

UNIVERSITE de LIMOGES  
Faculté de Pharmacie

ANNEE 1999

THESE N° 325

**L'ANEMONE PULSATILLE,**  
*Anemone pulsatilla L.*



**THESE**

POUR LE

**DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

*présentée et soutenue publiquement le 23 juin 1999*

par

**Sandrine VINCENT**

née le 29 juillet 1975 à Aubusson (Creuse)

**EXAMINATEURS de la THESE**

Monsieur le Professeur CHULIA .....	PRESIDENT
Madame ALLAIS, Maître de Conférences .....	JUGE
Madame RETIERE, Pharmacien .....	JUGE
Monsieur FRAYSSE, Pharmacien .....	JUGE

## ERRATA

**Page 36** : Dans la phrase « La plante entière est couverte de poils soigneux. », il faut lire « La plante entière est couverte de poils soyeux. ».

**Page 101** : Il manque à la dernière ligne : « variant entre 2,4 et 6,19 %. Le pouvoir hémolytique de la saponine se situerait à un pH de 9.6. ».

**Page 185** : Dans la phrase « La 1<sup>ère</sup> phase, asthénique, est marquée par le drainage des déchets surchargeant les systèmes veineux et ganglionnaires, ces déchets sont éliminés au niveau de larges surfaces muqueuses. », il faut lire « La 1<sup>ère</sup> phase, sthénique, est marquée par le drainage des déchets surchargeant les systèmes veineux et ganglionnaires, ces déchets sont éliminés au niveau de larges surfaces muqueuses. ».

**UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE PHARMACIE**

---

**DOYEN DE LA FACULTE :**

Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

**ASSESSEURS :**

Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard  
Monsieur DREYFUSS Gilles. Maître de Conférences

**PROFESSEURS :**

<b>BENEYTOUT Jean-Louis</b>	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>BERNARD Michel</b>	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
<b>BOSGIRAUD Claudine</b>	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
<b>BROSSARD Claude</b>	PHARMACOTECHNIE
<b>BUXERAUD Jacques</b>	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>CARDOT Philippe</b>	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CHULIA Dominique</b>	PHARMACOTECHNIE
<b>DELAGE Christiane</b>	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
<b>GHESTEM Axel</b>	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>HABRIOUX Gérard</b>	BIOCHIMIE-BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>LACHATRE Gérard</b>	TOXICOLOGIE
<b>MOESCH Christian</b>	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
<b>OUART Nicole</b>	PHARMACODYNAMIE

**SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE-CHEFS DES SERVICES ADMINISTRATIFS**

**POMMARET Maryse**

*Au Président de Thèse :*

Monsieur Albert CHULIA,  
Professeur de Pharmacognosie,

*Je suis très honorée de votre présence en tant que président de ce jury de soutenance.*

*Je vous remercie pour la qualité des enseignements de Pharmacognosie qui m'ont permis de découvrir et d'apprécier cette matière.*

*Veillez accepter ici, l'expression de mes sentiments les plus respectueux.*



*Au Directeur de Thèse :*

Madame Daovy ALLAIS,  
Maître de Conférences de Pharmacognosie,

*Vous m'avez fait l'honneur de diriger cette thèse.*

*Je vous remercie pour votre sympathie et votre disponibilité tout au long de ce travail.*

*Vous avez su me guider et m'aider, par vos encouragements et vos critiques dans cette étude.*

*Veillez accepter ici, l'expression de ma respectueuse gratitude.*

*Au juge :*

Madame Agnès RETIERE,  
Pharmacien,

*Vous avez accepté avec gentillesse et sincérité de faire partie des membres de ce jury.*

*Je vous remercie pour votre accueil chaleureux, votre sympathie et vos conseils sur la profession de pharmacien.*

*Veillez accepter ici, l'expression de mes remerciements les plus sincères.*

*Au juge :*

Monsieur Jean Louis FRAYSSE,  
Pharmacien,

*Vous avez accepté avec spontanéité de faire partie de ce jury.*

*Je vous remercie, d'avoir participé par vos conseils et vos critiques à l'élaboration de ce travail.*

*Veillez accepter ici, l'expression de ma considération distinguée.*

*Mes parents,*

*Je vous remercie pour vos encouragements, votre soutien, votre aide morale.*

*Je vous suis reconnaissante de m'avoir accordé du temps, de la patience et tout votre amour.*

*Je vous témoigne ici ma profonde affection.*

*Marc,*

*Je te remercie pour m'avoir soutenu, encouragé, supporté tout au long de mes études.*

*Je te remercie pour le réconfort et l'amour que tu m'as offert depuis six ans.*

*Soit assuré de tout mon amour.*

*Carine, Didier,*

*Je vous remercie pour votre aide morale, votre soutien, et votre patience.*

*Carine, je te remercie particulièrement pour ton amour fraternel et tous les moments de complicité passés ensemble.*

*Acceptez ici, toute mon affection.*



*Monsieur et Madame MONGLON,*

*Je vous remercie pour l'affection et la confiance que vous m'avez accordé depuis six ans.*

*Veillez recevoir ici, toute ma reconnaissance.*

*Bruno,*

*Je te remercie de m'avoir permis d'utiliser ton matériel informatique et ainsi de rédiger ce travail à mon goût.*

*Accepte ici, mes sincères remerciements.*

*Nelly, Pascal, Maryline, Laurent, Ysa, Thierry,*

*Je vous remercie pour votre gentillesse, votre soutien et pour tous les bons moments passés ensemble.*

*Recevez toute mon amitié.*

*Monsieur et Madame LUCARD et leurs enfants,*

*Je vous remercie pour la confiance et l'aide que vous m'avez accordé au long de ces six années d'études.*

*Veillez recevoir ici, ma considération distinguée.*

**A tous, je dédie ce travail.**

# SOMMAIRE

## I INTRODUCTION

## II HISTORIQUE

## III ETUDE BOTANIQUE

1. SYSTEMATIQUE
  - 1.1 Place dans la systématique
  - 1.2 Caractères distinctifs
2. CARACTERES BOTANIQUES
  - 2.1. Caractères botaniques des Renonculacées
  - 2.2. Caractères botaniques du genre *Anemone*
  - 2.3. Caractères botaniques de l'espèce *Anemone pulsatilla* L.
3. POLLINISATION
4. HABITAT
5. REPARTITION GEOGRAPHIQUE
6. CULTURE
7. RECOLTE
8. DIAGNOSE DE LA DROGUE
  - 8.1. Caractères microscopiques de la drogue
  - 8.2. Teneur en eau
  - 8.3. Caractères organoleptiques et essais de l'alcoolature d'anémone pulsatile

## IV ETUDE CHIMIQUE

1. INTRODUCTION
2. LES CORPS LACTONIQUES
  - 2.1. Introduction
  - 2.2. Rappels sur les lactones
  - 2.3. La ranunculine
  - 2.4. La protoanémone
  - 2.5. L'anémone
  - 2.6. La génine
  - 2.7. Dosage des corps lactoniques
  - 2.8. Conclusion
3. LES CORPS POLYPHENOLIQUES
  - 3.1. Les flavonoïdes
  - 3.2. Les anthocyanes
  - 3.3. Les tanins
4. LES SAPONINES ET LES TRITERPENES
5. LES GLUCIDES
6. LES ACIDES ORGANIQUES
7. LES LIPIDES
8. CONCLUSION

## V ETUDE TOXIQUE

1. INTRODUCTION
2. ACTION TOXIQUE SUR L'HOMME
  - 2.1. Par contact sur la peau et les muqueuses
  - 2.2. Par absorption
  - 2.3. Quelques exemples d'intoxication

3. ACTION TOXIQUE SUR LES ANIMAUX
  - 3.1. Par absorption spontanée
  - 3.2. Quelques exemples d'intoxication
  - 3.3. Intoxications expérimentales
4. CONCLUSION

## **VI ETUDE PHARMACOLOGIQUE**

1. ACTIVITE INSECTICIDE
2. ACTIVITE SEDATIVE
3. ACTIVITE ANTIPYRETIQUE
4. ACTION SUR LA TENSION CAROTIDIENNE ET LA VASOMOTRICITE RENALE
5. ACTION SUR LA MOTRICITE INTESTINALE
6. ACTIVITE ANTIMUTAGENE
7. INHIBITION DE LA CROISSANCE
8. ACTIVITE CYTOTOXIQUE DE LA PROTOANEMONINE
  - 8.1 Action sur les cellules végétales
  - 8.2 Action sur les algues
  - 8.3 Action antitumorale
9. ACTIVITE ANTIFONGIQUE
  - 9.1 Action sur les levures
  - 9.2 Action sur les dermatophytes
  - 9.3 Mécanisme d'action
10. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE
  - 10.1. Premières recherches sur l'activité antibactérienne
  - 10.2. Etudes récentes
  - 10.3. Mécanisme d'action
  - 10.4. Cas particulier d'un germe Pseudomonas
11. CONCLUSION

## **VII UTILISATIONS DE L'ANEMONE PULSATILLE**

1. USAGES EN MEDECINE HUMAINE
  - 1.1. En allopathie
  - 1.2. En homéopathie
2. MEDECINE HOMEOPATHIQUE VETERINAIRE
  - 2.1. Pathogénésie
  - 2.2. Type sensible
  - 2.3. Réactions caractéristiques
  - 2.4. Modalités
  - 2.5. Indications thérapeutiques
  - 2.6. Exemples
  - 2.7. Utilisation et posologie
3. CONCLUSION

## **VIII CONCLUSION**

### **BIBLIOGRAPHIE**

### **TABLES DES MATIERES**



Anémone pulsatille – *Anemone pulsatilla* (L.)  
(ROMAGNESI, WEILL)



## I INTRODUCTION

L'anémone pulsatile, *Anemone pulsatilla* (L.), plante de l'Europe occidentale et centrale de la famille des Renonculacées, est inscrite à la Pharmacopée Française depuis 1949 .

C'est une jolie plante qui pousse sur les coteaux ensoleillés calcaires de la France, et montre ses couleurs au moindre coup de vent.

L'anémone renferme plusieurs principes actifs, un glucoside : la ranunculine , des lactones insaturées : la protoanémonine et l'anémonine. Ces molécules lui confèrent de nombreuses activités pharmacologiques d'où son emploi très important dans la médecine notamment dans le domaine homéopathique.

Cependant, malgré son aspect attractif, que ce soit au niveau botanique ou thérapeutique, l'anémone pulsatile peut être aussi très toxique pour les hommes comme pour le bétail.

Ainsi, ce travail a pour objectif de rassembler toutes les connaissances acquises jusqu'à ce jour sur l'anémone pulsatile, d'essayer de mettre en évidence les composés responsables des activités ainsi que ceux responsables de la toxicité. De plus, cette étude a pour but de montrer l'intérêt de cette plante dans la thérapeutique actuelle (allopathie et homéopathie). Enfin, par ce travail nous pouvons penser qu'un jour son domaine thérapeutique, du fait de nouvelles propriétés démontrées expérimentalement, pourra s'élargir et couvrir d'autres applications.

## II HISTORIQUE

L'anémone pulsatile tire son nom à la fois du grec *anemone* et du latin *pulsatus*. Le mot *anemone* dérive de *anemos* (vent), cela signifie que la plante vient dans la saison des vents, dans les endroits exposés aux vents, ou que ses fleurs s'ouvrent au moindre vent (BEZANGER et coll.). Le terme *pulsatus* signifie battu ce qui caractérise l'anémone pulsatile à cause de ses aigrettes que la brise agite .

Les anémones sont connues depuis l'antiquité et elles interviennent dans de nombreux récits mythologiques. Elles sont depuis toujours réputées pour leur beauté et de nombreux auteurs les ont évoquées : Pline l'ancien, Théocrite, Ovide, en tant que poètes, Hippocrate et Dioscoride en tant que médecins. Hippocrate l'employa pour provoquer les règles et combattre la suffocation hystérique (BIANTINI et coll.).

Après une longue période d'ignorance au Moyen Age, Matthiole (16<sup>ème</sup> siècle) fut le premier à décrire l'anémone pulsatile et rapporta que, de son temps, il existait des médecins qui la préconisaient contre la peste et comme antidote de divers venins (FOURNIER).

Elle n'entra cependant vraiment dans la thérapeutique qu'au 18<sup>ème</sup> siècle sous l'impulsion du toxicologue Storck (1771) qui l'utilisa contre les affections de la vue (cataracte, amaurose), contre diverses manifestations de la syphilis, dans la paralysie et la mélancolie (LECLERC). Dans la même année, Heyer extrayait et isolait pour la première fois le principe actif de l'anémone pulsatile, l'anémonine.

Ensuite Ramm puis Ramon (1828) employèrent cette plante pour combattre la toux de la coqueluche. Hanhemann (1843) l'étudia, et l'anémone pulsatile devint ainsi une plante importante dans l'homéopathie.

Puis les recherches de Ballon (1904) établirent que l'anémone et l'anémonine déterminaient un état hypnotique avec diminution de la sensibilité et ainsi la plante fut utilisée pour son action sédative.

Pour H.Vignes (1927), il semble que l'anémone pulsatile agisse sur le système nerveux végétatif de la sphère génitale .

Quant à G.Parturier (1930), il a insisté sur son utilité en hépatologie, contre l'aérophagie des hépato-biliaires et les états spasmodiques gastro-intestinaux en général.

Aujourd'hui, l'anémone pulsatile est inscrite à la 10<sup>ème</sup> Pharmacopée, elle est très largement employée en homéopathie. Des recherches sur les principes actifs chimiques, découverts il y a un siècle, sont effectuées fréquemment dans le but de mettre en évidence de nouvelles propriétés pharmacologiques (LECLERC).

### III ETUDE BOTANIQUE

#### 1. SYSTEMATIQUE

##### 1.1. Place dans la systématique

<b>Embranchement</b>	:	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	:	Angiospermes
<b>Classe</b>	:	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	:	Dialypétales
<b>Série</b>	:	Thalamiflores
<b>Sous série</b>	:	Polystémones
<b>Ordre</b>	:	Ranales ou Polycarpiques
<b>Famille</b>	:	Renonculacées
<b>Tribu</b>	:	Anémonées
<b>Genre</b>	:	<i>Anemone</i>
<b>Espèce</b>	:	<i>Anemone pulsatilla</i> (L).



## 1.2. Caractères distinctifs

### 1.2.1. Embranchement des Spermaphytes

Les Spermaphytes (du grec *sperma* : graine et *phuton* : plante) comprennent les végétaux les plus perfectionnés du règne végétal : ce sont les plantes à graine.

On les appelle encore Phanérogames (du grec *phaneros* : visible et *gamos* : mariage) car dans ce groupe la reproduction est visible.

Cet embranchement se divise en deux sous embranchements : les Angiospermes et les Gymnospermes (GUIGNARD).

### 1.2.2. Sous embranchement des Angiospermes

C'est un groupe immense comprenant 200 000 à 250 000 espèces.

Les Angiospermes, par rapport aux Gymnospermes, sont fondamentalement définis par 3 caractères :

- les écailles ovulifères ou carpelles (du grec *karpos* : fruit) qui entourent complètement les ovules et après la fécondation se transforment en fruit,
- les organes reproducteurs groupés en fleurs bisexuées,
- l'existence d'une double fécondation.

Les Angiospermes se divisent en deux classes : les Monocotylédones et les Dicotylédones (GUIGNARD).

### 1.2.3. Classe des Dicotylédones

C'est l'ensemble le plus important et le plus diversifié des plantes à fleurs.

La principale différence entre les deux classes réside dans l'embryon : chez les Dicotylédones l'embryon possède deux cotylédons alors que chez les Monocotylédones il n'y en a qu'un.

Cette classe est divisée en trois sous classes : les Apétales, les Gamopétales et les Dialypétales (GUIGNARD).

### 1.2.4. Sous classe des Dialypétales

Dans cette sous classe, les plantes ont des fleurs à pétales séparées.

On répartit les Dialypétales en trois séries suivant l'organisation du réceptacle floral : les Thalamiflores, les Disciflores et les Caliciflores (BACH Tome II).

### 1.2.5. Série des Thalamiflores

Cette série est caractérisée par un réceptacle floral plan ou convexe. Les carpelles sont portés directement par le réceptacle saillant.

Cette série se divise en deux sous séries, suivant l'organisation des étamines : les Polystémones et les Méristémones (BACH Tome II).

### 1.2.6. Sous série des Polystémones

Ce sont les étamines, nombreuses, qui définissent cette sous série. Elles ont une insertion spiralée et ne sont pas ramifiées. Elles se différencient successivement de l'extérieur vers l'intérieur de la fleur.

Cette sous série comporte un seul ordre : l'ordre des Ranales (CRETE).

### 1.2.7. Ordre des Ranales ou des Polycarpiques

Cet ordre est le type le plus archaïque de la fleur des Angiospermes.

Les fleurs sont typiquement acycliques.

Les carpelles sont très nombreux et indépendants les uns des autres.

Cet ordre rassemble plusieurs familles, parmi lesquelles se trouvent : les Renonculacées, les Monimiacées, les Lauracées, les Berberidacées... (CRETE).

### 1.2.8. Famille des Renonculacées

Les Renonculacées sont le type même des « familles par enchaînement ». Généralement herbacées, elles sont caractérisées par leurs fleurs spiralées ou hémicycliques. Les carpelles et les étamines sont insérés en spirale.

Le fruit est sec, c'est un akène ou un follicule. C'est la nature de ce fruit qui va déterminer les différentes tribus de cette famille (CRETE).

### 1.2.9. Tribu des Anémonées

Les Anémonées sont des plantes herbacées. Les carpelles sont nombreux, uniovulés ou pluriovulés mais un seul se transforme en graine.

La fleur est le plus souvent trimère. Le fruit est un akène (CRETE).

### 1.2.10. Genre *Anemone* et *Pulsatilla*

Suivant les flores on retrouve soit le genre *Anemone*, soit le genre *Pulsatilla*, seuls ou les deux à la fois.

1.2.10.1. Genre *Anemone*

Les *Anemone* sont caractérisés par la présence d'un involucre, à trois folioles, en dessous de la fleur. Il finit par être séparé de la fleur par un long pédoncule et on le considère parfois comme l'ébauche d'un calice.

Les fleurs n'ont pas de pétales, mais ont 5 à 15 sépales ressemblant à des pétales par leur couleur (BONNIER, COSTE).

1.2.10.2. Genre *Pulsatilla*

Le genre *Pulsatilla* est caractérisé par:

- l'allongement du style en dessous de l'akène
- la présence d'étamines nectarifères (TUTIN et coll.).

1.2.11. Espèce *Anemone pulsatilla* L. ou *Pulsatilla vulgaris* Mill.

## 1.2.11.1. Description

Ces deux noms sont considérés comme des synonymes.

L'anémone pulsatille s'épanouit de mars à mai dans les plaines et de juin à juillet dans les montagnes.

C'est une plante dont la tige feuillée mesure de 10 à 40 cm.

Les feuilles sont poilues et divisées en segments étroits.

Le type principal de cette espèce est reconnu grâce à ses fleurs violettes ou d'un violet rougeâtre. Ces fleurs sont ordinairement d'une teinte lilacée lorsqu'on regarde les sépales par transparence.

La fleur possède 6 sépales (BONNIER).

## 1.2.11.2. Synonymes

L'anémone pulsatile possède différents noms vernaculaires :

- Pulsatile (BEZANGER et coll.)
- Coquelourde
- Coquerelle
- Fleur de Pâques
- Fleur aux dames
- Herbe au vent
- Clochette (FOURNIER)
- Œil de bœuf
- Fils avant le père
- Passe fleur

## 1.2.11.3. Noms en langues étrangères

- En allemand : Gemeine Kücheuschelle  
Gemeine Kühscelle  
Mutterblume
- En flamand : Willdemanskruid
- En anglais : Pasque-flower  
Pass-flower  
Bluemony
- En italien : Pulsatilla  
Anemone  
Herba del diavolo

- En espagnol : Pulsatilla  
Pulsatilla comun  
Flor del viento

#### 1.2.11.4. Sous espèces

Les principales sous espèces qui diffèrent surtout par la couleur de la fleur sont (BONNIER):

- *Anemone halleri* All. ou *Pulsatilla halleri* All., anémone de halleri,
- *Anemone montana* Hoppe. ou *Pulsatilla montana* Hoppe., anémone des montagnes,
- *Anemone pratensis* L. ou *Pulsatilla pratensis* Mill., anémone des prés,
- *Anemone rubra* Lam. ou *Pulsatilla rubra* Lam., anémone rouge.

#### 1.2.12. Autres espèces voisines

Il existe une vingtaine d'espèces voisines de l'*Anemone pulsatilla* parmi les genres *Anemone* et *Pulsatilla* (BONNIER, TUTIN et coll.) :

<i>A. nemorosa</i>	<i>A. coronaria</i>
<i>A. ranunculoides</i>	<i>A. hortensis</i>
<i>A. apennina</i>	<i>A. palmata</i>
<i>A. narcissiflora</i>	<i>P. alba</i>
<i>A. dichotoma</i>	<i>P. patens</i>
<i>A. sylvestris</i>	<i>P. vernalis</i>
<i>A. baldensis</i>	<i>P. alpina</i>

.....

## 2. CARACTERES BOTANIQUES

### 2.1. Caractères botaniques des Renonculacées

#### 2.1.1. Appareil végétatif

La racine se présente ordinairement comme la prolongation souterraine de la tige, elle a pour rôle de fixer la plante au sol et d'absorber l'eau et les sels minéraux.

Les Renonculacées sont vivaces par des organes souterrains renflés : bulbes, tubercules, rhizomes et racines tubérisées (BACH Tome II).

La tige est un axe prolongeant la racine.

Les Renonculacées sont des plantes herbacées, leurs tiges principales se terminent généralement par une fleur mais des ramifications latérales peuvent provoquer la formation de petites inflorescences (CRETE).

Les feuilles sont des expansions latérales de la tige dont le rôle est de synthétiser la matière organique par le jeu de la synthèse chlorophyllienne (BACH Tome I).

Les feuilles de Renonculacées sont isolées, s'insérant sur la tige par une gaine élargie (CRETE). Ces feuilles ont un limbe qui dans la plupart des cas est très découpé.

#### 2.1.2. Appareil reproducteur

Les fleurs de Renonculacées sont solitaires ou en inflorescences variées.

Le caractère commun à cette famille est la présence d'un réceptacle floral convexe appelé thalamus sur lequel sont insérées en spirale les pièces florales en nombre indéfini (BACH Tome I).

La fleur possède des pièces stériles qui sont le calice (formé par les sépales) et la corolle (formée par les pétales) constituant ensemble le périanthe (BACH Tome I).

Les Renonculacées peuvent avoir un périanthe avec un calice et une corolle bien définis ou un périanthe réduit à des sépales pétaloïdes (CRETE). La fleur renferme aussi les organes sexuels, les étamines et les carpelles (BACH Tome I).

Les étamines, organes sexuels mâles, sont constituées de 3 parties : le filet, l'anthère et le connectif. Ici les étamines sont en nombre indéfini, et insérées en spirale sur le réceptacle floral (BACH Tome II). Les anthères volumineuses sont introrses, latérales ou extrorses.

Les carpelles, organes sexuels femelles, contiennent l'ovaire (BACH Tome I). Chez les Renonculacées, les carpelles sont en nombre très variable et libres entre eux. Comme déjà cité précédemment, ils sont insérés en spirale à la suite des étamines. Ils renferment un ou plusieurs ovules (CRETE).

Après la fécondation, l'ovule se transforme en graine, les parois de l'ovaire se transforment en fruit ce qui protège la graine (BACH Tome I).

Le fruit des Renonculacées est déhiscent ou indéhiscent. Les graines ont un albumen épais et charnu, entourant un embryon droit de faible dimension (CRETE).



## 2.2. Caractères botaniques du genre *Anemone*

### 2.2.1. Appareil végétatif

Les *Anemone* sont des espèces herbacées, vivaces par des rhizomes. Ce sont des plantes à tiges florifères.

Toutes les feuilles sauf celles de l'involucre sont insérées à la base de la tige. Elles sont isolées avec un limbe découpé (CRETE). Les feuilles de la hampe florale constituant l'involucre sont au nombre de trois.

### 2.2.2. Appareil reproducteur

Les *Anemone* sont caractérisés par des fleurs solitaires et par la présence de l'involucre (BONNIER). Les fleurs ont des sépales colorés comme des pétales, on dit que le calice est pétaloïde. La fleur est organisée suivant le type trimère. Les étamines gardent le caractère des Renonculacées. Les carpelles sont toujours nombreux avec une seule graine et disposés en masse arrondie ou ovale (BONNIER).

Le fruit est un akène surmonté d'un long style plumeux persistant (CRETE, BACH Tome II).

## 2.3. Caractères botaniques de l'espèce *Anemone pulsatilla* L.

### 2.3.1. Appareil végétatif

La racine de l'anémone pulsatille est tubéreuse, pivotante et pérennante (GUINOCHET).

Il s'agit d'un rhizome noir, épais, portant les débris de feuilles de l'année précédente à la base des tiges fleuries. Il forme, dès le printemps, de nouvelles rosettes de feuilles au milieu desquelles naissent les tiges fleuries de la saison suivante (BONNIER, BEZANGER et coll.).

La tige est herbacée, unique, dressée et épaissie (COUPLAIN, STYNNER). Elle est velue, soyeuse et à poils courts (BEZANGER et coll.). En coupe, cette tige est constituée de faisceaux libéro-ligneux séparés par des noyaux médullaires celluloseux, développés et répartis sur un voire deux cercles à formations secondaires peu développées (ABBAYES, BEILLE).



Figure 1 : Anémone pulsatile ( CHADEFAUD, EMBERGER)

Les feuilles sont alternes, soyeuses, poilues mais non complètement velues (BONNIER). Elles partent de la base de la plante, sont pétiolées, composées de segments profondément divisés en lanières étroites et allongées de 1 à 3 mm de largeur (COUPLAIN, STYNNER).

Les feuilles de l'involucre sont sessiles et formées de lanières étroites (BEZANGER et coll.). Ce sont des feuilles bi-tripennatiséquées avec un lobe linéaire ou lancéolé linéaire (PARIS, PERROT, TUTIN et coll.).

L'examen microscopique de la feuille montre des stomates localisés généralement à la face inférieure, sans cellules annexes (BEILLE). On y trouve aussi des petits poils unicellulaires à mince paroi et également des poils glandulaires (METCALFE, CHALK).

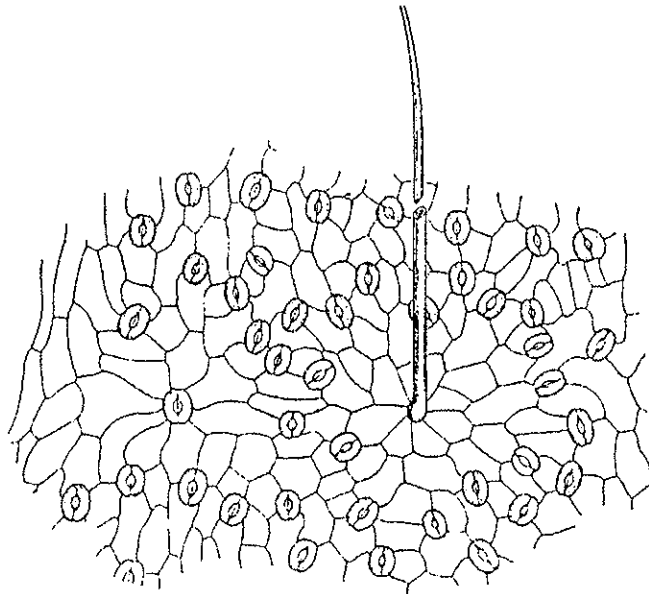


Figure 2 : Face inférieure du limbe montrant les stomates et les poils (WARDLAW).

### 2.3.2. Appareil reproducteur

Selon les endroits, la floraison de l'anémone pulsatile peut être au printemps ou au début de l'été.

Ce sont des fleurs solitaires, violacées, dressées, campanulées ou un peu penchées. Elles sont portées par une hampe florale de 10 à 30 cm s'allongeant lors de la fructification (BEZANGER et coll., TUTIN et coll., PARIS, MOYSE). Elles sont recouvertes de poils sur le revers (SHAUENBERG, PARIS) et ont un diamètre de 5,5 à 8,5 cm (TUTIN et coll.).

C'est une fleur actinomorphe, hémicyclique, trimère, avec une organisation florale spécifique, non constante dans la famille. En effet, l'anémone pulsatile est caractérisée par l'absence de corolle (GUINOCHET, ABBAYES et coll., BONNIER).

La formule florale est :  $6 S + \infty E + \infty C$

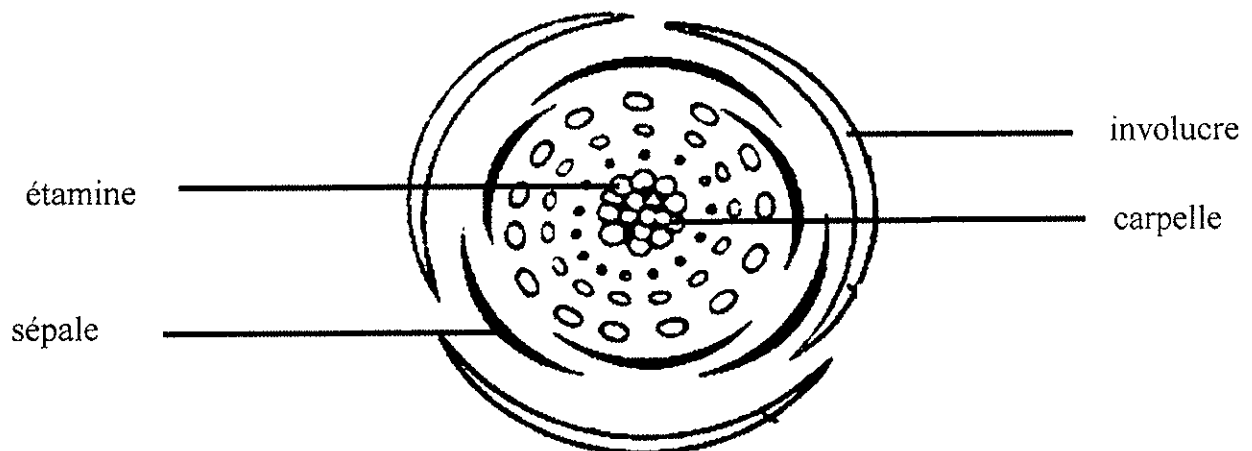


Figure 3 : Diagramme floral de l'anémone pulsatile (GAUSSEN et coll.).

