

Quand la CCM vient
au secours de la
botanique

Nicole Galand

Jacques Pothier

Université de Tours

Cognac Juin 2007

01/2005:1825

PRÊLE (TIGE DE)

Equiseti herba

DÉFINITION

Parties aériennes stériles séchées, entières ou coupées, de *Equisetum arvense* L.

Teneur : au minimum 0,3 pour cent de flavonoïdes totaux exprimés en isoquercitroside ($C_{21}H_{20}O_{12}$; M_r 464,4) (drogue desséchée).

CARACTÈRES

Caractères macroscopiques et microscopiques décrits aux identifications A et B.

IDENTIFICATION

- A. La tige de prêle est constituée par des fragments de tiges cannelées et de feuilles linéaires, vert clair à gris-vert. Ils sont rudes au toucher, cassants et crissent quand ils sont écrasés entre les doigts. Les tiges principales ont un diamètre d'environ 0,8 mm à 4,5 mm, elles sont creuses, articulées aux nœuds, à intervalles d'environ 1,5 cm à 4,5 cm. Des cannelures verticales distinctes, regroupées en nombre de 4 à 14 ou plus, sont présentes sur les entre-nœuds. Des verticilles de rameaux largement espacés et dressés, généralement simples, chacun d'environ 1 mm d'épaisseur, avec 2 à 4 cannelures longitudinales, se rejoignent au niveau des nœuds. Les feuilles sont petites, linéaires, disposées en verticille à chaque nœud ; concrescentes à la base, elles forment une gaine dentée embrassant la tige et comportant un nombre de dents égal au nombre de cannelures de la tige. Chaque dent, souvent de couleur brune, est triangulaire-lancéolée. L'entre-nœud inférieur de chaque branche est plus long que la gaine de la tige à laquelle il appartient.

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande de fluorescence bleu-vert	2 bandes de fluorescence rouge
	2 bandes de fluorescence bleu-vert
Hypéroside : une bande de fluorescence orange	Une bande de fluorescence orange
	2 bandes de fluorescence bleu-vert
Rutine : une bande de fluorescence orange	
Solution témoin	Solution à examiner

ESSAI

Éléments étrangers (2.8.2) : au maximum 5 pour cent de tiges d'autres espèces de prêle et hybrides et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers.

Autres espèces de prêle et hybrides. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. A 1,0 g de tige de prêle pulvérisée (355), ajoutez 10 ml de *méthanol R*. Chauffez dans un bain-marie à 60 °C pendant 10 min en agitant de temps en temps. Laissez refroidir. Filtrez.

Solution témoin. Dissolvez 1,0 mg d'*acide caféique R*, 2,5 mg d'*hypéroside R* et 2,5 mg de *rutine R* dans 10 ml de *méthanol R*.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : *acide formique anhydre R*, *acide acétique glacial R*, *eau R*, *acétate d'éthyle R* (7,5:7,5:18:67 V/V/V/V).

Dépôt : 10 µl. en bandes.

Développement : sur un parcours de 10 cm.

Séchage : à 100-105 °C.

Détection : pulvérisez sur la plaque encore chaude une solution de *diphénylborate d'ainoéthanol R* à 10 g/l dans le *méthanol R*, puis une solution de *macrogol 400 R* à 50 g/l dans le *méthanol R*. Laissez sécher la plaque à l'air pendant 30 min. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

Résultats : le chromatogramme obtenu avec la solution à

identifications A et B.

