCLUSION	110
II - PROPRIETE ANTI-NEOPLASIQUE	111
II.1 - GENERALITES	111
II.2 - MECANISME D'ACTION	112
II.2.1 - PROPRIETE D'AGGLUTINATION DU CHANEROL	112
II.2.2 - CORRELATION ENTRE LA PROPRIETE D'AGGLUTINATION ET LA PROPRIETE ANTI-NEOPLASIQUE	114
II.2.3 - LE CHANEROZAN	116
II.3 - TOXICITE	120
II.3.1 - IN VITRO	120
II.3.2 - IN VIVO	120
II.4 - CONCLUSION	122

* UTILISATION *	124
I - TRAITEMENT DE L'ADENOME PROSTATIQUE ET DE L'INFLAMMATION DE LA PROSTATE	125
II - UTILISATIONS DUES A LA PRESENCE DE TANINS	126
II.1 - USAGE EXTERNE	126
II.2 - USAGE INTERNE	127
III - DIVERS	127
* CONCLUSION *	129

* * * * *
* * * * *
* INTRODUCTION *
* * * * *
* * * * *

- "Quel est ton sujet de thèse ?"

- "Une plante : l'Epilobe à feuilles étroites ou
EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L."

- "L'Epilobe ? Je ne connais pas. Quelle est donc cette
plante et quelles en sont les utilisations en
thérapeutique ?"

Voici les questions que moi aussi je me posais au début
de ce travail.

L'Epilobe à feuilles étroites est une plante très répandue en Europe et dans notre région. C'est une "grande fleur rose pourpre" de la famille des Onagracées. On la rencontre de juin à septembre en colonies le long des chemins, à l'orée des forêts, mais également dans les jardins et les rocailles où elle apporte une touche de couleur.

Plante ornementale, mais également plante historique et plante médicinale.

En 1793, elle permit au botaniste allemand Christian CONRAD SPRENGEL d'imaginer la théorie de la pollinisation des plantes par les insectes, théorie qui fut reprise au XIXème siècle par DARWIN.

A l'heure actuelle, l'Epilobe est récoltée en Europe du Nord. Les jeunes pousses sont consommées comme légumes et les feuilles utilisées pour la préparation de boissons aromatiques. Sur le plan de la thérapeutique, c'est une plante encore méconnue en France.

Pour toutes ces raisons il nous a paru intéressant de faire une mise au point bibliographique sur ses aspects botaniques, chimiques, pharmacologiques ainsi que sur ses utilisations.

Les objectifs de ce travail sont de permettre une connaissance précise de cette plante et de définir son intérêt (en tenant compte de ses propriétés pharmacologiques) en tant qu'éventuel phytomédicament.

*
* BOTANIQUE *
*

I - GENERALITES

I.1 - NOMS LATINS

- * Famille : - Onagracées.
 - ou - Oenothéracées
 - ou - Onagrariées

- * Genre : - *Epilobium angustifolium* L
 - ou - *Chamaenerium angustifolium* (L)
scop
 - ou - *Epilobium spicatum* Lam

I.2 - NOMS VERNACULAIRES (21, 40)

- Epilobe à feuilles étroites,
- Epilobe en épi,
- Osier fleuri,
- Laurier de St Antoine,
- Herbe de St Antoine,
- Antonine,
- Neritte.

En Anglais : - Willow-herb
- Rosebay.

En Allemand : - Waldröschen,
- Weidenröschen.

Dans "Illustrierte flora von Mittel Europa" (21), l'auteur cite de nombreux noms que prenaient la plante dans le passé et tente d'en expliquer l'origine.

- Les noms : petite rose-osier, saule sauvage, petite rose des bois se rapportent aux feuilles ressemblant à celles du saule, à la couleur et à la forme des fleurs.

- Du fait de son inflorescence et de ses tiges élancées, cette plante est encore appelée : queue de chat, queue de renard, queue de vache, herbe fouet, fouet du diable, échelle de chèvre, échelle de pierre, herbe aux chirurgiens (Suisse), grand flambeau, plumet, panache (forêt bavaroise).

- Les poils seminaux soyeux sont à l'origine de noms comme : fleur de soie, fleur garnie de plumes.

- Les chèvres et les cochons mangent cette plante, c'est pourquoi dans de nombreux villages elle prend le nom de : bouchée de chèvres, fouet de chèvre, herbe à cochons.

- En Franconie, dans le passé, le jour de l'Assomption (15 août), des bouquets d'Epilobes étaient bénis pour protéger les villages de la foudre. Dans cette région, l'Epilobe prit alors des noms tels que : baguette de la vierge, cheveux de la vierge (du fait de l'aspect des fruits), herbe contre le tonnerre, plante contre la foudre.

I. 3 - ETHYMOLOGIE

I.3.1 - FAMILLE (29)

Le nom de la famille : Onagracées ou Oenotheracées dérive de celui de l'Onagre (Oenothera biennis).

Oenothera vient du grec mais avec différentes origines des mots :

- Oinos vin thèoraô : chasser. L'Onagre aurait pour propriété de chasser l'ivresse.
- Onos âne thera : proie. Les ânes aiment brouter cette plante.

I.3.2 - GENRE ET ESPECE (12,13)

* *Epilobium* vient du grec :

- epi : sur,
- lobos : gousse, silique, petite cosse,
- ion : violette.

Chez la plupart des espèces, la corolle surmonte un long ovaire qui offre l'apparence d'une silique. Les fleurs sont souvent de couleur violette..

Epilobium voudrait donc dire : violette sur une silique.

* *Angustifolium* du latin :

- angustus : étroit,
- folium : feuille.

Les feuilles d'*Epilobium angustifolium* L sont lancéolées, étroites.

I. 4 - REPARTITION

I.4.1 - GEOGRAPHIE (21)

En Europe, l'Epilobe s'étend vers le Nord jusqu'à l'Islande, les Iles Shetland et la partie la plus septentrionale de la Norvège. On la trouve dans presque toute l'Asie, l'Amérique du Nord et le Groënland. Vers le Sud, elle ne dépasse pas le Tropique du Cancer, elle est absente en Afrique mais cependant présente à Madère et sur les Iles Canaries. Elle se développe aussi bien dans les plaines qu'en altitude (200 à 2 500 m).

I.4.2 - TERRAINS DE PREDILECTION

Cette plante spontanée est très souvent répandue sur les terrains frais et humides, à l'orée des bois, sur des pentes rocheuses ou sablonneuses, dans des clairières, des brulis, au bord de glissements de terrains, dans le gravier des cours d'eau, dans des combes humides, des enclos pour bétail, dans les pâturages, souvent en colonies sur des terrains tourbeux.



Elle est parfois cultivée comme plante d'ornement et, redevenant sauvage, elle se répand autour des jardins.

Elle est caractéristique des coupes de bois où elle paraît fréquemment en grand nombre à côté de *Atropa Belladonna*, *Senecio viscosus*, *Holcus lanatus*.

L'attrait de cette plante pour les surfaces dénudées s'explique à la fois par une grande dissémination des graines par le vent, par une multiplication végétative facile, mais aussi par le fait que les graines peuvent rester longtemps dans le sol et germer seulement quand chaleur et humidité sont optimales.

Selon Hesselman (communication de la station d'essais forestiers de Suède 1910 - 1916), cette espèce est une représentante typique des plantes poussant dans des terrains riches en nitrates. Elle indique par sa présence la "nitrification" qui est si importante pour la croissance des arbres. Or, lors de la coupe des bois, les masses d'humus accumulées montrent, sous l'effet soudain de l'humidité et de la chaleur, une nitrification importante, nitrification qui expliquerait la prédilection d'*Epilobium angustifolium* L pour les coupes de bois. La préférence de cette plante pour des habitats riches en azote est aussi mise en évidence par le fait qu'il n'est pas rare de la trouver en "troupeaux" dans des enclos pour bétail en compagnie d'autres plantes telles que *Aconitum napellus*, *Ranunculus acer*, *Chenopodium Bonus henricus*...

En Bavière, après la grande invasion des chenilles au cours des années 1890-1892, *Epilobium Angustifolium* L recouvrit pendant plusieurs années et sur de grandes étendues le sol alors couvert d'excréments de chenilles.

Cette plante, du fait de sa consommation importante en nitrate, pourrait avoir un effet néfaste sur le développement d'autres espèces végétales ayant besoin de nitrates pour leur croissance. En fait, il n'en est rien. Quand elle pousse en grande quantité, elle protège les très jeunes arbres et plantes du soleil et du froid et, au fur et à mesure que ces derniers grandissent, elle dépérit rapidement. De temps en temps, il arrive qu'on la trouve sur des fourmilières. Ceci s'explique, selon R. Stager (conférence de l'association suisse de naturalistes, 1924), par le fait que les "nids" de ces animaux sont très riches en humus, que la température y est très favorable (jusqu'à 25° et plus) et que les fourmis transportent les graines de cette plante.

Des champs de céréales envahis par *Epilobium angustifolium* L sont parfois tout rouge au moment de la floraison de cette espèce, et les gerbes dressées plus tard devront rester longtemps pour sécher. Quand ils sont isolés, les plants peuvent être arrachés mais, en cas de prolifération, il ne reste comme solution que "la friche noire" ou la transformation du terrain en prairie ou pâturage.

Il faut quand même, avant de vouloir la détruire, tenir compte de sa grande capacité à fixer le sol de talus glissant déboisés.

Enfin, à plusieurs reprises cette plante a été retrouvée sur des saules (*salix alba*), elle peut donc être considérée comme épiphyte occasionnel.

II - PLACE D' EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM DANS LA SYSTEMATIQUE

II.1 - CLASSIFICATION BOTANIQUE (9)

Epilobium angustifolium L se classe dans :

- l'embranchement des spermaphytes,
- le sous-embranchement des Angiospermes,
- la classe des Dicotylédones,
- la sous-classe des Dialypétales,
- la série des Caliciflores,
- l'ordre des Myrtales,
- la famille des Onagracées,
- le genre *Epilobium*.

II.2 - LA FAMILLE DES ONAGRACEES

II.2.1 - GENERALITES (9,13,29)

Cette famille de plantes dicotylédones, polypétales tire son nom de celui de l'Onagre (*Oenothera*). Elle prend également les noms d'oenothéracées, d'onagrariacées ou d'onagrariées.

Elle comprend 20 genres classés en 7 groupes et environ 650 espèces.

Ces plantes appartiennent à la série des caliciflores caractérisée par la production à l'extrémité du pédoncule floral d'une coupe plus ou moins concave, provenant de la soudure à leur base du calice, de la corolle et des étamines. L'ensemble se comporte comme si la corolle et l'androcée étaient insérés sur le calice : d'où le nom de caliciflore.

La famille des Onagracées appartient à l'ordre des Myrtales où les carpelles sont soudés en un ovaire inclus dans la coupe périantho-staminale. Cet ovaire devient infère et adhérent à la coupe (épigynie). L'androcée est typiquement diplostémoné, cependant la meristémonie n'est pas rare.

Ce sont des plantes ligneuses à feuilles non stipulées, les fleurs sont tetra ou pentamères, les tiges et les feuilles ont du liber interne.

II.2.2 - DESCRIPTION DE LA FAMILLE DES ONAGRACEES (13,29)

Ce sont des plantes herbacées, terrestres ou aquatiques à feuilles simples, opposées alternes ou verticillées et sans stipule (tableau I).

TABLEAU I

		<u>FRUIT</u>	<u>PLANTE</u>	
0 P	<u>0 P - 4 S - 4 E</u>	Petite capsule, 4 loges	Plante aquatique Feuilles opposées	LUDWIGIA (1)
P	<u>2 P - 2 S - 2 E</u>	Petite capsule, en poire indéhiscence	Plante des Bois	CIRCAEA (2)
	<u>P - S 4.5. - 2 E</u> (soudées à la base)		Fleurs irrégulières Feuilles alternes	LOPEZIA (5)
	<u>E : 4.8.10</u> → <u>4 P - 4 E</u>	Grosse capsule	Plante flottante	TRAPA (3)
	<u>8 à 10 E, P et S 4</u>	Baie	Plante cultivée	FUCHSIA (9)
	Capsule →	graine sans aigrette	Fleur jaune Fleur rose	OENOTHERA (10) GODETIA (6) CLARKIA (7)
	Capsule ligneuse	graine avec aigrette	Fleur blanche - rose	EPILOBIUM (11)
	<u>5P - 5S - 10E</u>			GAURA (4) JUSSIEUA (8)

Les fleurs actinomorphes sont solitaires, en grappes ou en épis, en général pentacycliques et tétramères :

- 4 sépales (S) + 4 pétales (P) +
(4+4) étamines (E) +
4 carpelles (C) soudés,
- le calice est adhérent à limbe divisé,
- la corolle a des pétales libres entre eux, tordus, en spirale avant épanouissement,
- les étamines sont en nombre égal ou double aux pétales,
- les carpelles sont en nombre égal de 2 à 6 soudés entre eux, formant un ovaire infère de 2 à 6 loges contenant de nombreux ovules et surmonté d'un disque nectarifère.

La caractéristique essentielle de cette famille réside dans son axe floral. Au-dessus de l'ovaire, la coupe florale se prolonge en forme de tube sur une certaine longueur. Elle porte, à son sommet, les pièces du périanthe et de l'androcée.

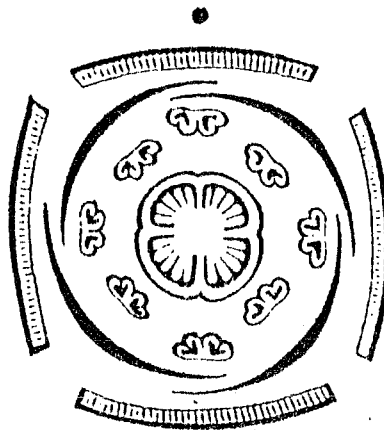
Le fruit est le plus souvent une capsule loculicide mais il peut être une baie (fushia) ou un akène (circaea).

Le style est simple et les stigmates simples ou divisés.

Les graines sont exalbuminées, parfois ailées ou munies d'une aigrette.

Du point de vue anatomique, les Onagracées sont dépourvues de poches sécrétrices mais elles contiennent du liber interne.

DIAGRAMME FLORAL (3)



II.3 - GENRE *EPILOBIUM* (13, 29)

Le genre *Epilobium* comprend environ 180 espèces habitant les régions tempérées et froides de tout le globe. Ce sont des plantes vivaces rarement bisannuelles ou annuelles.

Les feuilles sont ovales, lancéolées ou linéaires, entières ou dentées.

Les fleurs sont rouges, rosées ou blanches en grappes terminales avec :

- un calice à tube allongé non prolongé au-dessus de l'ovaire,

- 4 pétales, 8 étamines en 2 séries inégales, 1 stigmate en massue ou 4 stigmates étalés en croix.

Le fruit est un capsule linéaire-tétragone à 4 loges et 4 valves s'ouvrant de haut en bas.

Les graines libérées sont nombreuses, munies au sommet d'une longue aigrette soyeuse permettant leur dispersion par le vent.

La multiplication végétative se fait par rejets et stolons.

On distingue 3 groupes d'*Epilobium* (tableau II) :

- * Groupe 1 : - feuilles éparses sur la tige,
- sépales rougeâtres,
- fleurs irrégulières à pétales inégaux, entiers ou à peine émarginés,
- étamines et styles penchés,
- 4 stigmates.

TABLEAU II (REF : 29)

<u>EPILOBIUM</u>	Feuilles éparses sur la tige _____	Fleur irrégulière _____	Pétales inégaux Etamines et styles penchés 4 stigmates	<u>GRUPE I</u>
	Feuilles inférieures et moyennes opposées ou par 3 ou 4 _____	Fleur régulière _____	Pétales égaux échancrés ou à 2 lobes, Etamines et styles droits, <u>Style</u> : 4 stigmates étalés	<u>GRUPE II</u>
			<u>Style</u> : en massue	<u>GRUPE III</u>

- * Groupe 2 : - feuilles inférieures et moyennes,
opposées ou par 3 ou 4,
- sépales verts,
- fleurs régulières,
- pétales égaux échancrés ou à
2 lobes,
- étamines et styles droits,
- calice creusé en entonnoir,
- style surmonté de 4 stigmates
étalés en croix,
- tiges arrondies, sans ligne
saillante.

- * Groupe 3 : - dans ce groupe le style se termine
en massue,
- les tiges sont souvent minces à
lignes saillantes.

(cf tableaux III, IV, V) (13,29)

III - EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L

III.1 - DESCRIPTION (12, 13, 21, 29, 30)

Epilobium angustifolium L est une plante herbacée, résistante de grande taille : elle peut atteindre 200 cms (50 à 180 cms). Elle est assez commune dans presque toute la France, mais tandis que dans le nord elle descend jusque sur les collines, à mesure que l'on se dirige vers le midi elle s'élève en altitude.

TABLEAU III (REF : 29)

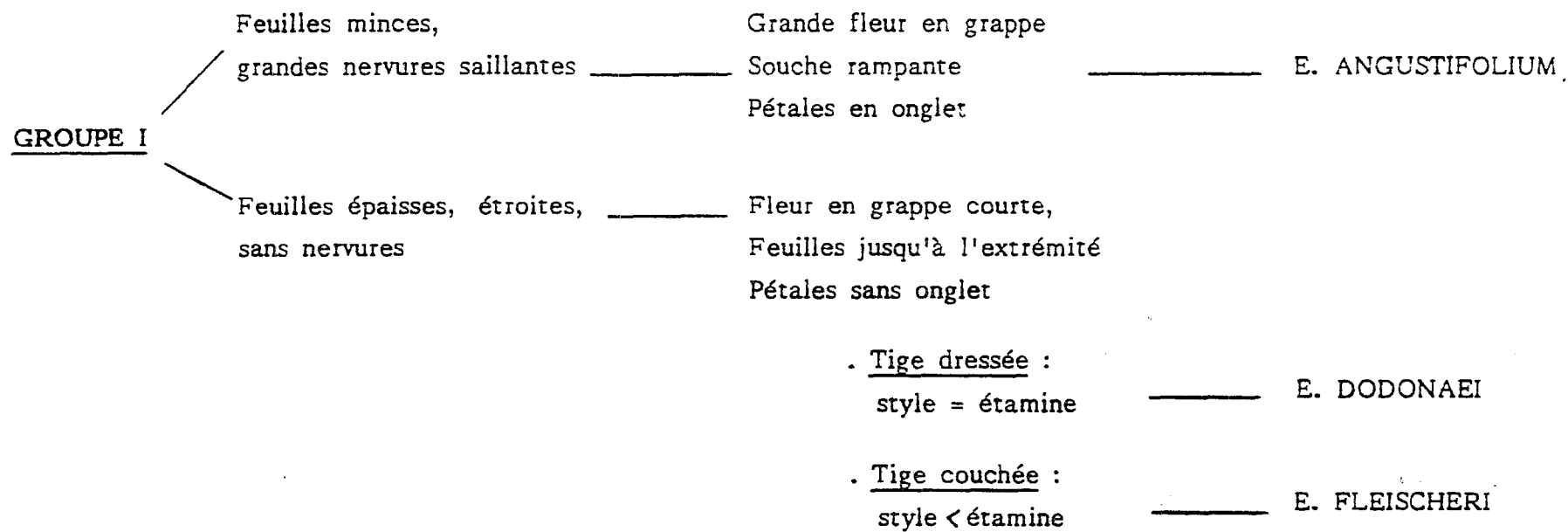


TABLEAU IV (REF : 29)