Ainsi la fleur est formée de trois ensembles :

- le calice,
- l'androcée,
- le gynécée.

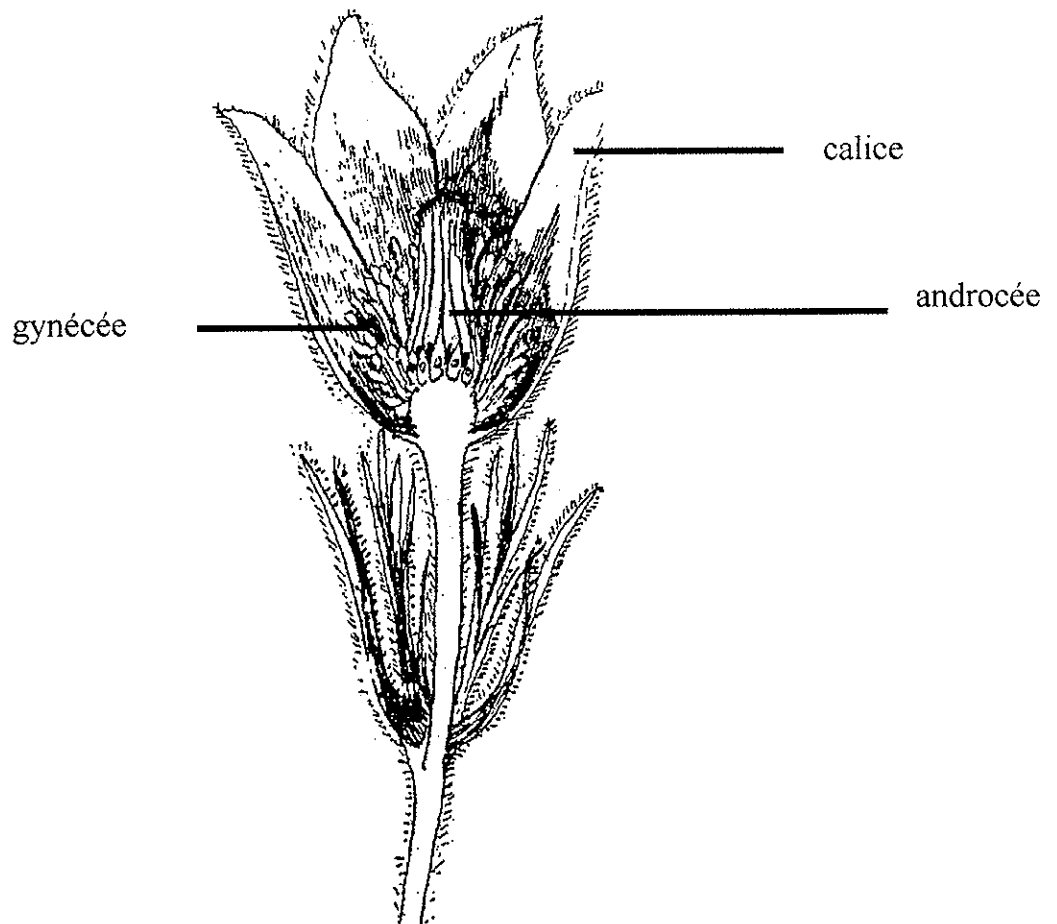


Figure 4 : Coupe de la fleur de l'anémone pulsatile (BACH Tome II)

#### □ Le calice

Il est constitué de 6 sépales en cloche divisés en 2 spirales, insérés sur le réceptacle floral (BONNIER). Ce calice qui constitue à lui tout seul le périanthe est 2 à 3 fois plus long que les autres pièces florales (TUTIN et coll.).

### □ L'androcée

C'est la partie mâle de la fleur, il est formé par les étamines. Chez l'anémone pulsatile, les nombreuses étamines placées à l'intérieur du périanthe sont dorées (SHAUENBERG, BEILLE). Comme déjà signalé précédemment les étamines sont insérées en spirale sur le réceptacle floral convexe : on dit alors que l'androcée est polystémone (BACH Tome I, BEZANGER et coll.).

Les anthères sont volumineuses, jaunes, libres et extrorses c'est à dire que les sacs polliniques sont placés à la face inférieure de la feuille staminale. Ce phénomène est plutôt rare chez les Angiospermes (BACH Tome II).

Les étamines extérieures sont sans anthères, on les appelle les staminodes (BONNIER).

### □ Le gynécée

Il est aussi appelé pistil et représente la partie femelle de la plante. Il est formé par les carpelles qui sont dans ce cas plus de 12 (BONNIER, BEZANGER et coll.)

Un carpelle est constitué de 3 parties :

- le style,
- le stigmaté,
- l'ovaire.

Chez l'anémone pulsatile, les carpelles sont surmontés d'un long style plumeux persistant.

Ce sont des carpelles particuliers caractérisés par la réduction du nombre d'ovaires qui conduit à la présence d'un seul ovule. Dans les carpelles on remarque les traces des ovules abortifs. L'ovule résiduel est 1- tégmenté, anatrope c'est à dire renversé, il a pivoté de 180° à l'intérieur du carpelle. Il est inséré à la base de la cavité ovarienne (BEILLE, EAMES).



Figure 5 : Ovaire de l'anémone pulsatile (EAMES)

Enfin le carpelle de l'anémone pulsatile a une structure particulièrement simple, il est replié sur lui même, ce qui constitue la fermeture du carpelle (METCALFE, CHALK).

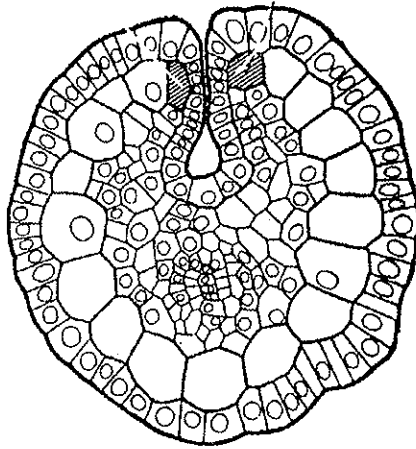


Figure 6 : Coupe d'un carpelle (EAMES)

Le fruit de l'anémone pulsatile est un akène, fruit sec et indéhiscent. Il est surmonté d'un long style plumeux (CRETE, BEZANGER et coll.). Ces akènes sont groupés au sommet de la tige, leur longue arête plumeuse donne l'aspect d'une boule duveteuse (COUPLAIN, STYNNER).

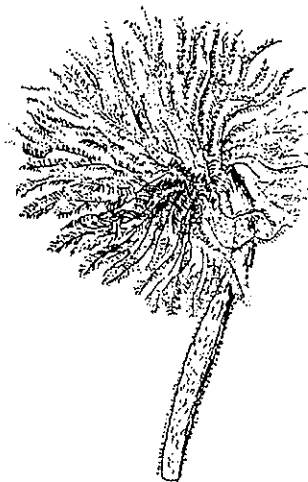


Figure 7: Ensemble des fruits de l'anémone pulsatile (CHADEFAUD, EMBERGER)



La graine a un petit embryon dicotylédoné et possède un albumen volumineux (BEZANGER et coll.).



Figure 8 : Fruit de l'anémone pulsatile (CHADEFAUD, EMBERGER)

### 3. POLLINISATION

Le pollen disséminé hors d'une étamine est en « vie ralentie » et a une longévité de 70 jours environ pour les Renonculacées (CAMEFORT, BOUE).

La pollinisation chez l'anémone pulsatile est entomophile c'est à dire que ce sont des insectes qui disséminent le pollen. Les insectes sont attirés par les vives couleurs du calice et des étamines (BACH Tome I).

De plus, les étamines extérieures se transforment parfois en substances sucrées, bien qu'il n'y ait pas de gouttes de nectar, on voit quelquefois les abeilles plonger leur trompe pour aspirer le liquide sucré : ce sont des insectes pollinophages (BONNIER).

#### 4. HABITAT

L'anémone pulsatile croît sur des sols calcaires. Ainsi on la trouve fréquemment sur des coteaux ensoleillés. Elle ne pousse guère au dessus de 800 m, voire 1200 m au maximum (CLERCK, BONNIER, BEZANGER et coll.).

Dans certains ouvrages, il est précisé que l'anémone pulsatile croît aussi sur le grès et le sable siliceux.

D'un point de vue sociophysiologique, cette plante vit sur des pelouses *Festuco-Bromatea*, en compagnie de *Brometalia*, et sur des pelouses *Geranion Sanguinea* (GUINOCHE, VILMORIN).

#### 5. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Espèce steppique d'origine orientale, l'anémone pulsatile, disséminée dans toute l'Europe méridionale et orientale, est très commune en France sauf dans le nord et dans la région méditerranéenne (PARIS, MOYSE).

Elle est retrouvée fréquemment dans les pelouses thermophiles de Lorraine, de Champagne et des Ardennes (district de l'Eifel occidental), elle est rare dans la Somme.

Elle est présente dans le Centre de la France, dans le Poitou, l'Indre et Loire et le Berry (SOUCHE, LEGRAND).

On la trouve également dans les Cévennes, les Causses (Lozère, Aveyron, Larzac), l'Auvergne et les Pyrénées (SAULE, BERNARD).

En Suisse, elle n'est pas très répandue, en Belgique, elle est très rare sauf dans les régions houillères et jurassiques.

Elle est également présente hors d'Europe notamment en Sibérie (BONNIER).

## 6. CULTURE

L'anémone pulsatile aime les terrains calcaires et crayeux, les lieux élevés et battus par le vent. Cependant, elle réussit volontiers dans les terrains légers et sains, argilo-siliceux ou silico-calcaires. Les graines doivent être semées d'avril à juillet, soit en terrines, soit en pépinières, soit en terre de bruyère grossièrement concassée et à une exposition ombragée.

Les plants en pots bien drainés, sont repiqués puis couverts par des panneaux en hiver. Ils sont plantés au printemps et les pieds sont espacés de 20 cm. Ils sont multipliés très fréquemment par la division des souches qui peut se faire très facilement en automne mais de préférence au printemps avant leur entrée en végétation.

En été, lorsque les feuilles sont sèches, les jeunes tubercules délicats seront sortis de terre et après les avoir soigneusement nettoyés et séchés ils seront conservés dans un endroit sec. (VILLMORIN, BEZANGER et coll., VALARDI).

## 7. RECOLTE

La partie utilisée est la plante entière fleurie. La récolte doit se faire au début de la floraison c'est à dire de mars à juin. On récolte les parties aériennes, notamment les fleurs. En pharmacie c'est la plante fraîche qui est utilisée. Il faut avoir soin de ne pas arracher les racines pour assurer la multiplication de la plante (PARIS, PERROT, BEZANGER et coll.).

La dessiccation se fait rapidement, soit en bouquets, soit en vrac et sans soins particuliers mais la plante sèche a perdu la plupart de ses propriétés. Elle est facilement détériorée par les insectes (FOURNIER).

## 8. DIAGNOSE DE LA DROGUE

### 8.1. Caractères microscopiques de la drogue

La drogue se présente sous forme d'une poudre grossière, de couleur verte avec des morceaux cylindriques durs et bruns correspondant à la hampe florale. On note également la présence de rares fragments d'akènes plumeux car chaque plant d'anémone pulsatile donne plusieurs fleurs dont l'épanouissement est étalé (BESSE BERGIER).

### 8.2. Teneur en eau

5 g de drogue fraîche broyée, sont desséchés par une source à infrarouge à 100°C. La prise d'essai est placée sur une plaque d'aluminium à 5 cm de la source de chaleur. Ainsi par cette méthode gravimétrique, on constate que la drogue contient 70% d'eau.

### 8.3. Caractères organoleptiques et essais de l'alcoolature d'anémone pulsatile

Les essais se font sur l'alcoolature d'anémone pulsatile, car c'est la forme la plus utilisée en médecine. L'alcoolature est préparée à partir des plantes fraîches. D'après QUEVAUVILLER les principes chimiques sont plus actifs quand la plante est fraîche que quand elle est sèche. En effet, il semble que les principes actifs soient plus ou moins détruits par la dessiccation.

### 8.3.1. Caractères de l'alcoolature

C'est une alcoolature d'aspect liquide de couleur jaune verdâtre. Elle a une odeur fortement alcoolique et un goût piquant ( BESSE BERGIER).

### 8.3.2. Titre alcoolique

Pour déterminer le titre alcoolique de l'alcoolature, c'est la méthode du Formulaire National qui est utilisée.

L'alcoolature d'anémone pulsatile a un titre alcoolique de 65°.

### 8.3.3. Résidu sec

Le résidu sec est déterminé à partir de la méthode générale du Formulaire National au bain marie et à l'étuve. La prise d'essai est de 5 g. Après évaporation pendant 3 heures à l'étuve à 100°C, le résidu sec de l'alcoolature d'anémone pulsatile est de 2,5 g.

### 8.3.4. Densité

La mesure est faite à l'aide d'un pycnomètre, d'après la méthode du Formulaire National. La densité de l'alcoolature d'anémone pulsatile à la température ambiante (20°C) est de 0,833.

### 8.3.5. Réactions de caractérisation

Les réactions de coloration et de précipitation sur l'alcoolature d'anémone pulsatile peuvent être réalisées avec les réactifs suivants (BESSE BERGIER) :

- l'eau : trouble vert
- le perchlorure de fer : noir
- KOH : vert jaune ( précipité)
- $\text{NH}_4\text{OH}$  : vert jaune
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  : vert jaune
- $\text{HNO}_3$  : vert jaune
- la liqueur de Felhing : coloration réduite

## 9. CONCLUSION

L'anémone pulsatile appartient à la famille des Renonculacées. C'est une plante herbacée avec une fleur sépaloïde d'un bleu lilas ou violet, et un akène avec un long style plumeux comme fruit.

La plante entière est couverte de poils soigneux.

Les parties aériennes sont récoltées au début de la floraison pour l'herboristerie (PHARMACOPEE 8<sup>ème</sup> édition).

C'est une plante largement répandue en France sauf au Nord et en région méditerranéenne, mais malheureusement c'est une plante qui tend à disparaître. Ainsi elle est devenue une espèce protégée dans la Somme et dans le Poitou. Dans les autres régions il n'y a pas encore d'arrêté de protection (CHAUVET).

## IV ETUDE CHIMIQUE

### 1. INTRODUCTION

Depuis le 18<sup>ème</sup> siècle, de nombreux auteurs se sont intéressés à la composition chimique de l'anémone pulsatille.

Les principes actifs isolés appartiennent à des groupes chimiques divers qui sont :

- des composés lactoniques, groupe majeur chez l'anémone pulsatille avec entre autre la ranunculine, la protoanémone, l'anémone, toutes les trois responsables des propriétés irritantes de la plante,
- des composés polyphénoliques,
- des saponines,
- des glucides,
- des acides organiques.

Nous allons donc analyser les propriétés physico-chimiques, les techniques d'isolement, les moyens d'identification et de synthèse de tous ces composés d'après les travaux des scientifiques accomplis dans ce domaine.

### 2. LES CORPS LACTONIQUES

#### 2.1. Introduction

Les principaux corps lactoniques de l'anémone pulsatille sont la ranunculine, la protoanémone, l'anémone et une génine.

Les premières investigations sur les corps lactoniques furent entreprises par Heyer en 1771, qui avait mis en évidence l'anémone (FOURNIER).

Ensuite, deux auteurs japonais Asahina et Fujita isolèrent, en 1922, la protoanémone, composé le plus vésicant de l'anémone pulsatille.

Puis HILL et VAN HEYNINGEN identifèrent en 1951 la ranunculine, le glucoside précurseur de la protoanémone. En effet, la ranunculine par hydrolyse enzymatique libère la protoanémone, produit très instable qui par dimérisation donne l'anémone.

Enfin HELLSTROM et AAMISEEP isolèrent par action de l'émulsine sur la ranunculine une génine lactonique différente de la protoanémone.

## 2.2. Rappels sur les lactones

Ces composés dérivent des acides hydroxylés (acides alcools et acides phénols ) par perte d'une molécule d'eau intramoléculaire. Ce sont donc des esters internes d'acides hydroxylés.

Ces substances, avant que leur structure ne soit connue, étaient rangées dans les « principes amers » responsables de l'amertume des drogues qui les renfermaient.

Ces lactones sont stables en solution aqueuse, alors qu'en milieu alcalin l'anneau lactonique s'ouvre et l'on obtient les sels de l'acide hydroxylé correspondant. Par ailleurs, les lactones non saturées sont instables et ont des propriétés réductrices (réduction du nitrate d'argent ammoniacal). C'est le cas des lactones de l'anémone pulsatile (PARIS, MOYSE ).

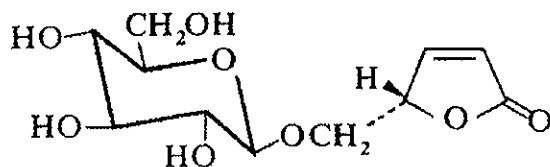
## 2.3. La ranunculine

### 2.3.1. Propriétés physico-chimiques

La ranunculine est le glucoside du 5 - méthylène - 2 - oxodihydrofurane, de formule brute  $C_{11}H_{16}O_8$  et de poids moléculaire 276,2.



La formule développée est la suivante :



Sa répartition atomique est C = 47,8 % , H = 5,8 % et O = 46,3 % .

La ranunculine est un solide sous forme de cristaux incolores, rectangulaires, parfois allongés, dont 1 g se dissout dans 0,7 ml d'eau.

Cette substance fond à 141°C donnant un liquide incolore, ce point de fusion diminue en présence de traces d'eau. Elle se décompose à 250°C.

La ranunculine est très soluble dans l'eau, peu soluble dans le méthanol froid et pratiquement insoluble dans l'éthanol froid, le chloroforme et l'éther.

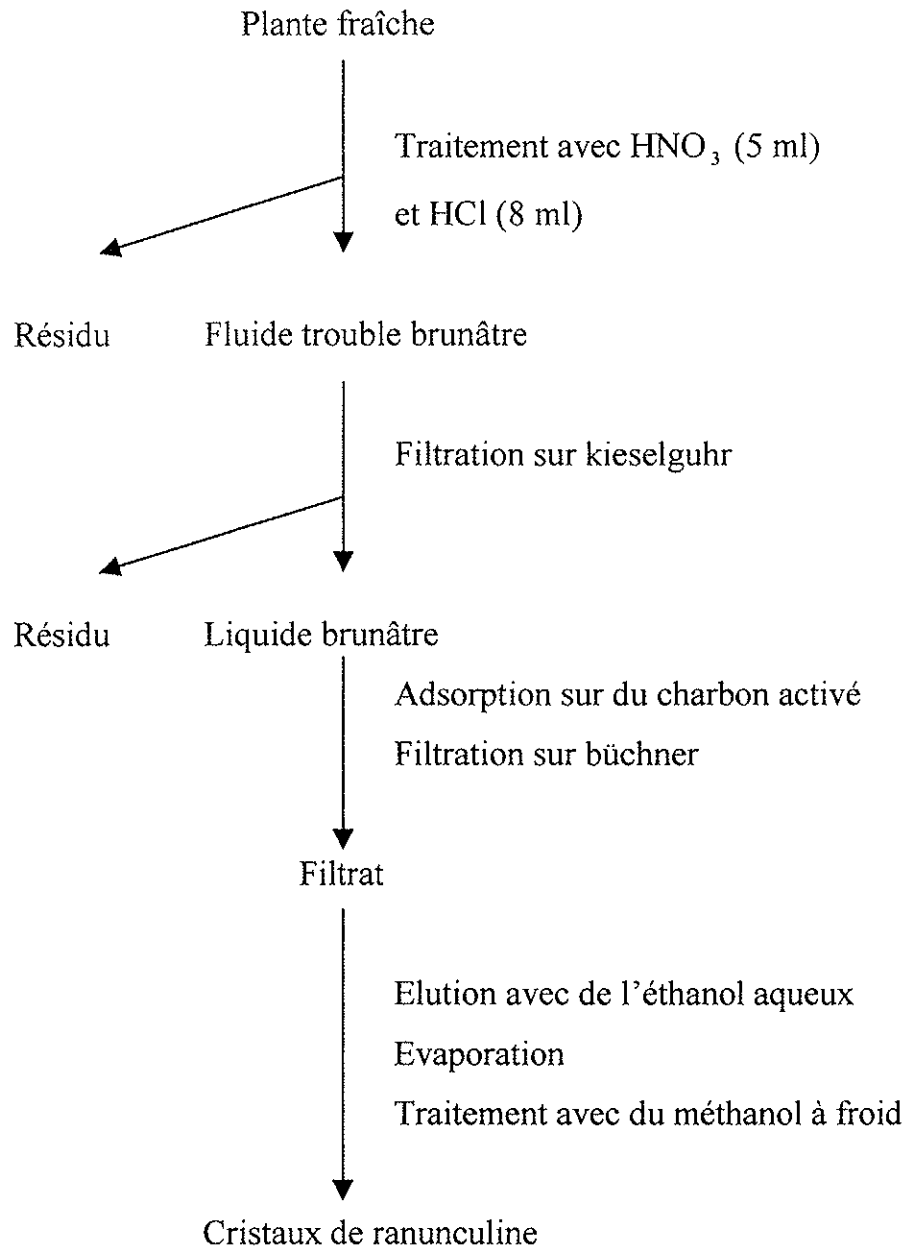
Elle est stable en milieu acide mais par contre en milieu alcalin, elle se décompose en protoanémonine et glucose (THE MERCK INDEX).

### 2.3.2. Isolement de la ranunculine

#### 2.3.2.1. Méthode de HILL et VAN HEYNINGEN (1951)

La plante fraîche est détruite avec de l'acide nitrique et de l'acide chlorhydrique concentrés. Le liquide brunâtre obtenu est filtré et adsorbé sur du charbon actif. Le filtrat est élué avec de l'éthanol aqueux, évaporé et traité avec du méthanol pour donner les cristaux de ranunculine, cela en 15 jours.

Le rendement de cette extraction est de 0,83 % . Il s'agit en fait d'une moyenne obtenue à partir de différents échantillons.

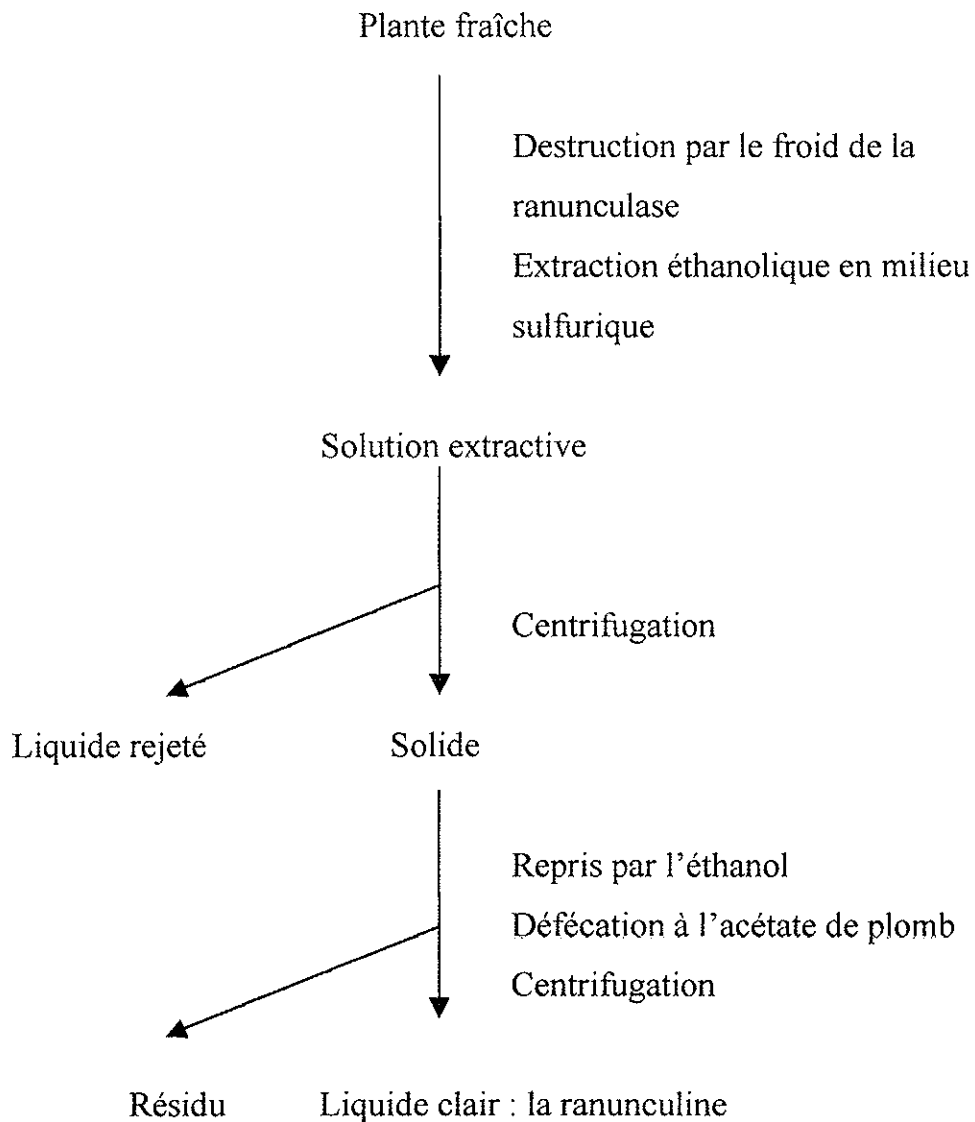


### 2.3.2.2. Méthode de Ruijgrok (1963)

Ruijgrok a établi une méthode d'extraction qui consiste à provoquer une destruction par le froid de l'enzyme responsable de l'hydrolyse de la ranunculine et appelée la ranunculase.

La ranunculine est ensuite extraite avec de l'éthanol acidifié, puis centrifugée. Le résidu est repris par de l'alcool et traité par de l'acétate de plomb.

Après centrifugation et élimination du culot on obtient un résidu clair correspondant à la ranunculine (DURAND).

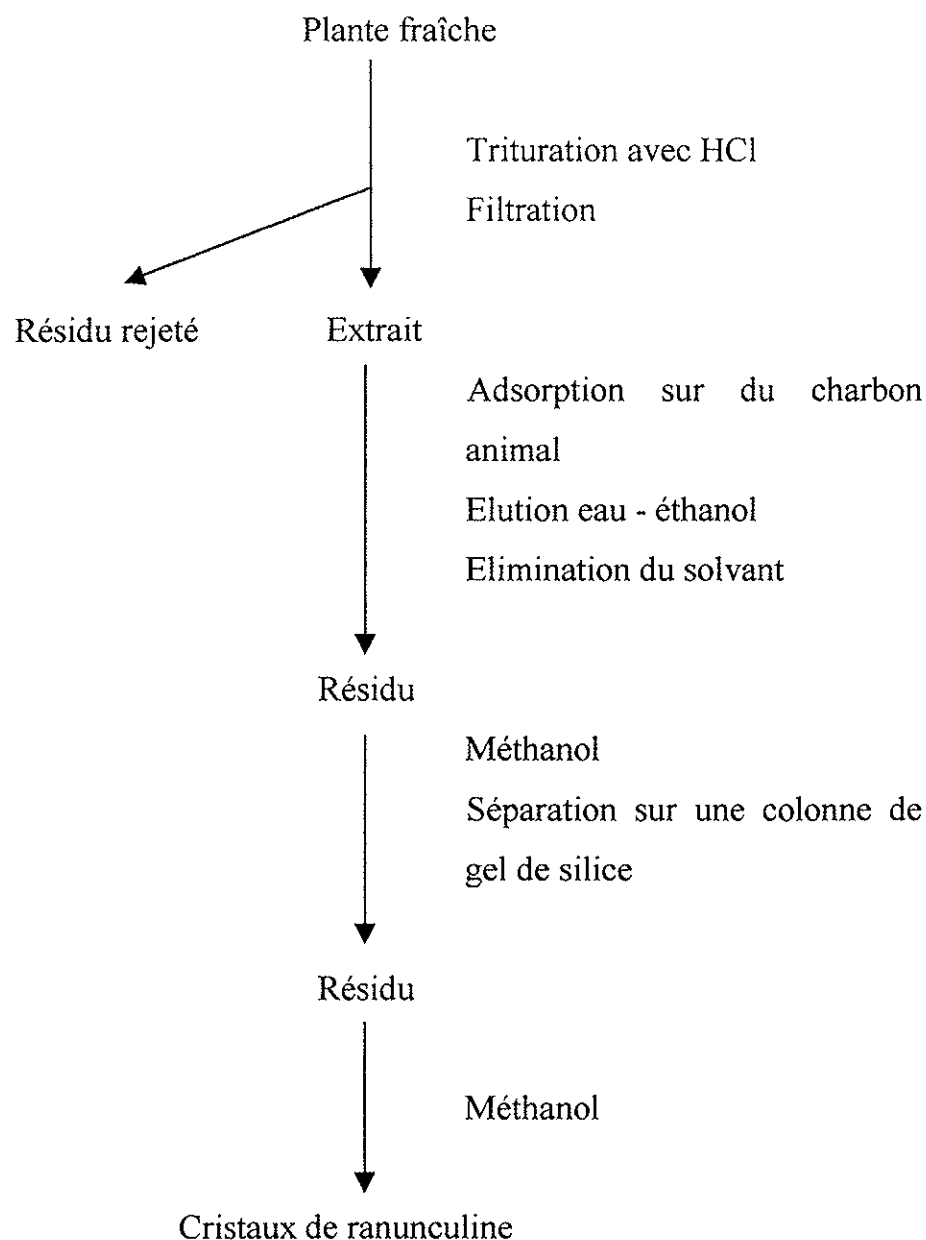


### 2.3.2.3. Méthode de FONT et PASCUAL (1966)

La plante fraîche est triturée avec de l'acide chlorhydrique qui détruit les enzymes sans hydrolyser le glucoside. L'extrait obtenu par filtration est adsorbé sur du charbon animal, puis élué avec de l'éthanol aqueux et ensuite concentré. Le résidu obtenu est traité par du méthanol puis séparé à travers une colonne de

gel de silice. Les produits isolés sont repris par du méthanol pour donner des cristaux de ranunculine.