IDENTIFICATION

- A. La tige de prêle est constituée par des fragments de tiges cannelées et de feuilles linéaires, vert clair à gris-vert. Ils sont rudes au toucher, cassants et crissent quand ils sont écrasés entre les doigts. Les tiges principales ont un diamètre d'environ 0,8 mm à 4,5 mm, elles sont creuses, articulées aux nœuds, à intervalles d'environ 1,5 cm à 4,5 cm. Des cannelures verticales distinctes, regroupées en nombre de 4 à 14 ou plus, sont présentes sur les entre-nœuds. Des verticilles de rameaux largement espacés et dressés, généralement simples, chacun d'environ 1 mm d'épaisseur, avec 2 à 4 cannelures longitudinales, se rejoignent au niveau des nœuds. Les feuilles sont petites, linéaires, disposées en verticille à chaque nœud ; concrescentes à la base, elles forment une gaine dentée embrassant la tige et comportant un nombre de dents égal au nombre de cannelures de la tige. Chaque dent, souvent de couleur brune, est triangulaire-lancéolée. L'entre-nœud inférieur de chaque branche est plus long que la gaine de la tige à laquelle il appartient.
- B. Réduisez les tiges de prêle en poudre (355). La poudre est gris-vert. Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chloral R. La poudre présente les éléments suivants : des fragments d'épiderme vus de face, composés de cellules rectangulaires à parois ondulées et de stomates paracytiques (2.8.3) dont les 2 cellules annexes couvrent les cellules de garde et présentent des stries radiales ; vu en section transversale, l'épiderme est crénelé, avec des protubérances formées par les parois contiguës de 2 cellules adjacentes, en forme de U ; des fragments de parenchyme à grandes cellules et des groupes de longues fibres non lignifiées à lumen étroit ; des petits vaisseaux lignifiés à épaississements en spirales ou en anneaux sont dispersés.
- C. Examinez les chromatogrammes obtenu dans l'essai des autres espèces de prêle et hybrides.

Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de fluorescence peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

2 pour cent d'autres éléments étrangers.

Autres espèces de prêle et hybrides. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. A 1,0 g de tige de prêle pulvérisée (355), ajoutez 10 ml de méthanol R. Chauffez dans un bain-marie à 60 °C pendant 10 min en agitant de temps en temps. Laissez refroidir. Filtrez.

Solution témoin. Dissolvez 1,0 mg d'acide caféique R, 2,5 mg d'hypéroside R et 2,5 mg de rutine R dans 10 ml de méthanol R.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : acide formique anhydre R, acide acétique glacial R, eau R, acétate d'éthyle R (7,5:7,5:18:67 V/V/V).

Dépôt : 10 µl, en bandes.

Développement : sur un parcours de 10 cm.

Séchage : à 100-105 °C.

Détection : pulvérisez sur la plaque encore chaude une solution de diphénylborate d'aminoéthanol R à 10 g/l dans le méthanol R, puis une solution de macrogol 400 R à 50 g/l dans le méthanol R. Laissez sécher la plaque à l'air pendant 30 min. Examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

Résultats : le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner ne présente pas de bande de fluorescence jaune ou jaune-vert juste au-dessus de la ligne de base.

Perte à la dessiccation (2.2.32) : au maximum 10 pour cent, déterminé à l'étuve à 100-105 °C pendant 2 h sur 1.000 g de tige de prêle pulvérisée (355).

Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (2.8.1) : au minimum 3,0 pour cent et au maximum 15,0 pour cent.

Cendres totales (2.4.16) : au minimum 12,0 pour cent et au maximum 27,0 pour cent.

DOSAGE

Solution mère. Dans un ballon à fond rond de 100 ml, introduisez 0,800 g de tige de prêle pulvérisée (355), puis ajoutez 1 ml d'une solution d'hexaméthylènetétramine R à 5 g/l, 20 ml d'acétone R et 2 ml d'acide chlorhydrique R1. Chauffez à reflux pendant 30 min. Filtrez le liquide à travers un tampon de coton hydrophile en recueillant le filtrat dans une fiole. Ajoutez le coton hydrophile au résidu contenu dans le ballon à fond rond et extrayez avec 2 fois 20 ml d'acétone R, en chauffant chaque fois à reflux pendant 10 min. Laissez refroidir, puis filtrez à travers un tampon de

CARACTERES ORGANOLEPTIQUES

Identification selon la Pharmacopée

A – Macroscopie

B – Microscopie

A. La tige de prêle est constituée par des fragments de tiges cannelées et de feuilles linéaires, vert clair à gris-vert. Ils sont rudes au toucher, cassants et crissent quand ils sont écrasés entre les doigts. Les tiges principales ont un diamètre d'environ 0,8 mm à 4,5 mm, elles sont creuses, articulées aux nœuds, à intervalles d'environ 1,5 cm à 4,5 cm. Des cannelures verticales distinctes, regroupées en nombre de 4 à 14 ou plus, sont présentes sur les entre-nœuds. Des verticilles de rameaux largement espacés et dressés, généralement simples, chacun d'environ 1 mm d'épaisseur, avec 2 à 4 cannelures longitudinales, se rejoignent au niveau des nœuds. Les feuilles sont petites, linéaires, disposées en verticille à chaque nœud ; concrescentes à la base, elles forment une gaine dentée embrassant la tige et comportant un nombre de dents égal au nombre de cannelures de la tige. Chaque dent, souvent de couleur brune, est triangulaire-lancéolée. L'entre-nœud inférieur de chaque branche est plus long que la gaine de la tige à laquelle il appartient.