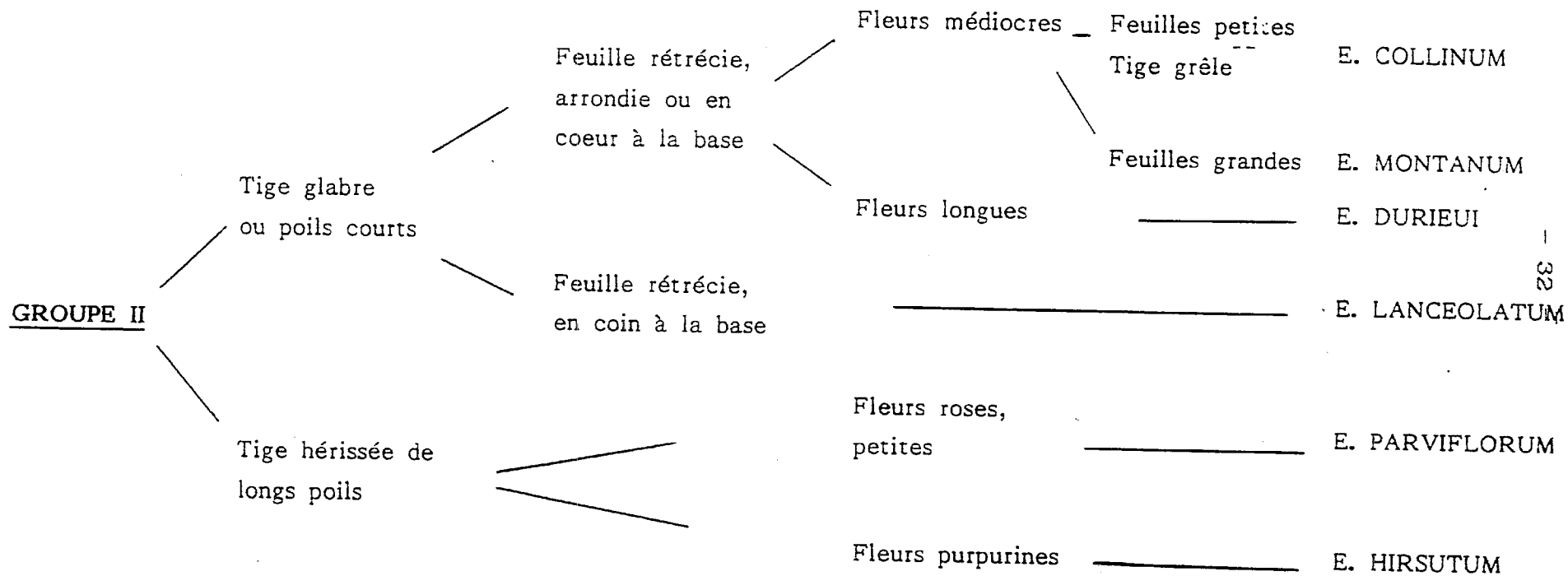
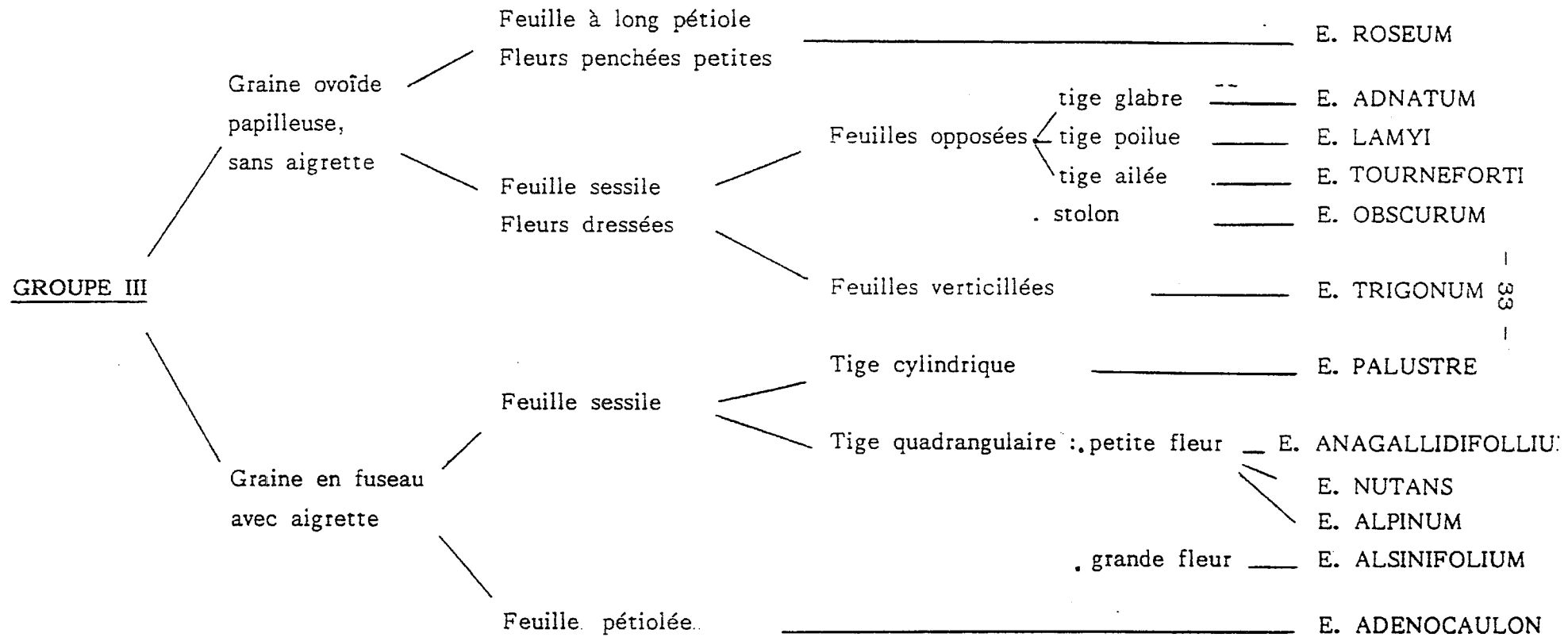


TABLEAU V (REF : 29)

=====



Partie souterraine :

- Il s'agit d'un rhizome très étendu, oblique à radice multiples (Fig. 1) (21).

- Au cours de la période végétative, il y a formation de stolons charnus, pales possédant des racines et se développant en tiges avec des feuilles et des fleurs. Les éléments intermédiaires du surgéons meurent vers la fin de l'automne.

La tige :

Ronde ou légèrement anguleuse à arêtes mousses, dressée glabre, le plus souvent simple et de couleur rougeâtre.

Les feuilles : (Fig. 2)

A la différence de la plupart des Epilobes, *Epilobium angustifolium* L porte des feuilles éparses sur la tige et non opposées par deux. Elles sont soit alternes, soit en verticilles.

Ce sont des feuilles minces, sessiles ou à pétiole court, lancéolées comme l'osier, à bord enroulé entier ou avec une denture très fine. Elles sont pennées, la face inférieure est d'un vert bleuté avec de nombreuses nervures saillantes.

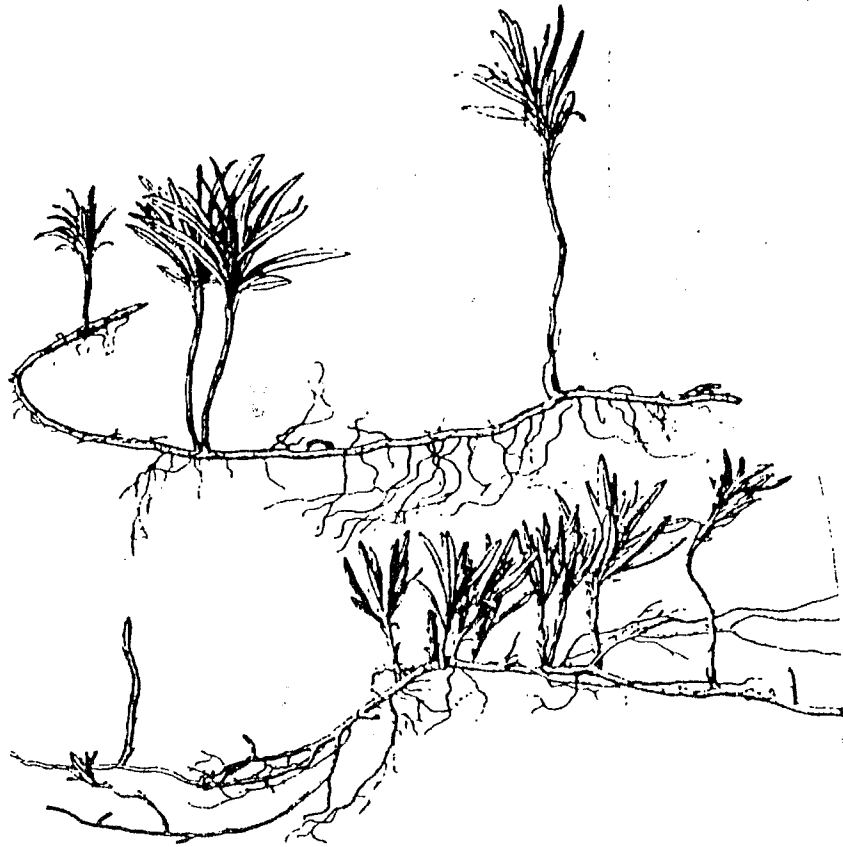


FIGURE 1 : *EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L*

Rhizome - Radicelles - Stolons

Macroscopie (à gauche)

Microscopie : (à droite)

b et c = coupe transversale
de la feuille

d = épiderme de la face
inférieure de la feuille

e = dentelure de la feuille

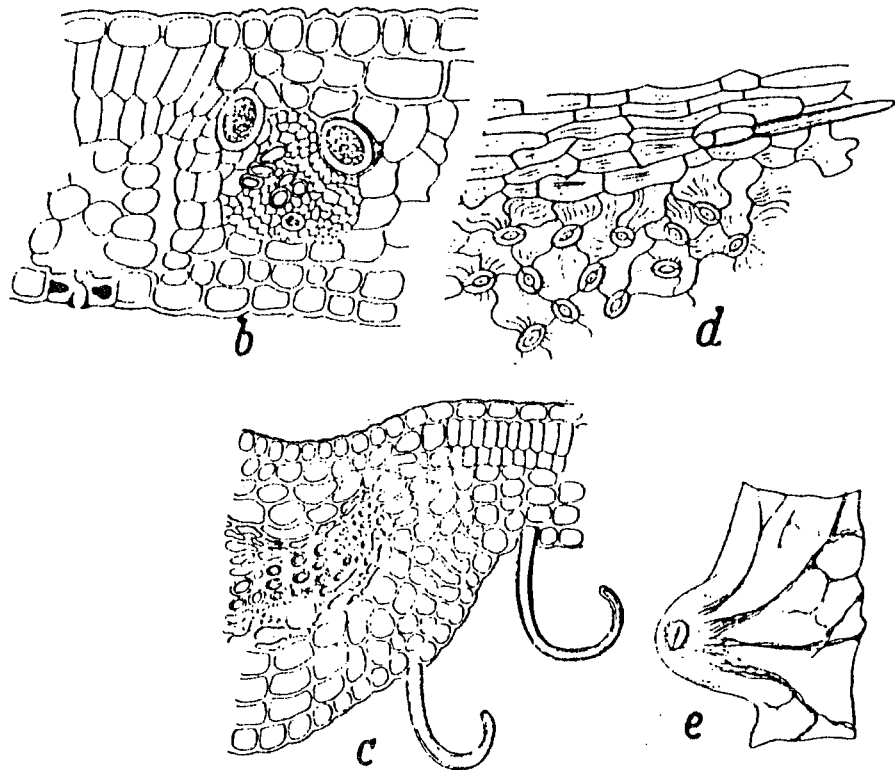


FIGURE 2 : *EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L*
Epilobe à feuilles étroites

FEUILLE



EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM

Les fleurs :

- la floraison est de longue durée (juin à septembre),
- la grappe de fleurs est terminale et feuillée seulement à la base,
- les fleurs sont nombreuses, irrégulières, à zygomorphes, de grande taille (20-30 cms de diamètre) et étalées en roues,
- les boutons sont ovoïdes, se terminant en pointe,
- les bractées égalent à peine le pédicelle (29)

→ Le calice est tétralobé :

* Les sépales sont rubanés-lancéolés, presque aussi grands que les pétales.

* Ils sont très faiblement velus et de couleur brun rougeâtre.

→ La corolle :

* Les pétales sont au nombre de 4 dont 2 plus grands que les autres.

* Ils sont entiers ou à peine émarginés à onglet court de forme obovale et de couleur rouge pourpré.

Les étamines :

- 8 étamines en 2 séries de 4,
- le filet est un peu élargi à la base,
- l'anthère est allongé,
- les étamines sont penchées.

Le gynécée :

- le style est penché et supérieur aux étamines,
- les 4 stigmates réfléchis sont étalés en croix.

Les fruits et les graines :

Ce sont des capsules linéaires-tétragones de 4 à 10 cms de long, très finement tomenteuses souvent rougeâtres à l'extérieur. Les fruits renferment de nombreuses graines allongées munies au sommet d'une longue aigrette soyeuse facilitant la dissémination par le vent. Le péricarpe est lisse. Le premier cotylédon de l'embryon a plus ou moins la forme d'un losange.

Nuridsany C. et Perennou H., en 1989, font une description très jolie et poétique du fruit d'*Epilobium angustifolium* L :

"Le fruit est un long tube lisse, qui conserve quelque temps la couleur de la fleur puis vire au grenat. Cette structure obstinément étanche, voici qu'elle s'ouvre brusquement à tout vent. Sous l'action de la sécheresse, la capsule se fend en quatre lames qui se disjoignent depuis la pointe. Ainsi commence un lâcher de parachutes se déroulant selon un rigoureux programme. Les graines supérieures s'envolent les premières. Puis, à mesure que s'écartent davantage les parois, les graines suivantes sortent de leur confinement, déploient à leur tour leur houppe de soies, oscillent un instant et disparaissent pour laisser le champ libre aux dernières de la rangée.

Ces aigrettes plumeuses peuvent atteindre quinze fois la longueur des graines. Avant maturité, elles tapissent comme une gaine la paroi interne du fruit. Au moment de l'ouverture, l'extrémité des soies adhère légèrement aux lames. L'écartement de ces dernières déclenche ainsi automatiquement l'ouverture des parachutes et leurs largages successifs.

Duvets, aigrettes, réseaux de poils impalpables, les plantes ont hérissé leurs graines des plus étranges coiffes pour retarder leur chute fatale au sol. Ces plumeaux extravagants développent des surfaces considérables tout en demeurant très légers. A cette échelle, rien de tel que de jouer sur les forces de frottement pour tenir en l'air le plus longtemps possible. Les graines du coton, noyées dans un nuage blanc de fibres cellulosiques représentent un sommet dans l'art d'être échevelé pour mieux voler."

FIGURE 3 : Détail d'une fleur

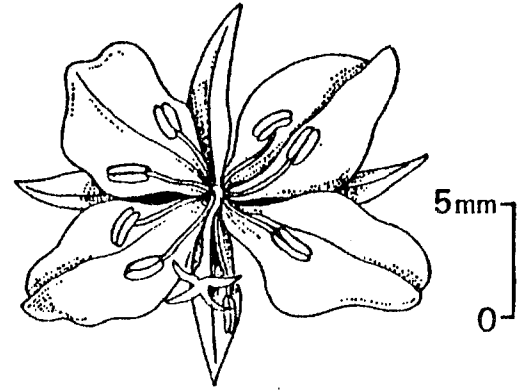
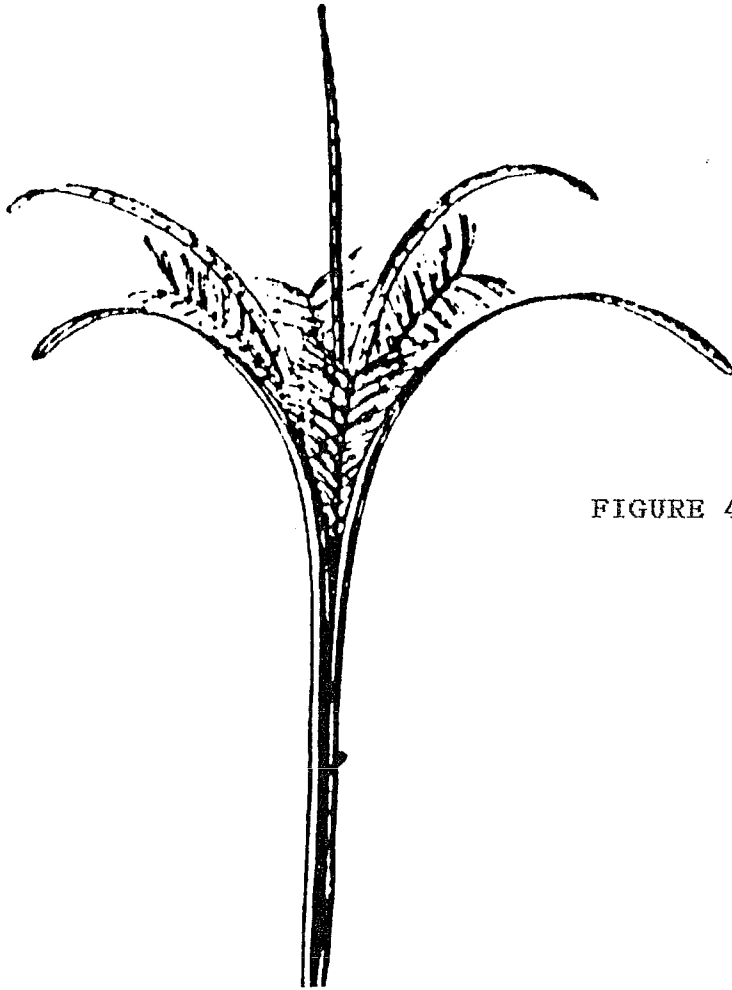


FIGURE 4 : Fruit déhiscent

FIGURE 5 : Graine

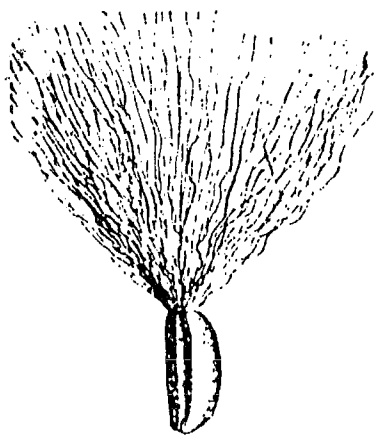
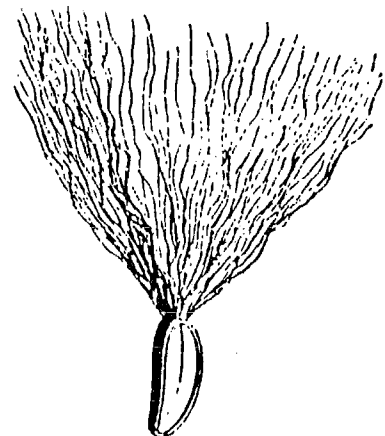


FIGURE 5' : Graine,
coupe
longitudinale



III.2 - POLLINISATION

La biologie de la fleur d'*Epilobium angustifolium* L a joué un rôle important dans l'étude de la vie sexuelle dans le règne végétal.

C'est J.G. Koelreuter (Communication provisoire sur quelques expérimentations et observations concernant le sexe des plantes, 1761) qui décrit le premier l'agencement de la fleur, mais ce n'est que Ch. Conrad Sprengel, botaniste allemand, qui sut imaginer le théorie de la pollinisation des plantes par les insectes (Découverte du mystère de la nature, 1793), théorie qui fut reprise au 19e siècle par Darwin.

En étudiant la fleur d'*Epilobium angustifolium* L au cours de l'été 1790, Sprengel découvrait que chaque individu n'est pas fécondé par ses propres grains de pollen, mais que les fleurs plus anciennes sont fécondées par le pollen que les insectes leur apportent de fleurs plus jeunes. Les insectes sont guidés par le nectar et les pigments des fleurs.

Il est remarquable d'observer chez *Epilobium angustifolium* L la protérandrie (étamines mures avant le pistil) chez les plantes de basse altitude, alors qu'en moyenne altitude étamines et pistil atteignent la maturité simultanément et qu'en haute altitude on peut même observer la protérogynie (pistil mur avant les étamines).

Dans la grappe, les fleurs s'ouvrent du bas vers le haut.

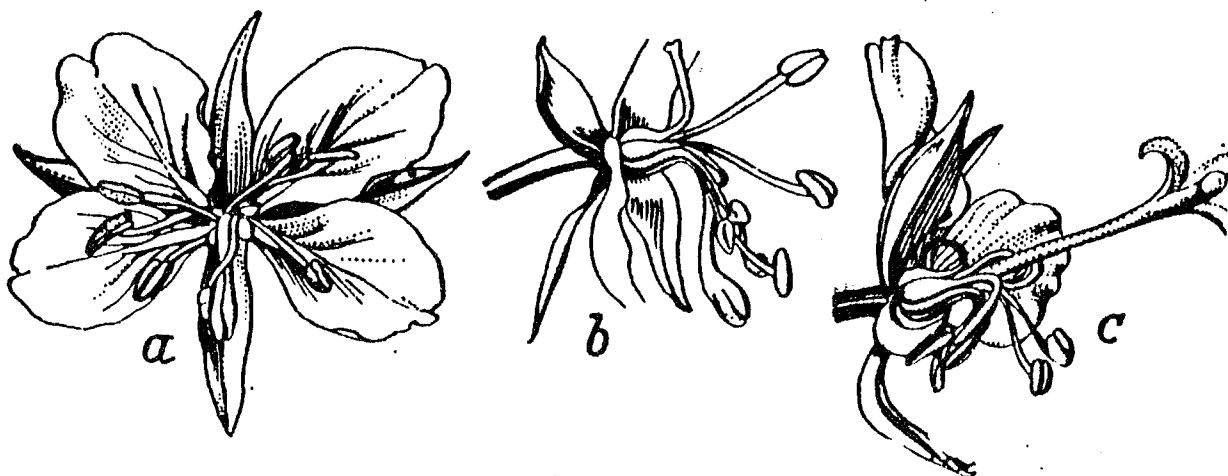


FIGURE 7 :

a et b = Jeune fleur, étape mâle





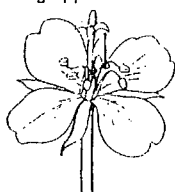

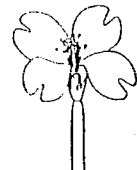





c = Fleur plus ancienne, étape femelle
(après avoir enlevé 2 pétales)

La pollinisation chez *Epilobium angustifolium* L se fait tôt le matin (le soir et au cours de la nuit les fleurs sont fermées).