Le rendement de cette méthode est de 0,23 % .

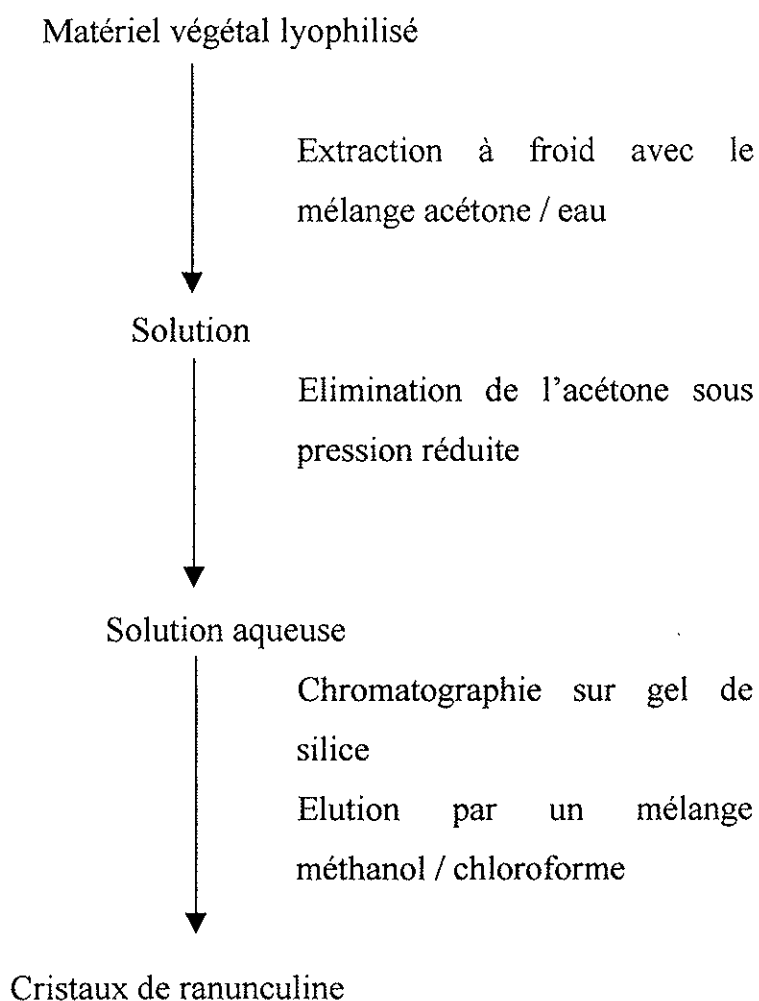


#### 2.3.2.4. Méthode de CAMPBELL, CRAGG et POWRIE (1978)

Le matériel végétal lyophilisé est extrait avec un mélange acétone - eau (1 : 1 ; V/V). Après évaporation de l'acétone, on obtient un sirop épais qui est

chromatographié sur gel de silice. L'élution dans du méthanol et du chloroforme donne un résidu à l'apparence de gomme qui au bout d'un certain temps cristallise en ranunculine.

Le rendement obtenu est de 0,10 %, mais il s'agit de la ranunculine avec l'aspect de gomme et non sous forme de cristaux comme c'est le cas pour les autres méthodes.

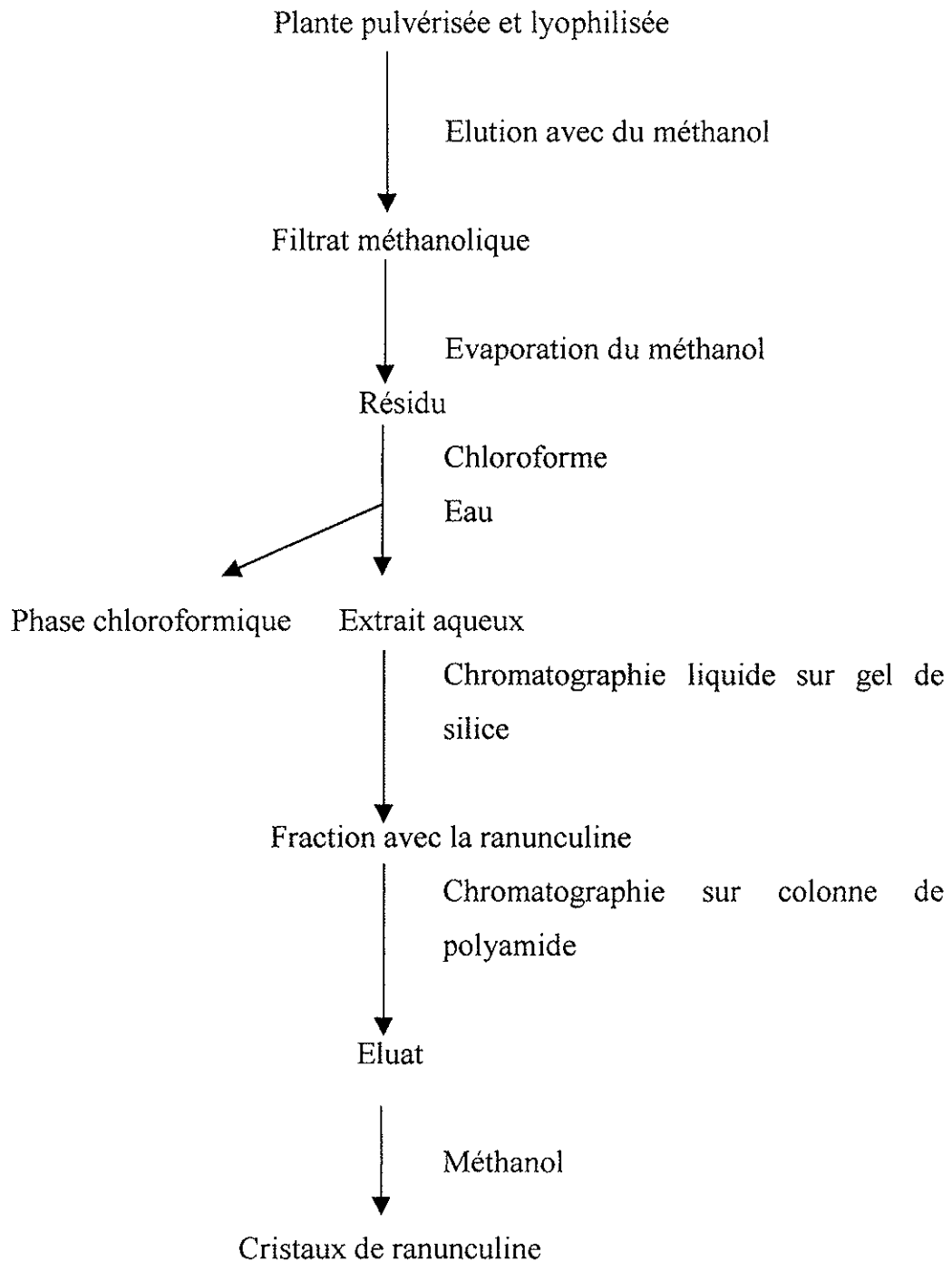


#### 2.3.2.5. Méthode de BAI, BENN, MAJAK et McDIARMID (1996)

La plante est pulvérisée puis lyophilisée et ensuite éluee avec du méthanol jusqu'à ce que le filtrat soit incolore. Après évaporation du méthanol, le produit

obtenu subit un partage liquide-liquide entre le chloroforme et l'eau. La partie aqueuse est lavée avec du chloroforme puis concentrée. Après évaporation du solvant, le résidu subit deux chromatographies. L'éluat est traité avec du méthanol et donne ainsi les cristaux de ranunculine.

Le rendement obtenu est de 0,37 %.



Parmi toutes ces méthodes d'isolement, il semblerait que la plus intéressante au niveau rendement soit celle de HILL et VAN HEYNINGEN (rendement 0,83%) . Pour les autres méthodes les rendements sont voisins et compris entre 0,10 et 0,37 %. La méthode de HILL et VAN HEYNINGEN, assez simple comme technique, est beaucoup plus longue en durée que les autres car les cristaux se forment en 15 jours.

Toutes ces méthodes, sauf celles de CAMPBELL et coll. et de BAI et coll. commencent, à partir de la plante fraîche, par une étape de destruction de la ranunculase grâce à un acide. Les deux autres méthodes partent de la plante lyophilisée avec comme solvant le méthanol. Elles utilisent ensuite des techniques chromatographiques pour séparer la ranunculine des autres composés. Les techniques d'extraction ne faisant pas appel à des chromatographies utilisent soit le charbon animal, soit l'acétate de plomb pour éliminer certains composés indésirables. Enfin, pour toutes ces méthodes , l'obtention de la ranunculine est la cristallisation de ce composé dans du méthanol.

En ce qui concerne les méthodes d'identification de la ranunculine, elles deviennent de plus en plus précises au fil des années. En effet, l'identification de HILL et VAN HEYNINGEN se faisait avec le point d'ébullition, alors que celle de BAI et coll. se fait avec le spectre de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

### 2.3.3. Réactions chimiques de la ranunculine

#### 2.3.3.1. Propriétés réductrices

La ranunculine réduit à chaud la solution ammoniacale de nitrate d'argent et la liqueur de Felhing car il y a présence de glucose (DURAND).

### 2.3.3.2. Réaction avec les alcalis

HILL et VAN HEYNINGEN ajoutent à une solution concentrée de ranunculine, de l'hydroxyde de sodium. La ranunculine se décompose alors en glucose et protoanémone. Cette réaction permet la mise en évidence de la fonction lactone que l'on retrouve dans la protoanémone.

### 2.3.4. Identification de la ranunculine

#### 2.3.4.1. Activité optique

La ranunculine est lévogyre, son pouvoir rotatoire est  $[\alpha]_D^{20} = -80,7^\circ$  avec 0,417 g de ranunculine dans 25 ml d'eau, la longueur  $l$  du trajet dans la solution est de 20 cm (HILL, VAN HEYNINGEN).

#### □ Modification du pouvoir rotatoire selon les milieux

- Milieu acide

Le pouvoir rotatoire de la ranunculine reste inchangé en présence d'acide chlorhydrique à + 20 °C. Mais lorsque la température augmente à + 95°C, le pouvoir rotatoire  $[\alpha]$  passe à +12 ° (HELLSTROM, AAMISEPP).

- Milieu basique

Le pouvoir rotatoire de la ranunculine change lorsqu'elle est dans un milieu basique avec de l'hydroxyde de sodium. Cela s'explique par le fait qu'en présence d'alcalis, la ranunculine est instable et se décompose en glucose et



protoanémone comme nous l'avons déjà cité précédemment (HELLSTROM, AAMISEPP).

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant.

Milieu	Temps	Pouvoir rotatoire
Sans NaOH	t = 0	- 80,7 °
Avec NaOH	t = 0	+ 18,4 °
	t = 30 min	+ 20 °

Tableau 1 : Variation du pouvoir rotatoire de la ranunculine en milieu basique

#### 2.3.4.2. Chromatographie papier

Ruijgrok a séparé la ranunculine par une chromatographie papier à l'aide d'un système de solvant : butanol - éthanol - eau (7 :2 :2 ; V/V/V). Le spot de la ranunculine a un  $R_f$  de 0,3 . La ranunculine est identifiée grâce à deux réactions (BESSE BERGIER).

##### □ Réaction de Kedde

Un mélange éthanolique d'acide 3 - 5 dinitrobenzoïque et de soude alcoolique (1N) donne avec la ranunculine des tâches violet rose qui s'intensifient à l'air chaud.

##### □ Réaction de Legal

Un mélange de nitroprussiate de sodium et de soude alcoolique (1N) donne avec la ranunculine des tâches rouge violacé qui virent au violet par vaporisation d'acide acétique à 30 %.

## 2.3.4.3. Spectre ultraviolet

La ranunculine a un spectre UV simple avec un maximum à 210 nm.

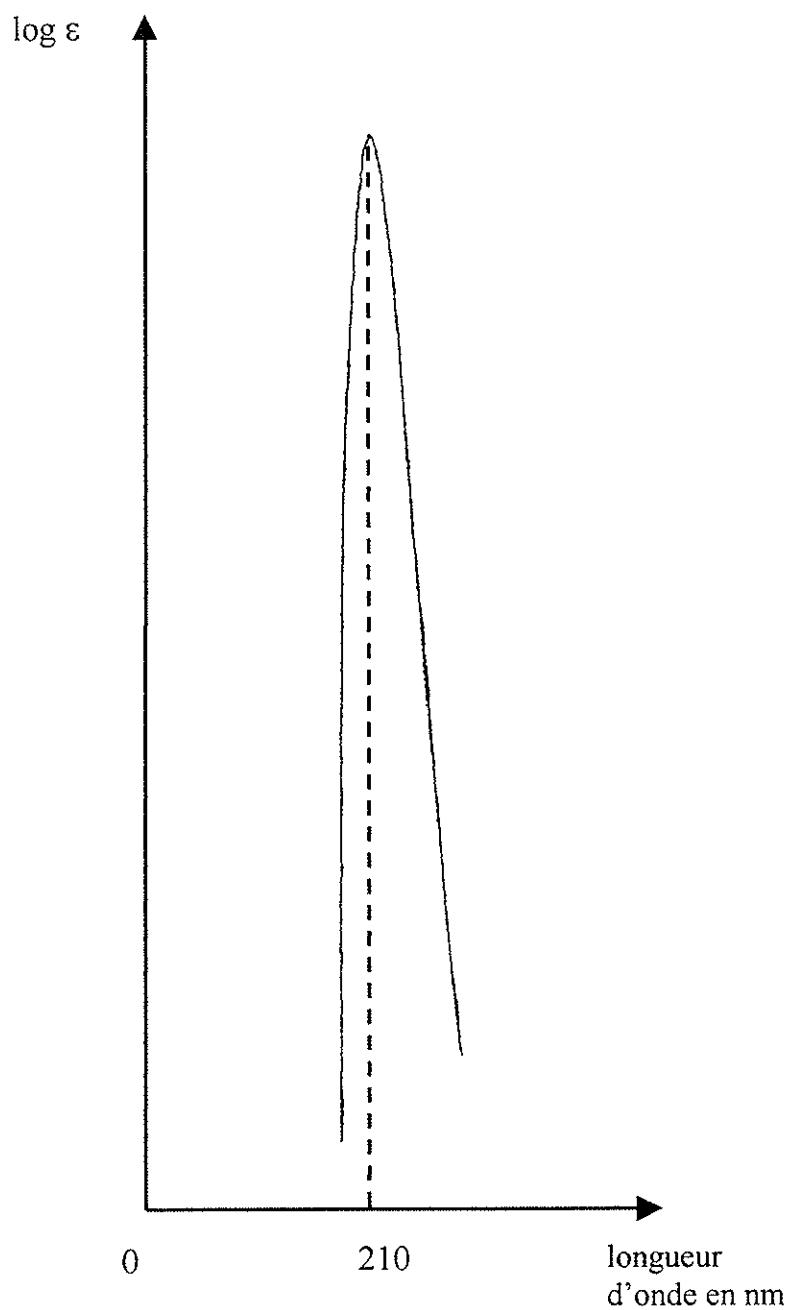


Figure 9 : Spectre UV de la ranunculine (HELLSTROM, AAMISEPP)

□ Modification du spectre UV selon les milieux

• Milieu acide

Dans un milieu, avec de l'acide chlorhydrique, le spectre UV de la ranunculine présente en plus du maximum à 210 nm un autre maximum à 280 nm (HELLSTROM, AAMISEPP).

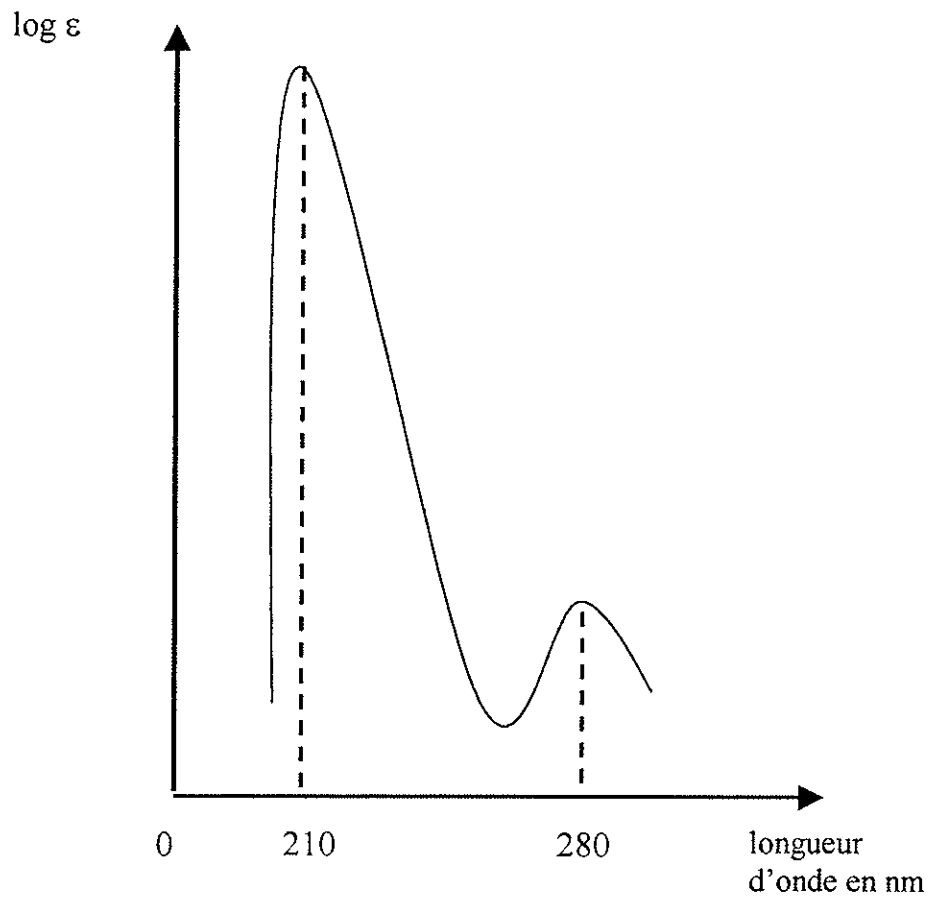


Figure 10 : Spectre UV de la ranunculine en milieu acide (HELLSTROM, AAMISEPP)

- Milieu basique

Le spectre UV de la ranunculine est modifié en présence d'hydroxyde de sodium, le maximum à 210 nm a disparu (HELLSTROM, AAMISEPP). Ceci est dû à l'ouverture de la fonction lactone en milieu basique.

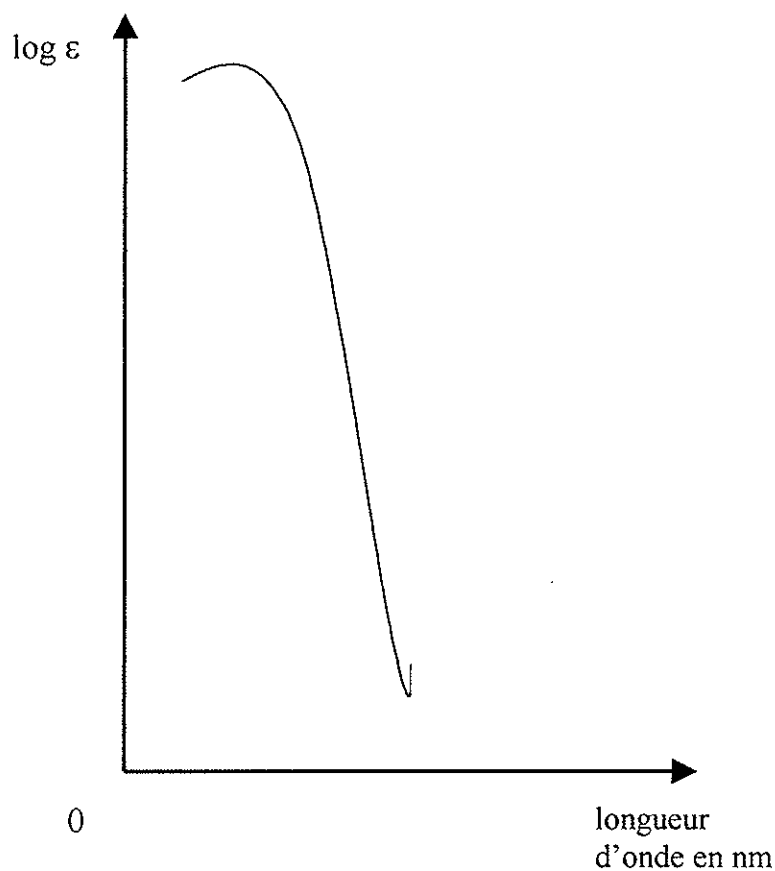


Figure 11 : Spectre UV de la ranunculine en milieu basique (HELLSTROM, AAMISEPP)

#### 2.3.4.4. Spectre Infrarouge

Ce spectre se caractérise par des maxima à 3480, 3420, 3310  $\text{cm}^{-1}$  dus aux fonctions hydroxyles du glucose, et un maximum à 1760  $\text{cm}^{-1}$  dû à la fonction lactone.

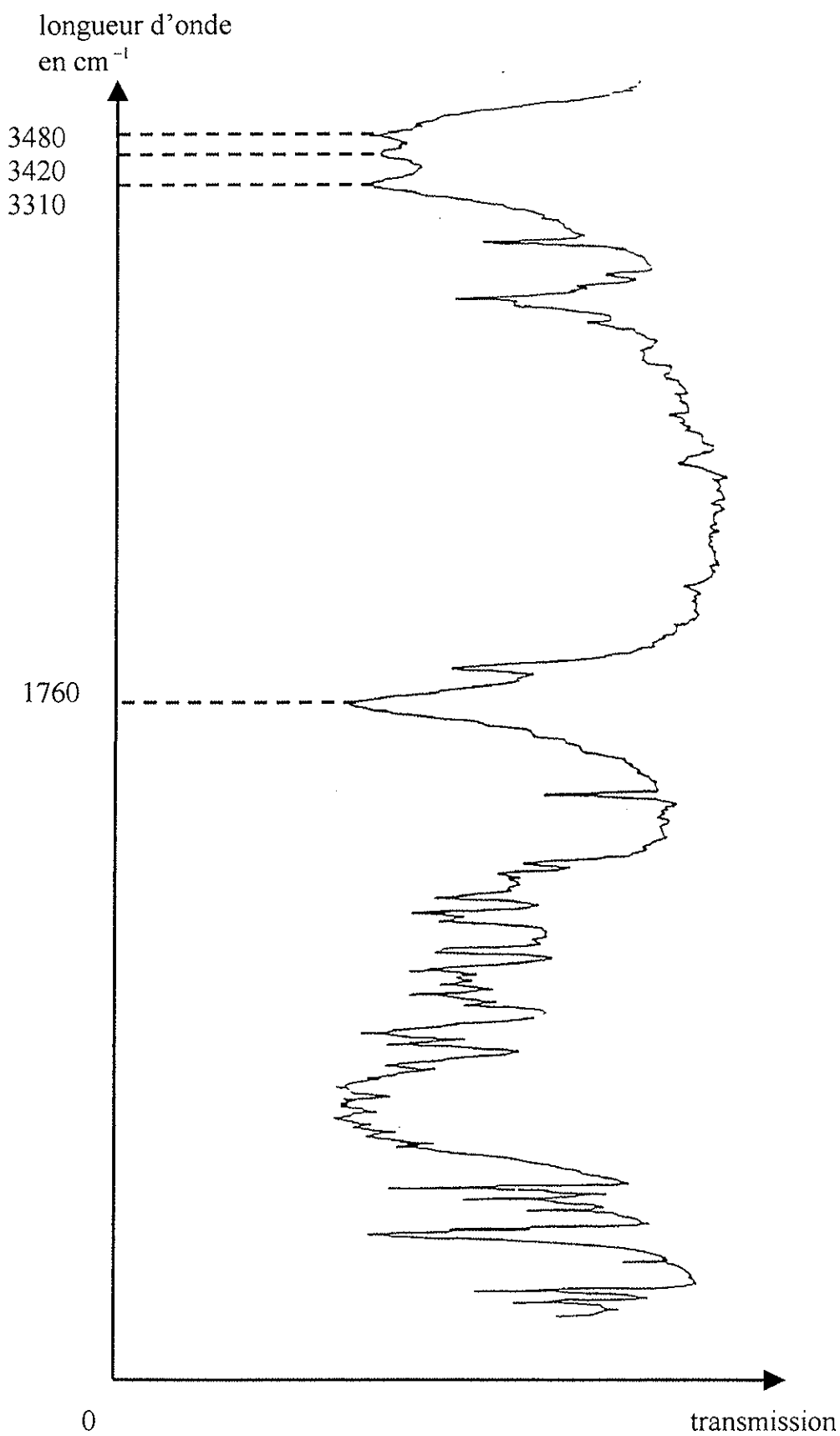


Figure 12 : Spectre infrarouge de la ranunculine (BESSE BERGIER)

### 2.3.5. Synthèse de la ranunculine

La synthèse de la ranunculine fut effectuée pour la première fois par CAMPS et ses collaborateurs en 1982.

Le point de départ de cette synthèse est le D - ribonolactone. Cette molécule doit subir deux transformations :

- une alkylation de la fonction hydroxyle en C<sub>5</sub>,
- une introduction d'une double liaison en C<sub>2</sub>- C<sub>3</sub> par l'élimination des fonctions hydroxyles de ces atomes.

Ces changements se font en plusieurs étapes.

1<sup>ère</sup> étape : Le D - ribonolactone est mélangé avec du triéthyl orthoformate. Des produits volatils sont obtenus et sont éliminés sous pression réduite. Cette réaction permet l'alkylation de la fonction hydroxyle en C<sub>5</sub> et donne naissance au 2,3,O éthoxyméthylène D - ribonolactone.

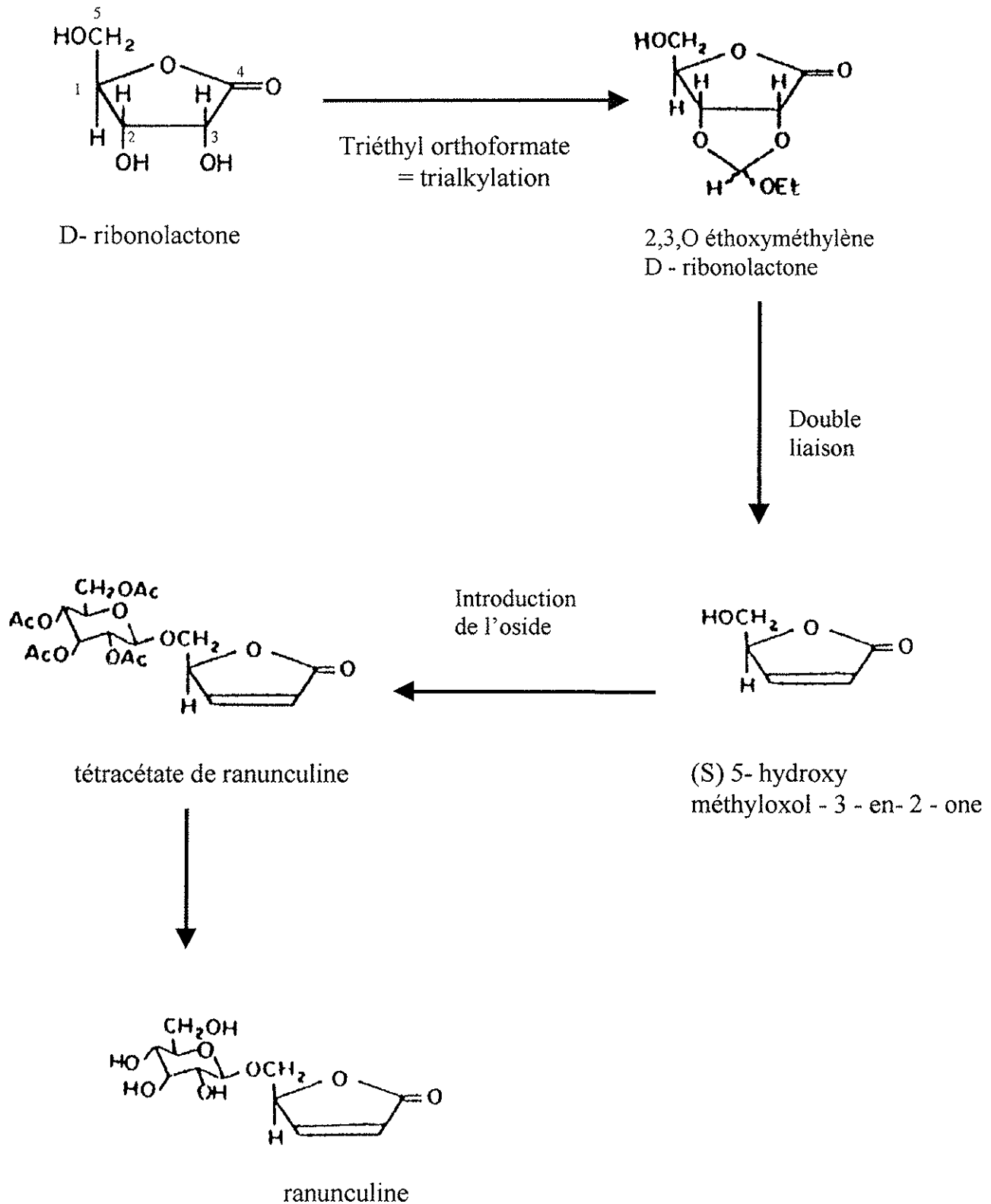
2<sup>ème</sup> étape : Ce composé subit une microdistillation et est chauffé à 220°C sous une pression de 40 bars. Il donne alors du (S) 5 - hydroxyméthylol - 3 - en - 2- one. Cela permet la formation de la double liaison entre C<sub>2</sub>- C<sub>3</sub> .