B. Réduisez les tiges de prêle en poudre (355). La poudre est gris-vert. Examinez au microscope en utilisant de la *solution d'hydrate de chloral R*. La poudre présente les éléments suivants : des fragments d'épiderme vus de face composés de cellules rectangulaires à parois ondulées et de stomates paracytiques (2.8.3) dont les 2 cellules annexes couvrent les cellules de garde et présentent des stries radiales ; vu en section transversale, l'épiderme est crénelé, avec des protubérances formées par les parois contiguës de 2 cellules adjacentes, en forme de U des fragments de parenchyme à grandes cellules et des groupes de longues fibres non lignifiées à lumen étroit ; des petits vaisseaux lignifiés à épaississements en spirale ou en anneaux sont dispersés.

C. Examinez les chromatogrammes obtenu dans l'essai des autres espèces de prêle et hybrides.

Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de fluorescence peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Caractères macroscopiques

Description souvent délicate à interpréter

IDENTIFICATION

A. La tige de prêle est constituée par des fragments de tiges cannelées et de feuilles linéaires, vert clair à gris-vert. Ils sont rudes au toucher, cassants et crissent quand ils sont écrasés entre les doigts. Les tiges principales ont un diamètre d'environ 0,8 mm à 4,5 mm, elles sont creuses, articulées aux nœuds, à intervalles d'environ 1,5 cm à 4,5 cm. Des cannelures verticales distinctes, regroupées en nombre de 4 à 14 ou plus, sont présentes sur les entre-nœuds. Des verticilles de rameaux largement espacés et dressés, généralement simples, chacun d'environ 1 mm d'épaisseur, avec 2 à 4 cannelures longitudinales, se rejoignent au niveau des nœuds. Les feuilles sont petites, linéaires, disposées en verticille à chaque nœud ; concrescentes à la base, elles forment une gaine dentée embrassant la tige et comportant un nombre de dents égal au nombre de cannelures de la tige. Chaque dent, souvent de couleur brune, est triangulaire-lancéolée. L'entre-nœud inférieur de chaque branche est plus long que la gaine de la tige à laquelle il appartient.

EXEMPLE MONTRANT L'IMPORTANCE DE L'ETUDE BOTANIQUE

Cas de la Prêle:

Equisetum arvense falsifiée avec
Equisetum palustre

LA PRÊLE

**La botanique est elle une science
exacte**

- La botanique est elle une science exacte
- Oui sauf que les observations ne sont pas toujours en adéquation
- Nécessité de revoir les descriptions

Les flores et la Prêle

- Bonnier
- Costes
- Kew index

- Ces trois botanistes donnent des descriptions différentes
- Et surtout des caractères histologiques contradictoires