L'ovaire secrète un jus sucré qui s'accumule dans l'alvéole nectarifère formée par les étamines élargies à leur extrémité inférieure. C'est là que s'approvisionnent les insectes (abeilles mellifique, bourdons et autres hyménoptères). De par sa configuration (4 pétales disposés symétriquement à gauche et à droite et 4 sépales qui alternent avec eux), la fleur offre aux insectes une place convenable pour se poser (Fig. 7a). Quand une fleur vient de s'ouvrir, les étamines sont tendues vers l'avant (Fig. 7b), la partie éclatée de l'anthère tournée vers le haut, le pollen va donc très facilement s'attacher au ventre des insectes. A ce stade, le style est encore court et le stigmate quadripartite n'est pas encore déployé. Quand les anthères sont fanées, les étamines se rabattent vers le bas alors que le style portant les stigmates s'avance (Fig. 7c). C'est lui que les insectes utilisent comme perchoir et déposent ainsi sur le stigmate prêt à la conception le pollen apporté de fleurs plus jeunes.

IV — TABLEAU COMPARATIF DE QUELQUES EPILOBES

Voir page suivante.

	● 65.1 <i>Epilobium angustifolium</i> L. Epilobe à feuilles étroites	● 65.2 <i>Epilobium montanum</i> L. Epilobe des montagnes	65.3 <i>Epilobium hirsutum</i> L. Epilobe hérissé	65.4 <i>Epilobium parviflorum</i> Schreber Epilobe à petites fleurs
Dimension	50-180 cm	20-100 cm	50-150 cm	16-60 cm
Tige	dressée à ascendante; le plus souvent simple, à arêtes mousses, glabre	dressée, raide; simple ou ramifiée vers le haut, ronde, à poils appressés	le plus souvent ramifiée; faiblement anguleuse à la base, ronde vers le haut, à poils écartés	dressée à ascendante; le plus souvent simple; arrondie;
Feuilles (½ × grandeur naturelle)	alternes; glabres	opposées au moins dans la partie inférieure; finement pileuses sur les bords et les nervures	opposées dans la partie inférieure; à poils simples et glanduleux ou presque glabres	alternes vers le haut; à poils doux ou feutrés
				
	amincies à la base, pétiole jusqu'à 3 mm de long	arrondies à la base, ou cordées, sessiles ou à pétiole atteignant 2 mm de long	sessiles, embrassant faiblement la tige	arrondies à la base, sessiles
Fleurs	en grappes terminales	isolées à l'aisselle des feuilles	qui rapetissent vers le haut	
				
Diamètre	20-30 mm	6-9 mm	15-23 mm	6-9 mm
Sépales	presque aussi grands que les pétales	à moitié aussi grands que les pétales	mesurant ⅓ de la longueur des pétales	
Pétales	rouge pourpre, atteignant 15 mm de long	roses, 8-12 mm de long	rouge pourpre, 8-16 mm de long	violet clair, 3-9 mm de long
Fruit (capsule)	4-10 cm de long, finement pileux	4-9 cm de long	6-8 cm de long	3.5-6(-8) cm de long
Plantule				
Cycle végétatif	plante vivace	plante vivace	plante vivace	plante vivace
Germination	début de l'été	printemps	printemps	printemps
Floraison	de l'été à l'automne	de l'été à l'automne	de l'été à l'automne	de l'été à l'automne
Dissémination	vent (+) eau (±) animaux (+) Homme (+)	vent (+) eau (-) Homme (+)	vent (+) eau (±) Homme (+)	vent (+) eau (±) Homme (+)
Position sociologique	caractéristique d'alliance <i>Epilobion angustifolii</i>	caractéristique d'ordre <i>Fagetalia sylvaticae</i>	caractéristique d'alliance <i>Filipendulo-Petasion</i>	compagne, souvent dans les <i>Glycerio-Sparganion</i>
Milieu	clairières, lisières, cailloutis; jusqu'à l'étage alpin	forêts, buissons, murs; jardins; jusqu'à l'étage subalpin	berges, marécages, forêts humides; jusqu'à l'étage montagnard	berges, fossés, marécages, forêts humides; jusqu'à l'étage subalpin
Climat local	modérément éclairé, modérément frais	ombragé, modérément frais	modérément ombragé, modérément frais	modérément ombragé, modérément chaud
Sol	azoté, riche en humus grossier	riche en éléments nutritifs	riche en éléments nutritifs	riche en éléments nutritifs, occasionnellement submergé
Répartition géographique	cosmopolite des régions froides et tempérées de l'hémisphère nord	régions froides et tempérées de l'Eurasie	cosmopolite des régions tempérées	Europe, Asie occidentale, Afrique du Nord, Indes

```
*****
*                                         *
*      CHIMIE      *
*                                         *
*****
```

I — GENERALITES

"Cette plante a-t-elle des propriétés thérapeutiques, ou bien peut-elle fournir de nouvelles matières premières industrielles ?"

Pour répondre à cette question, des chimistes et des botanistes mettent régulièrement au point des méthodes de "screening".

Ainsi, en 1979, Chandler et Hooper (7) entreprennent une étude phytochimique pour déterminer la valeur thérapeutique de nombreuses plantes utilisées par les indiens Micmac (une des plus grandes tribus indiennes des provinces maritimes de l'est du Canada), aussi bien dans les préventions que dans le traitement des maladies.

En 1986, Carr et ses collaborateurs (continuant le travail débuté en 1974 par le Northern Regional Research Center (NRRC) au cours duquel le profil chimique et botanique de près de 800 espèces de plantes est étudié) présentent une étude menée sur 8 espèces de plantes de l'Ohio (6).

Dans les deux études citées précédemment l'*Epilobium angustifolium* L est analysée.

I. 1 - PREMIERE ETUDE (7)

I.1.1. - EXTRACTION

La récolte des plantes est réalisée en période de maturation des fruits.

La plante entière est séchée et broyée.

L'extrait est préparé par macération dans l'éthanol à 80 %, pendant une heure, puis filtration.

Un aliquot du volume final est utilisé pour les tests d'identification.

I.1.2. - IDENTIFICATION

I.1.2.1. - LES ALCALOIDES

Trois réactifs généraux des alcaloïdes sont utilisés :

- Mayer
- Wagner
- Dragendôff

On considère que les alcaloïdes sont présents quand deux des trois tests sont positifs. Pour *Epilobium angustifolium* L, seule la réaction de Wagner donne un aspect opaque mais sans particule visible.

Il n'y a vraisemblablement pas d'alcaloïde dans *Epilobium angustifolium L.*

I.1.2.2. - LES STEROLS ET TRITERPENES

La réaction de Liebermann Burchardt vire au brun pour *Epilobium angustifolium L.*, il y a donc présence de triterpènes.

La réaction de Salkowski est positive, ceci traduit la présence de stérols insaturés.

I.1.2.3. - LES FLAVONOIDES

Le test à la cyanidine est négatif selon ces auteurs (7), il n'y aurait donc pas de flavonoïdes. Nous verrons plus tard que ce n'est pas le cas (1, 2, 10, 22, 25, 35).

I.1.2.4. - LES TANINS ET POLYPHENOLS

Trois réactions sont utilisées :

- 1 % de gélatine → test positif
- Gélatine et sel → test positif
- Addition de chlorure ferrique
→ coloration bleue

Les tanins et polyphénols sont donc présents chez *Epilobium angustifolium L.*

Donc, en conclusion, selon Chandler et Hooper (7), *Epilobium angustifolium* L :

- contient :
 - des stérols et triterpènes
 - des leucoanthocyanines
 - des tanins et polyphénols

- ne contient pas :
 - d'alcaloïdes
 - de flavonoïdes

I. 2 - DEUXIEME ETUDE (6)

I.2.1. - EXTRACTION

L'échantillon comprenant les fleurs, les fruits, les graines, les feuilles et les tiges est séché, broyé et analysé pour sa teneur en humidité, cendres et protéines brutes.

50 g d'échantillon broyé sont extraits par l'acétone pendant 48 h dans un appareil de Soxhlet.

I.2.2. - ISOLEMENT

Dans un premier temps, l'acétone est éliminée. Le résidu est alors :

- soit repris par un mélange d'hexane et d'éthanol aqueux à 87,5 %, ce qui permet la séparation huile et polyphénols respectivement,

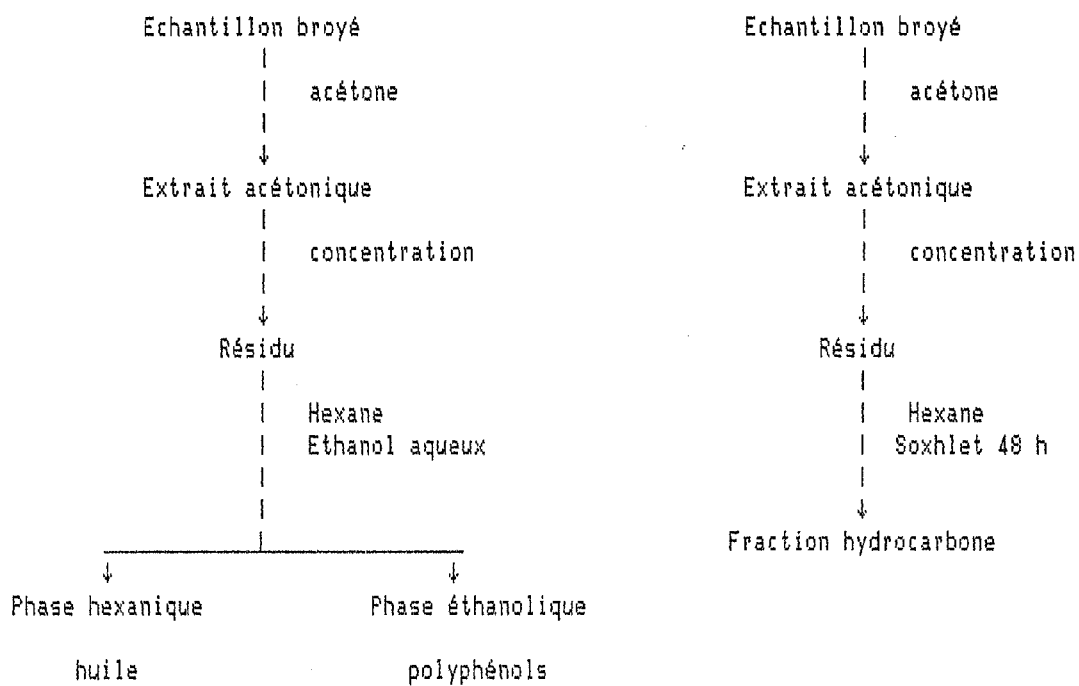


Schéma d'extraction et d'isolement (6)

- soit traité par l'hexane pendant 48 h dans un appareil de Soxhlet, ce qui permet d'obtenir la fraction que les auteurs dénomment "hydrocarbène".

Les fractions huile, polyphénol et hydrocarbène sont débarrassées des solvants puis séchées à 105° pendant deux heures et pesées.

RESULTATS EN GRAMMES POUR 100g DE MATIERE PREMIERE :

	Cendres	Huile	Polyphénols	Hydrocarbènes	Protéines
<i>Epilobium angustifolium</i> L	3,5	2,1	16,3	0,3	7,1

Nous pouvons observer une teneur relativement importante en polyphénols (16,3 %) dans *Epilobium angustifolium* L.

I. 3. - CONCLUSION :

De ces études préliminaires il ressort que la plante contient en priorité des polyphénols dont la répartition entre flavonoïdes, leucoanthocyanes et tanins doit être précisée, ainsi que des composés lipophiles du type stérols et triterpènes.

II - LES TANINS

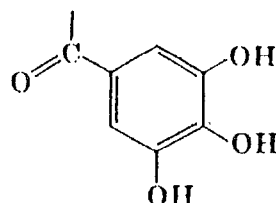
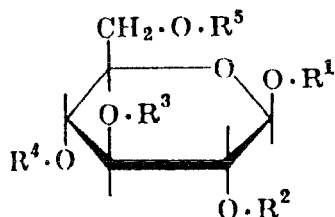
II.1. - INTRODUCTION

Nous avons vu d'après le screening réalisé par Chandler et Hooper (7) que les tanins sont présents chez l'*Epilobe* à feuilles étroites. Il s'agit en fait de tanins hydrolysables dont la structure a été étudiée par de nombreux chercheurs.

En 1966, Brown et ses collaborateurs étudient la structure générale de ces tanins (5) et en 1982, lors d'études sur le métabolisme de l'acide gallique, une équipe anglaise (18) détermine la structure de dérivés galloyl-D-glucose isolés des feuilles d'*Epilobium angustifolium* L.

II.2. - STRUCTURES

- penta-O-galloyl- β -D glucose
(I avec $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=II$)
- 1,2,6 tri-O-galloyl- β -D glucose
(I avec $R_1=R_2=R_3=II$ et $R_4=R_5=H$)



- 1,2,3,6 tetra-O-galloyl- β -D glucose
- 1,2,3 tri-O-galloyl 4,6(s)-hexahydroxy diphenyl- β -D glucose
- 2,3 Di-O-galloyl-4-6(s)-hexahydroxy diphenyl- β -D glucose

II.3. - EXTRACTION

Les feuilles sont mises à macérer :

- soit dans un mélange eau-acétone (7:3 v/v) à température ambiante pendant 7 jours (5),
- soit dans du méthanol. La solution méthanolique obtenue étant alors lavée à l'éther et extraite par l'acétate d'éthyle (18, 39).

II.4. - IDENTIFICATION

Une hydrolyse acide (H_2SO_4), alcaline $Ba(OH)_2$ ou enzymatique (tanase) permet la séparation de l'acide gallique et du sucre.

II.4.1. - IDENTIFICATION DU SUCRE

Chromatographie sur papier :

- Whatman n° 4
- solvants : butanol-acide acétique-eau (4:1:5).

Le phtalate d'aniline permet la détection d'un sucre de RF = 0,18 identique à celui du D glucose utilisé comme témoin.

II.4.2. - IDENTIFICATION DE L'ACIDE GALLIQUE

La même chromatographie révèle la présence d'acide gallique (absence d'acide ellagique).

Après chromatographie sur colonne de cellulose (élution par l'eau) une cristallisation donne des aiguilles d'acide gallique de point de fusion 248-252° C identique au produit de référence.

A ce stade de l'étude, on peut donc dire qu'il s'agit d'acide gallique fixé sur un noyau D glucose.

II.4.3. - DETERMINATION DE LA STRUCTURE

Pour préciser la structure, Brown et ses collaborateurs (5) calculent la teneur du tanin en acide gallique et en glucose.

- Teneur en acide gallique :

Deux méthodes différentes sont utilisées :

→ mesure du E270

→ titration de l'acide gallique

- Teneur en glucose :

Deux méthodes sont également mises en oeuvre :

- méthode utilisant l'Anthrone (5)
- méthode utilisant la corrélation existant entre le pouvoir rotatoire des tanins galliques et leur teneur en glucose

RESULTATS :

Le tanin non fractionné est composé en moyenne de 10,5 restes galliques par molécule de glucose. L'arrangement des restes galliques est déterminé après hydrolyse alcaline du tanin méthylé. Les restes galliques peuvent être liés en position méta.

Le tanin extrait des feuilles d'*Epilobium angustifolium* L est donc un mélange de molécules allant de l'heptagalloyl-D-glucose au tridecagalloyl-D-glucose dans lesquelles le noyau est un penta-O-galloyl- β -D glucose.

Pour plus de précision, l'équipe anglaise (18) réalise à partir de l'extrait une chromatographie sur colonne sephadex LH20. L'éluant utilisé est l'éthanol.

Les fractions sont analysées par chromatographie sur papier :

- Whatman n° 2
- solvants : A : acide acétique 6 %
 B : butanol-acide acétique-eau
 (14:1:5 v/v)

La détection se fait sous UV après pulvérisation de réactifs divers :

- iodate de potassium aqueux :
 - tâches rouge à rose : esters galliques
 - tâches orange à rouge : acide gallique
- solution d'acide nitrique :
 - tâches évoluant du rouge carmin au bleu indigo en très peu de temps : ester hexahydroxy diphenyl

L'ordre d'élution des esters galliques de la colonne sephadex LH20 dans l'éthanol est fonction du degré de "galloylation" du sucre.

L'étude complète des dérivés galloyl-D-glucose isolés est réalisée par HPLC et RMN ¹³C.

II.5. - CONCLUSION

L'Epilobe à feuilles étroites est une plante riche en tanin. Haggerman (20) en 1985 met au point une nouvelle méthode pour doser les tanins dans les extraits de plante. C'est la méthode de "diffusion radiale". Elle classe alors *Epilobium angustifolium L* dans les "high tanin" avec 5,15 mg de tanin pour 100 mg de tissus.

Les tanins isolés sont des dérivés galloyl du glucose dont les structures chimiques sont très bien définies (5, 18).

Par contre, des travaux russes mettent en évidence l'activité biologique de tanins extraits d'*Epilobium angustifolium L* dont la structure n'est pas encore parfaitement définie. En effet, en 1969, des chercheurs Russes (32) isolent de la fleur de l'Epilobe à feuilles étroites le chanérol. Ce produit est décrit comme "une substance sans azote ni sucre mais avec des groupes phénols et dont le poids moléculaire est élevé (environ 100 000)".

En 1974, la même équipe (33, 34) identifie le chanérol comme étant un ellagitanin et isole le chanérozan qui est le complexe polysaccharidique du chanérol qui pourrait être classé plutôt dans les lectines que dans les tanins (l'activité de ces deux produits sera développée plus loin).

Enfin, en 1986, après hydrolyse totale de ces tanins, Sasov (36) isole l'acide chamaénérique de formule $C_{22}H_{14}O_{10}$.

III - LES FLAVONOÏDES

III. 1. - INTRODUCTION

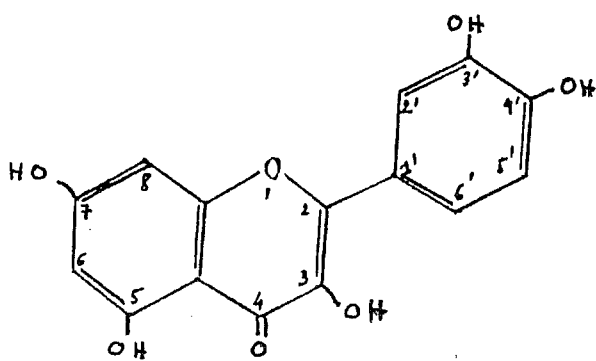
Lors des screenings, Chandler et Hooper (7), en 1978, ne trouvent pas de flavonoïdes chez *Epilobium angustifolium* L (réaction à la cyanidine négative). Or, des études récentes sur les flavonoïdes dans le genre *Epilobium* tendent à démontrer le contraire.

Ainsi, Averett et Coll (1,2) en 1979, Denford en 1980 (10) et Hierman en 1982 (22) identifient plusieurs hétérosides flavoniques chez *Epilobium angustifolium* L. Une équipe lyonnaise, en 1982 (35), étudie les aglycones flavoniques d'*Epilobium angustifolium* L après hydrolyse acide.

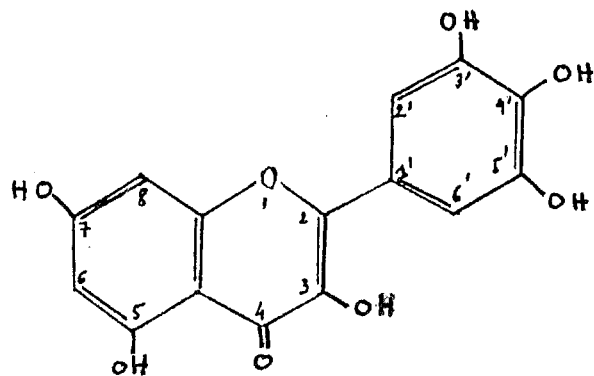
Enfin, en 1991, des chercheurs autrichiens (25) isolent des feuilles d'*Epilobium angustifolium* L un nouvel hétéroside flavonique porteur de propriétés anti-inflammatoires.