3<sup>ème</sup> étape : Une solution du produit précédent, protégée de la lumière, est traitée successivement avec de l'oxyde d'argent (Ag<sub>2</sub>O), du sulfate de calcium anhydre, de l'iode, et du bromure de 2,3,4,6 tétra - O - acétyl - α - D glucopyranosyl dans du chloroforme exempt d'éthanol. Après filtration et lavage avec du thiosulfate de sodium (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), le produit obtenu est du tétracétate de ranunculine.

4<sup>ème</sup> étape : Le tétracétate de ranunculine est traité avec du dioxane et de l'acide chlorhydrique. Le produit volatil est enlevé par entraînement à la vapeur sous pression réduite. Le résidu obtenu est desséché avec du diphosphore

pentaoxyde ( $P_2O_5$ ) jusqu'à ce qu'il soit solide. Enfin ce résidu solide subit une cristallisation avec du méthanol, ce qui aboutit à des cristaux de ranunculine.

Le rendement est de 85 %. Les étapes sont représentées ci-dessous :



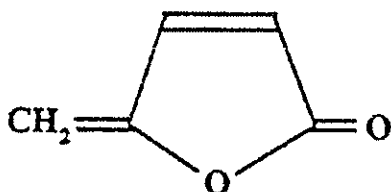
## 2.4. La protoanémonine

La protoanémonine est obtenue à l'état naturel à partir de la ranunculine présente dans la plante. En triturant les tissus de la plante il y a hydrolyse de la ranunculine et cela est dû à une enzyme : la ranunculase.

### 2.4.1. Propriétés physico-chimiques

La protoanémonine est une lactone de l'acide hydroxyvinylacrylique ou 5-méthylène - 2 - oxodihydrofurane, de formule brute  $C_5H_4O_2$  et de poids moléculaire 96,09.

La formule développée est :



Sa répartition atomique est C = 62,50 %, H = 4,20 % et O = 33,33 %.

La protoanémonine se présente sous forme d'une huile jaune pâle volatile. C'est une substance caustique, vésicante, d'odeur âcre qui devient rapidement désagréable.

Le point d'ébullition est de 45°C.

Elle est soluble dans l'eau, le chloroforme, le chlorure d'éthylène, l'éthanol et l'éther. Elle est stable dans une solution aqueuse à 1%.

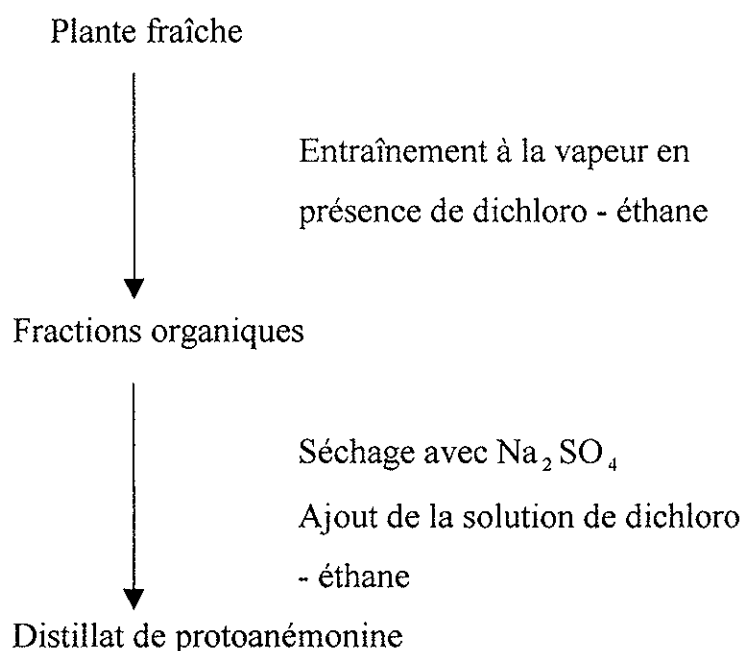
C'est un produit instable qui se polymérise spontanément en un dimère, l'anémonine (THE MERCK INDEX).



## 2.4.2. Isolement de la protoanémone

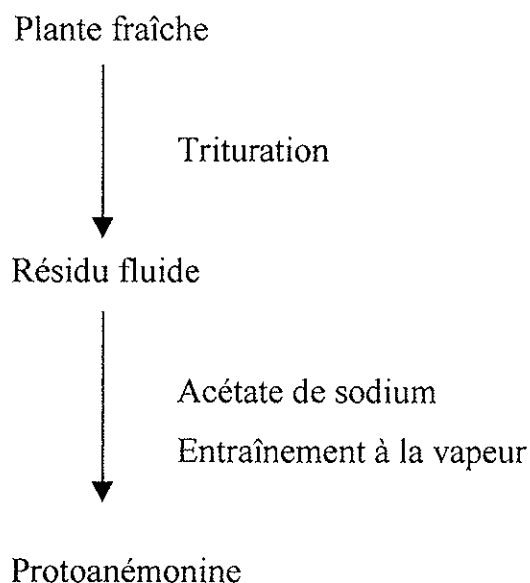
### 2.4.2.1. Méthode de SHAW (1946)

Des distillats de l'anémone pulsatile sont obtenus par entraînement à la vapeur en présence de dichloro - éthane. Les fractions organiques sont séchées avec du sulfate de sodium, puis concentrées pendant 15 minutes. Ensuite on ajoute la solution de dichloro - éthane. On obtient ainsi un distillat de protoanémone.



### 2.4.2.2. Méthode de HILL et VAN HEYNINGEN (1951)

La plante fraîche est triturée dans un mortier. Il se développe alors une forte odeur de protoanémone au bout de 3 à 5 minutes. Le produit ainsi obtenu subit un traitement avec de l'acétate de sodium et la protoanémone est entraînée à la vapeur.

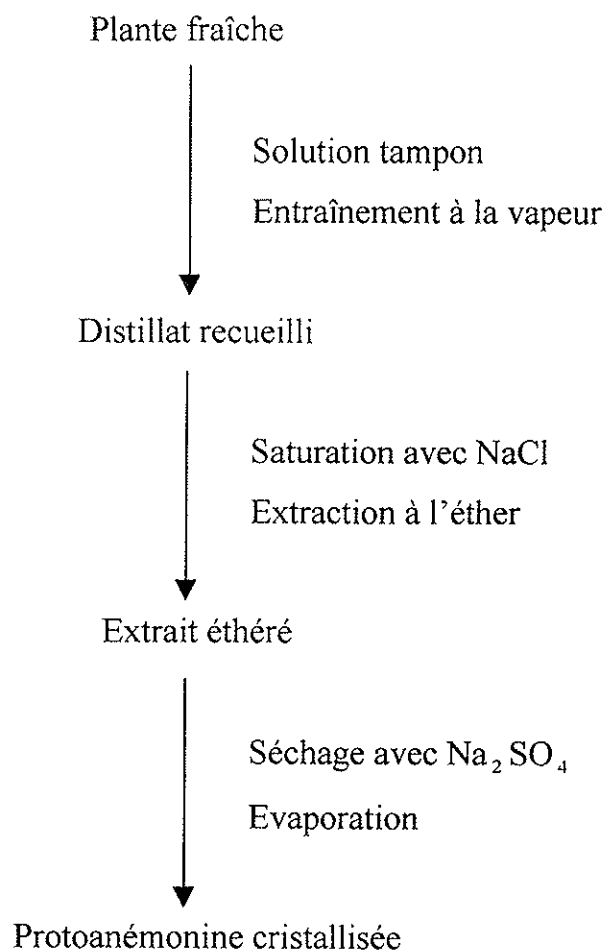


Si la plante est triturée avec de l'acide (  $\text{pH} = 2$  ), la protoanémone ne se développe pas car l'acide a détruit toutes les enzymes. Ainsi, il est montré que la protoanémone est libérée par une action enzymatique à partir de la ranunculine.

Pour ces auteurs, l'enzyme responsable est la ranunculase qui rompt la liaison glucosidique de la ranunculine pour donner de la protoanémone et du glucose.

#### 2.4.2.3. Méthode de Ruijgrok ( 1963 )

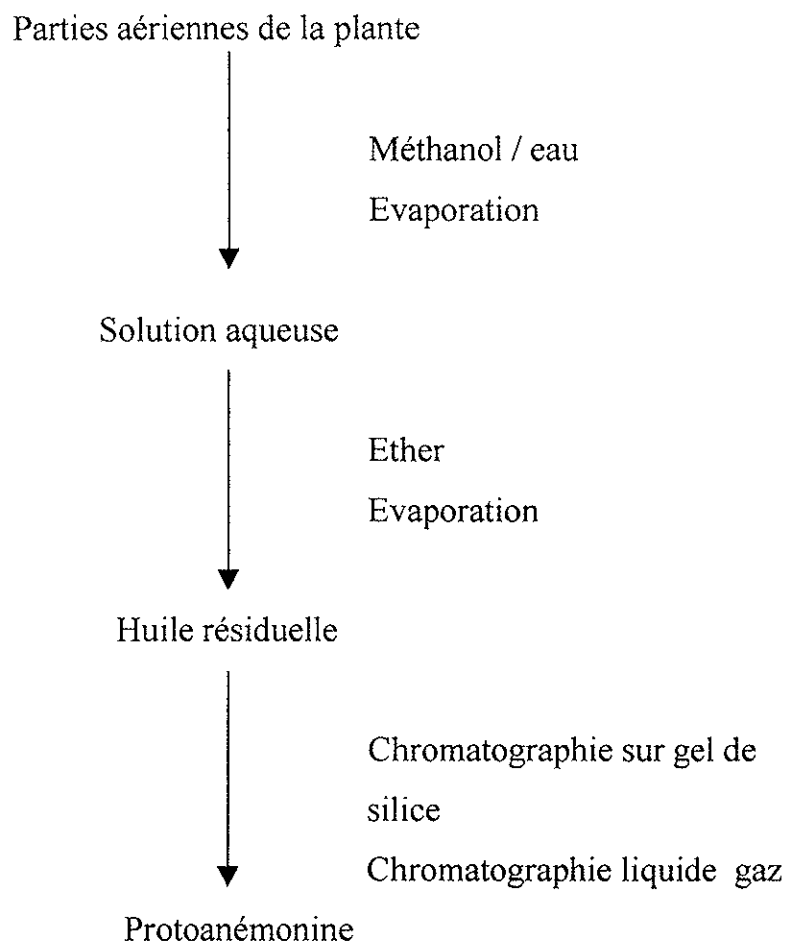
Ruijgrok traite la plante par une solution tampon. Il fait un entraînement à la vapeur d'eau. Le produit obtenu est saturé par du chlorure de sodium puis il subit une extraction par de l'éther qui sera ensuite éliminé par évaporation. On obtient ainsi la protoanémone cristallisée (DURAND).



#### 2.4.2.4. Méthode de MINAKATA, KOMURA, NAKANISKI et KADA (1983)

Ces auteurs utilisent un mélange eau / méthanol pour réaliser une extraction à partir des parties aériennes de la plante. Cet extrait a été concentré sous pression atmosphérique à une température inférieure à 70 °C.

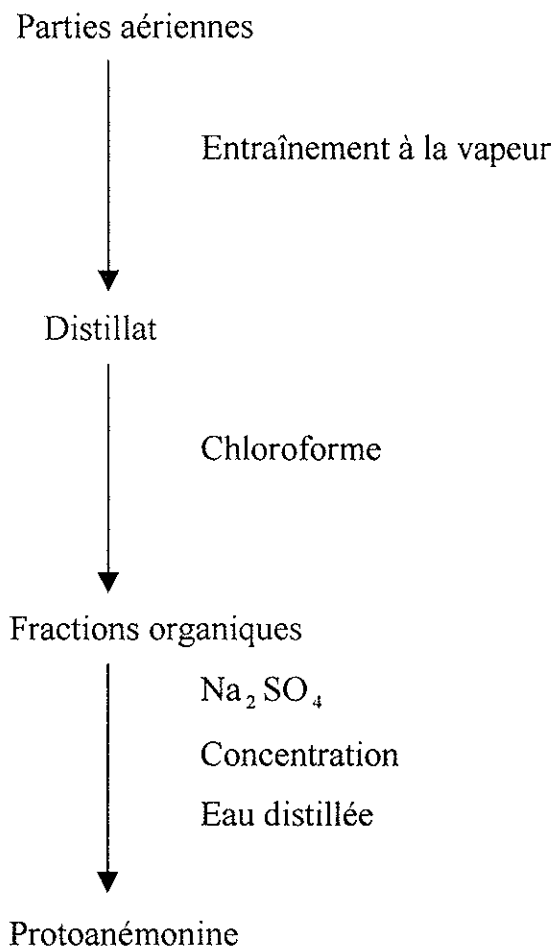
La solution obtenue est extraite par de l'éther. Le solvant est ensuite évaporé et l'huile résiduelle est chromatographiée à travers une colonne de gel de silice avec du chlorure de méthylène. L'éluat est ensuite purifié par une chromatographie liquide gaz à 150 °C. Il apparaît alors la protoanémone.



#### 2.4.2.5. Méthode de DIDRY, DUBREUIL et PINKAS (1991 )

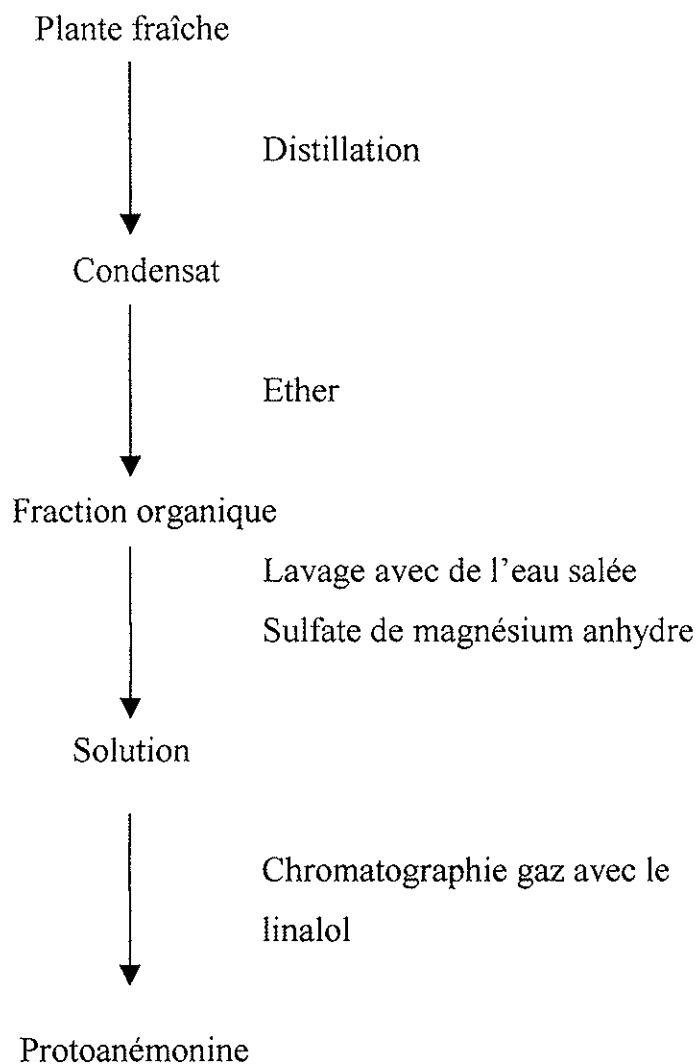
La protoanémonine est obtenue par entraînement à la vapeur des parties aériennes de Renonculacées. Le distillat est agité à 3 reprises avec du chloroforme.

Les fractions organiques, séchées sur du sulfate de sodium sont concentrées sous pression réduite à une température inférieure à 35° C. On reprend le résidu par de l'eau distillée pour aboutir à la formation de protoanémonine.



#### 2.4.2.6. Méthode de SOUTWELL et TUCKER (1992 )

Ces auteurs utilisent la plante fraîche qui est distillée avec de l'eau déminéralisée. Le condensat est extrait par de l'éther et la phase organique est lavée avec de l'eau salée, puis séchée sur du sulfate de magnésium anhydre. Cette solution est mélangée avec du linalol dans l'éthanol, puis subit une chromatographie gaz. La protoanémone est obtenue après élimination du solvant.



Toutes ces méthodes d'isolement sont proches les unes des autres. L'isolement de la protoanémone commence par un entraînement à la vapeur d'eau de la plante car il s'agit d'un produit volatil. Et, dans la plupart des méthodes, la 2<sup>ème</sup> étape qui est identique, consiste à entraîner la protoanémone par de l'éther. HILL, VAN HEYNINGEN et SHAW ne font pas appel à l'extraction par l'éther. Ils ont simplement ajouté de l'acétate de sodium avant d'effectuer l'entraînement à la vapeur d'eau. Cette technique semble la plus simple à réaliser.

Certaines méthodes, les plus récentes, font appel à une chromatographie gaz pour la purification finale de la protoanémone.

Comme conclusion, on peut dire d'une manière générale, que les méthodes d'isolement de la protoanémone sont semblables dans leur déroulement et leur principe.

### 2.4.3. Réactions chimiques de la protoanémone

#### 2.4.3.1. Stabilité

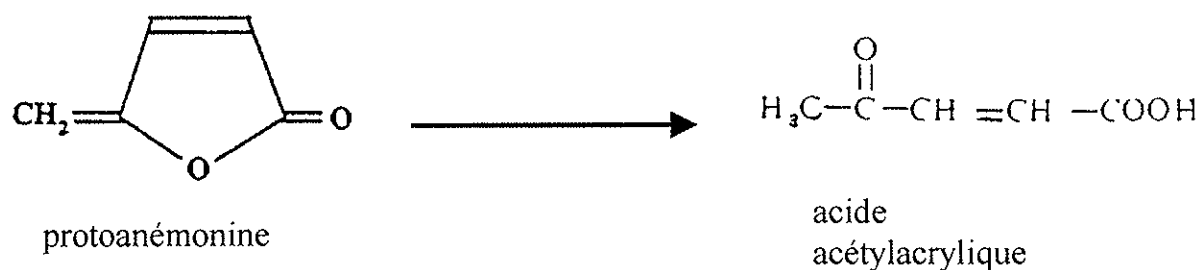
La principale source de perte de la protoanémone est la polymérisation qui peut être évitée par l'addition d'hydroquinone. Cela empêche la formation du dimère de la protoanémone : l'anémone (SHAW).

#### 2.4.3.2. Propriétés réductrices

La protoanémone, en tant que lactone, réduit le nitrate d'argent ammoniacal.

#### 2.4.3.3. Transformation de la protoanémone en acide acétylacrylique

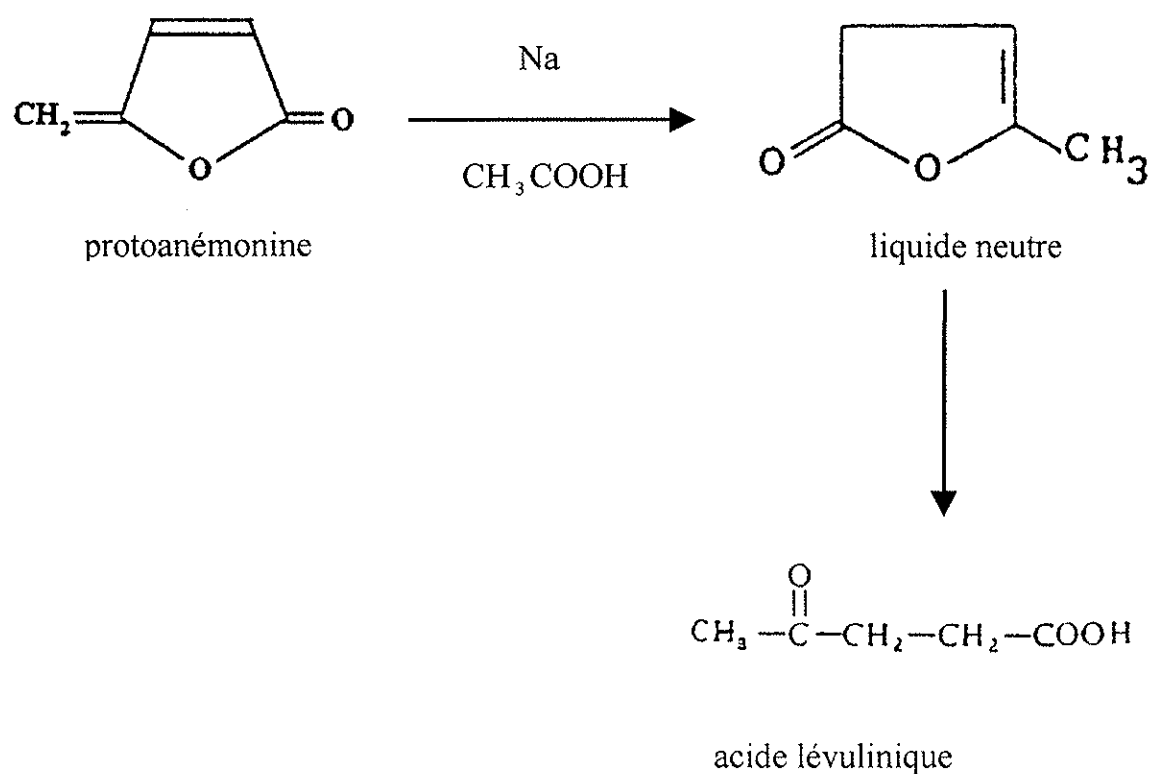
Lorsque la protoanémone se trouve en milieu alcalin, elle se transforme en acide acétylacrylique par ouverture du noyau lactonique (DURAND).



#### 2.4.3.4. Hydrogénation de la protoanémone

Cette réaction fut d'abord effectuée par Asahina et Fujita puis repris par KIPPING.

Quand la protoanémone est réduite dans une solution de méthanol avec de l'amalgame de sodium et de l'acide acétique elle donne un liquide neutre dont le point d'ébullition est de 190° C. Puis ce dernier est traité avec des alcalis, on obtient alors de l'acide lévulinique.





### 2.4.3.5. Réactions de la protoanémonine en tant que substance électrophile

#### □ Réactions avec les thiolates

Cette attirance de la protoanémonine pour des substances nucléophiles permet d'expliquer des mécanismes pharmacologiques de l'anémone pulsatile.

La protoanémonine est traitée avec des thiols. On obtient rapidement un mélange complexe de produits.

La réaction de la protoanémonine avec le propanethiol en présence de propanethiolate de lithium donne 4 produits dérivés (2 lactones et 2 thioesters ) (CALDERON).

#### □ Réaction avec les alkoxides

La protoanémonine réagit lentement dans le méthanol avec le méthoxide pour donner de nombreux composés dont un ester et un buténolide.

Ces deux réactions montrent que la protoanémonine réagit avec des groupes nucléophiles comme les thiols, les alkoxides et possède donc des groupes électrophiles. De plus, il est noté que la protoanémonine est régiosélective au niveau de ces sites électrophiles comme le  $\text{CH}_2$ , la double liaison ou le groupe carbonyle (CALDERON).

## 2.4.4. Identification de la protoanémonine

### 2.4.4.1. Chromatographie papier

La protoanémonine est identifiée, grâce à une chromatographie sur papier Whatman n°1. Le système de solvant est butanol - éthanol - eau (7:2 :2;V/V/V ).

Le réactif utilisé est celui de Kedde, le Rf est 0,89.

#### 2.4.4.2. Spectre ultraviolet

La protoanémonine a un spectre ultraviolet simple avec un maximum à 260 nm.

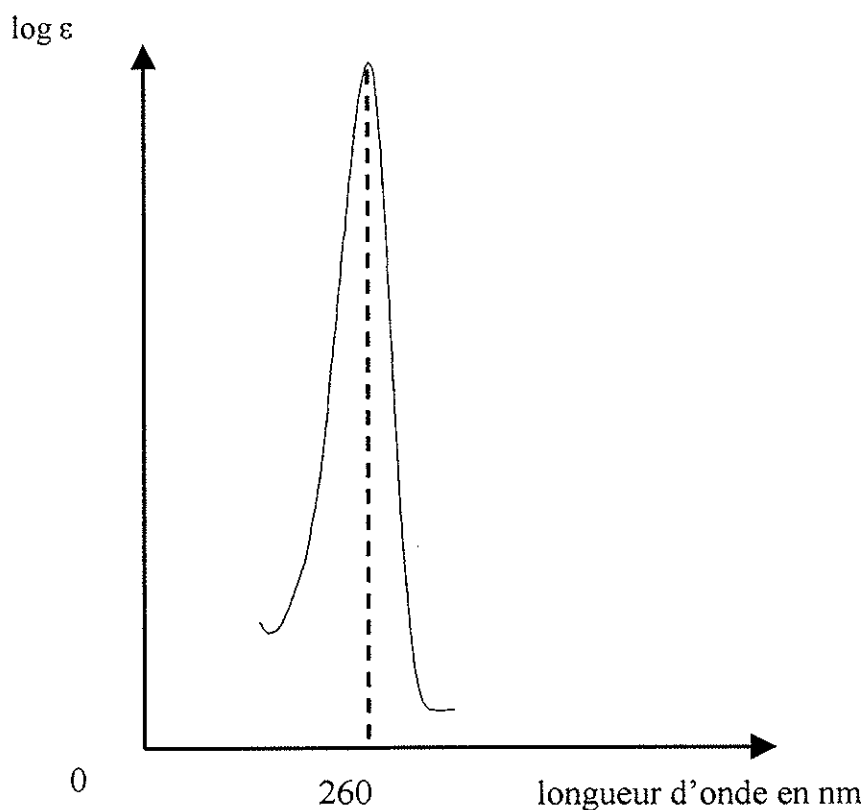


Figure 13 : Spectre ultraviolet de la protoanémonine (BESSE BERGIER)

#### 2.4.4.3. Spectre infrarouge

Le spectre infrarouge de la protoanémonine présente une absorption caractéristique avec des pics à  $1750\text{ cm}^{-1}$  et  $1790\text{ cm}^{-1}$  dus aux fonctions lactones.