***Faites attention lorsque
vous lisez des livres sur
la santé, vous pourriez
mourir d'une faute
d'impression***

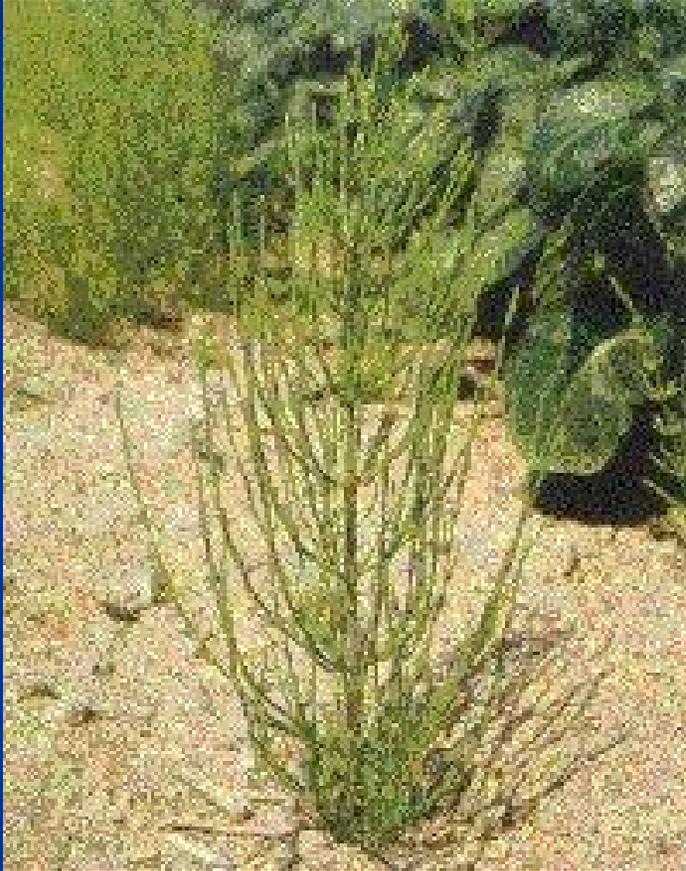
Mark Twain

Qu'est ce qu'une plante

- Grande variabilité
- Races chimiques chimiotypes
- Cas des huiles essentielles de *Thymus*
- Cas de chanvre indien *cannabis sativa*
 - Var indica
- Cas de *Vitis vinifera*

Les Prêles

Famille des Equisétacées



La Prêle des champs

Equisetum arvense



La Prêle des Marais

Equisetum palustre



Les Prêles

- Le sous-nom de prêle réunit plusieurs espèces de plantes qui sont toutes toujours liées à la présence d'eau (superficielle ou nappe phréatique)
- Autant il est facile de dire que l'on a affaire à une prêle autant il est délicat d'identifier les différentes espèces et leurs utilisations respectives

Les Prêles

- Absence de fleurs
- Reproduction par spores contenus dans un petit épi ovoïde ou oblong au sommet des tiges
- Tiges souterraines rampantes et rameuses
- Tiges aériennes plus ou moins creuses striées sillonnées en long, rarement lisses

La Prêle des champs

Equisetum arvense

- C'est la seule utilisée dans un but alimentaire ou officinal
- Commune dans les endroits sablonneux et humides.
- Elle comporte deux sortes de tiges:
 - La première fertile sort au début du printemps, elle est nue, sans feuilles, et assure la reproduction, spores mûrs en avril-mai
 - Apparition de la deuxième tige feuillée, stérile quand la première a disparu

La Prêle des champs

Equisetum arvense

- Pousses fertiles du printemps se préparent cuites comme des asperges
- Elles se consomment en infusion ou en poudre
- Plante très riches en silice et minéraux utilisée comme reminéralisante

Equisetum arvense



La Prêle des Marais

Equisetum palustre

- Pousse dans les marécages
- Une seule sorte de tige, fertile, avec au sommet les épis à spores

Comment bien les différencier

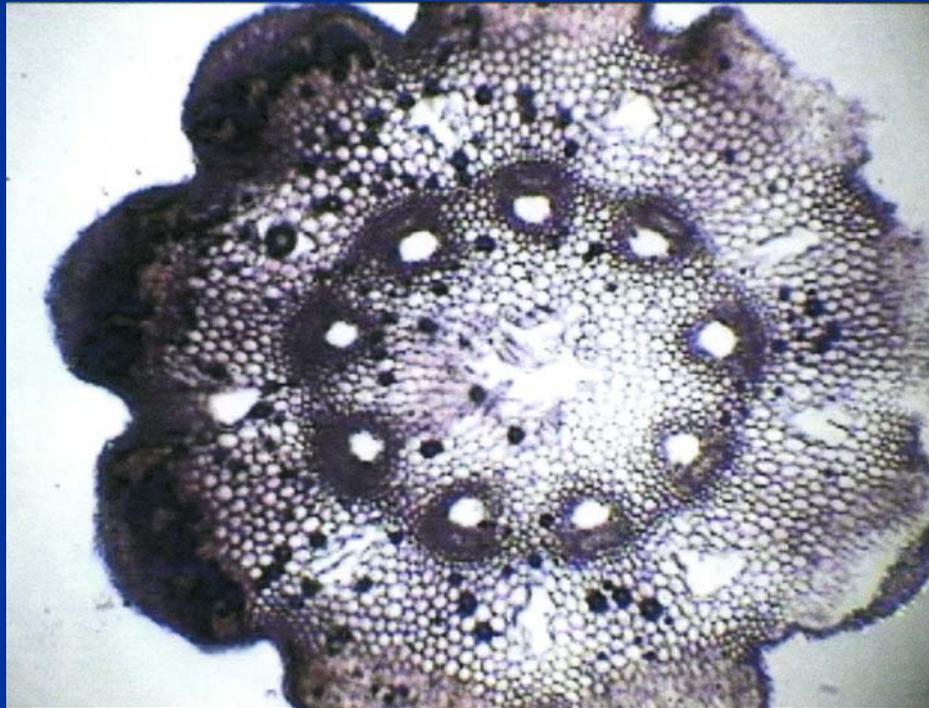
- Relativement facile sur le lieu de culture
- Très difficile sur les plantes sèches