III. 2. - STRUCTURES

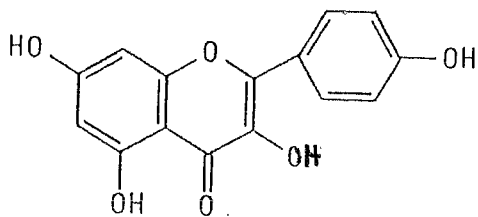
AGLYCONES FLAVONIQUES



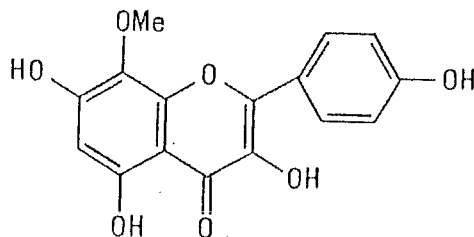
Quercétine



Myricétine

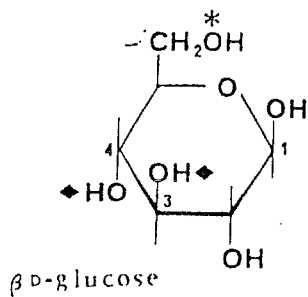


Kaempférol

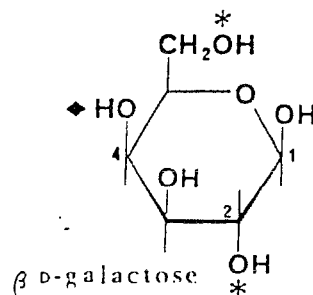


Sexangularétine

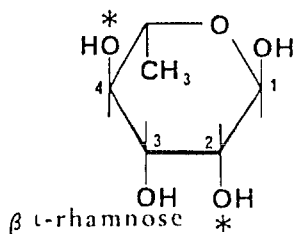
SUCRES



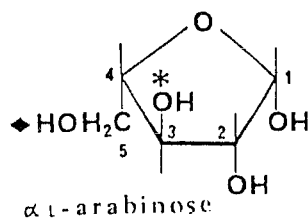
β -D-glucose



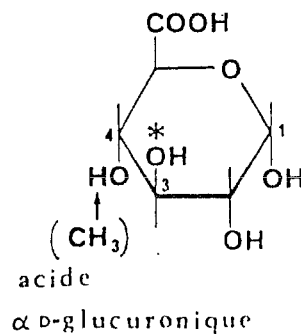
β -D-galactose



β -L-rhamnose



α -L-arabinose



acide
 α -D-glucuronique

LES COMPOSES

Quercétine :

Quercétine 3-O-rhamnoside
Quercétine 3-O-glucoside
Quercétine 3-O-arabinoside
Quercétine 3- α -L-arabopyranoside
Quercétine 3-O-glucuronide
Quercétine 3- α -L-arabofuranoside
Quercétine 3-galactoside

Myricétine :

Myricétine 3-O-rhamnoside
Myricétine 3-O-glucoside
Myricétine 3-O-arabinoside
Myricétine 3-O- β -D-glucuronide

Kaempférol :

Kaempférol 3-O-rhamnoside
Kaempférol 3-O-glucoside
Me-O- δ -kaempférol = sexangularétine

III. 3. - EXTRACTION

La plante fraîche est placée dans du méthanol et, après broyage, extraite dans un appareil de Soxhlet (22). On peut également faire macérer les feuilles sèches dans du méthanol et laisser reposer une nuit (1, 2).

III. 4. - ISOLEMENT (22)

L'extrait méthanolique ainsi obtenu est fractionné sur colonne Sephadex LH20. L'élution est réalisée par un gradient eau-méthanol-acétone. Les flavonoïdes sont alors isolés par chromatographie bidimensionnelle sur papier :

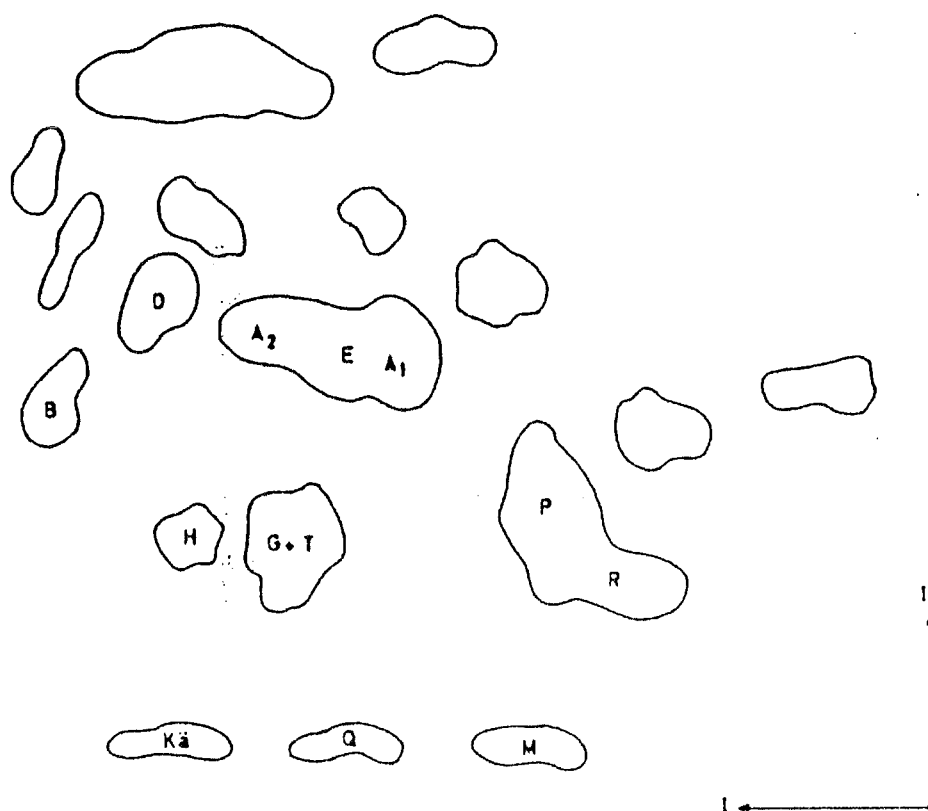
- solvants : tBuOH-HOAc-H₂O (3:1:1)
- et 15 % HOAc .

(voir tableau page suivante)

III. 5. - IDENTIFICATION

Les composés sont détectés sous UV en présence de vapeurs d'ammoniac.

- Sous UV à 366 nm :
- les glycosides quercétine présentent une coloration orange,
- les glycosides myricétine présentent une coloration rouge,



CHROMATOGRAMME DES FLAVONOIDES
D' EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L. (1)

LEGENDES :

- G = Quercétine-3- α -L-arabopyranoside
- E = Quercétine-3-rhamnoside
- P = Quercétine-3-glucoronide
- H = Quercétine-3- α -L-arabofuranoside
- A₂ = Quercétine-3-galactoside
- A₁ = Quercétine-3-glucoside
- B = Kaempférol-3-rhamnoside
- D = kaempférol glycoside
- R = Myricétine-3-rhamnoside
- K_ā = Kaempférol
- Q = Quercétine
- M = Myricétine

- les glycosides kaempférol présentent une coloration vert-jaune.

Pour déterminer la structure des flavonoïdes présents, plusieurs chromatogrammes sur papier sont effectués et l'éluion des composés isolés (des tâches les plus concentrées) est réalisée par du méthanol (22).

Les hétérosides sont identifiés essentiellement par comparaison de leurs propriétés spectrales avec celles de produits de référence.

PROPRIETES SPECTRALES :

Quercetin-3- α -L-arabopyranosid

MeOH 362, 300sh, 260; AlCl₃, 438, 338sh, 303 sh, 276
AlCl₃/HCl 405, 367, 303sh, 276; NaOMe 412, 333, 277;
NaOAc 388, 326, 276; NaOAc/H₃BO₃ 382, 300sh, 266 nm

Quercetin-3- α -L-arabofuranosid

MeOH 358, 295sh, 258; AlCl₃, 435, 305sh, 277;
AlCl₃/HCl 400, 330, 276; NaOMe 407, 330, 276;
NaOAc 395, 325, 276; NaOAc/H₃BO₃ 378, 265 nm

Quercetin-3-glucuronid

MeOH 363, 298sh, 262; AlCl₃ 414, 354sh, 302sh, 275;
AlCl₃/HCl 400, 365, 300 sh, 275; NaOMe 417, 330 sh, 280
NaOAc 393, 325, 275; NaOAc/H₃BO₃ 380, 300sh, 265 nm

Kämpferol-3-rhamnosid

MeOH 348, 270; AlCl₃ 398, 352, 278; AlCl₃/HCl 393, 345, 277;
NaOMe 390, 325, 275; NaOAc 373, 300sh, 276;
NaOAc/H₃BO₃ 349, 300sh, 268 nm

* Une hydrolyse acide et enzymatique est réalisée pour chaque composé afin de caractériser les sucres et les aglycones :

- l'hydrolyse acide est réalisée par HCl 5 % à 70° C pendant une heure,

- l'hydrolyse enzymatique est réalisée par la β -D-glucosidase en milieu aqueux à 27° C.

Les sucres récupérés après hydrolyse sont caractérisés par CCM et CPG.

* Lors de son étude sur les aglycones flavoniques d'*Epilobium angustifolium L.*, l'équipe lyonnaise (35) réalise tout d'abord l'hydrolyse acide par HCl 2N des fleurs et des fruits de la plante puis extrait les aglycones de la phase aqueuse par l'éther éthylique.

* Des cochromatographies sur couche de gel de silice, de polyamide et de cellulose peuvent également être réalisées quand il existe des produits témoins. Ainsi, Renaud J, en 1982 (35), isole pour la première fois des fleurs et fruits d'*Epilobium angustifolium L.*, une nouvelle aglycone : la sexangularétine :

- CCM polyamide DC11,
- solvants : C₆H₆-MeCOEt-MeOH (4:3:3)

- produits isolés :

- * Kaempférol Rf = 0,37
- * Quercétine Rf = 0,20
- * Myricétine Rf = 0,11
- * Sexangularétine Rf = 0,50

L'identification des aglycones est complétée par une spectrophotométrie UV visible (35):

Kaempférol : Rf (1) : 0,37

UV λ max. nm. MeOH : 266-367

Quercétine : Rf (1) : 0,20

UV λ max. nm MeOH : 257-372

Myricétine : Rf (1) : 0,11

UV λ max. nm MeOH 253-372

Sexangularétine : Rf (1) : 0,50

Fluorescence brune

UV λ max. nm MeOH (255) 271-323-371 ; MeOH + NaOAc : 279-306

MeOH + NaOAc + H₃BO₃ : 271-322-372 ; MeOH + AlCl₃
267(310) 355-430 ; MeOH + AlCl₃ + HCl : 267 (310)-355-430 ;
MeOH + NaOH : 281-320-422.

Rf (1) : C.C.M. polyamid DC 11. solvant C₆H₆, MeCO Et, MeOH 4:3:3
v/v.

III.6. - CAS DU GLUCURONIDE EN 3 DE LA MYRICETINE

Ce composé a été isolé et identifié très récemment par Hiermann et ses collaborateurs (25) dans la feuille d'*Epilobium angustifolium* L.

III.6.1. - EXTRACTION

Les feuilles sont traitées par de l'acétone puis de l'eau chaude. Sur les phases mélangées, une extraction par l'acétate d'éthyle à PH neutre puis à PH₂ est réalisée. Cette dernière fraction est concentrée à sec.

III.6.2. - SEPARATION ET IDENTIFICATION

- Par chromatographie sur colonne de silice :

* solvants : - acétate d'éthyle }
 - Methyl éthyl cétone} 50:30:10:5
 - eau }
 - acide formique }

* fractions de 35 ml.

Le glucuronide est présent dans les fractions 12 à 20.

- Par chromatographie sur couche mince :

* gel de silice

* solvants : - acétate d'éthyle)
- Méthyl éthyl cétone) 50:30:10:5
- eau)
- acide formique)

* Rf = 0,45

- Par chromatographie sur papier :

* Whatman 3 MM

* solvants : - butanol)
- acide acétique) 3:1:1
- eau)

* Rf = 0,35

- Par HPLC :

* lichrosorbe RP-18

* solvants : - méthanol)
- eau) 40:60

* débit 5 ml/mn

* détection à 360 nm

* Tr = 17,9 min

L'identification est complétée par l'analyse des propriétés spectrales des produits avant et après hydrolyse.

PROPRIETES SPECTRALES (25)

UV λ_{\max} (MeOH): 363, 299sh, 260; (MeOH + AlCl₃) 426, 285sh, 270; (MeOH + AlCl₃/HCl) 404, 290sh, 267; (MeOH + NaOAc) 380, 272 nm; IR ν_{\max}^{KBr} : cm⁻¹: 3436, 1653, 1636, 1610 (COO⁻), 1559, 1539, 1507, 1457, 1355, 1301, 1204, 1168, 1086, 645; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7,28 (2H, s, 2'-H und 6'-H), 6,39 (1H, d, 8-H), 6,21 (1H, 6-H), 5,42 (1H, d, 1"-H, *J* = 8 Hz), 3,6-3,1 (4H, m, 2", 3", 4", 5"); ¹³C-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177,25 (C-4), 170,07 (COOH), 164,28 (C-7), 161,12 (C-5), 156,69 (C-2), 156,25 (C-9), 145,45 (C-3', C-5'), 136,75 (C-4'), 133,55 (C-3), 119,51 (C-1'), 108,63 (C-2', C-6'), 103,78 (C-1"), 101,7 (C-10), 98,77 (C-6'), 93,46 (C-8), 77,54 (C-3"), 76,21 (C-5"), 73,77 (C-2"), 71,35 (C-4"). NIFAB-MS (Xe, 7 kV, 10 W) *m/z*: 493 (M - H)⁻.

III. 7. - DOSAGES

Lors de son étude en 1982, Hiermann (22) détermine la concentration relative des flavonoïdes dans les parties de plantes étudiées en mesurant la densité des tâches obtenues lors des chromatographies sur papier et sur couche mince.

CONCENTRATION RELATIVE DES FLAVONOÏDES CHEZ
EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L

Epilobium angusti- folium L	G	E	P	H	A ₂	A ₁	B	D	R	X	Y	Z	Q	Ka	M	K
Racines	+	++	+		+	+										
Feuilles	+++	++	++++	+	+	++	+	+	++				+	+	+	+
Fleurs	++	++	+++	+	+	+	+	+								+

LEGENDES :

- ++++ : Très forte
- +++ : Forte
- ++ : Moyenne
- + : Faible

III.8. — CONCLUSION

Les flavonoïdes ont surtout été étudiés dans les parties aériennes de la plante. Ce sont des hétérosides de 3 flavonols : quercétine, myricétine et kaempférol. Les possibilités de glycosylation sont nombreuses : glucose, rhamnose, arabinose et acide glucuronique. Le glucuronide en 3 de la myricétine a été étudié pour son activité anti-inflammatoire assez remarquable.

IV - TRITERPENES, STEROLS ET DERIVES

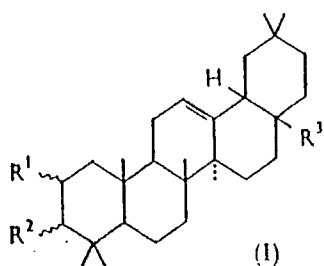
IV. 1. - TRITERPENES

IV. 1. 1. - GENERALITES

C'est Puringer qui pour la première fois en 1924 isole d'un extrait étheré de feuilles d'*Epilobium angustifolium* L, un alcool (point de fusion 256-260° C, $[\alpha]_D^{20} + 72,75^\circ$) (15). Il se présente comme "une résine non cristalline" qui donne une "réaction cholestol" positive.

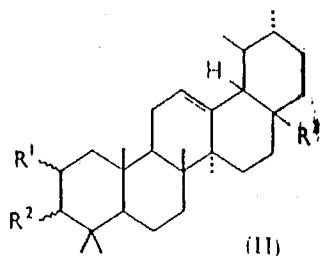
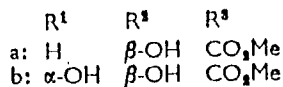
En 1967, deux équipes, une dirigée par Huneck en Autriche (26), l'autre par Glen en Angleterre (15), décident d'étudier à nouveau cette plante et d'identifier ce produit qu'ils soupçonnent être un triterpène.

IV. 1. 2. - STRUCTURES



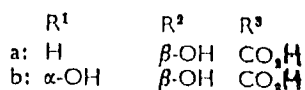
Ia : Acide Oléanique

Ib : Acide Maslinique



IIa : Acide Ursolique

IIb : Acide 2α-hydroxy-ursolique



IV.1.3. - EXTRACTION

L'équipe anglaise (15) étudie les feuilles, alors que l'équipe autrichienne (26) travaille sur la plante entière.

Après séchage, l'extraction est réalisée pendant 24 heures par l'éther éthylique.

L'extrait, après évaporation, donne un solide vert amorphe.

IV.1.4. - ISOLEMENT ET IDENTIFICATION

Les deux équipes utilisent des méthodes différentes.

Huneck (26) sur l'insaponifiable méthylé par le diazométhane réalise une chromatographie sur colonne.

L'élution est réalisée avec 100 ml d'un mélange benzène-éther (1:1).

L'identification est faite par comparaison avec une substance de référence. Le produit isolé correspond au méthyl ester de l'acide ursolique. Huneck identifie donc ainsi l'acide ursolique.

Glen et ses collaborateurs (15) utilisent des méthodes de séparation et d'identification plus spécifiques.

Séparation :

L'extrait étheré est méthylé par du diazométhane à température ambiante. Une chromatographie en phase gazeuse est réalisée en utilisant 2 colonnes différentes :

- colonne A : * SE-30 (1 %) .
* température 250° C
* Argon 40 ml/mn

- colonne B : * Qf-1 (1 %)
* température 225° C
* Argon 35 ml/mn

→ Cinq composés apparaissent (après une CCM seulement 2 tâches distinctes sont observées. Ceci s'explique par le fait que la séparation a lieu par groupe de composés : stérols, triterpènes, acides triterpéniques).

Dans un deuxième temps, l'extrait étheré est acétylé. Une chromatographie sur colonne d'alumine est réalisée.

Différents éluants sont utilisés :

* fraction A :

- Ether de pétrole	1,2 l
- Ether de pétrole-Benzène (1:1)	2,0 l

* fraction B :

- Ether de pétrole-Benzène (1:4) 4,0 l
- Benzène 5,0 l

Identification :

Après hydrolyse des deux fractions A et B, les composés sont identifiés par leurs propriétés spectrales :

- ultra-violet,
- infra rouge
- spectrométrie de masse
- RMN'

Résultats :

- dans la fraction A sont identifiés :

- * l'acide ursolique
- * l'acide oléanolique

- dans la fraction B sont identifiés :

- * l'acide maslinique
- * l'acide 2 α hydroxy-ursolique

IV.1.5. - CONCLUSION

Les acides triterpéniques que l'on rencontre chez *Epilobium angustifolium* L sont donc de deux séries :

- la série ursolane
- la série oléanolane

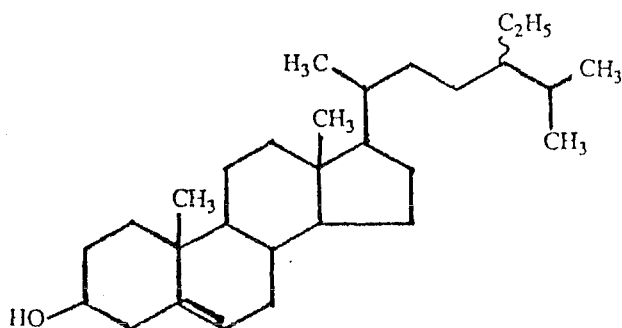
Il s'agit d'acides triterpéniques mono hydroxylés classiques tels que l'acide ursolique et l'acide oléanolique, mais également de dérivés dihydroxylés moins répandus comme l'acide maslinique ou l'acide 2 α hydroxy-ursolique.

IV.2. - STEROLS

En 1985, Hiermann et ses collaborateurs (23) isolent de la plante d'*Epilobium angustifolium* L le β sitostérol mais également beaucoup de ses dérivés glycosylés et acylés.

IV.2.1. - STRUCTURE

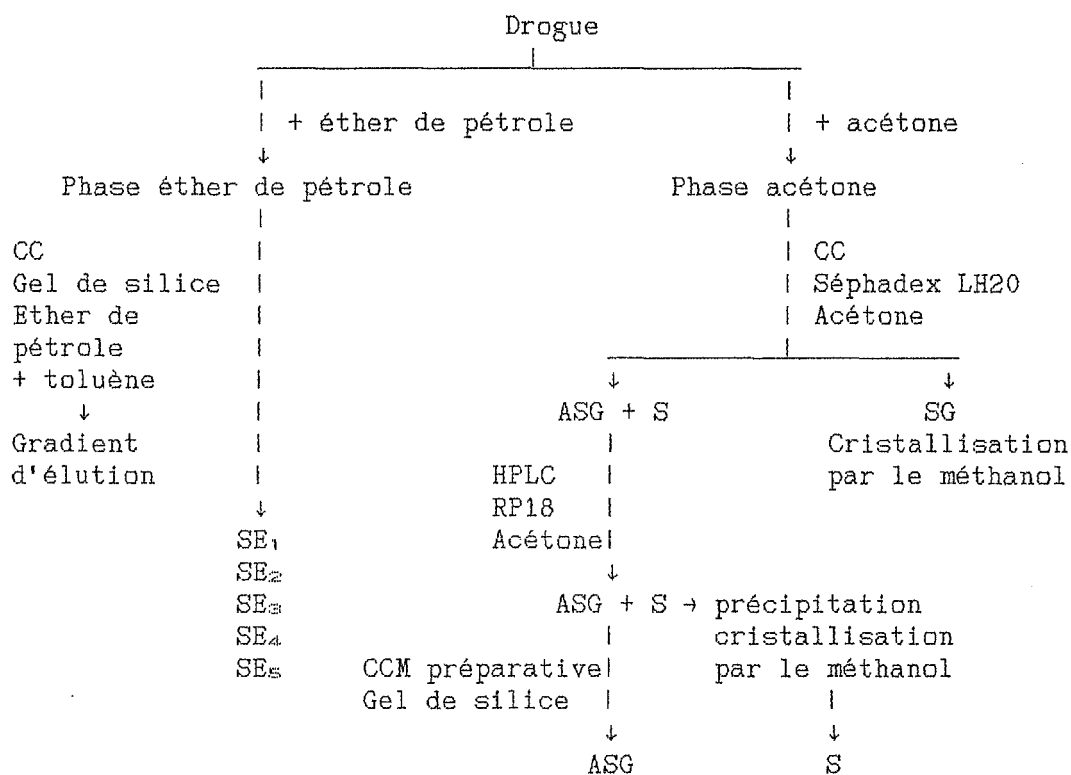
β SITOSTEROL



IV.2.2. - EXTRACTION

La plante entière desséchée est traitée par de l'éther de pétrole et de l'acétone.