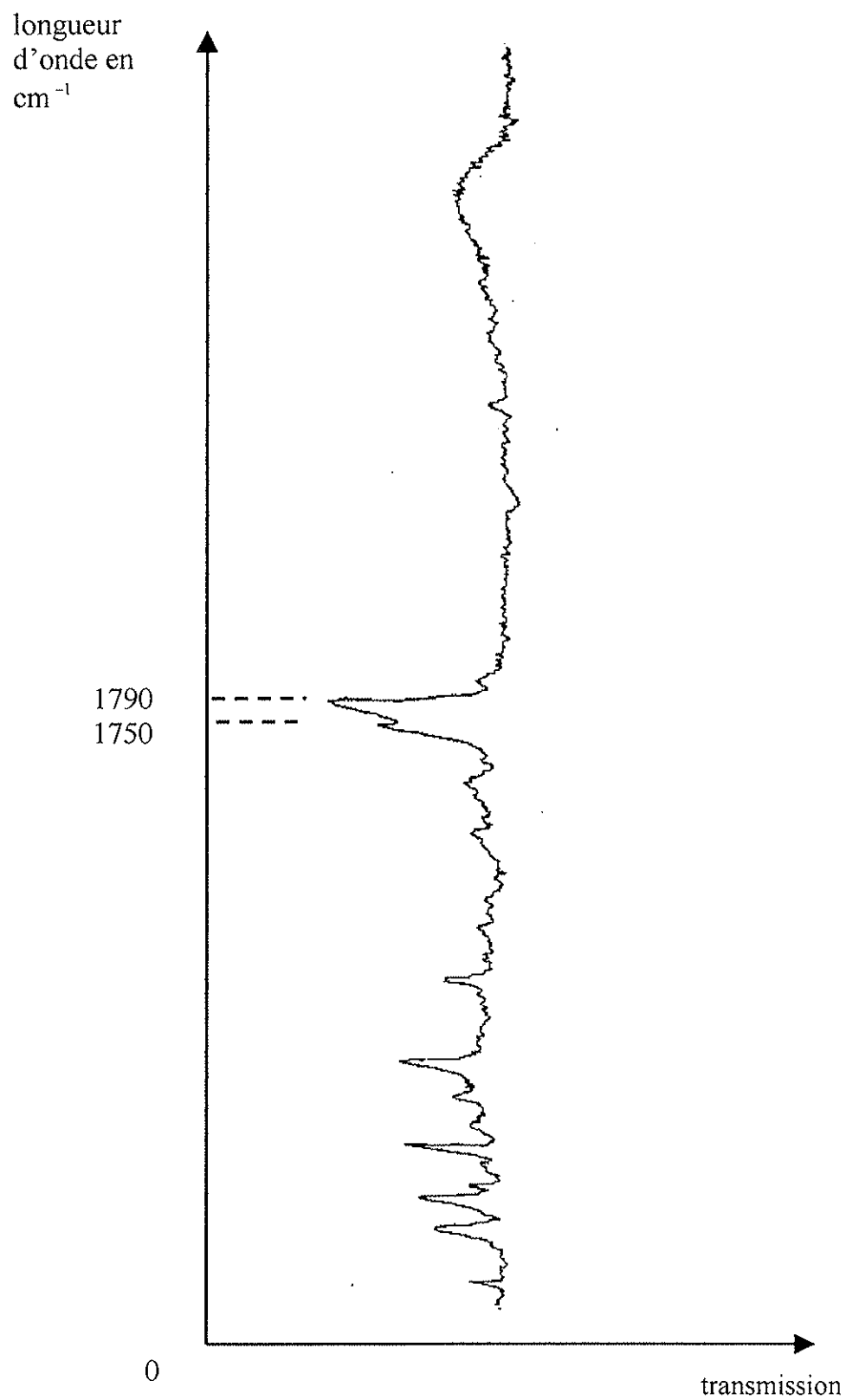


Figure 14 :Spectre infrarouge de la protoanémone (BESSE BERGIER)

#### 2.4.4.4. Réactivité au mercaptoéthanol

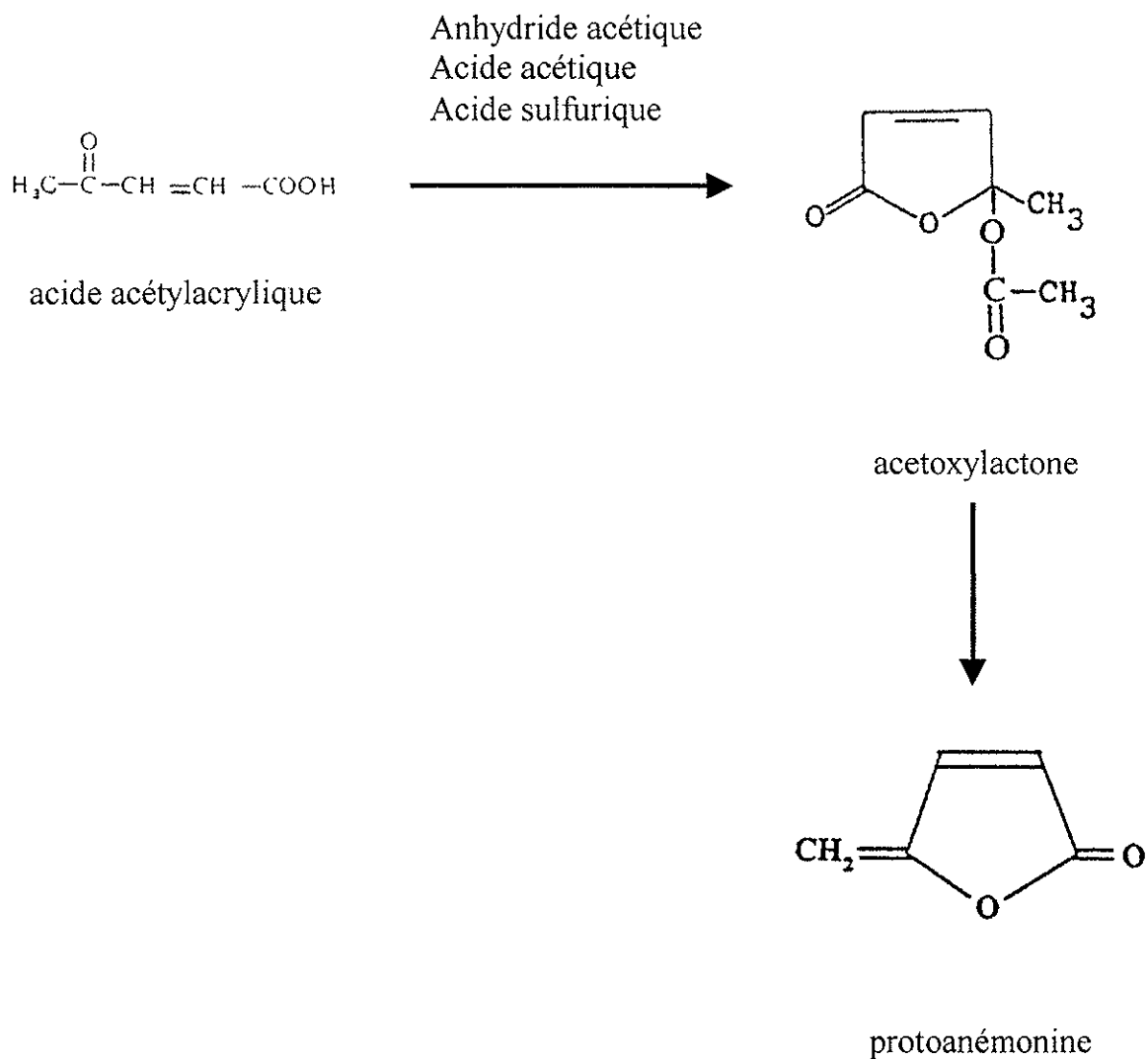
Une solution de protoanémone est mise en contact avec du mercaptoéthanol. Cela entraîne un changement du maximum d'absorption de la protoanémone : de 258 nm, il passe à 220 nm.

Ainsi, comme on l'a déjà vu précédemment, il est montré que les lactones réagissent avec les thiols comme le mercaptoéthanol contenant un groupement SH (BONORA et coll.).

#### 2.4.5. Synthèse de la protoanémone

##### 2.4.5.1. Méthode de SHAW ( 1946)

La synthèse commence en chauffant de l'acide acétylacrylique diluée avec de l'anhydride acétique, de l'acide acétique glacial et de l'acide sulfurique dans un flacon Erlenmeyer. Puis, du bicarbonate de sodium est ajouté en excès pour arrêter la réaction car il neutralise les acides. Quand la réaction cesse, la solution est extraite deux fois avec du chloroforme et les extraits combinés sont concentrés sous pression réduite. On obtient alors une huile résiduelle qui est identifiée comme étant de la protoanémone.



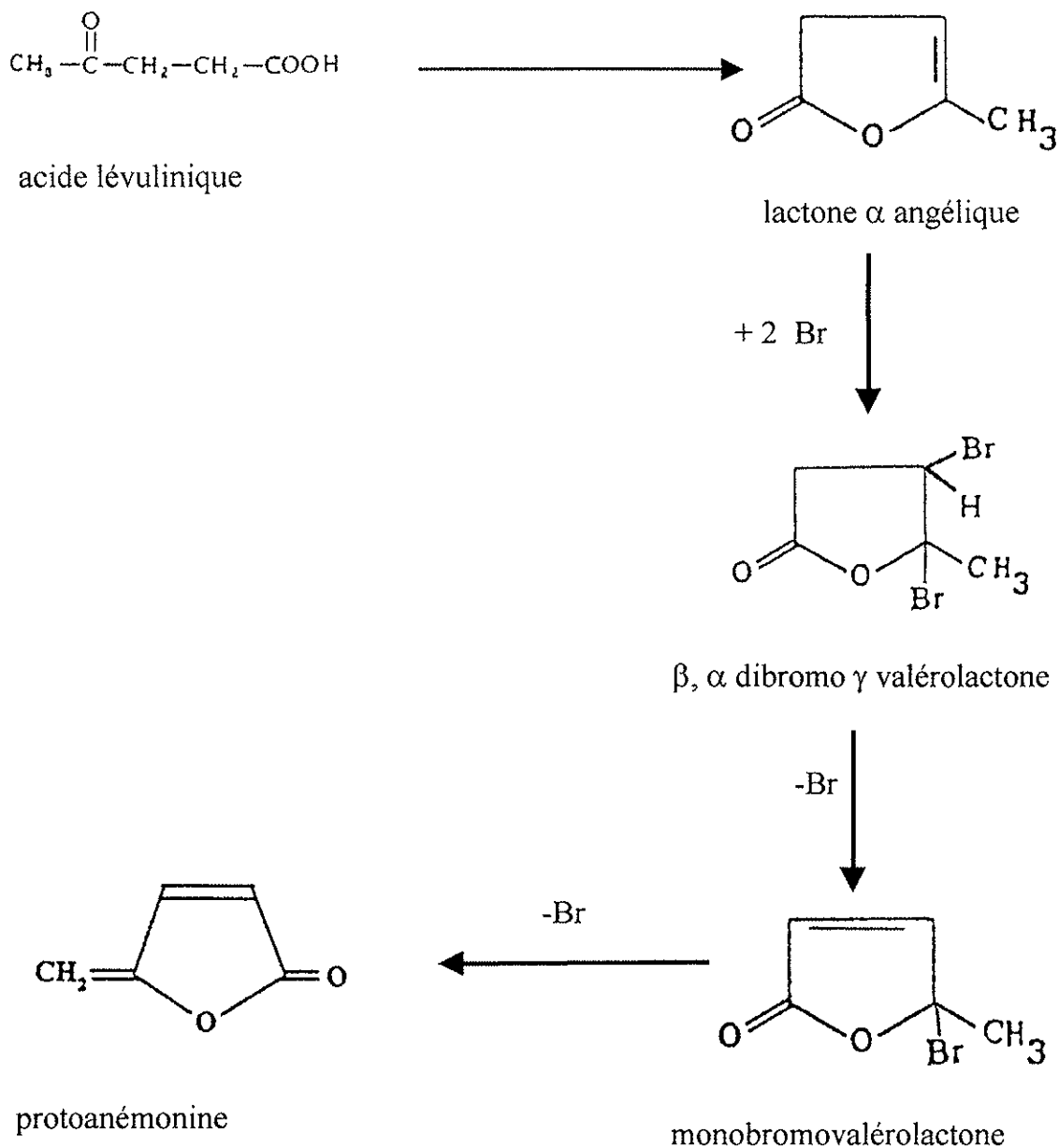
Ainsi étant donné que la protoanémonine peut donner de l'acide acétylacrylique, nous pouvons dire, que suivant le milieu, acide ou basique, la réaction protoanémonine - acide acétylacrylique est réversible.

#### 2.4.5.2. Méthode de GRUNDMAN et KOBER (1955)

Le point de départ de cette synthèse est l'acide lévulinique. Cette molécule est déshydratée lentement pour donner la lactone  $\alpha$  angélique. Puis 2 molécules de brome sont ajoutées à  $-20^\circ\text{C}$  et on obtient alors la  $\beta, \alpha$  dibromo  $\gamma$  valérolactone. Ensuite, cette solution est évaporée sous pression réduite, le résidu

est dilué dans un solvant inerte contenant des bases tertiaires. Le mélange repose toute la nuit puis il est distillé pour donner de la protoanémone.

Lors de cette synthèse, les bases tertiaires servent à débromer la  $\beta$ ,  $\alpha$  dibromo  $\gamma$  valérolactone et on obtient successivement la monobromovalérolactone et la protoanémone.

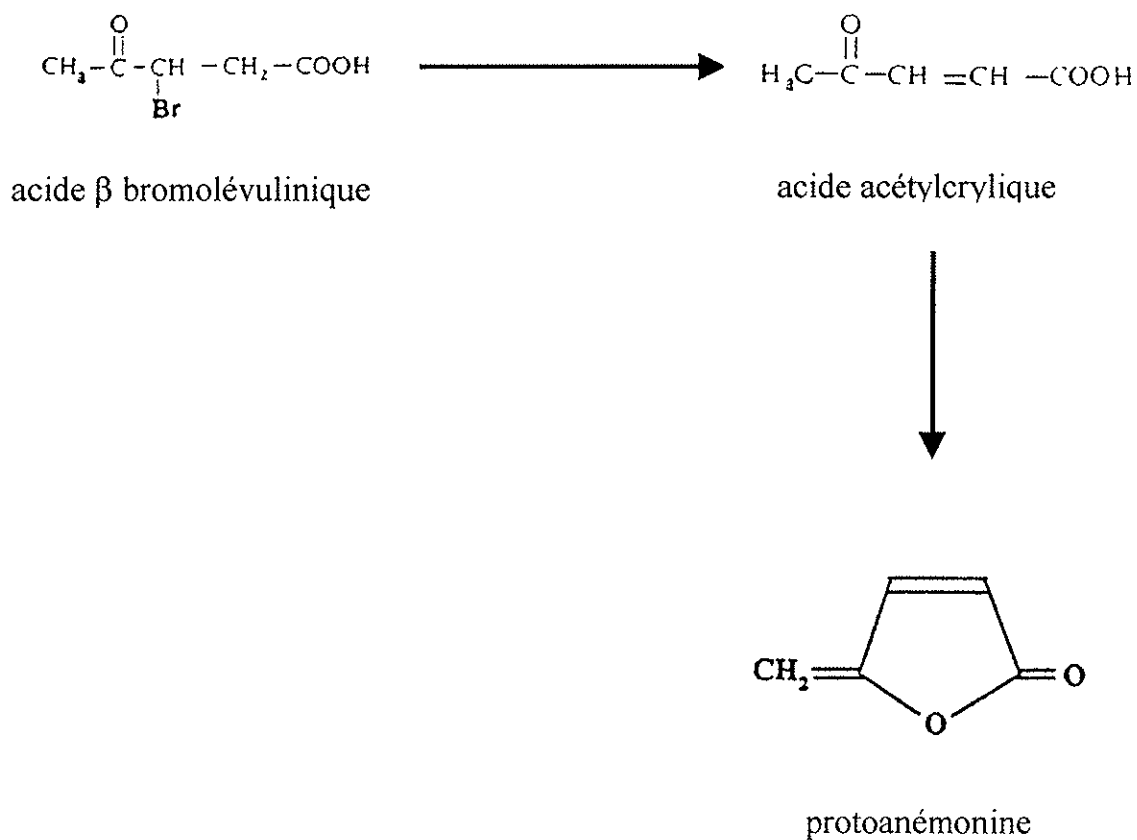


Comme pour la synthèse précédente, on se rend compte que le produit de départ de la synthèse, en l'occurrence l'acide lévulinique, est un produit de

réaction de la protoanémone lorsqu'elle est en présence d'un amalgame de sodium.

#### 2.4.5.3. Méthode de FONT et PASCUAL (1966)

Ces auteurs effectuent la synthèse de la protoanémone en déshydratant l'acide acétylacrylique en présence d'anhydride acétique et d'acide acétique. L'acide acétylacrylique provient de la débromation de l'acide  $\beta$  bromolévulinique. Enfin la protoanémone est purifiée par le bicarbonate de soude et par le chlorure de méthylène qui sera ensuite déshydratée par du sulfate de magnésium.

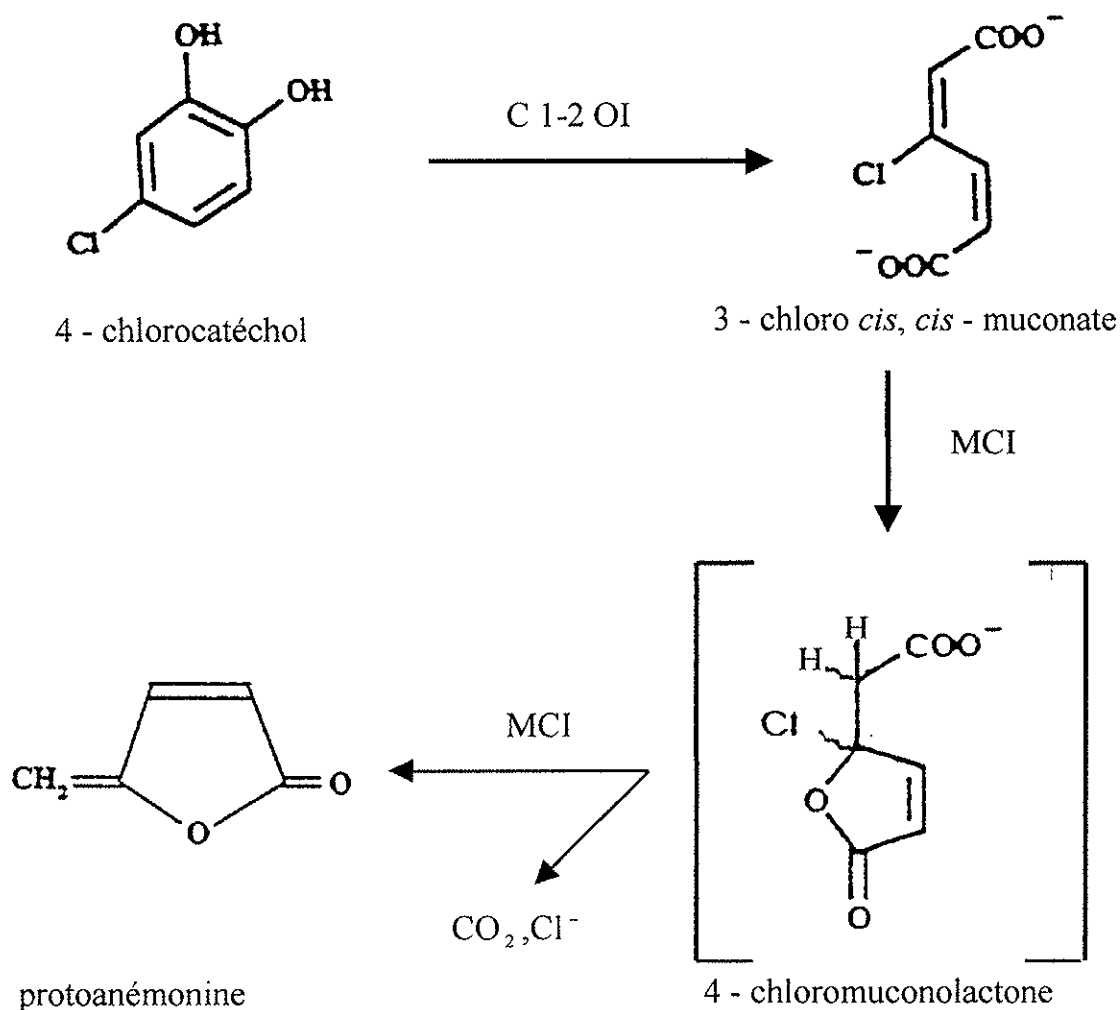


2.4.5.4. Méthode de BLASCO et collaborateurs (1995)

C'est une nouvelle voie de formation de la protoanémone où l'on utilise des enzymes de dégradation des produits chlorés ou voie du 3 oxoadipate.

Le point de départ est le 4 - chlorocatéchol qui est mis en présence d'une enzyme purifiée : la dioxygénase 1 - 2 catéchol type I (C 1 - 2 OI). On obtient alors du 3 - chloro - *cis, cis* - muconate, qui va subir l'action d'une autre enzyme, la muconate cycloisomérase (MCI).

Cette réaction donne naissance à un produit intermédiaire : le 4 - chloromuconolactone qui, par action de la dernière enzyme (MCI), permet l'élimination de  $\text{CO}_2$  et de  $\text{Cl}^-$  pour aboutir à la formation de la protoanémone.





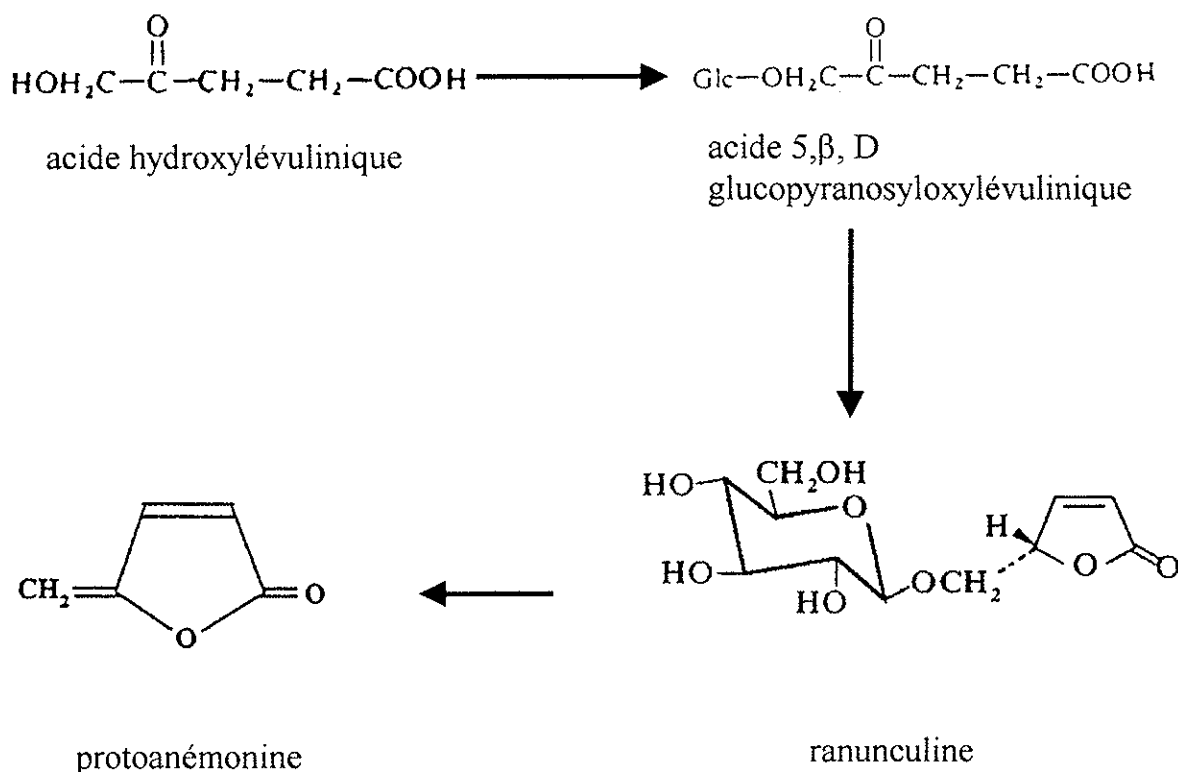
## 2.4.6. Biosynthèse de la protoanémone

## 2.4.6.1. Méthode de TSCHESCHE (1981)

Cet auteur a effectué la biosynthèse de la protoanémone à partir de l'acide 5-hydroxylévulinique marqué au  $^{14}\text{C}$  selon la méthode de Asahina.

Pour cela les précurseurs utilisés sont introduits dans la tige d'une renonculacée. 84 heures plus tard, les plantes sont récoltées et soumises à un entraînement à la vapeur d'eau. Le distillat est ensuite saturé avec  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et extrait avec de l'éther. Après évaporation, la ranunculine et la protoanémone apparaissent.

Les principales étapes supposées sont les suivantes :

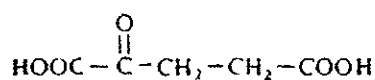


## 2.4.6.2. Méthode de SUGA et HIRATA (1982)

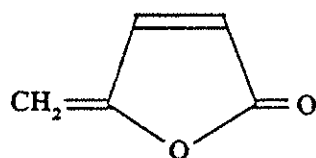
La biosynthèse de ces auteurs consiste tout d'abord à utiliser des précurseurs marqués au  $^{14}\text{C}$  comme entre autre l'acétate de sodium  $1 - ^{14}\text{C}$ , le malonate de sodium  $2 - ^{14}\text{C}$ , le succinate de sodium  $2,3 - ^{14}\text{C}$ , le glutamate de sodium  $5 - ^{14}\text{C}$  et le 2 - oxoglutarate de sodium  $5 - ^{14}\text{C}$ .

Les précurseurs sont dissous dans une solution tamponnée puis introduits dans un brin frais de plante coupée à travers une tige ouverte. On attend plusieurs heures et ensuite par entraînement à la vapeur on obtient de la protoanémone. Les auteurs ont démontré que le 2 - oxoglutarate est un intermédiaire central dans la biosynthèse de la protoanémone. En effet, les atomes marqués au  $^{14}\text{C}$  du 2 - oxoglutarate de sodium se retrouvent dans la protoanémone.

Ils pensent que la formation biologique de la protoanémone à partir du 2 - oxoglutarate de sodium pourrait provenir de la lactonisation entre les groupes 5 - carboxyl et 2 - carbonyle du 2 - oxoglutarate, et de l'élimination d'un atome d'hydrogène du 2 - oxoglutarate pour la formation de la double liaison  $\text{C} = \text{C}$ .



acide 2 - oxoglutarique



protoanémone

Les méthodes de GRUDMAN et coll. et FONT et coll. sont proches l'une de l'autre car elles utilisent le principe de la bromation et de la débromation successives. Il faut signaler que FONT et coll. partent d'un dérivé de l'acide acétylacrylique ce qui le rapproche de la méthode de SHAW.

La synthèse de la protoanémone par BLASCO et coll. est unique car la protoanémone est obtenue lors d'un enchaînement de réactions enzymatiques. Cette obtention se fait à l'état naturel dans certains micro-organismes comme les bactéries *Pseudomonas*.

Les deux biosynthèses utilisent des précurseurs marqués au  $^{14}\text{C}$ . TSCHESCHE utilise l'acide hydroxylévulunique ( ce qui se rapproche de la méthode de GRUDMANN et coll.) , et SUGA et coll., lui, utilise un dérivé de l'acide oxoglutarique. L'étude de TSCHESCHE a permis d'émettre des hypothèses concernant les étapes biogénétiques conduisant à la protoanémone.

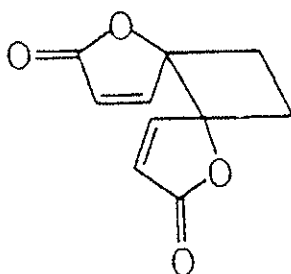
## 2.5. L'anémone

L'anémone à l'état naturel est obtenue par dimérisation spontanée de la protoanémone.

### 2.5.1. Propriétés physico-chimiques

L'anémone ou acide 1,2 - dihydroxy - 1,2 - cyclobutadiacrylique di  $\gamma$  lactone a pour formule brute  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$  et poids moléculaire 192.

La formule développée est la suivante :



La répartition atomique est C = 62,5 %, H = 4,20 %, et O = 33,33 %.

L'anémone se présente sous forme de cristaux blancs, aciculaires, de saveur âcre. Elle cristallise dans le système orthorombique et la molécule est en position trans (MORIATY et coll.).

L'anémone fond à 157°C avec un dégagement de vapeurs irritantes. Elle se décompose à 270°C en abandonnant un charbon volumineux.

Elle est soluble dans l'alcool chaud, le chloroforme, l'acétone, elle est légèrement soluble dans l'eau et insoluble dans les hydrocarbures (THE MERCK INDEX).

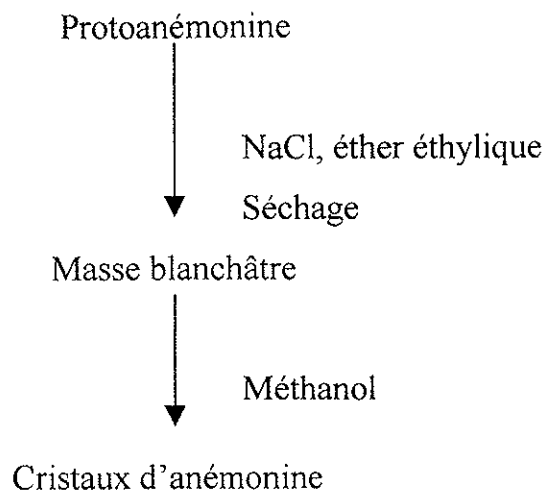
## 2.5.2. Isolement de l'anémone

### 2.5.2.1. Obtention à l'état naturel

La protoanémone laissée à l'air libre, à température ambiante conduit à une réaction de dimérisation et à la formation des cristaux d'anémone. Ils sont purifiés par recristallisation dans de l'éther de pétrole, du chloroforme ou de l'alcool.

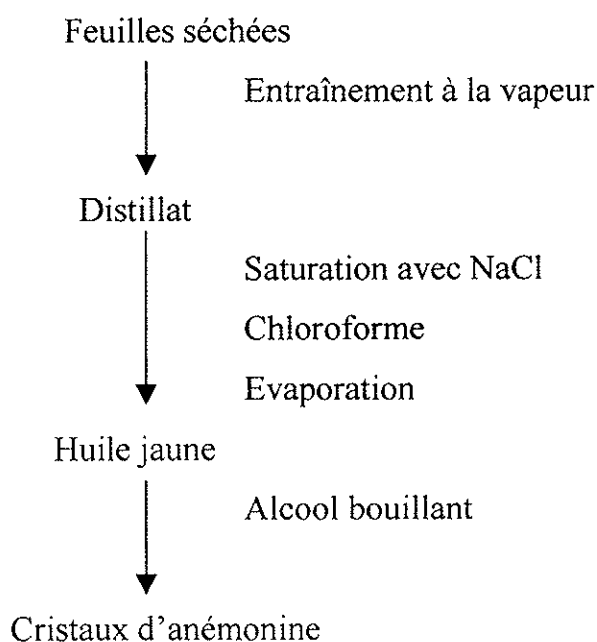
### 2.5.2.2. Isolement par BESSE BERGIER

L'auteur utilise une solution aqueuse de protoanémone saturée par du chlorure de sodium. Ce chlorure permet le relargage de la protoanémone qu'il suffit d'extraire par l'éther éthylique. L'éther est ensuite séché par du sulfate de sodium anhydre et évaporé sous vide à 30°C. Après 8 h, il apparaît une masse blanchâtre. Ce résidu est repris par quelques gouttes de méthanol, la recristallisation conduisant lentement à des cristaux d'anémone.



