

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'aminéthanol 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

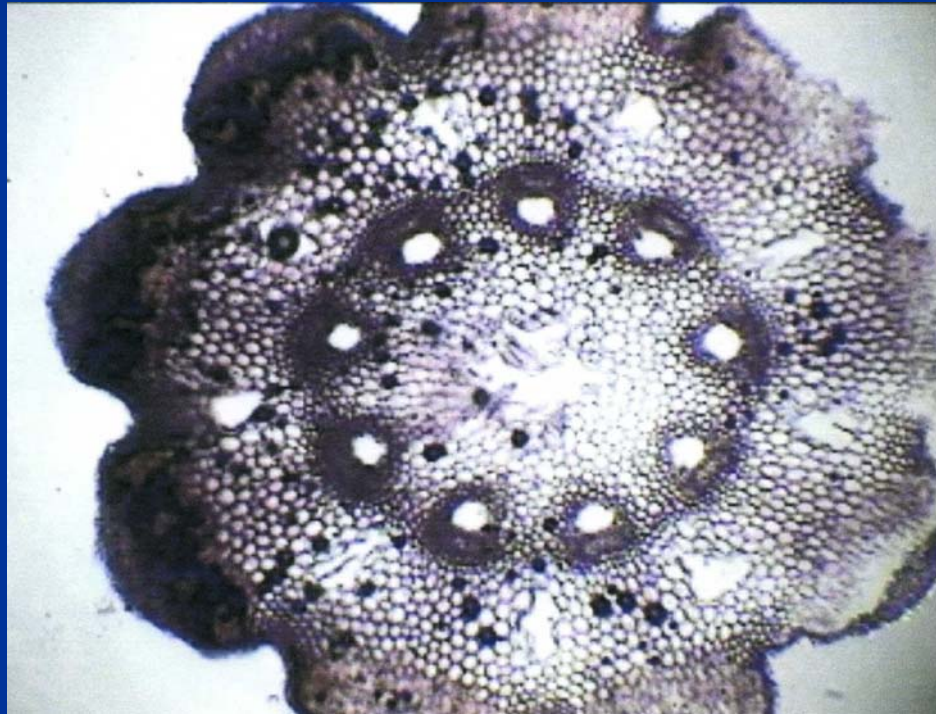
- Relativement facile sur le lieu de culture
- Très difficile sur les plantes sèches