IV.2.3. - ISOLEMENT



LEGENDE :

- CC = Chromatographie sur colonne
- S = β sitostérol
- SG = β sitostérol- β -D-glucoside
- ASG = β sitostérol-6-acyl- β -D-glucoside
- SE₁ = palmitate de β sitostérol
- SE₂ = caprate de β sitostérol
- SE₃ = caprylate de β sitostérol
- SE₄ = caproate de β sitostérol
- SE₅ = propionate de β sitostérol

IV.2.4. - IDENTIFICATION

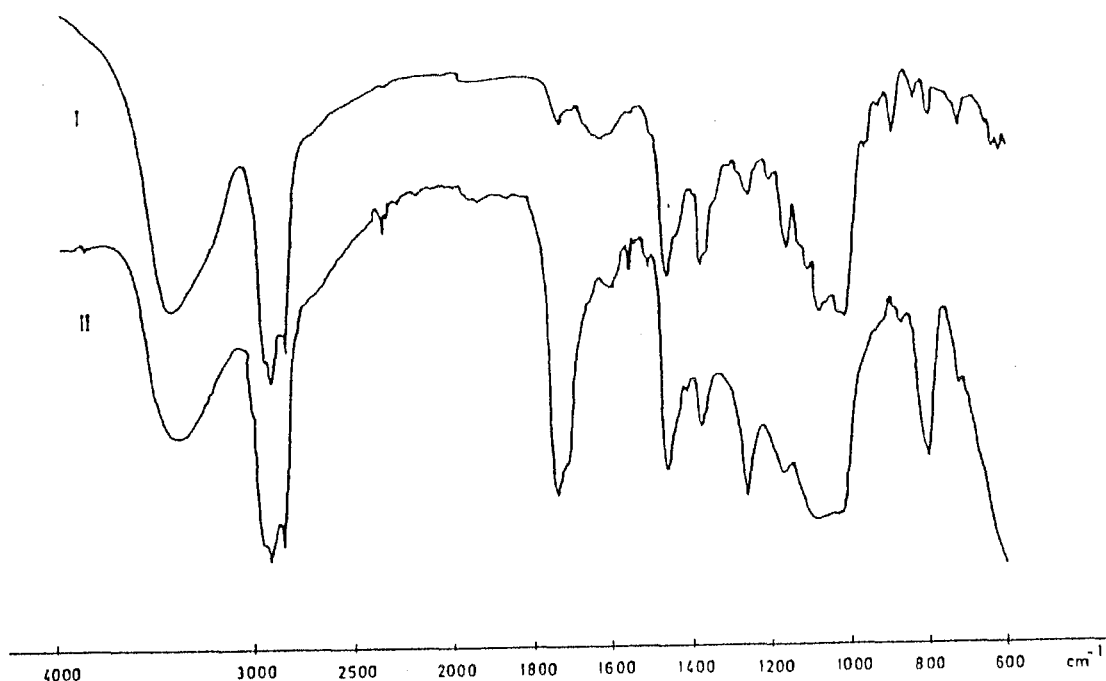
Le β sitostérol est identifié par cochromatographie, par mesure du point de fusion au banc de köfler ainsi que par spectrométrie de masse et spectre IR.

L'identification des dérivés du β sitostérol se fait après hydrolyse acide et alcaline ce qui permet la séparation des sucres et des acides gras.

Les acides gras sont identifiés par cochromatographie en couche mince et HPLC.

Les spectres UV, IR et le spectre de masse de chaque produit isolé sont réalisés et comparés aux spectres de produits de référence.

SPECTRE IR DU β -SITOSTEROL- β -D-GLUCOSIDE (I) ET DU β -SITOSTEROL-6-O-ACYL- β -D-GLUCOSIDE (II) (23)



IV.2.5. - REPARTITION

Pour déterminer la répartition qualitative et quantitative des dérivés du sitostérol dans les différentes parties de la plante, Hiermann réalise une extraction par l'acétone à partir de la partie de la plante pulvérisée, suivie d'une purification sur colonne RP18.

L'analyse qualitative se fait par CCM sur couche mince RP18.

L'analyse quantitative est réalisée par HPLC sur colonne RP18.

La teneur globale en dérivés du sitostérol dans la plante est déterminée, après hydrolyse acide et alcaline des extraits totaux, par HPLC.

Teneur globale en dérivés sitostérol dans *Epilobium angustifolium* L = 0,55 %.

(Voir tableau page suivante).

REPARTITION DES DERIVES DU β SITOSTEROL

DANS LES DIFFERENTES PARTIES DE PLANTES

D' EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L.

PARTIE DE LA PLANTE	S	SG	ASG	SE ₁	SE ₂	SE ₃	SE ₄	SE ₅
FEUILLE	++++	+++	++	++	+	+	+	++
FLEUR	+++	+++	+	+	+	+		
TIGE	++	+	+					
GRAINE	+++	+	+	+	+	+		

LEGENDE :

++++ : Très forte

+++ : Forte

++ : Moyenne

+ : Faible

IV.2.6. - CONCLUSION

Le β sitostérol libre et le β sitostérol β -D-glycoside sont les deux principaux dérivés.

Parmi les organes de plantes étudiés, ce sont les feuilles qui présentent la plus grande diversité mais également la teneur la plus élevée en dérivés du sitostérol.

IV.3. - APPARENTES

Huneck, en 1967, lors de l'étude citée plus haut (26), isole et identifie en plus de l'acide ursolique du β sitostérol mais également du N nonacosane et de l'alcool cérylique.

IV.3.1. - EXTRACTION

La plante broyée est soumise pendant 24 h à une extraction par l'hexane.

IV.3.2. - ISOLEMENT

L'extrait hexanique est évaporé et saponifié sous reflux à chaud dans un mélange éthanol-benzène (5.2). Le résultat de saponification est extrait par l'éther éthylique, séché avec Na_2SO_4 et concentré à sec.

IV.3.3. - IDENTIFICATION

L'huile rouge orangée correspondant à l'insaponifiable est dissoute dans 200 ml d'hexane et chromatographiée sur colonne avec 300 g d'oxyde d'aluminium.

	ELUANTS (ml)		POINTS DE FUSION (°C)
1	3000 Hexane		60-61
2	2000 Benzène		0
3	6000 Benzène/éther (1:1)		75-76
4	4000 Ether		130-132

→ La fraction 1 fournit, après cristallisations répétées, de petits cristaux cireux de point de fusion : 62-63° C apparemment identiques au N nonacosane.

→ La fraction 3, après plusieurs cristallisations, produit 1,5 g d'alcool cérylique de point de fusion : 76-77° C.

→ La fraction 4 donne, après trois cristallisations, 1,5 g de β sitostérol de point de fusion : 134-135° C.

IV. 4. - COMPOSES LIPOPHILES
ISOLES CHEZ
EPILOBIUM
ANGUSTIFOLIUM L

COMPOSES ISOLES			PARTIE DE LA PLANTE ETUDIEE
TRITERPENES	SERIE OLEANOLANE	- Acide oléanique - Acide maslinique	PLANTE ENTIERE
	SERIE URSOLANE	- Acide ursolique - Acide 2 α OH ursolique	FEUILLES
STEROLS :	DERIVES ACYLES	- Palmitate - Caprate - Caprylate - Caproate - Propionate	PLANTE
β	DERIVES GLYCOSYLES	- β -D-glucoside - 6-acyl- β -D-glucoside	ENTIERE
APPARENTES	- N nonacosane - Alcool cérylique		PLANTE ENTIERE

V - LES AROMES

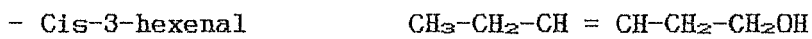
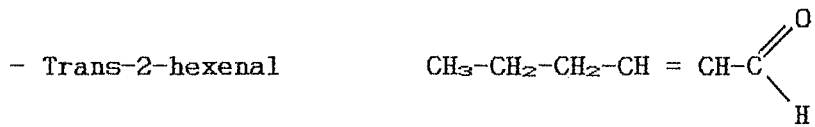
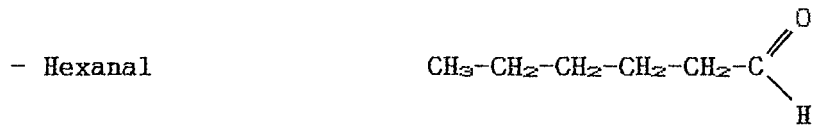
V. 1. - INTRODUCTION

En 1987, des chercheurs finlandais (28) étudient la composition aromatique de certaines plantes à infusion dont *Epilobium angustifolium* L. L'utilisation d'infusions à base de plantes comme boissons a régulièrement augmenté en Finlande durant ces dernières années.

Les propriétés organoleptiques de ces boissons sont considérablement améliorées par des procédés de fermentation et de dessiccation de matières premières. La fermentation des feuilles diminue le principe amer de la boisson et augmente l'arôme et le goût.

En Finlande, l'Epilobe à feuilles étroites est très répandue et très utilisée par la population comme boisson aromatique. Elle fait partie des espèces les plus appropriées à cette fermentation.

V. 2. - STRUCTURES



V. 3. - RECOLTE ET PREPARATION DES PLANTES

La plante sauvage est récoltée manuellement. Au laboratoire les 15 feuilles supérieures sont séparées et divisées en deux parties.

Une partie est séchée immédiatement à 34° C pendant 24 h et à 48° C pendant 2 h avec une bonne ventilation. Les feuilles ainsi traitées seront appelées "feuilles vertes" dans la suite de l'exposé.

L'autre partie est séchée à 34° C pendant 2 h. L'échantillon est ensuite roulé et les feuilles écrasées sont tassées dans un container, le couvercle est fermé. Il s'agit d'une fermentation quasi en anaérobie.

V. 4. - PREPARATION DU CONCENTRE D'AROMES

Deux méthodes sont mises en oeuvre :

1ère méthode :

Les feuilles sèches sont mélangées à 100 ml d'eau bouillante dans un flacon bouché. Le mélange reste dans un bain d'eau à 98° C pendant 10 mn puis est filtré.

L'extrait est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée.

L'infusion froide est agitée plusieurs fois avec de l'éther éthylique.

Après séchage, la fraction étherée est lentement concentrée.

2ème méthode :

Les feuilles séchées sont soumises à une distillation à la vapeur durant 50 mn.

Le produit de distillation est récupéré dans l'éther éthylique, séché et concentré.

**V. 5. - IDENTIFICATION
ET DOSAGE**

Les concentrés d'arôme obtenus par les deux méthodes d'extraction sont immédiatement analysés par chromatographie gazeuse sur colonne capillaire :

- colonne capillaire de silice fondue
- détecteur à ionisation de flamme
- gaz utilisé : hélium
- température d'injection 230° C
- température de détection 300° C

Chaque composé est identifié en comparant son temps de rétention à celui de composés de référence.

La plupart des composés identifiés sont confirmés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

TABLEAU 1

COMPOSITION DE L'AROME
D'EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L
($\mu\text{g/g}$ de feuilles sèches)

COMPOSES	APRES DISTILLATION A LA VAPEUR	APRES INCUBATION DANS L'EAU A 98°	
	FV	FV	FF
Hexanal	4,994	1,966 (0,285)	2,175 (0,436)
trans-2-hexenal	89,569	52,403 (5,614)	23,261 (1,691)
cis-3-Hexenol	6,780	9,235 (0,491)	4,711 (0,027)
1-Hexanol	0	0	0
Benzaldéhyde	0	0	0
(-)- α -Pinen	0	0	0
Octanal	0	0,264	2,372 (0,169)
Salicyaldéhyde	3,666	0	0
Phénylacétaldéhyde	0	4,538 (0,200)	9,703 (0,423)
Phényléthanol	6,148	8,059 (0,218)	45,271 (1,283)
(\pm)-Linalool	2,719	0	0
Méthylsalicylate	0	0	0
α -Terpénool	0,749	0	0
Citral	0	0	0
(+)-Pulegone	0	0	0
Geraniol	0	0	0
Octanoïque acid	0	0	0
Eugénol	2,020	1,668 (0,128)	21,471 (0,561)
Dodecanal	0	0	0
β -Jonon	4,783	0,869 (0,099)	1,750 (0,402)
Tétradécanal	0	0	0
TOTAL	121,428	79,002	110,714

TABLEAU 2

RENDEMENT DE L'EXTRACTION

DES CONSTITUANTS DE L'AROME

*(Les résultats sont les valeurs moyennes
de 3 à 5 essais)*

(a : 1 essai) - (Déviation standard entre parenthèses)

COMPOSES	INCUBATION DANS L'EAU A 98°		DISTILLATION A LA VAPEUR	
	DE	P	DE	P
1-Hexen-3-ol	20,58 (1,35)	2,34 (0,39)	-	3,46 (0,47)
Hexanal	14,79 (1,76)	-	43,12 (1,81)	-
trans-2-Hexenal	11,96 (0,97)	3,38 (0,32)	40,51 (0,64)	3,99 (1,05)
1-Hexanol	25,90 (3,38)	5,16 (0,56)	58,64 (4,80)	7,95 (0,99)
Octanal	5,10 (0,35)	1,72 (0,61)	20,66 (2,25)	4,07 (0,53)
Phenylacetaldehyde	33,93 (3,52)	8,69 (1,18)	48,62 (4,45)	8,42 (1,60)
Phenethylalcohol	64,83 (6,40)	1,41 (0,13)	81,46 (5,60)	2,18 (0,61)
(±)-Linalool	18,80 (0,35)	6,85 (0,77)	75,92 (2,09)	14,33 (1,56)
Octanoic acid	36,36 (5,71)	-	30,45 (6,97)	-
α-Terpineol	37,31 (1,04)	-	83,42 (2,87)	18,13 (3,48)
Geraniol	36,62 (0,35)	8,97 (0,64)	88,52 (4,36)	15,76 (3,06)
Citral	22,79 (0,69)	6,44 (0,59)	73,48 (3,23)	12,81 (2,04)
Eugenol	48,14 (3,35)	10,37 (0,50)	82,90 (5,07)	14,96 (3,12)
Dodekanal	2,48 (0,74)	1,10 (0,30)	25,22 (2,53)	6,99 (1,36)
β-Ionon	18,32 (3,31)	6,86 (0,75)	78,16 (1,74)	18,59 (2,89)
Tetradecanal	8,37 (1,42)	1,03 (0,32)	51,62 (2,38)	17,02 (2,59)

LEGENDE :

- DE : Diethylether comme solvant d'extraction
- P : Pentane comme solvant d'extraction
- : Non analysé

Ces composés sont dosés en utilisant le linalool comme étalon interne. (Tableau 1)

V. 6. — COMMENTAIRES

La distillation à la vapeur fournit des concentrations en arôme plus élevées que l'incubation directe des plantes dans l'eau à 98° C. Néanmoins, il est intéressant de voir que l'eau chaude est très efficace pour extraire les composés aromatiques. (Tableau 2)

Le trans-2-hexenal est connu pour son odeur piquante et âcre qui détériore l'arôme, en particulier celui du thé noir. Or, au cours de la fermentation la teneur en trans-2-hexenal diminue ce qui améliore l'arôme.

Le phénéthylalcool et le phénylacétaldéhyde, composés aromatiques ayant une plaisante odeur de rose, atteignent une teneur élevée pendant la fermentation. La teneur en phénéthylalcool est multipliée par 5 et celle en phénylacétaldéhyde par 2. Ce dernier provient de l'oxydation de la phénylalanine par une quinone.

La production d'Eugenol est très élevée durant la fermentation. Or, sa participation à un arôme de qualité est très importante.

Les ionones jouent également un grand rôle dans l'arôme des plantes. La teneur en β ionone augmente au cours de la dessiccation et la fermentation. Leur odeur de violette est intense et agréable.

VI - TABLEAU RECAPITULATIF

	COMPOSES
TANINS	<ul style="list-style-type: none"> - Penta-O-galloyl-β-D-glucose - 1, 2, 6 tri-O-galloyl-β-D-glucose - 1, 2, 3, 6 tetra-O-galloyl-β-D-glucose - 1, 2, 3 tri-O-galloyl-4, 6 (s)-hexahydroxy diphenyl-β-D-glucose - 2, 3 di-O-galloyl-4-6 (s)-hexahydroxy diphenyl-D-glucose
FLAVONOIDES	<ul style="list-style-type: none"> - QUERCÉTINE <ul style="list-style-type: none"> - Quercétine 3-O-rhamnoside - Quercétine 3-O-glucoside - Quercétine 3-O-arabinoside - Quercétine 3-α-L-arabopyranoside - Quercétine 3-O-glucuronide - Quercétine 3-α-L-arabofuranoside - Quercétine 3 galactoside - MYRICÉTINE <ul style="list-style-type: none"> - Myricétine 3-O-rhamnoside - Myricétine 3-O-glucoside - Myricétine 3-O-arabinoside - Myricétine 3-O-β-D-glucuronide - KAEMPFÉROL <ul style="list-style-type: none"> - Kaempférol 3-O-rhamnoside - Kaempférol 3-O-glucoside - Me-O-8-kaempférol = sexangularétine
TRITERPENES	<ul style="list-style-type: none"> - Acide Oléanolique - Acide Maslinique - Acide Ursolique - Acide 2α-hydroxy-ursolique
STEROLS	<ul style="list-style-type: none"> - β SITOSTEROL <ul style="list-style-type: none"> - Dérivés acylés - Dérivés glucosylés
APPARENTES	<ul style="list-style-type: none"> - N nonacosane - Alcool cérylique
AROMES	<ul style="list-style-type: none"> - Hexanal - Trans-2-hexenal - Cis-3-hexenal - Phénéthylalcool - Phénylacétaldehyde - Eugénol - β ionone

* * * * *
* PHARMACOLOGIE *
* * * * *

I — PROPRIETE ANTI-INFLAMMATOIRE

I.1 — GENERALITES

Une équipe autrichienne (22,24,25,27), au cours des années 1980, réalise une étude chimique et pharmacologique de l'Epilobe. Cette plante est alors très utilisée en médecine populaire dans le traitement de l'adénome prostatique. Les chercheurs veulent donc isoler les principes actifs, étudier leurs structures et essayer de comprendre leur mécanisme d'action.

Est-ce le β sitostérol présent dans la plante et connu pour ses propriétés anti-inflammatoires (16), ou bien un autre produit non encore identifié qui est responsable de cette action ?

I.2 — IDENTIFICATION DU PRINCIPE ACTIF

Jusqu'à présent, les chercheurs pensaient que le β sitostérol, connu pour ses propriétés anti-inflammatoires était responsable de l'effet thérapeutique de l'Epilobe sur l'adénome prostatique.

I.2.1 — LE β SITOSTEROL

Comme nous l'avons vu dans la partie chimie, *Epilobium angustifolium* L est riche en β sitostérol.

Gupta et ses collaborateurs, en 1980 (16), étudient l'effet anti-inflammatoire du β sitostérol.

Ils testent cet effet :

- sur des rats porteurs d'oedemes induits par l'administration de carragenine (tableaux I et II),
- sur des rats ayant subi l'ablation des surrénales (tableau III).

Le β sitostérol est administré par voie orale ou intrapéritonéale. La comparaison est faite avec des administrations d'hydrocortisone et d'oxyphenbutazone dans les mêmes conditions. L'activité ulcérogène du β sitostérol et de l'oxyphenbutazone sont également comparées (tableau IV);

Le β sitostérol administré en intrapéritonéale (IP) possède une activité anti-inflammatoire similaire à celle de l'hydrocortisone et de l'oxyphenbutazone (tableaux I et II). Il est également actif par voie orale (tableau II).

Cette activité anti-inflammatoire est indépendante de l'axe hypophyse adrénalien, le β sitostérol conservant son activité chez le rat surrénalectomisé (tableau III).

L'action ulcérogène du β sitostérol est très faible par rapport aux autres anti-inflammatoires testés (tableau IV).