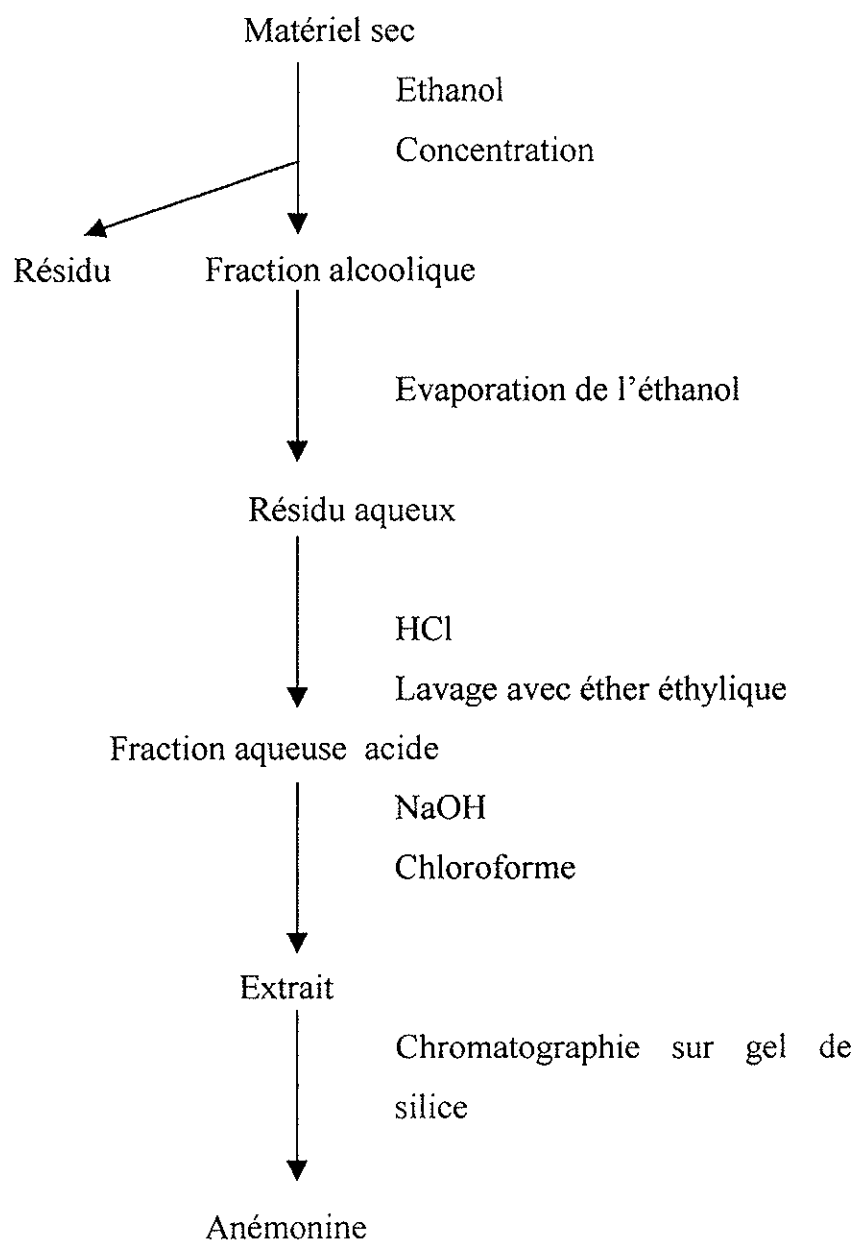
### 2.5.2.3. Isolement à partir de la plante par CONSTANTINESCU et ses collaborateurs

Des feuilles desséchées en poudre fine sont soumises à un entraînement à la vapeur. Après saturation par du chlorure de sodium les distillats obtenus sont extraits par du chloroforme. Après élimination du solvant à basse température, il apparaît une huile jaune d'odeur très irritante. Cette huile est reprise avec de l'alcool bouillant, l'anémone cristallise sous forme de cristaux blancs et aciculaires.



## 2.5.2.4. Isolement par CAMPBELL, CRAGG et POWRIE

Du matériel sec est extrait avec de l'éthanol par macération pendant 6 jours. L'extrait, après concentration, donne un composé cristallin blanc identifié comme étant du glucose. Ensuite, la fraction alcoolique restante est évaporée sous vide et conduit à un résidu qui est acidifié par HCl et lavé par l'éther. La fraction aqueuse acide obtenue est neutralisée avec de l'hydroxyde sodium et extraite par du chloroforme. L'extrait obtenu subit une chromatographie sur du gel de silice et donne de l'anémone.



L'obtention de l'anémone peut se faire à partir de la protoanémone soit à l'état naturel, soit par des procédés chimiques ce qui permettrait d'obtenir de l'anémone plus pure.

Lorsque l'on part de la plante, la méthode de CONSTANTINESCU et coll. semble beaucoup plus simple à réaliser que celle de CAMPBELL et coll. Cette dernière est beaucoup plus élaborée et utilise la technique de chromatographie sur gel de silice comme étape finale conduisant à l'anémone pure.

### 2.5.3. Réactions chimiques de l'anémone

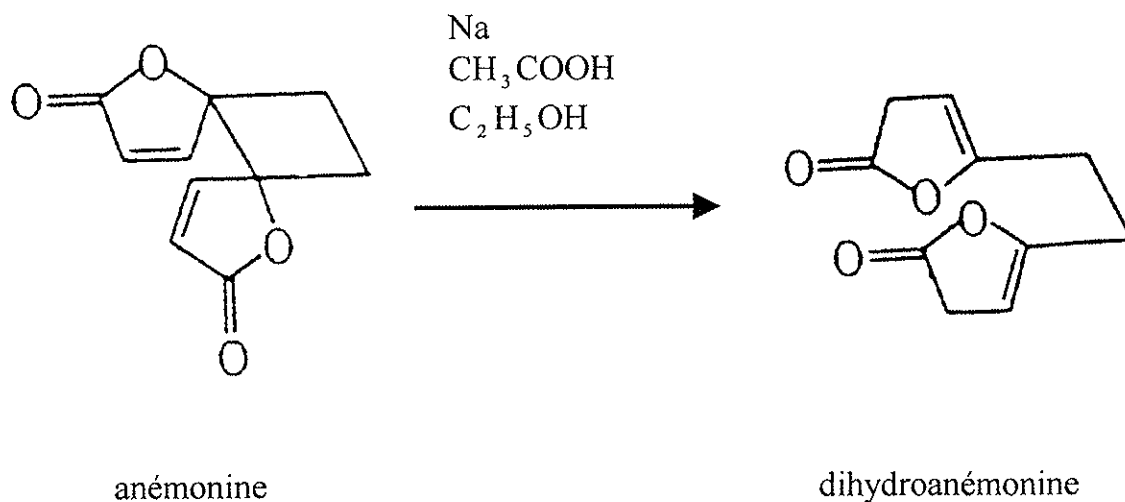
Les différentes réactions à partir de l'anémone permettent de montrer l'existence de nombreux dérivés de l'anémone qui, pour certains, seront utilisés à des fins pharmacologiques.

#### 2.5.3.1. Propriétés réductrices

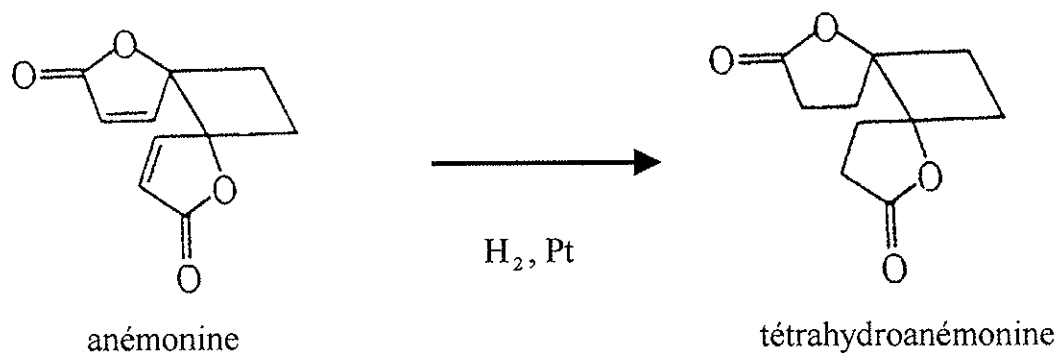
L'anémone, en tant que lactone, réduit le nitrate d'argent ammoniacal.

#### 2.5.3.2. Hydrogénation de l'anémone

L'hydrogénation de l'anémone par de l'amalgame de sodium et de l'acide acétique en milieu alcool éthylique, conduit à la dihydroanémone de formule  $C_{10}H_{14}O_4$  (DURAND).



L'hydrogénation de l'anémone avec de l'hydrogène naissant  $\text{H}_2$ , en présence de platine, transforme l'anémone en tétrahydroanémone de formule  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_6$  (STAMOS).



#### 2.5.4. Identification de l'anémone

##### 2.5.4.1. Chromatographie papier

Pour identifier l'anémone, une chromatographie circulaire sur papier est réalisée. Le système de solvant utilisé est du chloroforme - méthanol (96 : 4 ;



V/V). Dans ce système de solvant, le Rf de l'anémone est de 0,95. Après séchage le chromatogramme est révélé par différentes réactions de coloration.

□ Réaction de Legal

Selon le principe déjà décrit pour la ranunculine, le spot d'anémone s'est coloré en rouge carmin.

□ Réaction de Kedde

Comme pour la ranunculine, le spot d'anémone se teinte en violet.

□ Réaction au dichlorophénolindophénol

Des solutions de dichlorophénolindophénol à 0,1 et 1 N sont utilisées pour cette réaction. Le spot est blanc sur un fond bleu pâle.

□ Réduction du nitrate d'argent ammoniacal

Le spot se colore en noir cendré lors de cette réaction .

#### 2.5.4.2. Spectre ultraviolet

Le spectre UV d'une solution éthanolique d'anémone présente un maximum à 214 nm.

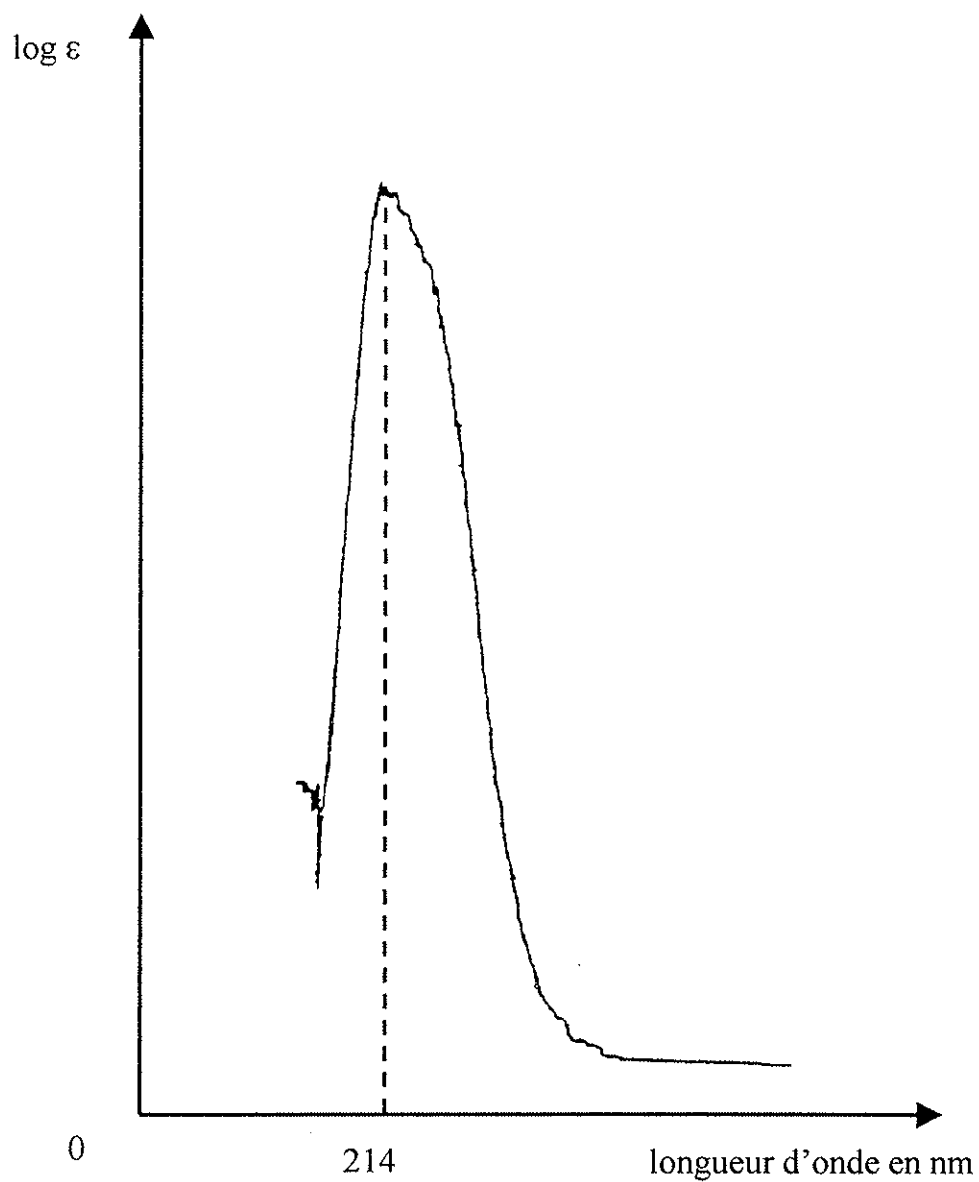


Figure 15 : Spectre UV de l'anémonine (BESSE BERGIER)

#### 2.5.4.3. Spectre infrarouge

Le spectre IR de l'anémonine donne un maximum à  $1770\text{ cm}^{-1}$  ce qui caractérise la fonction lactone.

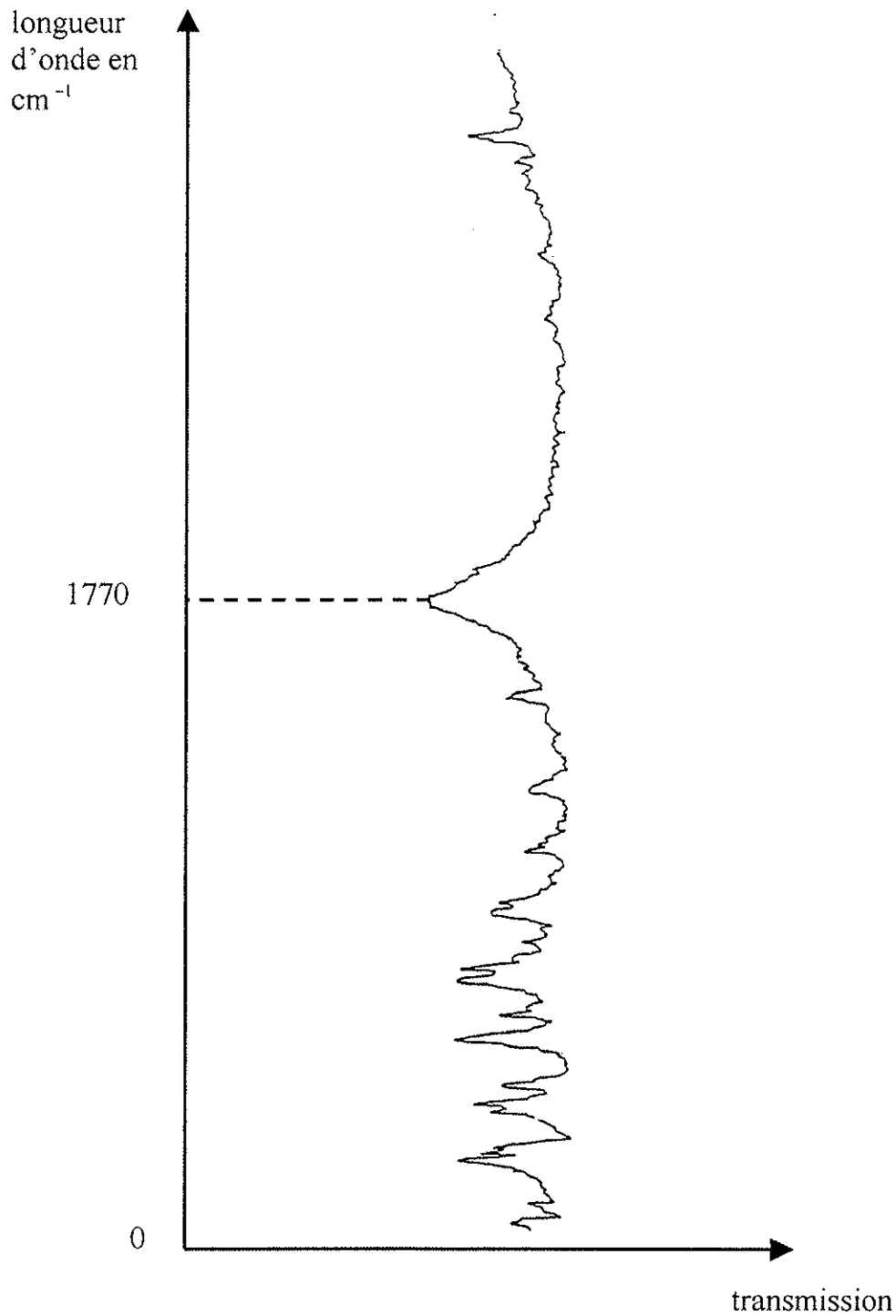


Figure 16 : Spectre infrarouge de l'anémoneine (BESSE BERGIER)

## 2.5.5. Synthèse de l'anémone

### 2.5.5.1. Méthode de FONT et PASCUAL

Ces auteurs effectuent la synthèse de l'anémone en utilisant la méthode de GRUNDMANN et KOBER vue précédemment pour la synthèse de la protoanémone. Ils partent de la lactone  $\alpha$  angélique puis par le biais de bromation et de débromation successives ils obtiennent comme précédemment de la protoanémone. Enfin ils laissent reposer la solution quelques jours puis après des opérations de filtration et de cristallisation ils récupèrent l'anémone.

Les étapes de la réaction sont les mêmes que celles déjà vues lors de la synthèse de la protoanémone par GRUNDMANN et KOBER.

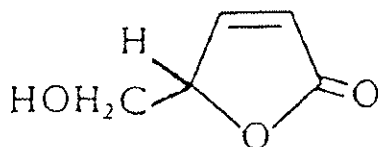
## 2.6. La génine

HELLSTROM et AAMISEPP ont obtenu par action de l'émulsine ou  $\beta$  glucosidase sur la ranunculine, une génine différente de la protoanémone. Elle est ensuite étudiée par BESSE BERGIER.

### 2.6.1. Propriétés physico-chimiques

La génine ou 5 hydroxy - 2 - pentène - 4 - olide a pour formule brute  $C_6H_6O_3$  et poids moléculaire 114.

La formule développée est la suivante :



Elle se présente sous forme d'une huile incolore et inodore.

Elle est soluble dans l'eau, l'alcool, l'éther et le chloroforme (BESSE BERGIER).

#### 2.6.2. Isolement de la génine

La génine est obtenue par addition de l'émulsine sur une solution de ranunculine brute à pH = 5,8. Elle est ensuite isolée par traitement à l'éther.

#### 2.6.3. Identification de la génine

##### 2.6.3.1. Chromatographie papier

C'est une chromatographie sur du papier Whatman n°1 dans le système de solvant : butanol - éthanol - eau (7:2 :2 ; V/V/V).

La révélation des spots se fait par le réactif de Kedde.

BESSE BERGIER montre l'existence des deux composés : la génine et la protoanémonine de Rf respectifs 0,65 et 0,90.

##### 2.6.3.2. Spectre ultraviolet

Le spectre UV de la génine présente un maximum à 197 nm.

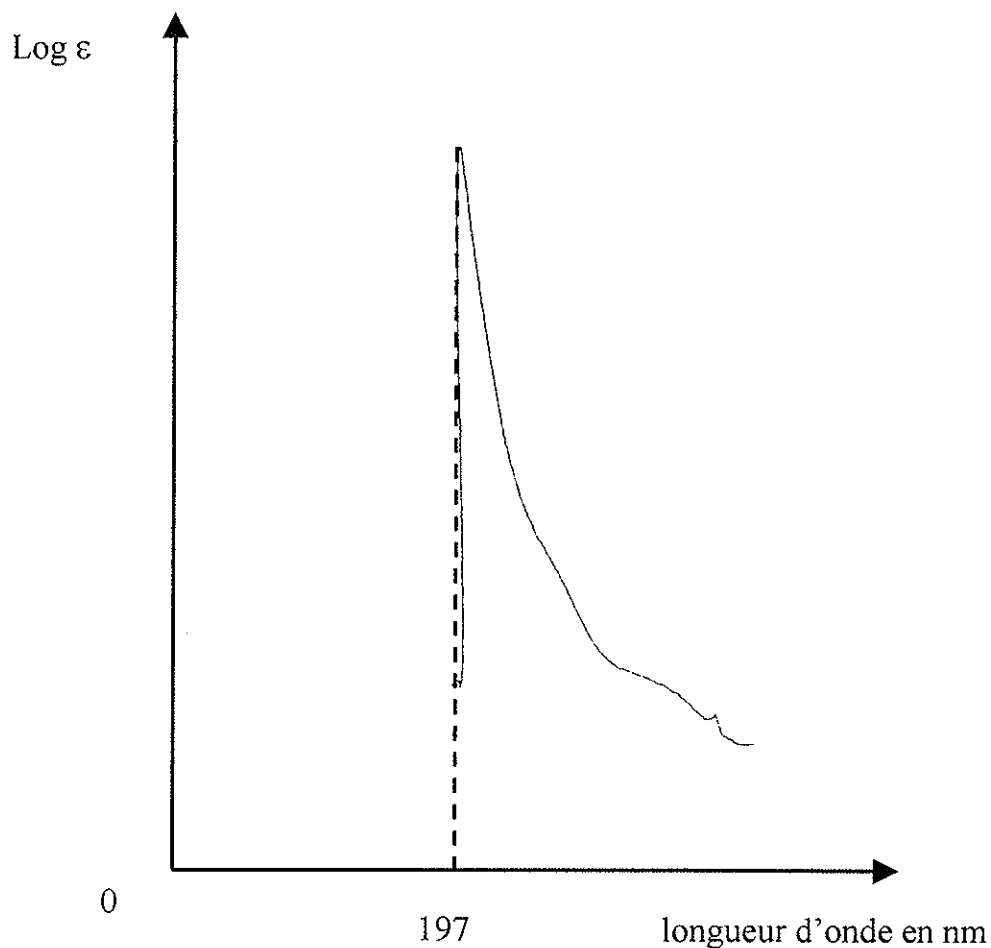


Figure 17 : Spectre ultraviolet de la génine (BESSE BERGIER)

#### 2.6.3.3. Spectre Infrarouge

Le spectre IR présente deux maxima, un à  $1750\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction lactone et un autre à  $3400\text{ cm}^{-1}$  dû à la fonction hydroxyle libre.

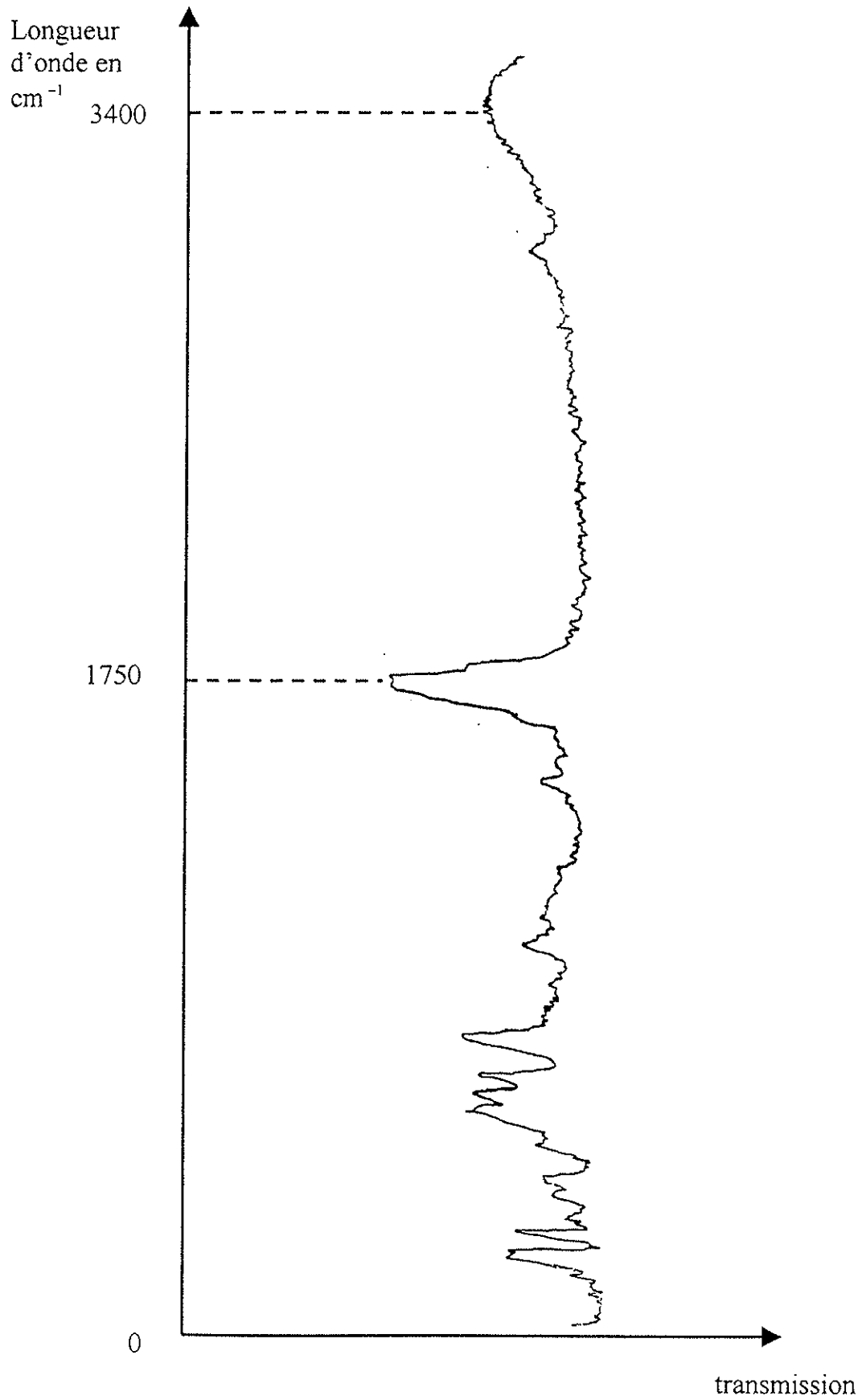


Figure 18 : Spectre infrarouge de la génine (BESSE BERGIER)

#### 2.6.3.4. Pouvoir rotatoire

La génine a un pouvoir rotatoire lévogyre  $[D]_D^{25} = -145^\circ$ .

### 2.7. Dosage des corps lactoniques

#### 2.7.1. Dosage de la ranunculine

##### 2.7.1.1. Titration avec les alcalis

Le glucoside est titré de façon directe avec les alcalis NaOH (1N) à 60°C en utilisant la phénolphaléine ou l'alizarine comme indicateur coloré.

Un dosage indirect avec de l'acide chlorhydrique peut également être effectué (HILL, VAN HEYNINGEN).

##### 2.7.1.2. Dosage par HPLC

Les concentrations de ranunculine peuvent être déterminées par une chromatographie liquide haute performance. Le dosage a été réalisé sur des échantillons de plantes lyophilisées. Les concentrations de ranunculine furent quantifiées par la méthode standard (0,25 - 1 mg/ml) avec des injections doubles de 40 µl par échantillon de plante. La limite de détection pour cette méthode est de 0,1 µg de ranunculine (BAI et coll.).



## 2.7.2. Dosage de la protoanémone

### 2.7.2.1. Titration avec les alcalis

Le dosage pour titration directe peut être réalisé de la même façon que la ranunculine.

### 2.7.2.2. Dosage par HPLC

La protoanémone peut être séparée puis quantifiée par deux types de chromatographie.

Tout d'abord il est possible d'utiliser une chromatographie liquide haute performance en phase inverse sur une colonne Lichrosorb RP 18. Le système de solvant utilisé est  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (20 :80) . La chromatographie est réalisée à température ambiante avec un débit de 2,5 ml/min. La protoanémone est détectée à 258 nm au bout de 4 minutes. Si la concentration de protoanémone est inférieure à  $10\mu\text{g/ml}$  , elle n'est pas détectable de façon directe par cette méthode.

Puis, une chromatographie liquide haute performance en phase normale peut être réalisée. La colonne utilisée est une colonne de gel de silice Lichrosorb Si 60 et le système de solvant est hexane :  $\text{Et}_2\text{O} : \text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CHCl}_3$  (70 :10 :10 :10). Le débit est de 2 ml/min. La protoanémone est détectée à 258 nm, à température ambiante, au bout de 5 minutes (BONORA et coll.).

Cette méthode est plus sensible que la précédente car on peut l'utiliser même pour une concentration inférieure à  $10\mu\text{g/ml}$ .

### 2.7.3. Dosage de la ranunculine et de la protoanémone

Il s'agit de la méthode de dosage de POURRAT, LEJEUNE et BESSE BERGIER.