Identification d'une espèce de Prêle

- Étude botanique
 - Caractères macroscopiques
 - Caractères microscopiques
 - Coupe
 - Poudre
 - Étude des cendres de stomates
- Étude physico-chimique
 - Recherche des Hétérosides (CCM)
 - Recherche des Alcaloïdes (CCM)

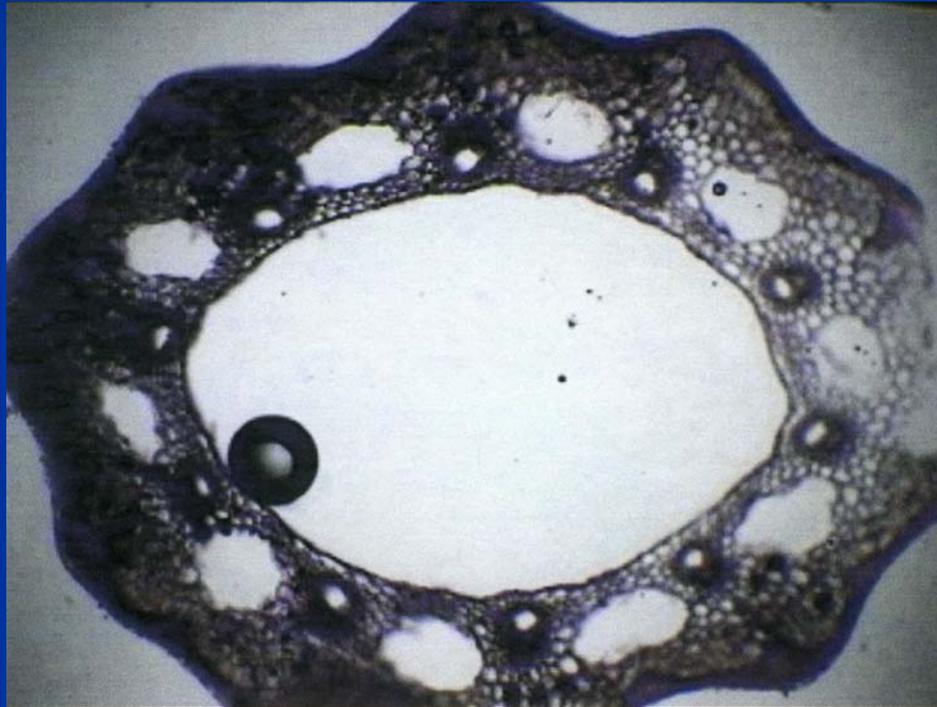
Coupe transversale de la tige

- *Equisetum arvense*

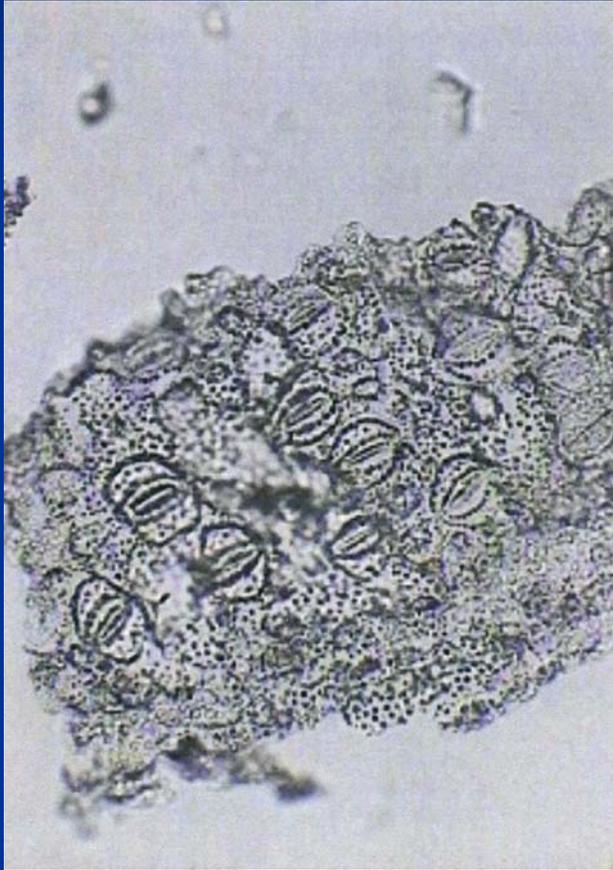


Coupe transversale de la Tige

- *Equisetum palustre*



Étude des cendres de stomates

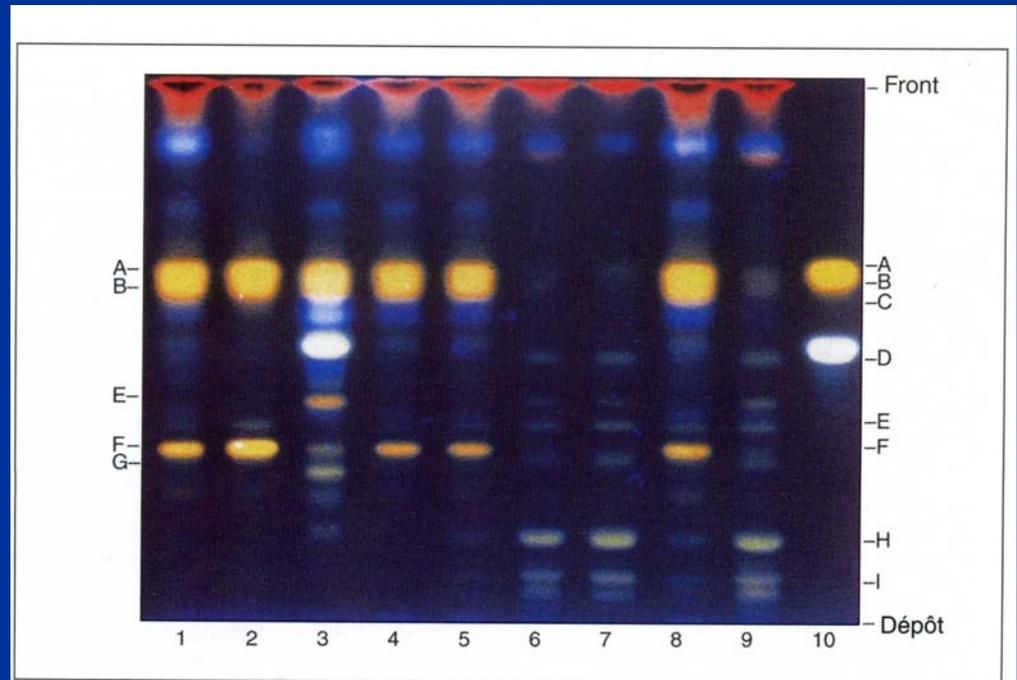


Test d'Identification

Recherche des Hétérosides

■ CCM des Hétérosides de la Prêle

1, 2, 4 *Equisetum arvense* de diverses origines, race européenne
3 *E. arvense*, race d'Asie orientale et d'Amérique du Nord
6, 7, 9 *E. palustre* de diverses origines, Europe
5, 8 mélange de 90 % d'*E. arvense* et 10 % d'*E. palustre*
10 substances de référence (A, D)
A = quercétol-3-glucoside
B = quercétol
C = apigénine-5-glucoside
D = lutéoline-5-glucoside
E = quercétol-3,5-diglucoside
F = quercétol-3-sophoroside
G = kaempférol-3,7-diglucoside
H = kaempférol-3-rutinoside-7-glucoside
I = kaempférol-3-sophoroside-7-glucoside