TABLEAU I

Effet après administration intrapéritonéale (i.p.) du β sitostérol, de l'hydrocortisone et de l'oxyphenbutazone sur l'oedème induit par la carragénine chez les rats albinos

Drugs	Dose (mg/kg) i.p.	% Anti-inflammatory effect	Anti-inflammatory ED ₅₀ \pm S.E. (mg/kg i.p.)	Relative potency
Hydrocortisone	5	29		1.0
	10	43	12.34 \pm 0.39	
	20	62		
Oxyphenbutazone	20	36		0.26
	40	48	47.0 \pm 0.51	
	80	55		
β -Sitosterol	80	25		0.08
	160	54	155.6 \pm 0.17	
	320	69		

TABLEAU II

Effet après administration orale du β sitostérol, de l'hydrocortisone et de l'oxyphenbutazone sur l'oedème induit par la carragénine chez le rat

Drugs	Dose (mg/kg) p.o.	Mean volume of oedema in ml \pm S.E.	% Anti-inflammatory effect	'P' value
N. Saline (control)	0.5 ml	1.02 \pm 0.03	-	
Hydrocortisone	25	0.32 \pm 0.04	69	< 0.001
Oxyphenbutazone	100	0.26 \pm 0.02	74	< 0.001
β -Sitosterol	320	0.47 \pm 0.09	54	< 0.001

TABLEAU III

Effet du β sitostérol et de l'oxyphenbutazone sur l'œdème induit par la carragénine chez des rats ayant subi l'ablation des surrénales

Drugs	Dose* (mg/kg i.p.)	Mean volume of oedema in ml \pm S.E.	% Anti- inflammatory effect	'P' value
N. Saline (control)	0.25 ml	0.81 \pm 0.04	-	-
β -Sitosterol	160	0.44 \pm 0.01	46	< 0.001
Oxyphenbutazone	50	0.42 \pm 0.03	48	< 0.001

* Les doses utilisées sont celles des ED₅₀ déterminées pour l'œdème induit par la carragénine chez les rats normaux.

TABLEAU IV

Activité ulcérogène du β sitostérol et de l'oxyphenbutazone chez les rats albinos

Drugs	Dose mg/kg i.p.	No. of rats with ulcer		Ulcer index
		No. of rats studied	% ulcer	
β -Sitosterol	150	0/10	0	0
	300	0/10	0	0
	600	2/10	20	7
Oxyphenbutazone	50	3/10	30	14
	100	6/10	60	24
	150	16/20	80	30

Ce produit possède donc une activité anti-inflammatoire intéressante chez l'animal avec une large marge de sécurité du fait de son pouvoir ulcérogène très faible.

En 1982, des chercheurs (22) observent que certains flavonoïdes présentent également un effet anti-inflammatoire. Des expériences in vitro sur un concentré de rein de rats, au moyen d'acide arachidonique marqué au ^{14}C mettent en évidence une inhibition de la cyclooxygénase et de la lipoxycgénase par ces flavonoïdes lors de la synthèse des prostaglandines.

Apostrophée par cette observation et sachant qu'*Epilobium angustifolium L* est riche en flavonoïdes, une équipe autrichienne (24) décide d'étudier ces flavonoïdes, de voir si l'effet anti-inflammatoire est dû au β sitostérol, à ces flavonoïdes ou à un produit non encore identifié.

I.2.2 - EFFET DES EXTRAITS D'EPILOBE SUR LA BIOSYNTHESE DES PROSTAGLANDINES

En 1986, Hiermann, Juan et Sametz (24) testent les extraits aqueux et méthanoliques d'*Epilobium angustifolium L* et *Epilobium parviflorum* sur la biosynthèse des prostaglandines et l'œdème de la patte de rat induit par la carragénine.

A une concentration de 5 mg/ml, les extraits aqueux des 2 plantes diminuent la libération des PGI₂, PGE₂ et PGD₂ marquées. L'extrait d'*Epilobium angustifolium* L est beaucoup plus actif (Fig. 1) et son effet est dose dépendant (Fig. 2). La mesure par Radio Immuno Essai (RIA) confirme ces observations (Fig. 4).

Sur l'œdème de la patte de rat, l'extrait aqueux d'*Epilobium angustifolium* L a un effet inhibiteur puissant identique à celui de l'indométacine (Fig. 6) alors que l'extrait d'*Epilobium parviflorum* est inactif (Fig. 5).

L'extrait aqueux d'*Epilobium angustifolium* L a donc une action anti-inflammatoire par effet sur la biosynthèse des prostaglandines, mais quel est le mécanisme d'action et quelle est la nature chimique du principe actif : sitostérol, flavonoïdes ou autre ?

Sur cette deuxième question, Hiermann et ses collaborateurs (24) amènent une première réponse. Puisque l'extrait méthanolique d'*Epilobium angustifolium* L, contrairement à l'extrait aqueux, ne diminue pas la libération des prostaglandines (Fig. 3) et a un effet très faible sur l'œdème de la patte de rat (Fig. 5), le principe actif doit donc être hydrophile. Lors d'investigations phytochimiques en 1984 et 1985, ces mêmes auteurs ont montré que la majorité des dérivés flavonoïdes et sitostérols sont présents dans l'extrait méthanolique.

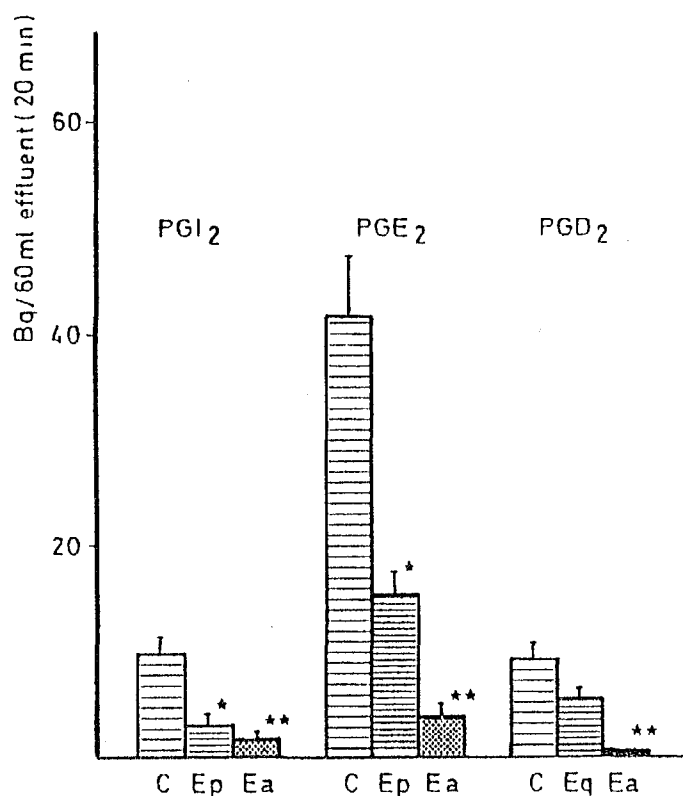


Fig. 1.

FIGURE 1

Oreille de lapin perfusée avec de l'acide arachidonique marqué au ¹⁴C. Influence des extraits aqueux d'*Epilobium parviflorum* (Ep) et d'*Epilobium angustifolium* L (Ea) (5 mg/ml) sur la libération des PGI₂, PGE₂ et PGD₂ marquées, stimulée par une injection en bolus de 10 µg de A23187, C=contrôle. $\bar{x} \pm SEM$ p<0,05, p<0,01 n = 4.

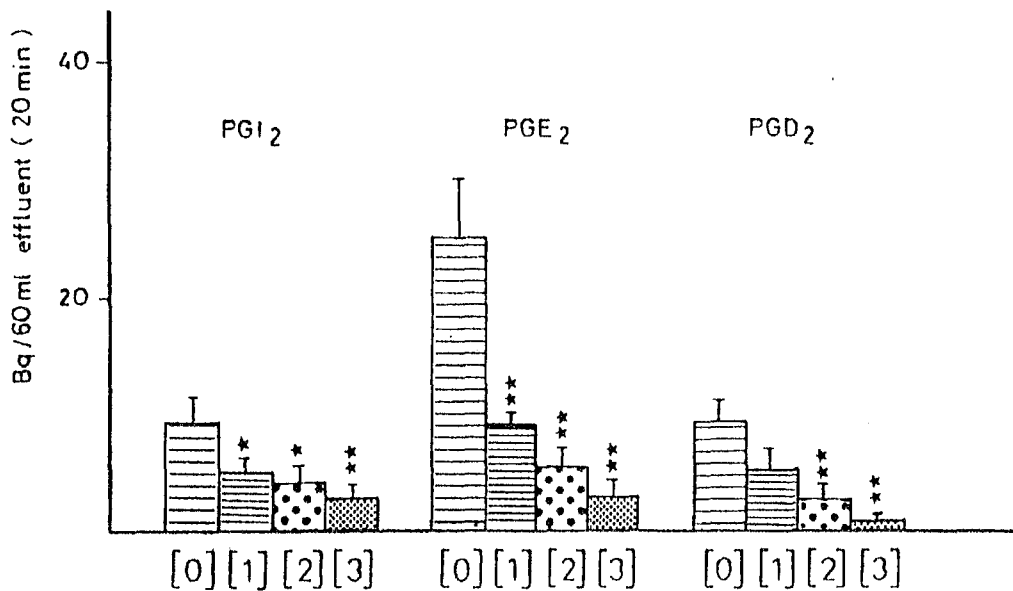


FIGURE 2

Oreille de lapin perfusée avec de l'acide arachidonique marqué au ¹⁴C. Influence de trois concentrations différentes ([1]=1,25 mg/ml ; [2]=2,5 mg/ml ; [3]=5 mg/ml) de l'extrait aqueux d'*Epilobium angustifolium* L sur la libération des prostaglandines marquées, stimulée par 10 µg de A23187, 0 = contrôle. $\bar{x} \pm \text{SEM}$ p<0,05, p<0,01 n = 4.



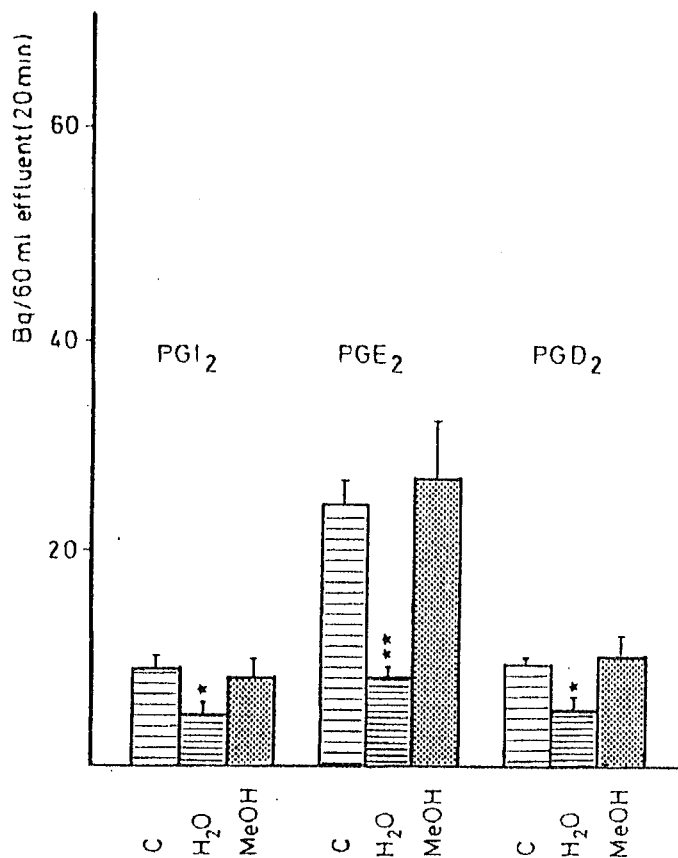


FIGURE 3

Oreille de lapin perfusée avec de l'acide arachidonique marquée au ¹⁴C. Influence des extraits aqueux et méthanoliques (1,25 mg/ml) d'*Epilobium angustifolium L* (Ea) sur la libération des PGI₂, PGE₂, PGD₂, stimulée par l'injection en bolus de 10 µg A23187. C = contrôle. $\bar{x} \pm \text{SEM}$ p < 0,05, p < 0,01 n = 4.

166

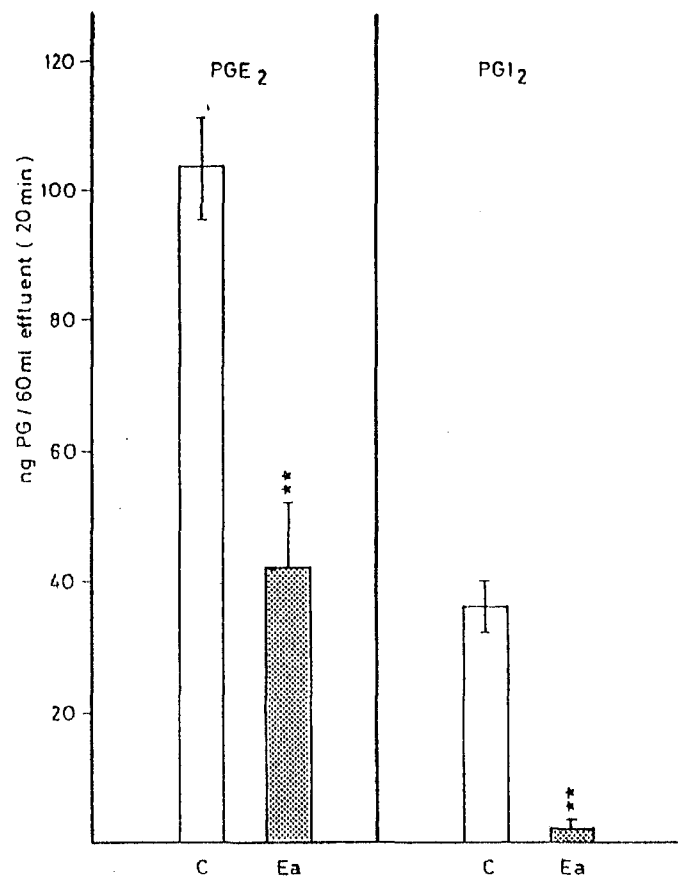


FIGURE 4

Oreille de lapin isolée perfusée. Influence d'un extrait aqueux à 2,5 mg/ml d'*Epilobium angustifolium L.* sur la libération de PGE₂ et PGI₂ stimulée par une injection en bolus de 10 µg de A23187. C = contrôle. Mesure par RIA. $\bar{x} \pm \text{SEM}$ $p < 0,01$ $n = 4$.

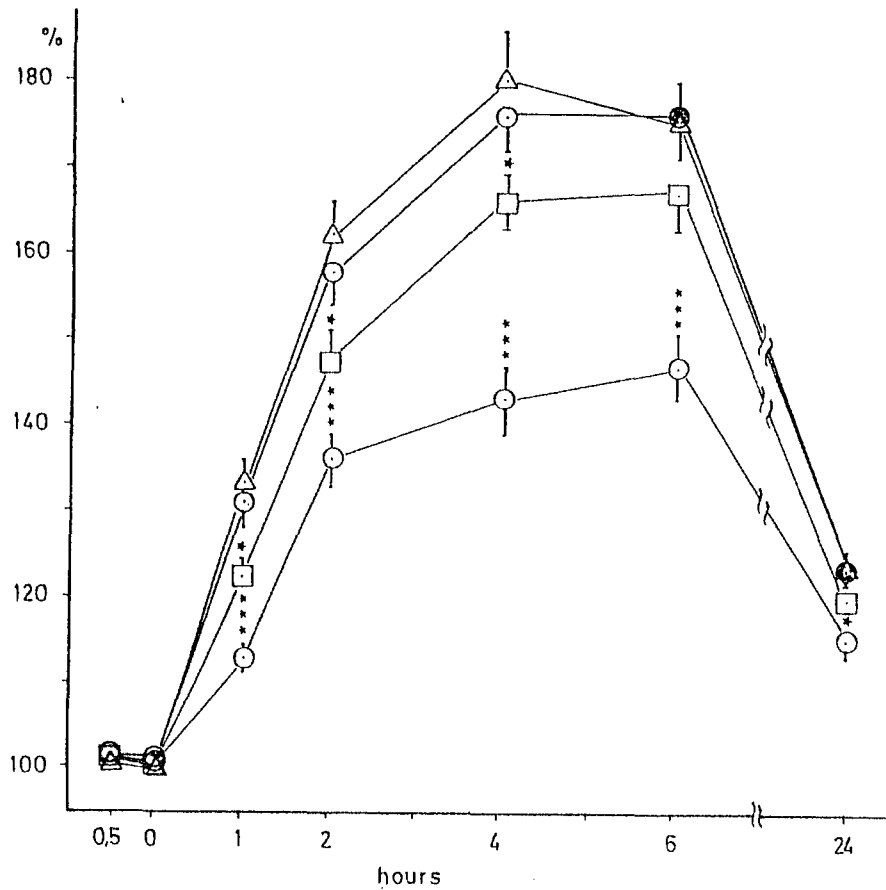


FIGURE 5

Oedème de la patte de rat. Influence de 33 mg/ml d'extraits aqueux d'*Epilobium parviflorum* (•), *Epilobium angustifolium* L (◦) et d'extraits méthanoliques d'*Epilobium angustifolium* L (◻), sur l'augmentation du volume de la patte (en %) après injection de carragénine (2 %, 0,1 ml). L'oedème est évalué en déduisant le volume de la patte de contrôle à celui de la patte traitée. Le volume de la patte de contrôle est fixé à 100 %. Groupe contrôle (Δ). $\bar{x} \pm \text{SEM}$ p<0,05, p<0,001 (n = 12-5).

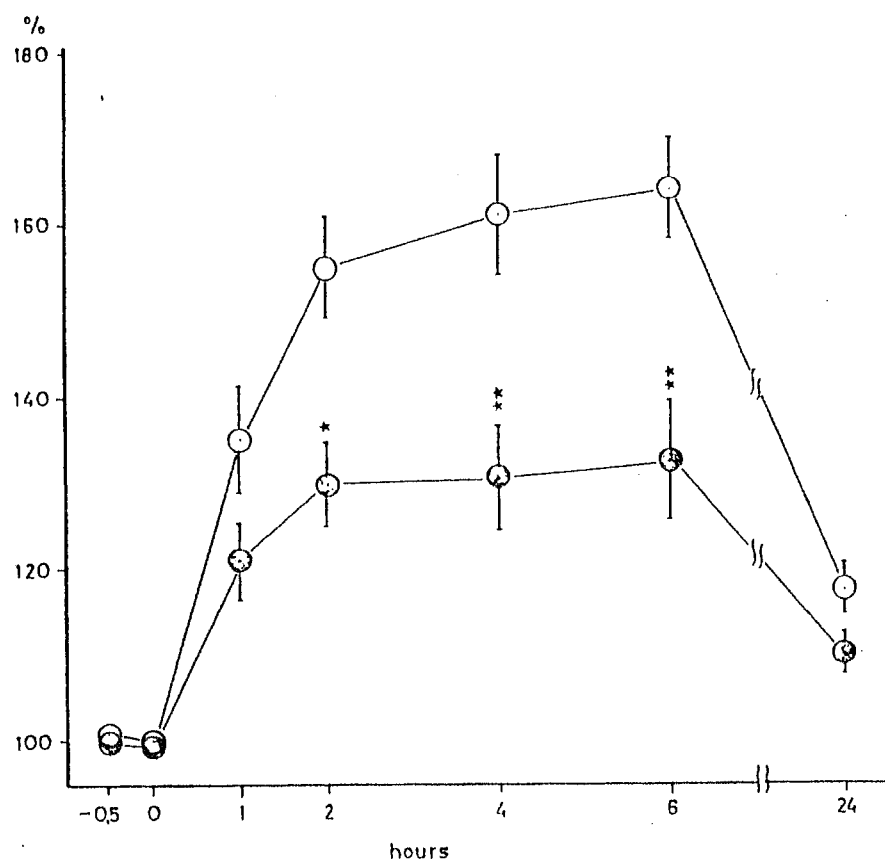


FIGURE 6

Oedème de la patte de rat. Influence de 2 mg/kg d'indométacine (•) (1 ml/100 g po) sur l'augmentation du volume de la patte (en %) après injection de carragénine (2 %, 1 ml). L'oedème est évalué en déduisant le volume de la patte de contrôle à celui de la patte traitée. Le volume de la patte de contrôle est fixé à 100 %. Groupe de contrôle (○). $\bar{x} \pm \text{SEM}$ $p < 0,05$ $p < 0,01$ ($n = 6$).

Après extraction par l'acétate d'éthyle qui retient les dérivés plutôt apolaires du type flavonoïde et sitostérol, l'extrait aqueux d'*Epilobium angustifolium* L présente la même action pharmacologique sur la libération des prostaglandines et l'œdème de la patte de rat.

Les flavonoïdes et le β sitostérol ne sont donc pas les principes actifs responsables de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'*Epilobium angustifolium* L.