La ranunculine est hydrolysée grâce à un tampon alcalin de phosphate à pH = 7,2. La courbe de cinétique d'hydrolyse de la ranunculine montre une durée de réaction de 1 heure. A ce moment, il est nécessaire d'ajouter une substance antimousse « Constrapum 210 » car la présence de saponines et le pH alcalin favorisent la formation de mousse.

Après cette réaction, la protoanémone libre et celle formée à partir de la ranunculine sont entraînées à la vapeur. Il faut poursuivre l'opération jusqu'à ce que la quantité de protoanémone entraînée soit négligeable. La protoanémone est dosée par une méthode spectrophotométrique à 260 nm.

La loi de Beer - Lambert va permettre de calculer la concentration de protoanémone.

$$E = \varepsilon_M \times \frac{C}{M} \times d$$

Avec E = absorbance

$\varepsilon_M$  = coefficient d'extinction molaire

d = distance = 1 cm

En gramme par litre , la formule devient

$$C = \frac{E}{\varepsilon_M}$$

$\varepsilon_M$  le coefficient d'extinction molaire est de 14000 pour une molécule égale à 96 g de protoanémone. Alors pour un gramme de protoanémone,  $\varepsilon_M$  devient égal à  $\frac{14000}{96} = 145,84$  d'où la formule :  $C = \frac{E}{145,84}$ .

Les résultats sont ensuite traduits en gramme de protoanémone par kilogramme de préparation. En appliquant le coefficient de 2,875 qui correspond au rapport  $\frac{\text{ranunculine}}{\text{protoanémone}} = \frac{276}{96}$ , on obtient la teneur en ranunculine par kilogramme de drogue fraîche congelée.

POURRAT et ses collaborateurs, pour réaliser cette étude, ont utilisé différentes préparations galéniques d'anémone pulsatile.

Ils utilisent notamment des lyophilisats. Le problème, dans ce cas était l'élimination partielle de la protoanémone lors de la phase de sublimation de la glace. Ils ont alors essayé de faire des lyophilisats avec différentes substances inertes, pour trouver laquelle permettrait une bonne conservation de la protoanémone. En fait, c'est l'aérosil 200 qui a été choisi car c'est une silice chimiquement pure avec un fort pouvoir absorbant. L'aérosil a aussi la propriété de protéger la protoanémone contre la dégradation provoquée éventuellement par l'humidité. Ils ont préparé différents lyophilisats avec 400 ml de solution active et des taux variables d'aérosil, pour connaître la préparation galénique contenant le plus de corps lactoniques.

Les teneurs en protoanémone et ranunculine dans les différentes préparations sont regroupées dans le tableau suivant.

	Protoanémone en g/kg dans le produit testé	Ranunculine en g/kg dans le produit testé	Ranunculine en g/kg de plante congelée
Drogue congelée	9,7	27,8	27,8
Alcoolature	5,4	15,5	15,5
Lyophilisat témoin	77,6	223,2	20,5
Lyophilisat n°1 à 0,5% d'aérosil	77,1	221,6	20,3
Lyophilisat n°2 à 1% d'aérosil	82,7	237,8	21,8
Lyophilisat n°3 à 2,5% d'aérosil	77,2	222,0	20,3
Lyophilisat n°4 à 5% d'aérosil	77,3	222,2	20,4

Tableau 2 : Concentrations de ranunculine et de protoanémone dans différentes préparations galéniques

Les résultats montrent que les lyophilisats sont plus riches en principes actifs que l'alcoolature. En comparant les différents lyophilisats, on constate que le lyophilisat n°2 est la préparation la plus riche en corps lactoniques. De plus, ce lyophilisat présente les meilleurs caractères organoleptiques.

## 2.7.4. Dosage de la ranunculine, de la protoanémonine et de l'anémonine

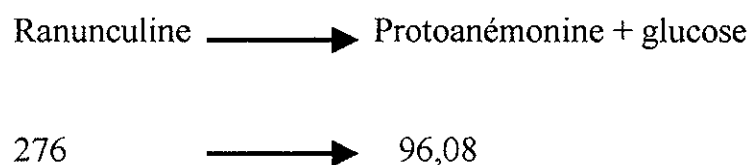
Ce dosage est réalisé par MAHRAN , HIFNY et EL - ALFY.

Ces auteurs bloquent d'abord la formation de la protoanémonine. Pour cela ils forment un complexe avec la protoanémonine et l'anémonine en ajoutant une solution de 2,4 - dinitrophénylhydrazine avec de l'alcool éthylique et de l'acide chlorhydrique. Il se forme alors deux complexes de dinitro - phényl - hydrazone, l'un correspondant à la protoanémonine et l'autre à l'anémonine. Ils traitent ces deux complexes avec de l'hydroxyde de potassium méthanolique, il se développe ainsi une couleur rouge mesurée au spectrophotomètre à 460 nm.

Grâce à la loi de Beer Lambert, ils ont pu déterminer les concentrations de protoanémonine et d'anémonine dans une renonculacée.

En ce qui concerne la ranunculine, il n'y a pas de méthode valable pour déterminer sa concentration. Néanmoins, ces auteurs, en se servant de l'équation de l'hydrolyse de la ranunculine, ont établi une correspondance entre le taux de ranunculine et le taux de protoanémonine. Ils ont pu ainsi déterminer la concentration de ranunculine.

L'équation est la suivante :



Ils en déduisent que 1 gramme de protoanémonine est équivalent à 2,875 grammes de ranunculine.

Les concentrations de ranunculine, de protoanémonine et d'anémonine d'une renonculacée, suivant différents organes sont regroupées dans le tableau suivant.

Organe de la plante	Protoanémone	Anémone	Ranuncule
Racine	0,295	0,054	0,848
Tige	0,239	0,046	0,687
Feuille	0,241	0,040	0,692
Fruit	0,276	0,055	0,793

Tableau 3 : Pourcentage de la protoanémone, de l'anémone, de la ranuncule suivant les différents organes de la plante

La quantité de protoanémone et d'anémone est à peu près identique dans les différents organes, ceci est aussi valable pour la ranuncule car sa concentration est calculée à partir de celle de la protoanémone. L'anémone est en faible quantité par rapport à la protoanémone car sa formation par dimérisation de celle-ci a été bloquée du fait de la formation de complexes.

## 2.8. Conclusion

Les lactones possèdent de nombreux points communs.

Au niveau des spectres UV les longueurs d'onde maximales sont proches les unes des autres. En effet, pour la ranuncule et l'anémone elles sont respectivement de 210 et 214 nm. Celles de la génine et de la protoanémone sont de 190 nm et 260 nm.

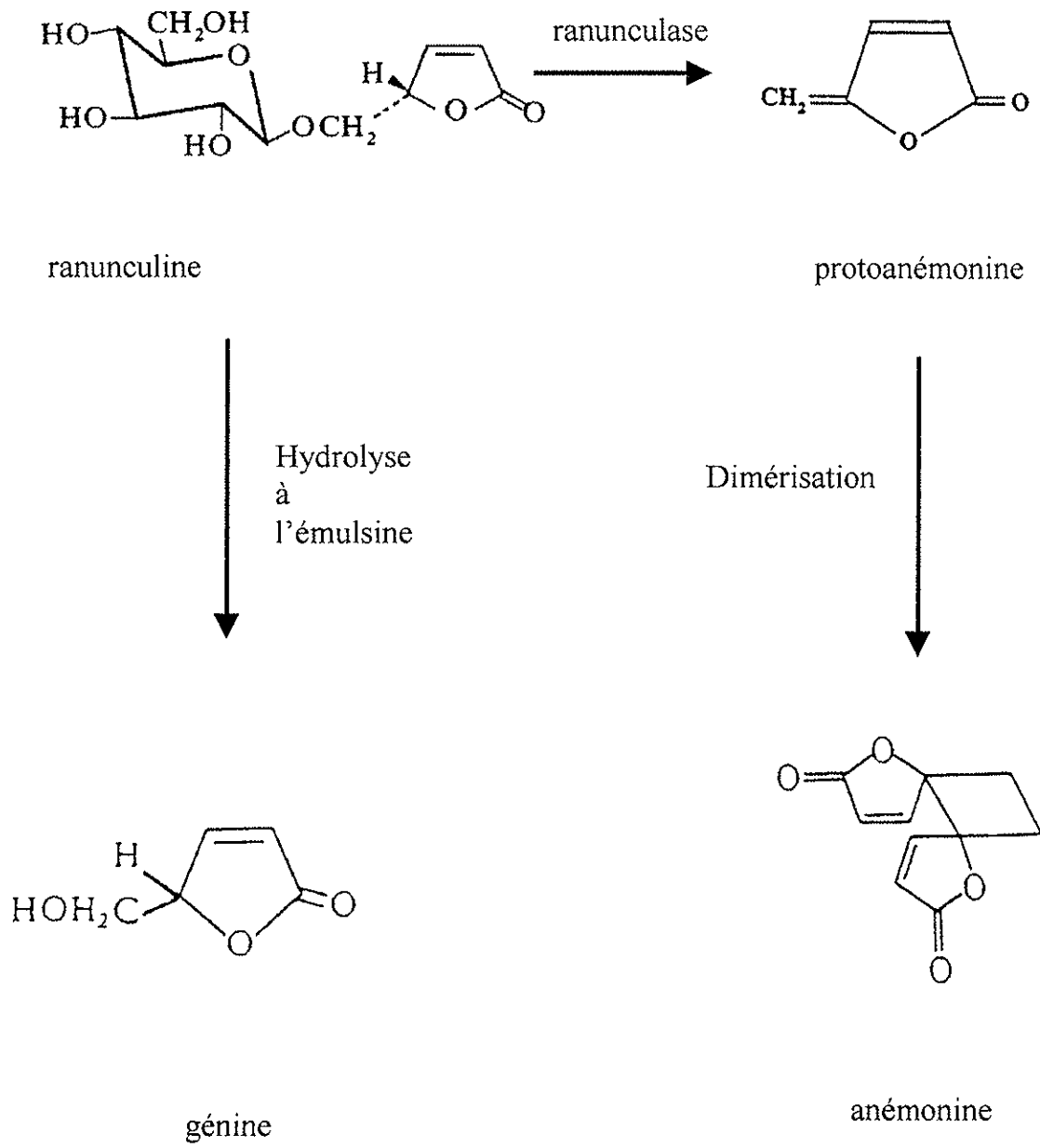
En ce qui concerne les spectres IR, nous retrouvons pour les 4 lactones un maximum d'absorption à  $1750\text{ cm}^{-1}$ , ce qui caractérise la fonction lactonique.

Pour la chromatographie papier ou sur couches minces, ce sont les réactifs de Kedde et de Legal qui sont utilisés pour mettre en évidence la fonction lactonique.

De plus, ces substances chimiques sont caractérisées par une réaction commune qui est la réduction au nitrate d'argent ammoniacal.

Pour les dosages des lactones , il existe des méthodes spécifiques pour chaque molécule mais aussi des méthodes applicables aux 3 lactones à la fois. Cela est possible par le biais d'une réaction caractéristique de la fonction lactone.

Enfin, la ranunculine, la protoanémone, l'anémone et la génine sont étroitement liées par des réactions enzymatiques, des réactions d'hydrolyse et de dimérisation, représentées dans le schéma de synthèse suivant.



Relations entre les différents corps lactoniques



### 3. LES COMPOSES POLYPHENOLIQUES

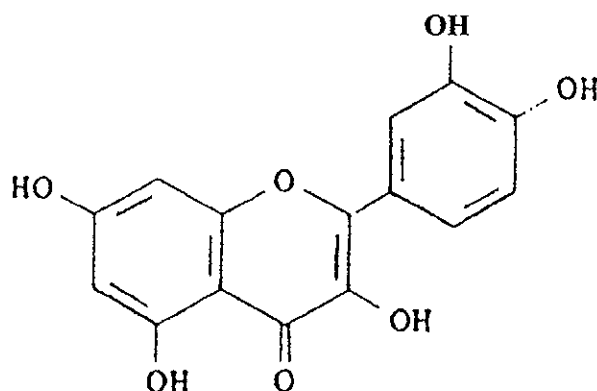
#### 3.1. Les flavonoïdes

##### 3.1.1. Recherche des flavonoïdes

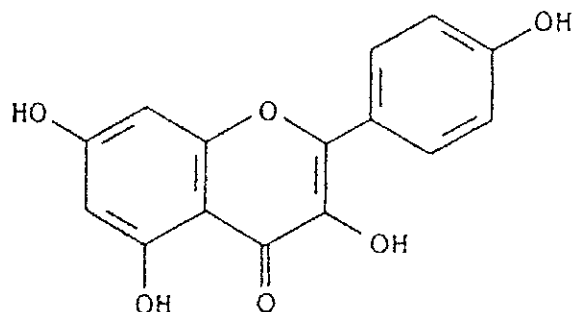
BESSE BERGIER a isolé 3 hétérosides flavoniques grâce à des méthodes chromatographiques, à partir de la drogue fraîche et de la drogue sèche d'anémone pulsatile.

##### 3.1.1.1. Identification des génines flavoniques

BESSE BERGIER a mis en évidence les 2 génines flavoniques qui sont la quercétine (3,5,7,3',4' pentahydroxyflavone) et le kaempférol (3,5,7,4' tétrahydroxyflavone) dont les formules sont ci-dessous.



quercétine



kaempférol

L'identification s'effectue à partir des extraits étherés des génines par une chromatographie papier avec le papier Whatman n°1. Le système de solvant utilisé est le BAW : butanol - acide acétique - eau (6 :1 :2 ;V /V/V).

L'identification se fait en lumière UV à 366 nm après passage du papier sur des vapeurs d'ammoniaque. Les deux génines sont mises en évidence grâce à des témoins, leurs Rf sont : 0,65 pour la quercétine et 0,81 pour le kaempférol.

### 3.1.1.2. Identification des glucosides de flavones

BESSE BERGIER utilise les deux méthodes décrites ci-dessous.

#### □ Chromatographie sur papier

Le support est du papier Whatman n°1 avec trois systèmes de solvant : le BAW déjà utilisé précédemment, le BEW : butanol - éthanol - eau (4:1 : 2,2 ;V/V/V) et l'acide acétique à 15%.

□ Chromatographie sur couches minces de polyamide

Le support utilisé est une plaque de verre recouverte de polyamide. Le système de solvant s'appelle EGGER et est constitué de : eau - butanol - méthyléthylcétone - acétylacétone (13 :3 :3 :1 ;V/V/V/V). La révélation se fait à 366 nm sous lumière UV.

Dans les deux méthodes, des témoins sont utilisés : le kaempférol, la quercétine et le rutoside. Les trois glucosides de flavones identifiés sont :

- le diglucosyl 3,7 kaempférol (1)
- le glucuronide 3 quercétine (2)
- le glucosyl 3 quercétine (3)

Les Rf des trois composés sont rassemblés dans le tableau suivant :

	Rf 1	Rf 2	Rf 3
Solvant BAW	0,26		0,56
Solvant BEW	0,15	0,44	0,37
Acide acétique 15%		0,36	0,36
Solvant EGGER	0,75	0,03	0,19
Couleur UV (366 nm)	Jaune à bleu jaune	Noir	Noir

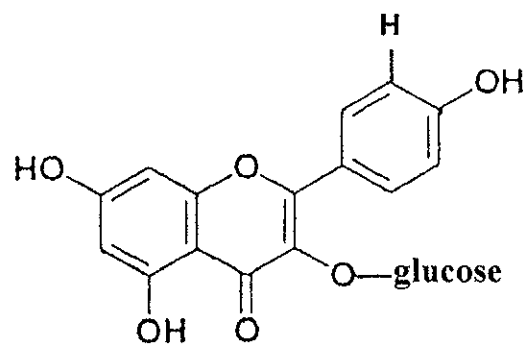
Tableau 4 : Caractéristiques chromatographiques des flavonoïdes glycosylés

### 3.1.2. Recherche par RAYNAUD et DEBOURCIEU

Ces auteurs ont extrait 3 glucosides flavoniques à partir de *Pulsatilla rubra* D., une sous espèce d'*Anemone pulsatilla* L. Ils ont constaté un certain nombre de faits permettant d'identifier ces composés.

Le premier composé est de nature monosidique comme l'indique son comportement chromatographique sur couches minces de polyamide. L'effet bathochrome limité du chlorure d'aluminium implique un blocage de l'hydroxyle en position 3. L'hydroxyle libre en position 7 est intéressant du fait de son comportement face à l'acétate de sodium. L'hydrolyse acide libère du kaempférol, et du glucose. La  $\beta$  glucosidase provoque également la coupure du glucoside.

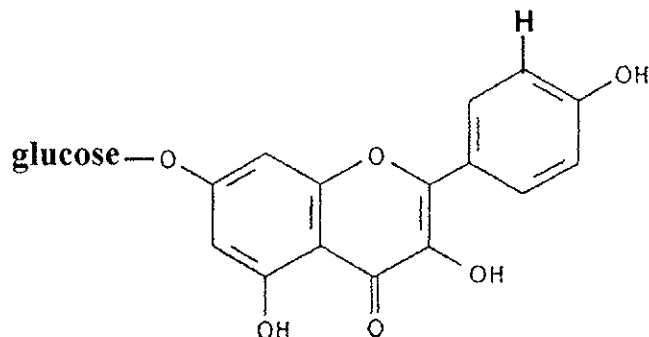
Ces faits ainsi que les Rf obtenus conduisent à penser que ce composé est du glucosyl-3-kaempférol ou astragaline.



astragaline

Le deuxième composé, au vu de son comportement chromatographique sur couches minces de polyamide, possède lui aussi une nature monosidique. La fluorescence jaune et l'effet bathochrome avec le chlorure d'aluminium indiquent la présence d'un hydroxyle libre en position 3. Le déplacement obtenu avec l'acétate de sodium implique un blocage de l'hydroxyle en position 7. L'hydrolyse acide et l'attaque par la  $\beta$  glucosidase conduisent à la libération de kaempférol et de glucose. A l'aide de ces résultats, les auteurs ont identifié ce

deuxième composé comme étant du glucosyl - 7- kaempférol dont la formule est :



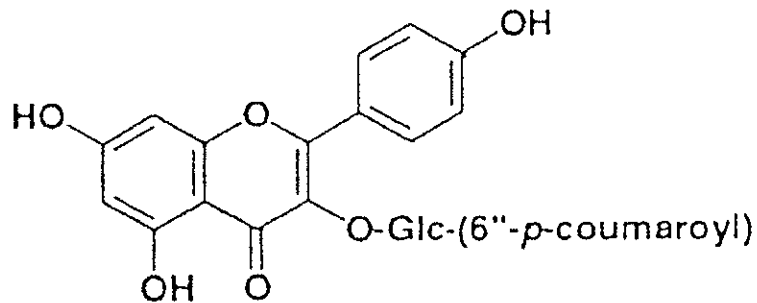
glucosyl - 7- kaempférol

Le troisième composé possède un Rf faible sur support de polyamide d'où l'idée que c'est un glucuronide. Mais, la résistance à l'hydrolyse enzymatique de ce composé en présence de glucuronidase élimine cette hypothèse. Par contre, le spectre UV du composé en milieu éthanolique, présente une bande d'absorption importante avec un maximum à 317 nm ce qui oriente les auteurs vers un glucoside de type acylé. L'examen du spectre UV montre :

- l'absence d'un système orthohydroxylé en 3',4',
- un blocage de l'hydroxyle en 3,
- l'hydroxyle libre en 7.

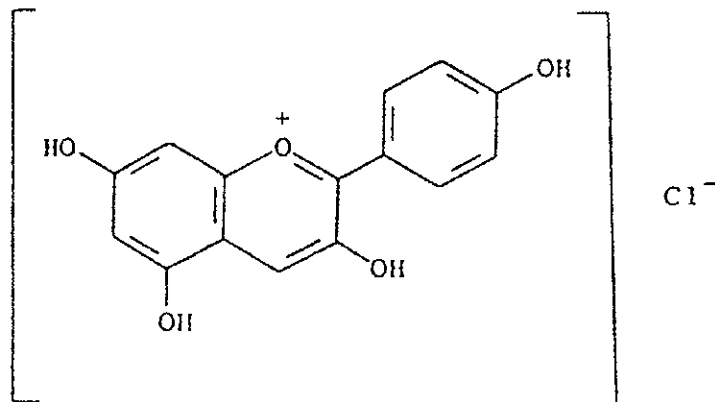
L'hydrolyse acide libère du kaempférol d'où l'idée que ce composé soit un acylglucosyl - 3 - kaempférol. Le spectre IR de ce composé s'est avéré rigoureusement superposable à celui réalisé sur un témoin de tiliroside extrait de *Tilia argentea*.

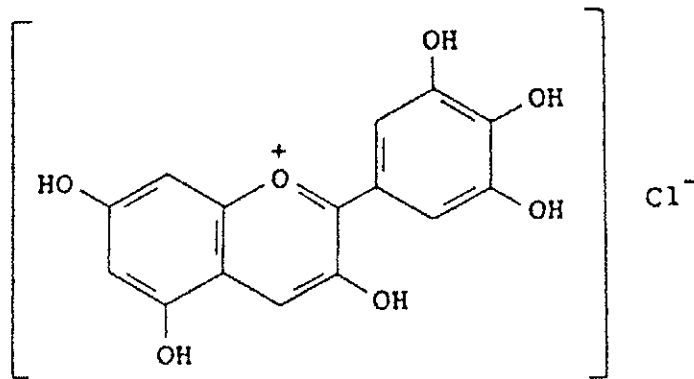
Les auteurs concluent donc que ce composé est du *p*-coumaroylglucosyl-3-kaempférol ou tiliroside dont la formule est la suivante.



### 3.2. Les anthocyanes

DUKE mentionne que l'on trouve chez l'anémone pulsatile des glucosides de pélargonidine et de delphinidine situés principalement dans les fleurs. Les structures de la pélargonidine (3,5,7,4' tétrahydroxyflavylium) et de la delphinidine (3,5,7,3',4',5' hexahydroxyflavylium) sont :





delphinidine

### 3.3. Les tanins

BALANSARD et DELPHAUT ont signalé la présence de tanins.

## 4. LES SAPONINES ET LES TRITERPENES

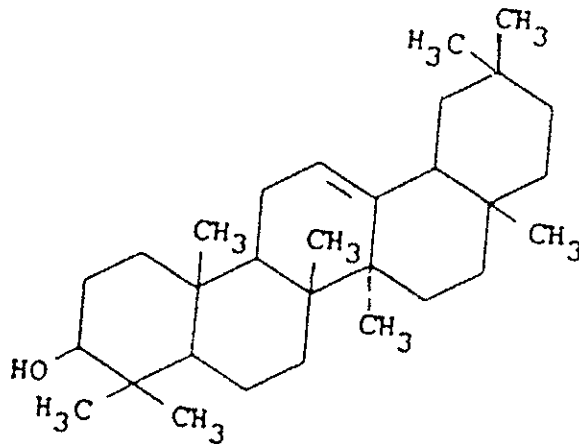
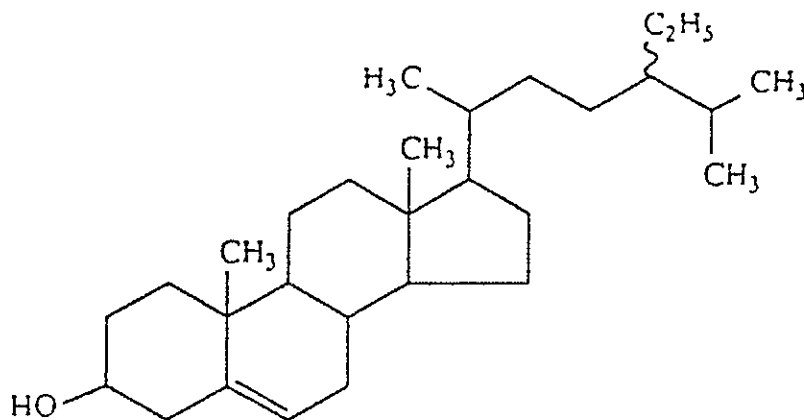
BALANSARD et DELPHAUT en 1945 ont mis en évidence la présence de saponines dans l'extrait hydroalcoolique et l'alcoolature d'anémone pulsatile.

Dans l'extrait hydroalcoolique, elles se présentent sous forme de solides bruns insolubles dans l'éther, l'acétate d'éthyle et solubles en partie dans l'eau bouillante. Dans l'alcoolature, elles sont sous forme de liquide brun jaune. Ces deux auteurs ont purifié les saponines par précipitation tannique, suivi d'un relargage, puis décomposition du précipité par de l'oxyde de zinc. Ils ont ainsi montré la présence de saponines.

Ils ont signalé également la présence d'un stérol.

Denoel indique que l'anémone pulsatile renferme de grandes quantités de saponines dans toutes les parties de la plante à des concentrations variant entre

DUKE montre la présence de saponines à des taux plus faibles que précédemment, de l'ordre de 0,19 à 0,75 % dans la racine et le rhizome. Les saponines identifiées dans l'anémone pulsatile correspondent à la  $\beta$  amyryne et au  $\beta$  sitostérol.

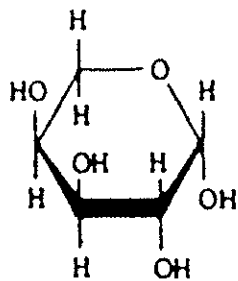
 $\beta$  amyryne $\beta$  sitostérol



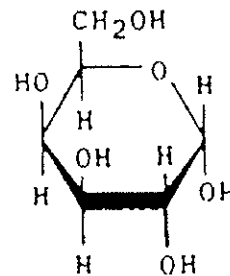
## 5. LES GLUCIDES

DUKE signale la présence de nombreux oses dans l'anémone pulsatille notamment :

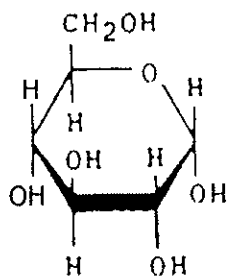
- l'arabinose,
- le galactose,
- le glucose,
- le rhamnose.



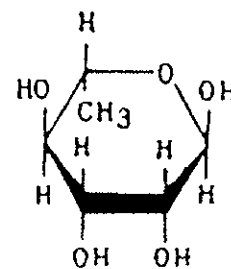
arabinose



galactose



glucose



rhamnose

Il a aussi été isolé un hétéroside parfaitement cristallisable, incolore, pratiquement insoluble dans l'eau et l'éther, soluble surtout à chaud dans l'alcool fort, l'acétone, l'acétate d'éthyle et le chloroforme. Ses constantes physiques sont les suivantes :

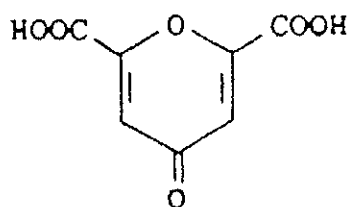
- point de fusion : 176,5° au bloc de Maquenne,
- $[d]_D^{20} = + 20^\circ$  en solution acétonique (BALANSARD, DELPHAUT 1946).

La partie sucrée fournie à l'hydrolyse est du glucose. Ce composé se trouve en proportion minimale dans l'extrait hydroalcoolique et dans l'alcoolature. Par contre, les préparations à base des organes souterrains de l'anémone en contiennent en grande quantité. Le nom exact du composé n'est pas indiqué.

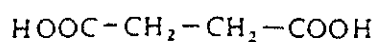
## 6. LES ACIDES ORGANIQUES

Des auteurs comme Von Lippmann en 1921 et Kivasniewski en 1955 ont signalé chez *Pulsatilla pratensis* Mill. une espèce voisine de *Anemone pulsatilla* L., la présence de deux acides organiques :

- l'acide chélidonique,
- l'acide succinique.



acide chélidonique



acide succinique

## 7. LES LIPIDES

BALANSARD et DELPHAUT ont décelé, en dehors des constituants déjà cités la présence d'une huile grasse.

## 8. CONCLUSION

Parmi les différents composés chimiques présents chez l'anémone pulsatile, les corps lactoniques seraient responsables des principales propriétés toxiques et pharmacologiques de cette plante. Ainsi des travaux ont été effectués pour connaître les actions de ces différentes molécules.

Concernant la composition chimique, très peu de composés ont été identifiés et la plupart des études sont assez anciennes.

## V ETUDE TOXIQUE

### 1. INTRODUCTION

Malgré son aspect attirant, l'anémone pulsatile n'est pas si anodine qu'on pourrait le croire. En effet, elle possède des propriétés toxiques dues aux corps lactoniques (ranunculine, protoanémone, anémone) présents chez de nombreuses renonculacées.

Ainsi dans cette partie, seront étudiés les effets toxiques de cette plante par analyse des différents symptômes observés lors d'intoxications spontanées ou expérimentales réalisées avec l'anémone ou d'autres renonculacées.

### 2. ACTION TOXIQUE SUR L'HOMME

#### 2.1. Par contact sur la peau et les muqueuses

##### 2.1.1. Par contact avec la peau

Lorsque la peau rentre en contact avec l'anémone pulsatile fraîche, elle devient rouge. Cette plante provoque des dermatites de contact.

Ainsi, il faut la manipuler avec précaution car le suc, sur la peau, peut entraîner des éruptions bulleuses avec un prurit intense. Si l'application se prolonge, il apparaît une tuméfaction persistant une quinzaine de jours, puis enfin une ulcération (DEBELMAS, DELAVEAU).

BALLON remarque aussi une enflure et des cloques détruisant les tissus comme une brûlure. Il signale que dans les cas extrêmes la gangrène peut s'installer.

### 2.1.2. Par contact sur les muqueuses

Lorsque des anémones fraîches sont broyées, il apparaît au niveau de la muqueuse oculaire une rougeur de la conjonctive et des larmoiements.