# 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)

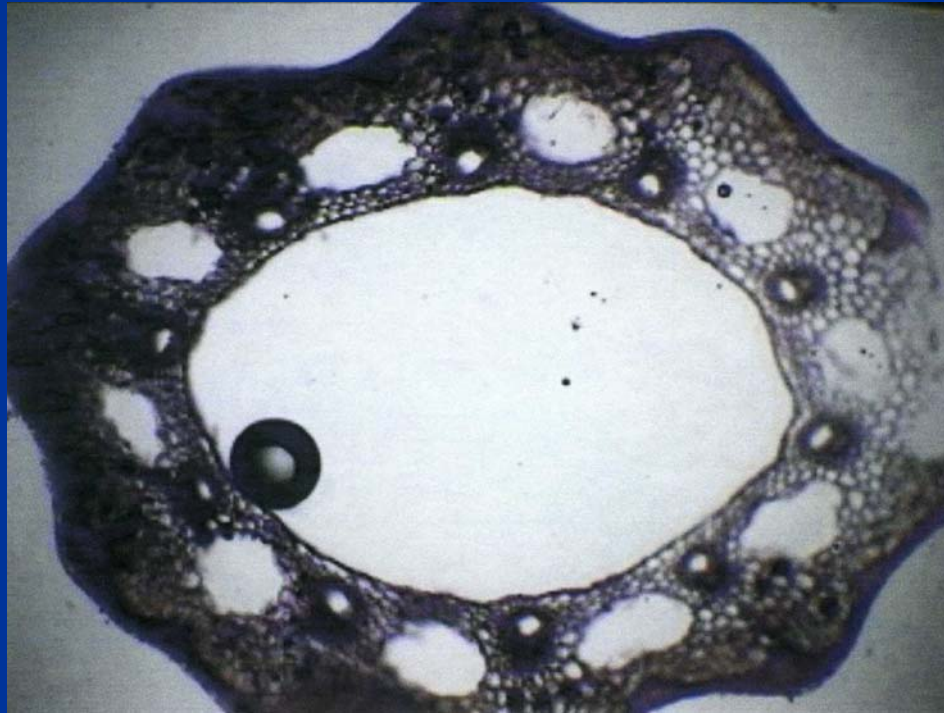
# Coupe transversale de la tige

- *Equisetum arvense*

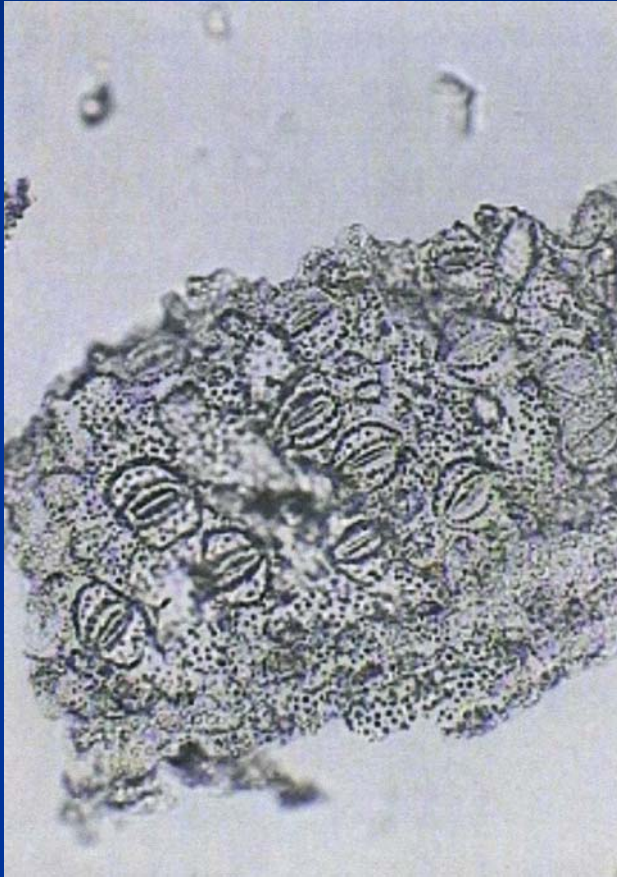


# Coupe transversale de la Tige

- *Equisetum palustre*



# Étude des cendres de stomates

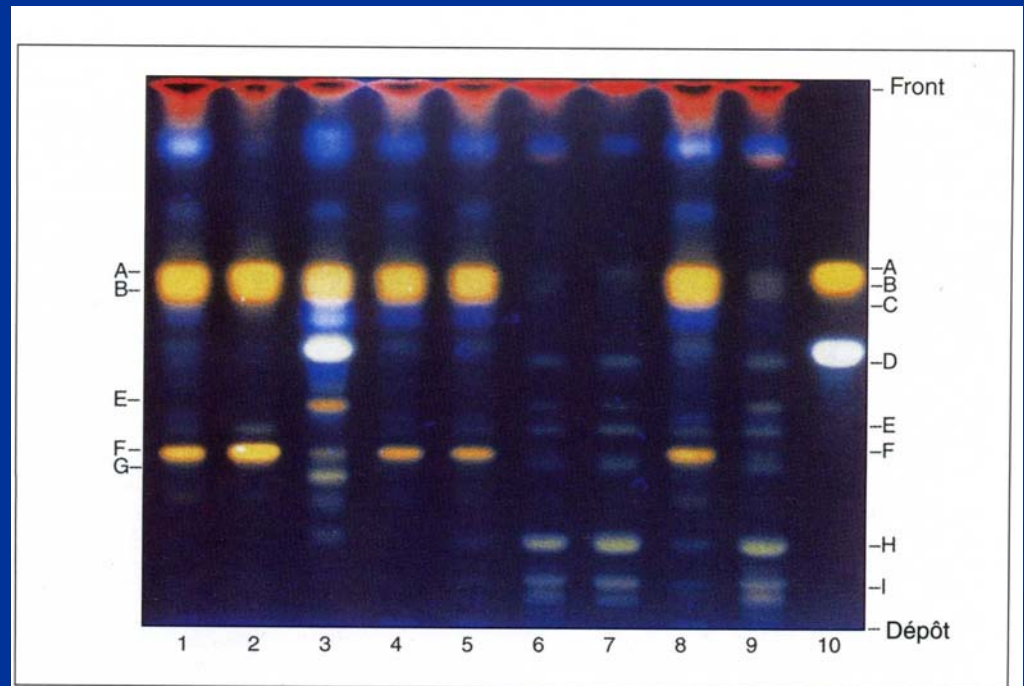


# Test d'Identification

## 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



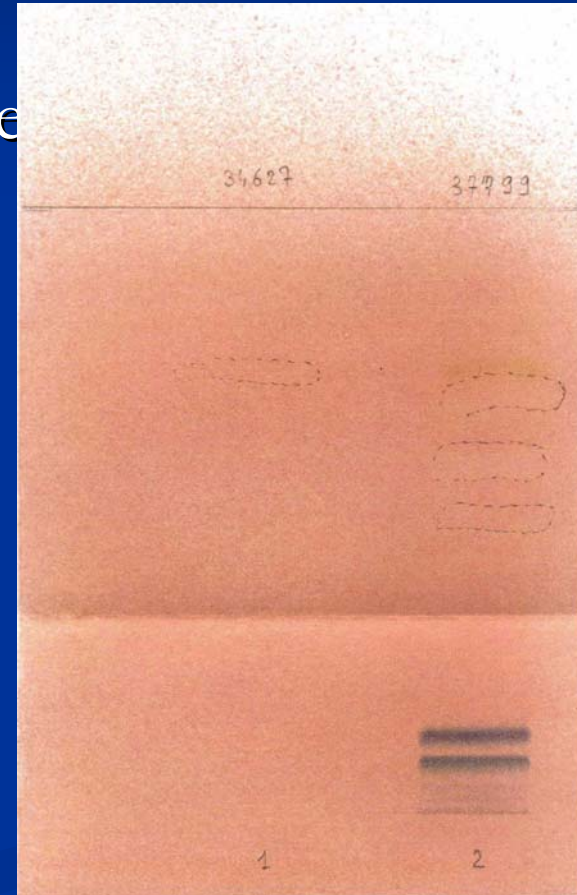
# Test d'Identification

## 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