Cependant, des flavonoïdes plutôt polaires ou fortement glycosylés de structures encore inconnues, ne doivent pas être complètement exclus, le principe actif étant de nature très hydrophile.

En 1991, la même équipe autrichienne identifie enfin le principe actif comme étant un flavonoïde : le glucuronide en 3 de myricétine. Ils étudient alors sa propriété anti-inflammatoire (25).

**I. 3 - MYRICÉTINE
3-O- β -D-GLUCURONIDE :
UN NOUVEAU PRINCIPE
ACTIF
ANTI-INFLAMMATOIRE**

Après isolement et identification de ce dérivé (cf partie chimie), Hiermann et ses collaborateurs (25) étudient les effets de ce produit sur la biosynthèse des PG et l'œdème de patte de rat induit par le carragénane. Ils reprennent les mêmes conditions expérimentales que lors de leur étude en 1986, citée plus haut (24).

La myricétine 3-O- β -D-glucuronide inhibe la biosynthèse de PGE₂, PGI₂ et PGD₂. Cette inhibition est dose dépendante (Fig. 7). Le dosage par RIA confirme cette observation (Fig. 8).

L'œdème de la patte de rat est diminué de façon significative par ce principe actif. Cette diminution est dose dépendante et l'efficacité maximale est atteinte avec une dose de 0,2 mg/kg (Fig. 9). L'effet de l'extrait d'*Epilobium angustifolium* L est comparable à celui de l'indométacine, le flavonoïde étant lui plus actif que l'indométacine sur l'œdème de la patte de rat (Fig. 10).

Le glucuronide en 3 de la myricétine a donc un effet anti-inflammatoire puissant dû en partie à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires.

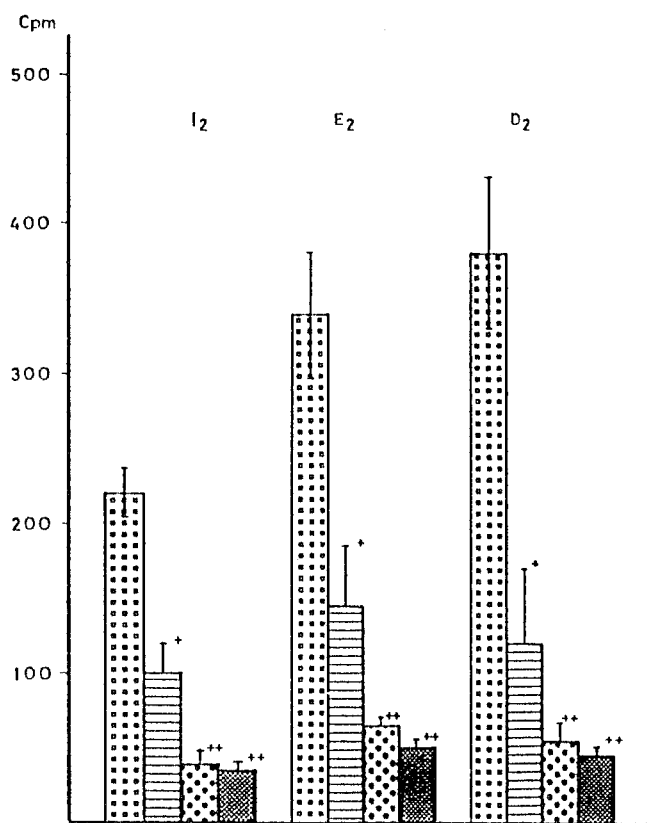


FIGURE 7

Oreille de lapin isolée perfusée. Influence de la myricétine 3-O-B-D-glucuronide (\square = 0,1 $\mu\text{g/ml}$, \boxplus = 1 $\mu\text{g/ml}$) et de l'indométhacine (\blacksquare = 1 $\mu\text{g/ml}$) sur la biosynthèse PGE₂, PGI₂ et PGD₂ marquées au ¹⁴C, stimulée par 20 μg de A23187 (mesure en cpm). \boxtimes = contrôle. $\bar{x} \pm \text{SEM}$ *p<0,05.

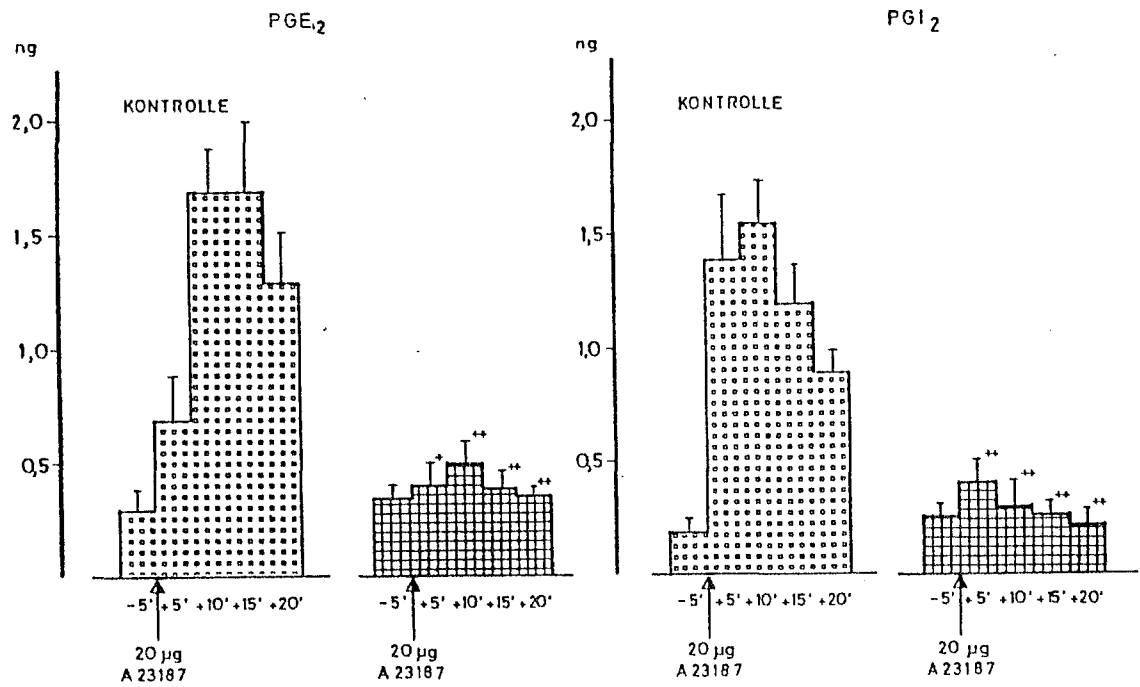


FIGURE 8

Oreille de lapin isolée perfusée. Influence de la myricétine 3-O-β-D-glucuronide (\square = 4 µg/ml) sur la biosynthèse des PGE₂ et PGI₂ stimulée par 20 µg de A23187. \square = contrôle. Mesure par RIA. $\bar{x} \pm \text{SEM}$ *p < 0,05, **p < 0,01 (n = 3).

Volume de la patte

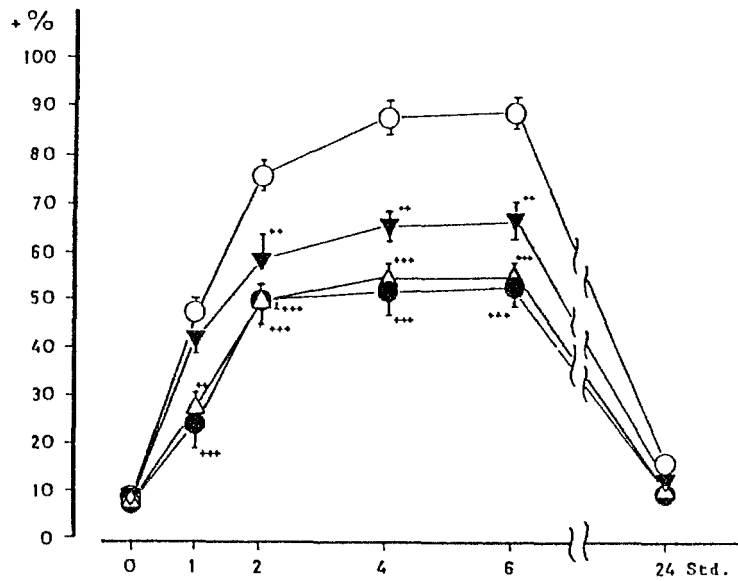


FIGURE 9

Oedème de la patte de rat induit par la carragénine. Influence de la myricétine 3-O-β-D-glucuronide (▼ = 0,04 mg/kg, △ = 0,2 mg/kg, ● = 1 mg/kg) sur l'augmentation du volume de la patte (en %). 0 = contrôle. $\bar{x} \pm \text{SEM}$ **p<0,01, ***p<0,001 (n = 6).

Volume de la patte

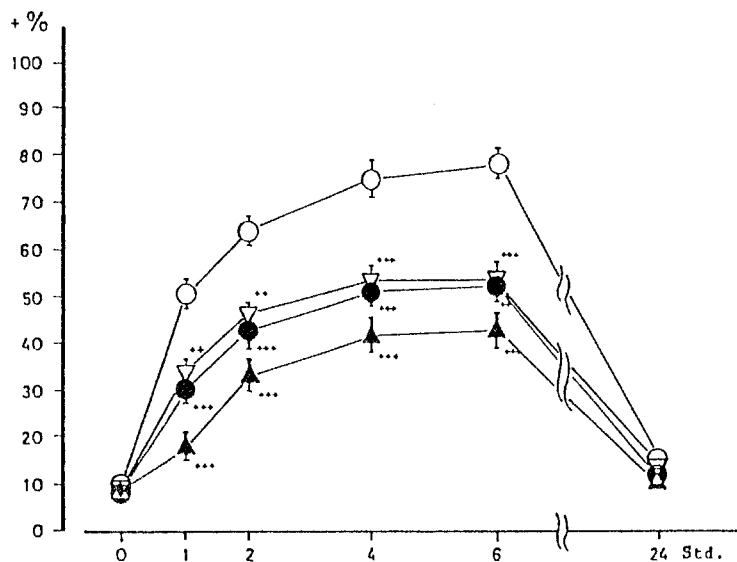


FIGURE 10

Oedème de la patte de rat induit par la carragénine. Influence de la myricétine 3-O-β-D-glucuronide (▲ = 0,04 mg/kg) de l'extrait d'eau chaude d'*Epilobium angustifolium* L (● = 10 ml/kg = 300 mg de drogue/kg) et de l'indométhacine (▽ = 1 mg/kg). O = contrôle. $\bar{x} \pm$ SEM $^{**}p < 0,01$, $^{***}p < 0,001$ (n = 6).

Jusqu'à présent, c'est la Galangine qui se trouvait être le flavonoïde le plus puissant inhibiteur de la cyclooxygénase avec un IC_{50} de $5,5 \mu\text{mol/l}$ (25). Même si les conditions expérimentales ne sont pas identiques, le glucuronide en 3 de la myricétine avec un IC_{50} autour de $0,2 \mu\text{mol/l}$ apparaît au moins 25 fois plus efficace que la Galangine.

Beaucoup d'autres flavonoïdes sont connus pour leur propriété anti-inflammatoire : lutéoline, fisetine, gossypine. Leur ED_{50} (50 % d'inhibition de l'œdème) se situe entre 10 et 70 mg/kg, alors que le ED_{50} de la myricétine 3-O- β -D-glucuronide est de moins de 40 $\mu\text{g/kg}$.

I. 4 - CONCLUSION

L'Epilobe à feuilles étroites est une plante médicinale connue et utilisée depuis longtemps en médecine populaire dans l'inflammation de la prostate.

Cette action anti-inflammatoire a souvent été attribuée au β sitostérol présent en concentration importante dans cette plante et connu pour ses propriétés anti-inflammatoires.

Or, c'est un flavonoïde, la myricétine 3-O- β -D-glucuronide, isolé récemment des feuilles d'*Epilobium angustifolium* L, qui semble être responsable de l'effet anti-inflammatoire des extraits aqueux de cette plante.

Ce flavonoïde apparaît comme le principe actif d'origine naturelle ayant l'action anti-inflammatoire la plus puissante connue jusqu'à présent. Il est cependant probable que plusieurs constituants puissent expliquer l'activité anti-inflammatoire : flavonoïdes glycosylés, stéroïls et triterpènes.

II - PROPRIETE ANTI-NEOPLASIQUE

II.1 - GENERALITES

En 1969, des chercheurs russes (32) isolent de la fleur d'*Epilobium angustifolium* L un polymère phénolique, classé dans les tanins, dénommé Chanerol.

Lors d'études ultérieures (34), la même équipe démontre que ce produit à des propriétés d'agglutination cellulaire ainsi que des propriétés anti-néoplasiques : il inhibe le développement de tumeurs chez la souris.

En 1977, d'autres chercheurs (38) observent également cette activité anti-tumorale mais mettent en évidence de nombreux effets toxiques.

II.2 - MECANISME D'ACTION

(34)

Comme les anticorps, les agglutinines de plantes (phytohémagglutines) montrent une grande affinité pour certains antigènes de membranes cellulaires (lymphocytes, érythrocytes, cellules tumorales).

Or, le haut poids moléculaire du chanérol et sa propriété à agglutiner les érythrocytes font dire aux auteurs qu'il s'agit sans doute d'une phytohémagglutine ou lectine.

Dans la plante, ces lectines ont pour rôle de transporter les polysaccharines de leur lieu de synthèse à leur lieu de dépôt.

II.2.1 - PROPRIETE D'AGGLUTINATION DU CHANEROL

Tests d'agglutination : (tableau 1)

* Différents tests sont réalisés :

- un test d'hémagglutination d'érythrocytes de donneurs de groupes sanguins différents (A, B, O, AB), ainsi que d'érythrocytes d'animaux (souris, rats, lapins),
- des tests d'agglutination sur différents types de cellules.

TABLEAU 1

**CONCENTRATIONS MINIMALES DE CHANEROL AGGLUTINANT
DES ERYTHROCYTES HUMAINS, DES CELLULES TUMORALES,
DES ERYTHROCYTES ET LYMPHOCYTES DE SOURIS**

TYPES DE CELLULES		CONCENTRATION MINIMALE AGGLUTINANTE EN mg/ml	
- Erythrocytes humains			
groupes	O	0,0097)
	A	0,0097) temps
	B	0,011)
	AB	0,009)
- "L cells"		0,07) d'incubation
- Cellules d'Ehrlich		0,018)
- Cellules L1210		pas d'agglutination)
- Cellules de carcinome OG ₅		0,018) 2 heures
- Erythrocytes de souris		0,035)
- Leucocytes de souris		pas d'agglutination)

Résultats :

Le chanérol agglutine donc les érythrocytes de souris, rats et lapins et, en ce qui concerne les érythrocytes humains, il ne montre pas de spécificité de groupe. Les test d'agglutination de cellules tumorales montrent que certains types de ces cellules sont sensibles au chanérol.

II.2.2 - CORRELATION ENTRE LA PROPRIETE
D'AGGLUTINATION ET LA PROPRIETE
ANTI-NEOPLASIQUE

Test : (tableau 2)

Pulkhalskaya et ses collaborateurs (34) préparent une solution qu'ils appellent "exhausted product" dans laquelle la propriété d'hémagglutination du chanérol a été épuisée. Cette préparation est testée à la fois in vitro sur des érythrocytes humains des cellules tumorales et in vivo sur des tumeurs de souris, elle a théoriquement perdu son pouvoir d'agglutination des globules rouges.

Résultats :

Contrairement à la solution de chanérol, cette préparation n'a pas d'action ni sur l'agglutination des cellules, ni sur la croissance des tumeurs chez la souris. Il existe donc bien une corrélation entre la propriété d'agglutination et la propriété anti-tumorale du chanérol.

TABLEAU 2

**ETUDE COMPARATIVE DES PROPRIETES D'AGGLUTINATION
CELLULAIRE ET D'INHIBITION DE LA CROISSANCE TUMORALE
CHEZ LA SOURIS, DU CHANEROL ET DU CHANEROL EPUISE**

	CHANEROL	CHANEROL EPUISE
IN VITRO (concentration minimale agglutinante mg/ml) :		
* Erythrocytes humains	0,04	1,25
* Cellules tumorales	0,07	5

IN VIVO (% d'inhibition de la croissance tumorale :		
* Carcinome OG5	53	0
* Carcinome PRG	72	20
* Sarcome 180	41	20

La fixation à la membrane cellulaire, traduite par l'agglutination, semble être une condition nécessaire à l'activité anti-tumorale du chanérol.

Pour que le chanérol puisse être employé *in vivo*, il faut trouver un analogue du chanérol avec le groupe fonctionnel "agglutinant" protégé afin d'éviter l'hémagglutination.

II.2.3 - LE CHANEROZAN

Des études sur les lectines ont montré que lors des tests d'hémagglutination elles obéissent aux lois immunologiques des anticorps et par exemple au phénomène d'inhibition de l'hémagglutination par un hydrate de carbone. Cet hydrate de carbone adapté à la structure de la lectine réduit considérablement la propriété d'hémagglutination de cette dernière. Pour le chanérol il faut donc trouver un complexe polysaccharidique qui, fixé au chanérol, inhibe l'hémagglutination.

Le chanérozan qui est le complexe polysaccharidique du chanérol avec dans sa structure environ 70 % de polyphénols et 30 % de polysaccharide, a été isolé de la fleur d'*Epilobium angustifolium L.* On a alors testé, parallèlement au chanérol, ses propriétés d'agglutination ainsi que son effet sur la croissance des cellules tumorales transplantées chez la souris (tableau 3).

TABLEAU 3

COMPARAISON DE L'ACTIVITE DU CHANEROL ET DU CHANEROZAN

SUR LA CROISSANCE DE TUMEURS TRANSPLANTEES

CHEZ LA SOURIS

(% D'INHIBITION DE LA CROISSANCE TUMORALE)

TUMEURS	CHANEROL DOSE ADMINISTREE (20 mg/kg)	CHANEROZAN DOSE ADMINISTREE (40 mg/kg)
Lewis lung carcinome	40 %	45 %
Forestomach OG5 carcinome	63 %	55 %
Forestomach PRG carcinome	64 %	49 %
Cervix R5hM carcinome	54 %	5 % non significatif

La propriété d'hémagglutination du chanérozan est beaucoup plus faible que celle du chanérol (tableau 4). Par contre, si l'on utilise une double dose pour le chanérozan (20 mg/kg pour le chanérol et 40 mg/kg pour le chanérozan) les deux produits ont alors environ la même action inhibitrice sur le développement de certains types de tumeurs de souris (tableau 3).

La faible capacité d'hémagglutination du chanérozan comparée à celle du chanérol confirmerait donc bien que l'hydrate de carbone présent chez le chanérozan bloque le site actif responsable de l'agglutination. Mais, le fait que le chanérozan soit actif sur la croissance tumorale voudrait dire que l'agglutination, condition nécessaire à l'action anti-néoplasique comme nous l'avons vu ci-dessus, a quand même lieu.

Des études sur la concanavoline A, une autre lectine, ont permis de mettre en évidence que de tels complexes lectine-polysaccharides peuvent être dissociés dans l'organisme et également in vitro sous certaines conditions expérimentales.

Il est donc possible que des cellules tumorales possèdent une activité enzymatique capable de dissocier le chanérozan en polysaccharide et chanérol. Le chanérol retrouverait alors sa propriété d'absorption sur les membranes des cellules tumorales et pourrait donc exercer son effet cytotoxique.

TABLEAU 4

AGGLUTINATION D'ERYTHROCYTES HUMAINS, DE SOURIS,

DE CELLULES DE CARCENOME OG5

INDUITE PAR LE CHANEROL ET LE CHANEROZAN

Dilution		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Cells	Concentration of drug in mg/ml Drug	5	2.5	1.25	0.62	0.31	0.15	0.07	0.035	0.018	0.009	0.004	0.002	Contr.
Human erythrocytes	Chanerol	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	1	—	—
	Chanerozan	(N 5) 4	4	3	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		(N 6) 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		(N 8) 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mouse erythrocytes	Chanerol	4	4	4	4	4	4	4	2	—	—	—	—	—
	Chanerozan	(N 5) 4	4	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		(N 6) 4	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		(N 8) 4	4	4	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
OG-5 tumor cells	Chanerol	3	3	3	3	2	2	1	1	1	—	—	—	—
	Chanerozan	(N 5) 3	3	3	3	2	2	—	—	—	—	—	—	—
		(N 6) 3	3	3	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—
		(N 8) 3	3	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Degré d'agglutination = 4-++++, 3-+++ , 2-++ , 1-+

II.3 - TOXICITE

II.3.1 - IN VITRO

Des tests de leucoagglutination de transformations blastiques ainsi que des test de cytotoxicité du chanérol (L cells) ont été réalisés.

→ La cytotoxicité du chanérol se manifeste seulement quand des doses élevées sont utilisées (environ 10 µg/ml pendant 24 h).

→ Les tests de cytotoxicité montrent que le chanérol ne stimule pas l'activité cytotoxique des lymphocytes sur les cellules cibles. Il n'a pas non plus d'action mitogène, c'est-à-dire d'action sur la transformation lymphoblastique (le nombre de blastes dans les tubes avec chanérol est le même que celui des tubes témoins).