Expertise Prêle (suite)

Recherche des Alcaloïdes

■ Mode opératoire

I - Recherche de la présence d'Alcaloïdes dans l'échantillon de Prêle

Mode d'extraction

Extraction des alcaloïdes sur un lot de Prêle suspecté de contenir des alcaloïdes et ne pas répondre aux normes de la Pharmacopée européenne
Prise d'essai de 20 g de prêle pulvérisée Lot N° 37799. Extraction en milieu acide par 250 mL d'acide sulfurique 1N ; agitation magnétique pendant 30 minutes, filtration, alcalinisation par 25 mL d'ammoniaque à 28%, vérification du pH (10), épuisement par 5 fois 100 mL de dichlorométhane, évaporation à sec et reprise par 2 mL de méthanol.

Même protocole d'extraction pour le lot N° 34267 faisant référence

Mise en œuvre de la Chromatographie sur couche mince

Support : gel de silice Réf. 5554 Merck

Dépôt 1 – Prêle lot 34267 de référence 40 µL

Dépôt 2 – Prêle lot 37799 à analyser 60 µL

Solvant : *n*-Propanol, acide formique, eau 90, 1, 9 v/v

Réactif : Iodoplatinate de potassium

Résultats de l'analyse

Présence nette de 2 taches positives à l'Iodoplatinate indiquant sans équivoque la présence d'alcaloïdes dans ce lot de Prêle

II – Données anatomiques nous permettant de déterminer s'il s'agit de l'espèce *arvense* ou *palustre*:

L'analyse des **cendres des stomates** nous permet de distinguer les deux espèces :

Figure 1 – Cendres d'*Equisetum palustre* : fentes à fines dents de type "fermeture éclair"

Figure 2 – Cendres d'*Equisetum arvense* : fentes à dents grossières dites "de requin"

Conclusion

Les analyses chromatographique et anatomique auxquelles nous avons pu procéder nous permettent de penser que nous sommes en présence d'*Equisetum arvense* pour le lot N° 34267 et d'*Equisetum palustre* pour le lot N° 37799

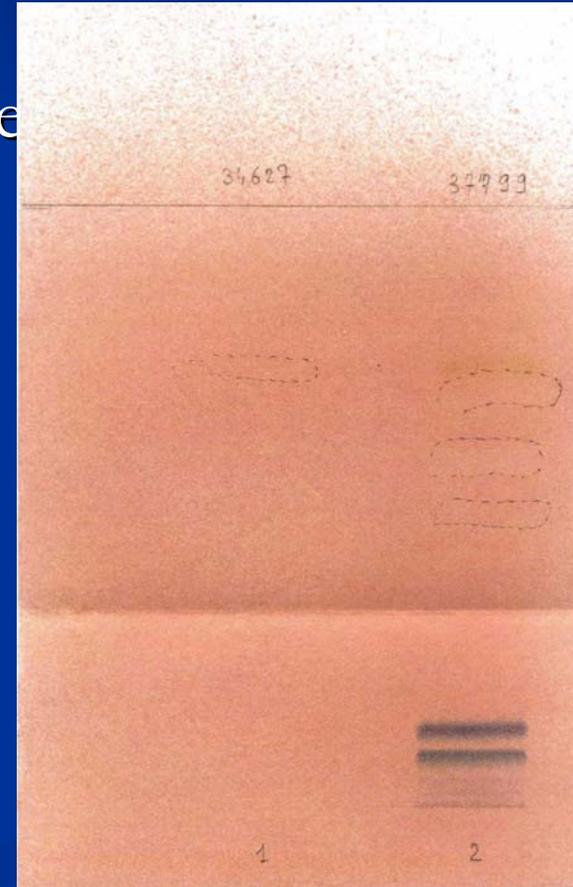
Test d'Identification

Recherche des alcaloïdes

- CCM comparative
- Laboratoire de pharmacognosie

De Tours

- 1 *E. arvense*
- 2 *E. palustre*



Conclusion 1

- Le domaine végétal est tellement complexe et diversifié, que la seule observation botanique est insuffisante l'étude physicochimique est importante et on doit aller vers un consensus