II.3.2 - IN VIVO

Des effets toxiques sur le tractus digestif sont observés régulièrement lors de l'administration du chanérol que ce soit en IV ou en IP. Ceci se traduit par des diarrhées, des vomissements. Pukhalskaya, lors de son étude (34) tente d'expliquer ce phénomène.

Comme nous l'avons vu, les antigènes de membrane sur lesquels se fixe le chanérol sont présents sur des cellules tumorales d'origines très variables. Il n'est donc pas exclu que ces antigènes soient également présents sur les cellules de la muqueuse intestinale. L'effet toxique du chanérol sur le tractus digestif pourrait donc être dû à l'absorption de ce produit sur les cellules de la muqueuse entraînant une perturbation du fonctionnement cellulaire.

La DL 50 après administration unique en IV est de 6 mg/kg pour le lapin, 14 mg/kg pour la souris, 17 mg/kg pour le rat et de 18 mg/kg pour le chien (38). Avant de mourir, l'animal présente en plus des diarrhées et vomissements, une thrombocytopénie, une leucocytose et une lymphopénie. L'étude histologique révèle des perturbations sanguines :

- des thromboses capillaires qui pourraient, pourquoi pas, être dues à une agglutination de plaquettes,

- de multiples lésions hémorragiques.

La dose tolérée provoquerait quand même une leucocytose et une thrombocytopénie (38) en plus des troubles digestifs déjà décrits.

II.4 - CONCLUSION

Le chanérol, substance anti-néoplasique isolée d'*Epilobium angustifolium* L, se présente comme une nouvelle phytohémagglutinine. Contrairement aux différentes lectines connues qui sont des protéines, le chanérol appartient à une autre classe chimique les polyphénols macromoléculaires et il n'a pas d'effet sur les lymphocytes dans les tests de leucoagglutination et de transformation blastique.

L'étude chimique du chanérol et de son complexe polysaccharidique, le chanérozan, montre qu'ils sont capables in vitro d'agglutiner des cellules tumorales et in vivo, après administration intra-veineuse et intra-péritonéale, d'inhiber la croissance de tumeurs transplantées chez la souris.

La toxicité du chanérozan et sa capacité d'hémagglutination sont beaucoup moins importantes que celle du chanérol.

Des études chimiques et biologiques sont encore nécessaires :

- pour mettre en évidence la nature du sucre présent dans le chanérozan et le type de liaisons du sucre avec le polyphénol,

- pour élucider les mécanismes responsables des effets toxiques et tenter de trouver des solutions afin qu'un jour peut-être le chanérol ou un de ses dérivés puisse être utilisé en clinique comme produit anti-néoplasique.

Mais, depuis 1975, date de l'analyse ci-dessus, aucune autre étude concernant ce produit et sa propriété anti-néoplasique n'a été publiée. On peut penser que ce produit, comme beaucoup d'autres produits d'origine végétale testés comme substances anti-cancéreuses, est tombé dans l'oubli parce que provoquant trop d'effets toxiques, à moins que les travaux scientifiques réalisés par les pays de l'Est aient encore beaucoup de mal à nous parvenir, ce qui expliquerait le manque d'information sur ce sujet.

* * * * *
* UTILISATION *
* * * * *

I — TRAITEMENT DE L'ADÉNOME PROSTATIQUE ET DE L'INFLAMMATION DE LA PROSTATE

Depuis très longtemps, et surtout dans les pays du nord de l'Europe, l'infusé d'Epilobe est utilisé dans le traitement de l'adénome prostatique et de la prostatite (40) (4).

Cette action des extraits d'Epilobe sur l'adénome prostatique pourrait s'expliquer par la présence de β sitostérol en concentration importante dans la plante.

Le développement de l'adénome prostatique est sous la dépendance des androgènes (testostérone, dihydrotestostérone). Or, des études pharmacologiques sur des extraits de *Serenoa repens* ont montré un effet estrogène du β sitostérol, effet qui inhiberait le métabolisme de la dihydrotestostérone au niveau des cellules prostatiques et donc qui diminuerait le développement de l'adénome (11).

Mais ceci n'est qu'une hypothèse en ce qui concerne l'Epilobe, et l'explication la plus probable de son action sur l'adénome prostatique est sans doute son puissant effet anti-inflammatoire. Effet anti-inflammatoire dû à la présence du β sitostérol et du glucuronide en 3 de la myricétine. L'inhibition de la synthèse des prostaglandines conduirait à une diminution de la densité tissulaire de la prostate à un recul de la congestion et à un désenclavement du canal urinaire (22).

II — UTILISATIONS DUES A LA PRESENCE DE TANINS

II.1 — USAGE EXTERNE

Les racines riches en tanins sont utilisées pour leurs propriétés astringentes, vulnéraires, émollientes et hémostatiques.

Une décoction avec 30 g de racines séchées pour 1 l d'eau s'emploie en bain de bouche et gargarisme dans les inflammations des muqueuses de la bouche et de la gorge, en lavements contre les inflammations du dernier tronçon de l'intestin et en irrigation contre les leucorrhées (31).

Par son effet vulnéraire, ce décocté peut également être employé pour laver des plaies (37). Cette plante entre également dans la composition de cosmétiques pour peaux sensibles (40).

II.2 - USAGE INTERNE

En usage interne, le décocté de racines est utilisé pour ses propriétés astringentes, anti-hémorragiques et anti-inflammatoires. On l'emploie en cas de diarrhées, dans les états inflammatoires de l'appareil digestif et urinaire, dans les hémorragies de l'estomac, de l'intestin et de la vessie (31).

Les affections des voies respiratoires et la toux peuvent également être traitées par cette décoction (40).

Il est préconisé une tasse à café 3 à 6 fois par jour entre les repas. Si quelques symptômes d'intolérance gastriques apparaissent prendre alors la décoction avant ou pendant le repas (31).

L'infusion de feuilles séchées (30 g/l d'eau) est également employée en cas de diarrhées (37).

III - DIVERS

Dans l'Europe du Nord, les jeunes feuilles et les jeunes pousses d'Epilobe se mangent en salade ou cuites comme légumes et comme asperges (14, 21).

En Russie, les feuilles sont ajoutées en grande quantité au thé chinois ou bien sont mises sur le marché sous le nom de thé des kouriles, thé de kopra, thé de koporka ou "Iwan Tschai". On s'en sert aussi pour faciliter la tisane de petite centaurée (21).

Vaches, chevaux, chèvres, moutons, rennes aiment brouter cette herbe. Pour les premiers on dit qu'elle favorise la production de lait (21).

Vers 1774, on a essayé d'utiliser les poils séminaux comme on utilisait ceux des saules et des peupliers, pour remplacer le coton. Linquist a alors inventé une machine séparant le coton des graines. Ce coton trouva sa meilleure utilisation dans la fabrication des mèches pour les lampes (14, 21).

Pendant la Grande Guerre, on a également cherché à utiliser les fibres des tiges à la place de la jute. D'après Hanausek (1915), elles sont solides et souples mais en trop faible quantité dans la plante pour avoir quelque importance pratique (14, 21).

Enfin, l'Epilobe à feuilles étroites est une plante très recherchée par les abeilles qu'elle attire par sa belle couleur et auxquelles elle fournit un nectar abondant. Elle est donc très intéressante pour les apiculteurs (3, 4).

*
* CONCLUSION *
*

Epilobium angustifolium L (Epilobe à feuilles étroites, laurier de St Antoine, osier fleuri) est une plante vivace de la famille des Onagracées (ou Oenothéracées).

Répan due dans tout l'hémisphère boréal, dans les coupes de bois, sur les talus et les sables humides, elle est assez commune en France. Tandis que dans le nord elle descend sur les collines, à mesure que l'on se dirige vers le midi, elle s'élève en altitude.

Elle peut atteindre 2 mètres de hauteur. Les feuilles sont lancéolées, alternes ou verticillées. Les fleurs ont un calice tétralobé, la corolle est à 4 pétales tous de couleur rose. Le fruit est une capsule longue qui s'ouvre en 4 valves laissant s'échapper une multitude de graines surmontées d'une aigrette plumeuse.

Après analyse chimique, *Epilobium angustifolium* L nous apparaît comme une plante riche en polyphénols avec :

- un taux important de tanins hydrolysables, certains de structure bien définie, basés sur un noyau galloyl-D-glucose, d'autres, au contraire, chimiquement mal définis mais aux propriétés biologiques très intéressantes,

- des hétérosides de trois flavonols : quercétine, myricétine, kaempférol présents surtout dans les parties aériennes de la plante.

Mais l'Epilobe à feuilles étroites renferme également de nombreux composés lipophiles tels que :

- des acides triterpéniques issus de deux séries : oléanolane et ursolane,

- du β sitostérol avec de nombreux dérivés acylés et glycocylés,

Plante médicinale mais également plante aromatique, *Epilobium angustifolium* L est riche en arômes comme, par exemple, les β ionones connues pour leur forte odeur de violette.

Depuis quelques années, des chercheurs s'intéressent à cette plante après la mise en évidence de nouveaux composés chimiques très intéressants du point de vue pharmacologique.

Des études très récentes sur un flavonoïde, le glucuronide en 3 de la myricétine, ont montré que, par action sur la synthèse des prostaglandines, ce dérivé a une activité anti-inflammatoire très puissante avec beaucoup moins d'effets indésirables que les anti-inflammatoires utilisés jusqu'à présent en thérapeutique.

Le chanérol et son complexe polysaccharidique, le chanérozan, sont deux composés isolés d'*Epilobium angustifolium* L en 1975, par une équipe russe et porteurs de potentialités anti-néoplasiques. Ils sont capables, in vitro, d'agglutiner les cellules tumorales et, in vivo, d'inhiber la croissance tumorale chez la souris. Le chanérol est défini comme une phytohémagglutinine appartenant à la classe des polyphénols macromoléculaires contrairement aux phytohémagglutinines connus jusqu'à présent qui sont de structure protéique.

Malheureusement, une seule équipe a étudié les propriétés de ces deux produits et, depuis 1975, aucune nouvelle publication n'a été répertoriée dans ce domaine.

Comme nous l'avons vu, de nos jours les utilisations de cette plante en thérapeutique sont très limitées :

- riche en tanins, elle est employée en usage interne et externe pour ses propriétés vulnéaires, astringentes, émollientes et hémostatiques,

- riche en arômes, elle est très appréciée en Europe du Nord comme boisson au même titre que le thé. Elle régale également les abeilles par son nectar abondant,

- l'infusé d'Epilobe, par son effet anti-inflammatoire, est porteur de potentialités intéressantes, en particulier pour le traitement des troubles liés à l'adénome prostatique. Jusqu'à présent, dans ce domaine, les extraits de plantes utilisées (*lygeum africanum*, *serenoa repens*) étaient toujours à base de composés lipophiles. Pour *Epilobium angustifolium* L il s'agit de composés hydrophiles.

Un jour peut-être le glucuronide en 3 de la myricétine sera utilisé en thérapeutique en tant qu'anti-inflammatoire, au même titre que les salicylés, dérivés indoliques et autres.

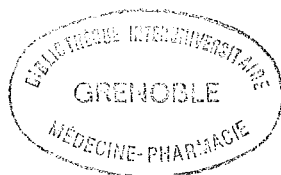
*
* BIBLIOGRAPHIE *
*

- 1 - J.E. AVERETT, B.J. KERR, P.H. RAVEN
The flavonoïds of Onagraceae, tribe
Epilobieae : Epilobium sect Epilobium. Am. J.
Bot., 1978, 65 (5), 567-570.
- 2 - J.E. AVERETT, P.H. RAVEN, H. BECKER
The flavonoïdes of Onagraceae : tribe
Epilobeae. Am. J. Bot., 1979, 66 (10), 1151-1155.
- 3 - H. BAILLON
Histoire des plantes. Paris, 1877, 6, 465.
- 4 - L. BEZANGER-BEAUQUESNE, M. PINKAS, M. TORCK,
F. TROTIN
Plantes médicinales des régions tempérées. Maloine.
Paris, 1990, 194".
- 5 - B.R. BROWN, P.E. BROWN, W.T. PIKE
The leaf Tannin of Willow-Herb. Biochem. J.,
1966, 100, 733-738.
- 6 - M.E. CARR, W.B. ROTH, M.O. BAGBY
Potential resource materials from Ohio plants,
Econ. Bot., 1986, 40 (4), 434-441.
- 7 - R.F. CHANDLER, S.N. HOOPER
Herbal remedies of the Maritime Indians : a
preliminary screening. Can. J. Pharm. Sci.,
1979, 14 (4), 103-106.
- 8 - R. CHIEJ
Les plantes médicinales. Solar, Paris, 1982
- 9 - P. CRETE
Précis de botanique. Masson. Paris, 1965, II
- 10 - K.E. DENFORD
Flavonol glycosides and seed coat structure
incertain species of Epilobium - a correlation ?
Experientia, 1980, 36 (3), 299-300.
- 11 - C. FAVRE
Traitement phythotérapique de
l'hypertrophie bénigne prostatique. Thèse de
Docteur en pharmacie. Lyon, 1984
- 12 - FLORE D'EUROPE 1
Plantes herbacées et sous arbrisseaux. Collection
des documents d'histoire naturelle. S F L, Paris.
- 13 - P. FOURNIER
Les 4 flores de France. Le Chevallier. Paris,
1990.

- 14 - P. FOURNIER, H. LECLERC
Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Le Chevalier. Paris, 1948, 2, 110-112.
- 15 - A.T. GLEN, W. LAWRIE, J. MAC-LEAN,
M. EL-GARBY YOUNES
Triterpenoid constituents of rose-bay willow-herb. J. Chem. Soc. C, 1967, (6), 510-515.
- 16 - M.B. GUPTA, R. NATH, N. SRIVASTAVA, K. SHANKER,
K. KISHOR, K.P. BHARGAVA
Anti-inflammatory and Antipyretic Activities of β sitosterol. Planta medica, 1980, 39, 157-163.
- 17 - R.K. GUPTA, SABAH M.K. AL-SHAFI, K. LAYDIN,
E. HASLAM
The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1982, (11), 2525-2534.
- 18 - E.A. HADDOCK, R.K. GUPTA, SABAH M.K. AL-SHAKI,
E. HASLAM, D. MAGNOLATO
The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1982, (11), 2515-2524.
- 19 - E. HAFLIGER, J. BRUN MOOL
Flore sauvage. Société française du livre. Paris, 1976.
- 20 - A.E. HAGERMAN
Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. J. Chem. Ecol., 1987, 13 (3), 437-449.
- 21 - P.G. HEGI
Illustrierte flora von Mittel Europa. Carl Hauser Verlag. Munchen, 1966, V (2), 814-818.
- 22 - A. HIERMANN
Die Untersuchung potentieller Wirkstoffe in Epilobium-Arten 1 Mitteilung : Aufklarung der Flavonoid muster. Sci. Pharm., 1983, 51 (2), 158-167.
- 23 - A. HIERMANN, K. MAYR
Die Untersuchung potentieller Wirkstoffe in Epilobium-Arten 3 Mitteilung : Uber das Vorkommen von Sitosterol derivaten in Epilobium angustifolium L und Epilobium parviflorum Schreb. Sci. Pharm., 1985, 53 (1), 39-44.

- 24 - A. HIERMANN, H. JUAN, W. SAMETZ
Influence of Epilobium extracts on
prostaglandinbiosynthesis and carrageenin induced
oedema of the rat paw, journal of
Ethnopharmacology, 1986, 17, 161-169.
- 25 - A. HIERMANN, M. REIDLINGER, H. JUAN, W. SAMETZ
Isolierung des antiphlogischen Wirkprinzips von
Epilobium angustifolium. Planta medica, 1991, 57,
357-360.
- 26 - S. HUNECK
Über die Unverseifbaren Neutralanteile aus
Chamaenerian angustifolium (L) scop. und Epilobium
obscurum schreb. Phytochemistry, 1967, 6 (8),
1149-1150.
- 27 - H. JUAN, W. SAMETZ, A. HIERMANN
Anti-inflammatory effects of a substance extracted
from Epilobium angustifolium. Agents Actions,
1988, 23 (1-2), 106-107.
- 28 - M. RIITA K. JULKUNEN TIITO, MARKKU J. KIRSY,
TIINA K. RIMPILAINEN
Methods of Analyses and the Aroma Composition of
some species Herbal Teas, Lebensm - Wiss. Technol,
1988, 21 (1), 35-40.
- 29 - C. HAMOT CLERC-RENAUD
Les Onagracées (Oenothéracées) Françaises :
principales espèces et intérêts thérapeutiques.
Thèse de Docteur en pharmacie, Reims, 1987
- 30 - C. NURISDANY, M. PARENNOU
Eloge de l'herbe, les formes cachées de la nature.
Biro Paris, 1989, 89-90.
- 31 - A. POLETTI
Fleurs et plantes médicinales. Delachaux Niestlé,
Paris, 1971.
- 32 - E. CH. PUKHALSKAYA, M.F. PETROVA, P.N. KIBALCHICH,
S.I. DENISOVA, T.A. ALIEVA, L.D. PEREPALKINA
Antibiokiki (Moscow), 1970, 15 (9), 782-785, in
C. A. 74 (3) : 11701 h.
- 33 - E. CH. PUKHALSKAYA, M.F. PETROVA, PN KIBALCHICH,
S.I. DENISOVA, G.N. PLATONEVA,
I. YU. CHERNYAKHOUSKAYA, T.A. ALIEVA
USSR from : Otkrytiya, Izobret, Prom. Obraztsy,
tovarnyz Znaki, 1974, 51 (7), 220. In C.A. 81 (22)
: 140866 J.

- 34 - E. CH. PUKHALSKAYA, I. YU. CHERNYAKHOSKAYA,
M.F. PETROVA, S.I. DENISOVA, T.A. ALIEVA
Macromolecular antitumor agents from chamaenerium
angustifolium. Neoplasma, 1975, 22 (1), 29-37.
- 35 - J. RAYNAUD, M. BECCHI, M. CARRIER, J. RAYNAUD
Les aglycones flavoniques d'Epilobium
angustifolium L (Onagracées). Plantes médicinales
et phytothérapie, 1982, 16 (2), 120-121.
- 36 - S.A. SASOV, M.F. PETROVA, I.V. YARTSEVA
Phénol carboxylic acid from the tannins of
chamaenerium angustifolium. In C.A. 105 (7) :
57895m. Khim. Prir. Soedin, 1986, (1), 106-107.
- 37 - Sélection du Reader's Digest.
Secrets et vertues des plantes médicinales. Paris,
1977, 129.
- 38 - B. SYRKIN, S.F. YUSHKOU, S.F. POSTOLNICOV
Antineoplastic and toxic effects of new
phytohemmagglutinine chanerol from chamaenerium
angustifolium. Proceedings of the American
Association of Cancer Research, 1977, 18, 44.
- 39 - R.S. THOMPSON, D. JACQUES, E. HASLAM,
R.J.N. TANNER
Plant proanthocyanidins. Part 1. Introduction :
The isolation, structure and distribution in
nature of plant. Procyanidins. J. Chem. Soc.
Perkin Trans. 1, 1972, 1387-1399.
- 40 - J. VAN HELLEMONT
Adaptation française : M. DELFOSSE.
Compendium de phytothérapie. Ed. du service
scientifique de l'A.P.B. Bruxelles, 1986, 143-144.



AUTORISATION D'IMPRESSION ET DE SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

d'epilobe à feuilles étroites
Epilobium angustifolium L
(Onagracees)

CANDIDAT : M Catherine Brochier

VU

GRENOBLE, le 29/06/97

Le Président du Jury

A. Larotte

VU

GRENOBLE, le 24.08.92

Le Président de l'Université
Joseph FOURIER GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine

Le Président de l'Université
Joseph-Fourier - Grenoble I

A. NEMOZ

NOM PRENOM : BROCHIER Catherine

TITRE DE THESE : L'EPILOBE A FEUILLES ETROITES
EPILOBIUM ANGUSTIFOLIUM L. (ONAGRACEES)

RESUME :

L'Epilobe à feuilles étroites, *Epilobium angustifolium L.*, est une grande plante à fleurs rose pourpre de la famille des Onagracées répandue dans tout l'hémisphère nord. Riche en tanins elle est utilisée pour ses propriétés astringentes, émollientes et hémostatiques. Des études russes lui accordent une propriété anti-néoplasique, mais c'est pour sa propriété anti-inflammatoire puissante que l'Epilobe à feuilles étroites présente un grand intérêt, en particulier pour le traitement des troubles liés à l'adénome prostatique. Ce travail est une mise au point bibliographique sur les aspects botaniques, chimiques, pharmacologiques de cette plante.

MOTS CLES : Epilobe à feuilles étroites
Epilobium Angustifolium L., Onagracées

JURY : Président, Madame A.M. MARIOTTE - Professeur
Mme M.H. BARTOLI - Maître de conférences
Mme F. ARNAL - Pharmacien

DATE DE SOUTENANCE : 11 SEPTEMBRE 1992