De plus, par écrasement de la plante, une odeur piquante se dégage et irrite fortement les muqueuses nasales.

Si une tige ou une feuille d'anémone est portée à la bouche, il se produit une irritation et une inflammation de la muqueuse buccale (BALLON, SHEARER).

### 2.2. Par absorption

Lorsque des tiges ou des feuilles de renonculacées sont sucées, elles provoquent rapidement une irritation des muqueuses buccale et œsophagienne. Cela se manifeste par une sensation de brûlure et l'apparition de cloques (DEBELMAS, DELAVEAU).

L'absorption des parties de renonculacées provoque des nausées, des brûlures d'estomac, des vomissements, signes de l'intolérance digestive. Une production abondante d'urines sanglantes et l'inflammation des reins traduisent l'effet toxique vis à vis de l'appareil urinaire. Il y a aussi des retentissements sur l'appareil respiratoire avec une dyspnée (DELAVEAU).

A fortes doses, il peut survenir une faiblesse des membres, des convulsions voire un delirium et des troubles cardiaques (hypotension, syncope) aboutissant parfois à la mort.

### 2.3. Quelques exemples d'intoxication

Les premières expériences sur l'ingestion des renonculacées furent effectuées par Kraph en 1776 et rapportées par SHEARER. Kraph a avalé des extraits de renoncules. Il ressent alors des grandes douleurs et des mouvements

convulsifs de l'estomac. Puis il poursuit son expérience en avalant deux gouttes de jus de plante. En plus des symptômes déjà décrits, il note des douleurs brûlantes et convulsives tout le long de l'œsophage. Enfin, après avoir mâché les feuilles de ces plantes, sa bouche se remplit de salive, sa langue devient enflammée, la membrane muqueuse de la bouche se détache et il perd la sensation de goût.

Aaron montre l'expérience d'une femme américaine de 77 ans souffrant d'arthrite ostéo - articulaire aux genoux et voulant se soigner en appliquant des compresses d'anémone. Après la pose des compresses, il se manifeste une sévère brûlure autour du genou ainsi qu'un érythème et une légère enflure. Après un long traitement, la brûlure guérit et la peau desquame et se régénère (SHEARER).

Des pharmaciens, en exécutant des préparations à base d'anémone, ont ressenti des troubles en broyant ces plantes. En effet, ils ont constaté une rubéfaction de la peau des mains et du visage, accompagnée de démangeaisons intenses et d'une conjonctivite (BALLON).

En ce qui concerne l'action cutanée de la protoanémonine, il est mentionné dans un journal vétérinaire que l'application immédiate d'une solution diluée de permanganate de potassium protégerait la peau de l'effet irritant de la protoanémonine. Cependant cette solution n'aiderait à détruire que la protoanémonine restante et ne soulagerait pas les effets déjà produits (SHEARER).

Les centres antipoison relèvent chaque année quelques cas d'intoxication dus aux renonculacées (BOURGEOIS).

### 3. ACTION TOXIQUE SUR LES ANIMAUX

De nombreux articles de journaux vétérinaires relatent des intoxications spontanées d'agneaux, de chevaux dues à l'absorption de renonculacées.

Des expériences furent aussi réalisées sur des chiens, des cobayes, des lapins, des grenouilles pour montrer les effets toxiques de l'anémone et des renonculacées voisines renfermant toutes les mêmes principes actifs.

#### 3.1. Par absorption spontanée

Lorsque des animaux herbivores ou carnivores consomment en abondance des renonculacées, ils présentent les mêmes symptômes d'intoxication que chez les humains. Cela se manifeste par de la diarrhée, un ralentissement des battements cardiaques, des troubles nerveux, des convulsions, voire même des néphrites. Parfois cela aboutit à la mort de l'animal (DELAVEAU).

#### 3.2. Quelques exemples d'intoxication

Dans un journal vétérinaire, Gérard en 1874 décrit un début d'empoisonnement par des renoncules chez des chevaux. Ils présentent des symptômes de coliques. Ils ont une attitude anxieuse et se lèchent les babines desquelles sortent un liquide visqueux. A des courts intervalles, ils sont saisis de curieux spasmes de la gorge, comme s'ils avaient des difficultés à avaler, cela est suivi d'éruclations et ils toussent en expulsant un fluide de leurs nasaux. Les membranes buccales sont rouges, tuméfiées et leurs lèvres sont enflées.

SHEARER reprend les informations données par Stock en 1886 qui attribue la maladie de deux chevaux à des renonculacées. Il remarque que l'un des animaux est agressif, il garde la tête près du sol et rue avec une grande violence. L'autre victime s'allonge par terre, il semble ralenti et ses pulsations

cardiaques sont de l'ordre de 90 par minute et presque imperceptibles. Il a la conjonctive rouge, la surface du corps et les extrémités froides. A l'auscultation de l'abdomen qui est tendu et tympanique, il est noté l'absence de tout son. Le décès de l'animal survient quelques heures plus tard.

A l'autopsie, Stock remarque que l'œsophage est enflammé sur toute sa longueur, l'estomac est crispé, contracté et contient une petite quantité de fluide foncé. La paroi du tube digestif est épaissie provoquant une occlusion. De plus, des ecchymoses sont observées sur le péritoine.

Enfin, des troupeaux de moutons ont été intoxiqués avec des anémones. Les signes cliniques de ces intoxications sont de la faiblesse, de la diarrhée, de la dyspnée et des urines sanglantes.

Les autopsies montrent une inflammation et un œdème du rumen, une hémorragie dans le ventricule gauche du cœur, une congestion des poumons, du foie, des reins et beaucoup de fluide dans les cavités thoraciques et abdominales (BALLON, NACHMAN, OLSEN).

Le diagnostic d'un empoisonnement par les renonculacées est difficile à déterminer. On pense toutefois à la responsabilité de la protoanémonine qui est connue pour ses propriétés irritantes et inflammatoires. Cependant, la preuve ne peut pas être faite par les autopsies où l'isolement et l'identification de la protoanémonine sont impossibles. Pour démontrer la responsabilité des corps lactoniques dans la toxicité de l'anémone pulsatile, des intoxications expérimentales ont été réalisées.

### 3.3. Intoxications expérimentales

Des expériences d'intoxication sont réalisées à partir du suc frais de renonculacées, des formes galéniques d'anémone pulsatile et d'une solution



d'anémone sur divers animaux ( chien, cobaye, souris, grenouille). Ces études seront faites par différentes voies d'injection.

### 3.3.1. Suc frais

#### 3.3.1.1. Voie stomacale

SHEARER a repris les travaux d'Orfila (1852) qui a administré du jus de renoncule frais (150 g ) à un chien par une sonde stomacale et a ligaturé l'œsophage. Une heure après l'administration, l'animal essaye de vomir et meurt 12 heures après en ayant montré une insensibilité et un malaise croissant.

Une autopsie montre des tâches de sang sur la muqueuse de l'estomac et dans les poumons.

BALLON constate que la toxicité du suc frais est très forte chez les chiens. L'ingestion stomacale, sans ligature de l'œsophage ne provoque pas la mort. En effet, la toxicité digestive de l'anémone entraîne des vomissements immédiats et ainsi l'animal rejette la majeure partie du produit. Cependant, à la suite de cette ingestion rendue quasi inefficace par les vomissements, le chien présente une somnolence et une parésie.

#### 3.3.1.2. Voie sous cutanée

Orfila a injecté à un chien en bonne santé, en sous cutanée, à l'intérieur de la cuisse, 8 g de suc frais à 8 heures. L'animal présente un malaise général et meurt à 10 heures. Le site d'injection de la solution de suc frais est enflé, infiltré et très enflammé, l'inflammation s'étendant à tous les muscles de l'abdomen.

A l'autopsie, les poumons sont remplis de sang, par contre le tractus digestif est resté normal.

### 3.3.1.3. Voie intrapéritonéale

BALLON a effectué une injection intrapéritonéale de suc d'anémone à un cobaye à des doses de 10 ml / kg.

Le cobaye est mort au bout de 3 heures pendant une crise de convulsions. Avant sa mort, de nombreux symptômes sont observés comme de la somnolence, une paralysie générale et une hypothermie. De plus, les mouvements respiratoires sont ralentis, des tremblements apparaissent, accompagnés de convulsions cloniques puis toniques.

A l'autopsie, on note une ulcération de la muqueuse de l'estomac se manifestant par des ecchymoses et des effusions sanguines. De plus, le cerveau, l'intestin, le foie et les reins sont congestionnés.

### 3.3.1.4. Voie intraveineuse

BALLON réalise chez un cobaye une injection intraveineuse, dans la veine saphène, de 10 ml de suc frais d'anémone en solution dans 500 ml de sérum physiologique. Les injections sont faites toutes les 15 minutes et le cobaye meurt au bout de 1 heure et 25 minutes.

Avant sa mort, l'animal a présenté une paraplégie, des vomissements, des convulsions, de la dyspnée, accompagnés d'un ralentissement des battements cardiaques. Le décès survient pendant les convulsions avec une chute importante de la pression.

### 3.3.1.5. Voie lymphatique

BALLON a injecté dans les sacs lymphatiques dorsaux d'une grenouille 1 à 2 ml de suc d'anémone.

Quelques minutes après l'injection, l'animal fait 2 ou 3 sauts et de nombreux mouvements de déglutition. Il se tapit dans un coin et répond mal aux

excitations : les mouvements sont lents et les membres postérieurs de l'animal ne reviennent que péniblement sous lui. Quelques minutes après, la grenouille présente une impotence fonctionnelle presque complète avec une anesthésie totale. Elle devient flasque, sa gorge se colore en bleu, les mouvements respiratoires sont lents et à peine perceptibles. Puis brusquement, il apparaît des convulsions et l'animal meurt.

Dans tous ces cas d'intoxication expérimentale, des symptômes tels que les hémorragies et ecchymoses, le ralentissement des mouvements cardiaques et respiratoires, les convulsions sont présents à chaque fois.

Quand l'administration est faite par voie stomacale, c'est l'estomac qui est l'organe le plus touché. De plus, lorsque l'animal vomit, cela étant dû à la toxicité digestive de l'anémone, il ne meurt pas et les symptômes généraux sont beaucoup plus faibles. Par contre, quand il s'agit d'une injection, où le produit ne peut être rejeté, les symptômes généraux sont très importants et conduisent à la mort de l'animal. La gravité des symptômes est due, dans ces expérimentations, au passage dans le sang et les organes vitaux des substances toxiques.

### 3.3.1.6. Substances responsables

D'après SHEARER, ces phénomènes sont dus aux corps lactoniques des renonculacées notamment la protoanémone. Il a remarqué que les effets toxiques sont plus importants avec *Ranunculus acris* qu'avec *Ranunculus repens*. En effet, il constate que *R. acris* est riche en ranunculine ( donc riche aussi en protoanémone), alors que *R. repens* contient très peu de ranunculine. D'où, il en conclut que la protoanémone est responsable des effets toxiques des renonculacées.

Certains auteurs comme Bergmann ont étudié la composition chimique des renonculacées et trouvent à coté de la protoanémone une saponine. Cette

dernière a, elle aussi, des propriétés irritantes. Cette substance peut être toxique par son pouvoir hémolytique et jouerait un rôle de synergie en facilitant l'absorption de la protoanémone. Des expériences ont été effectuées : l'action de la plante sur la peau sert de référence pour la protoanémone, l'indice hémolytique fournit les valeurs de comparaison pour la teneur en saponine. De fortes réactions cutanées ont été obtenues avec *Ranunculus thora* et *Ranunculus sceleratus* signalées dans les ouvrages comme très toxiques. On a en même temps déterminé les indices hémolytiques chez *R. sceleratus* qui est égal à 2,5 et *R. thora* à 0, donc dans ce dernier cas il n'y a pas l'activité de la saponine.

Ainsi l'action toxique n'est pas liée à la teneur en saponine mais uniquement à la présence de protoanémone.

### 3.3.2. Formes galéniques de l'anémone pulsatile

Une étude a été faite en vue de déterminer la toxicité des différentes formes galéniques de l'anémone pulsatile.

QUEVAUVILLER a injecté à une souris ces préparations à l'aide d'une petite sonde œsophagienne.

#### 3.3.2.1. Eau distillée d'anémone

Une souris supporte sans symptômes notables des doses de 0,5 ml et 1 ml de cette solution. La dose maximale tolérée est supérieure à 50 ml /kg.

#### 3.3.2.2. Alcoolature d'anémone

QUEVAUVILLER trouve que la dose maximale tolérée est de 10 ml / kg, la dose minimale mortelle est de 25 ml / kg et la dose moyenne létale est de 15 ml / kg.

Les symptômes toxiques se traduisent par de la titubation, de la torpeur avec prostration, de la dyspnée, de la cyanose puis survient la mort par arrêt respiratoire.

#### 3.3.2.3. Teinture d'anémone

Les doses tolérées et les doses mortelles sont les mêmes que précédemment. Les doses moyennes létales sont de 17,5 ml / kg.

Les symptômes toxiques sont identiques à ceux observés avec l'alcoolature d'anémone.

#### 3.3.2.4. Alcool à 50°

La dose létale est de 22,5 ml / kg.

Les symptômes toxiques sont identiques à ceux observés avec les macérats alcooliques d'anémone.

#### 3.3.2.5. Conclusion

Ces résultats conduisent QUEVAUVILLER aux conclusions suivantes :

1. les symptômes toxiques observés par administration buccale à la souris de l'alcoolature et de la teinture d'anémone sont en partie dus à l'alcool
2. la toxicité de l'alcoolature et de la teinture d'anémone ne sont pas dues au solvant seul car la dose létale pour l'alcool est de 22,5 ml / kg, alors que pour l'alcoolature elle est de 15 ml / kg et pour la teinture elle est de 17,5 ml / kg. Donc, il existe bien une toxicité due à la présence d'anémone dans les macérats alcooliques puisque les doses mortelles sont plus faibles.

### 3.3.3. Solution d'anémone

Ces expériences sont réalisées à partir d'une solution d'anémone à 1 % dans de l'eau ou à partir d'une solution huileuse d'anémone.

#### 3.3.3.1. Voie sous cutanée

Les expériences sont effectuées sur des grenouilles avec des doses de 10, 20 et 30 mg de solution saline d'anémone.

Avec une dose de 10 mg, aucun phénomène anormal n'est relevé.

Par contre, aux doses de 20 et 30 mg, les grenouilles présentent des troubles nerveux, des troubles cérébraux et de la paralysie. Enfin, surviennent les convulsions puis la mort.

#### 3.3.3.2. Voie intrapéritonéale

BALLON a injecté à un cobaye 10 ml / kg de solution huileuse d'anémone. Il note une période d'excitation passagère à laquelle succède bientôt de la somnolence et de la torpeur. L'animal est prostré, sa respiration et ses battements cardiaques sont ralentis. Au bout de 4 à 6 heures, le cobaye se paralyse progressivement, il est en état de mort apparente. Enfin, l'animal meurt 8 à 10 heures après l'injection par asphyxie car ses poumons sont paralysés.

Avec des doses plus faibles, les mêmes phénomènes sont observés mais la mort survient plus tardivement.

#### 3.3.3.3. Voie intraveineuse

BALLON a administré à un chien, par voie intraveineuse, 10 à 20 ml / kg d'une solution d'anémone.

Les phénomènes toxiques observés chez le chien sont les mêmes que ceux présentés précédemment par le cobaye.

#### 3.3.3.4. Voie lymphatique

BALLON injecte dans les sacs lymphatiques dorsaux d'une grenouille une dose de 1 mg/kg de solution d'anémone. L'animal meurt en 1 à 2 heures. Si des doses plus faibles sont employées, la grenouille meurt 24 à 30 heures après l'injection. Avant la mort, l'animal s'agite puis rentre dans une phase de torpeur, suivi quelques heures plus tard par des convulsions.

#### 3.3.3.5. Action de l'anémone

L'anémone est un poison agissant sur le cerveau, le système nerveux central où elle inhibe toutes les fonctions nerveuses avec apparition de crampes.

De plus elle agit sur le cœur dont les battements faiblissent jusqu'à la mort. Elle ralentit également la respiration.

Les animaux, intoxiqués par l'anémone, passent par 3 périodes :

- période hypnotique,
- période avec paralysie,
- période avec convulsions.

Mais, l'anémone n'est toutefois pas classée dans la catégorie des poisons violents car ses effets sont doses dépendants. Si on diminue les doses, les effets toxiques sont moins importants ou du moins leur évolution est ralentie. Dans ce cas, ce sont les convulsions qui apparaissent les premières.

#### 4. CONCLUSION

L'anémone pulsatile présente donc une certaine toxicité.

Les expériences montrent que cette toxicité est due à la protoanémonine (issue de la ranunculine ) et à l'anémonine. On attribue la toxicité à ces deux lactones et non à la ranunculine, car aucune étude ne montre la toxicité de celle-ci.

Les effets observés lors des intoxications sont à peu près identiques. En effet, à chaque fois des troubles du système nerveux central apparaissent, accompagnés de somnolence, de paralysie, de prostration et de convulsions. Des troubles cardiaques, respiratoires et digestifs sont également observés.



## VI ETUDE PHARMACOLOGIQUE

Des études expérimentales montrent que l'anémone pulsatile présente de nombreuses propriétés pharmacologiques dues à la protoanémone et à l'anémone.

Ces propriétés comprennent des activités insecticide, sédatrice, antipyrétique et des actions sur la tension, la vasomotricité rénale et la motricité intestinale.

D'autres travaux s'intéressent aux propriétés antimutagène, cytotoxique, antifongique et antibactérienne de la plante.

Nous allons étudier successivement toutes ces propriétés nouvelles démontrées expérimentalement.

### 1. ACTIVITE INSECTICIDE

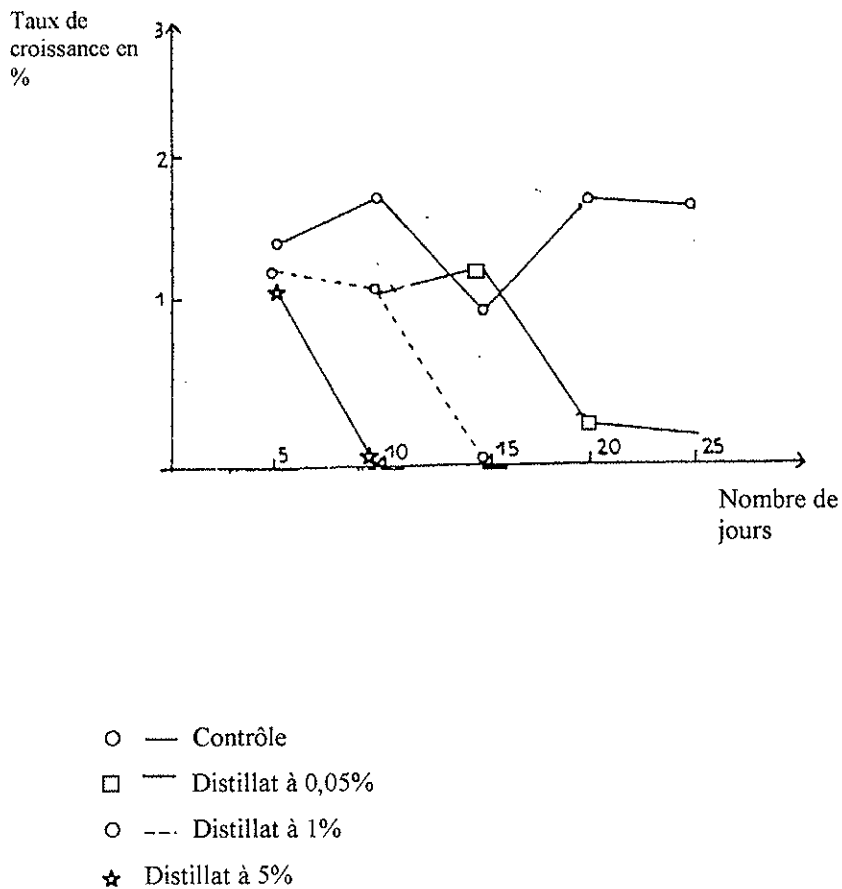
Cette activité a été démontrée grâce à des extraits de renoncule contenant de la protoanémone et de l'anémone. L'expérience a été réalisée sur deux mouches : *Drosophila melanogaster* et *Tribolium castaneum*.

La première étape consiste en l'extraction des composés lactoniques par distillation à partir de *Ranunculus sceleratus*. Puis ensuite les chercheurs mélangent 500 ml de milieu de culture à 5 ml d'acétone. Ce mélange est coulé dans des boîtes de pétri de 10 cm de diamètre. Puis 10 larves fraîchement écloses, élevées dans des conditions de laboratoire à 26°C, sont introduites à l'intérieur de chaque disque de pétri.

Trois concentrations des corps lactoniques dans l'éther sont utilisées : 0,05, 1 et 5 %. Enfin, ces extraits éthers de protoanémone et d'anémone sont introduits dans les pétris avec les larves déjà présentes. Les résultats sont recueillis toutes les 24 heures pendant 5 jours. Ils sont rassemblés dans le tableau suivant et schématisés sous forme de graphique (BHATTACHARYYA et coll.).

Concentration (%)	Mortalité larvaire en 24 h (%)	Emergence nymphale/100 larves	Poids nymphal (mg) / jour			Emergence adulte / 100 larves
			1 <sup>er</sup> jour	2 <sup>ème</sup> jour	3 <sup>ème</sup> jour	
			5	100	—	
1	56	26	0,96	0,82	0,71	0
0,05	16	63	0,84	0,69	0,65	0
Contrôle	Nul	100	6,3	4,4	3,6	100

Tableau 5 : Activité insecticide des extraits éthers de *R. sceleratus* contre *D. melanogaster*



Graphique 1 : Effets des extraits éthers de *R. sceleratus* sur le poids et le taux de croissance des adultes de *T. castaneum* (BHATTACHARYYA et coll.)

Les extraits éthers de *R. sceleratus* provoquent une réduction de l'activité larvaire et du poids nymphal. Ils inhibent l'émergence des nymphes en adulte, cela quelque soit la concentration, contrairement au contrôle où il y a l'émergence de 100% des larves. On note également une grande mortalité des larves. En effet, aucune larve ne survit à des concentrations de 1 et 5%, sur une durée de 10 à 15 jours. Enfin, le taux relatif de croissance est perturbé en présence d'extraits de renoncules par rapport au taux de croissance du contrôle.

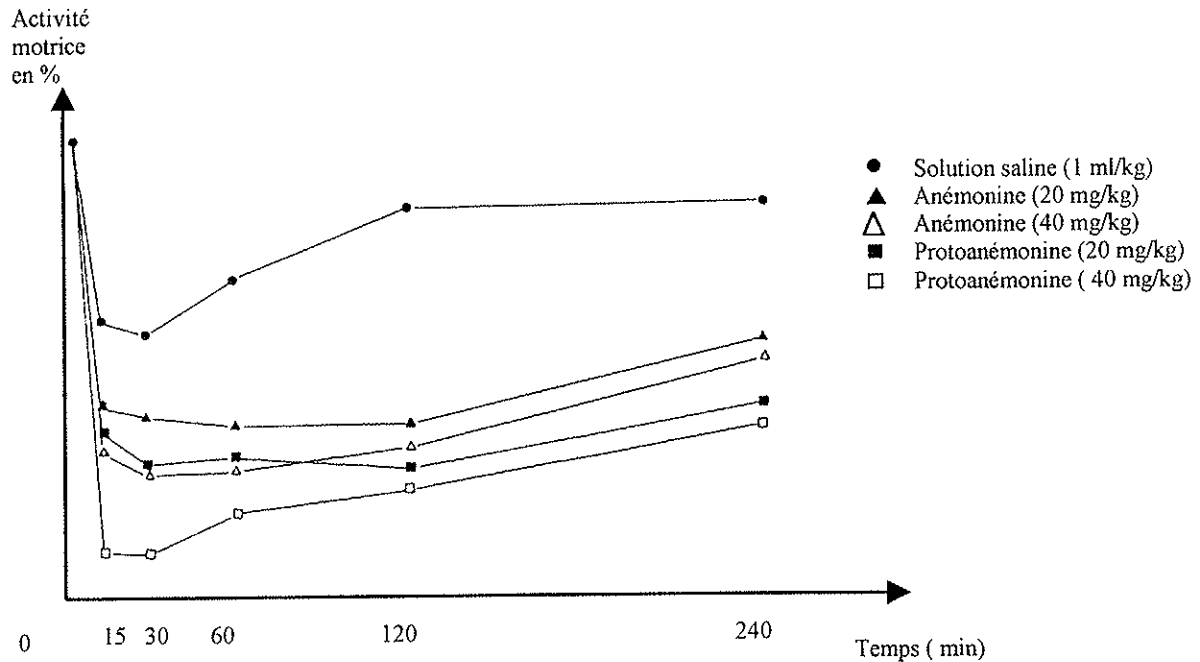
Ainsi, ces résultats permettent de conclure que les deux lactones isolées chez les renonculacées inhibent le développement des mouches. Cette étude, en démontrant l'activité insecticide, pourrait être le précurseur de travaux s'intéressant à des agents protecteurs contre les maladies des plantes induites par les insectes.

## 2. ACTIVITE SEDATIVE

L'étude est effectuée à partir de la protoanémone et de l'anémone isolées de *Pulsatilla alpina*, une espèce voisine de l'anémone pulsatille.

L'activité sédatrice des lactones est étudiée sur des souris albinos. Des solutions salines physiologiques de protoanémone et d'anémone sont injectées par voie intrapéritonéale. Les concentrations utilisées pour les deux types de solution sont 20 mg/kg et 40 mg/kg. L'expérience consiste à mesurer la diminution de l'activité motrice spontanée 15, 30, 60, 120 et 240 minutes après l'administration des différentes solutions (MARTIN et coll. 1988).

Les résultats sont rassemblés dans le graphique suivant.



Graphique 2 : Effet inhibiteur de la protoanémone et de l'anémone sur l'activité locomotrice d'une souris (MARTIN et coll. 1988).

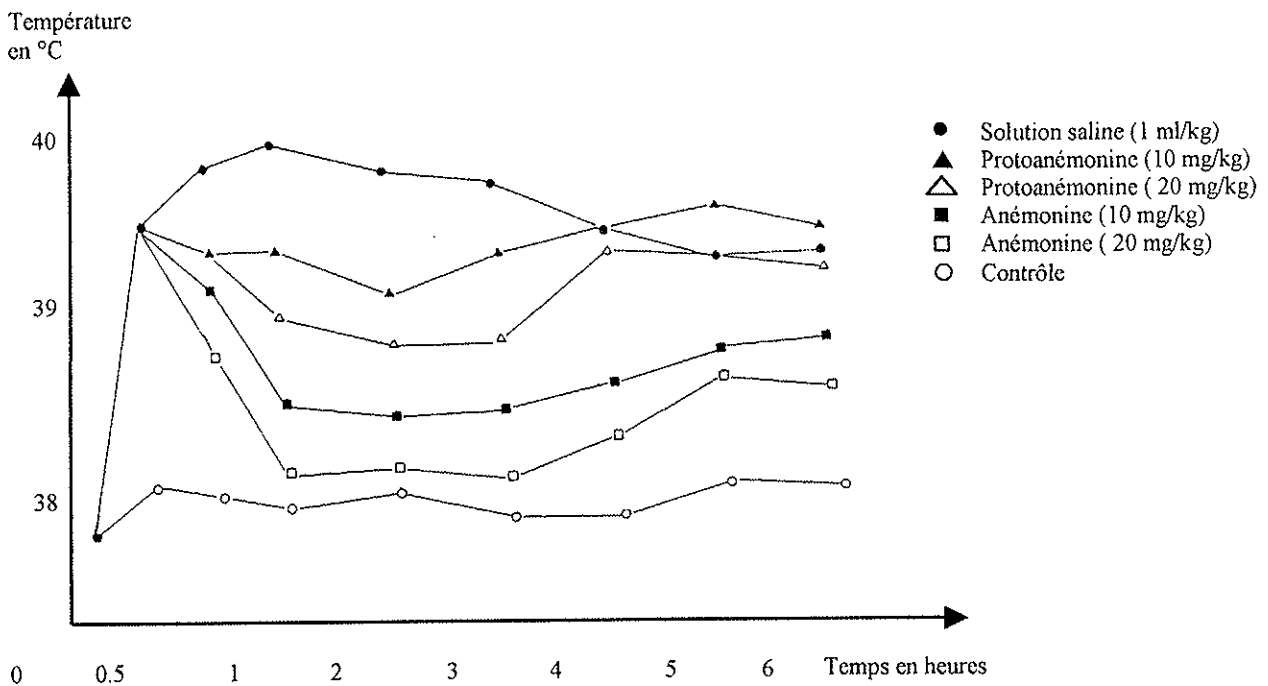
L'anémone et la protoanémone induisent une réduction significative de l'activité motrice spontanée. La protoanémone semble être plus sédatrice que l'anémone.

### 3. ACTIVITE ANTIPYRETIQUE

Des scientifiques ont étudié l'activité antipyrétique de l'anémone pulsatile avec la protoanémone et l'anémone isolées de *Pulsatilla alpina*.

Dans cette étude, ils utilisent des rats chez lesquels ils induisent une hyperthermie par une injection de suspension de levure concentrée à 20 %. Ils injectent les lactones par voie intrapéritonéale 6 heures après l'injection de levure. Les concentrations de protoanémone et d'anémone utilisées sont de 10 et 20 mg/kg. La température rectale est surveillée à 30 minutes et 1, 2, 3, 4, 5, 6 heures après l'injection (MARTIN et coll. 1988).

Les résultats sont rassemblés dans le graphique suivant.



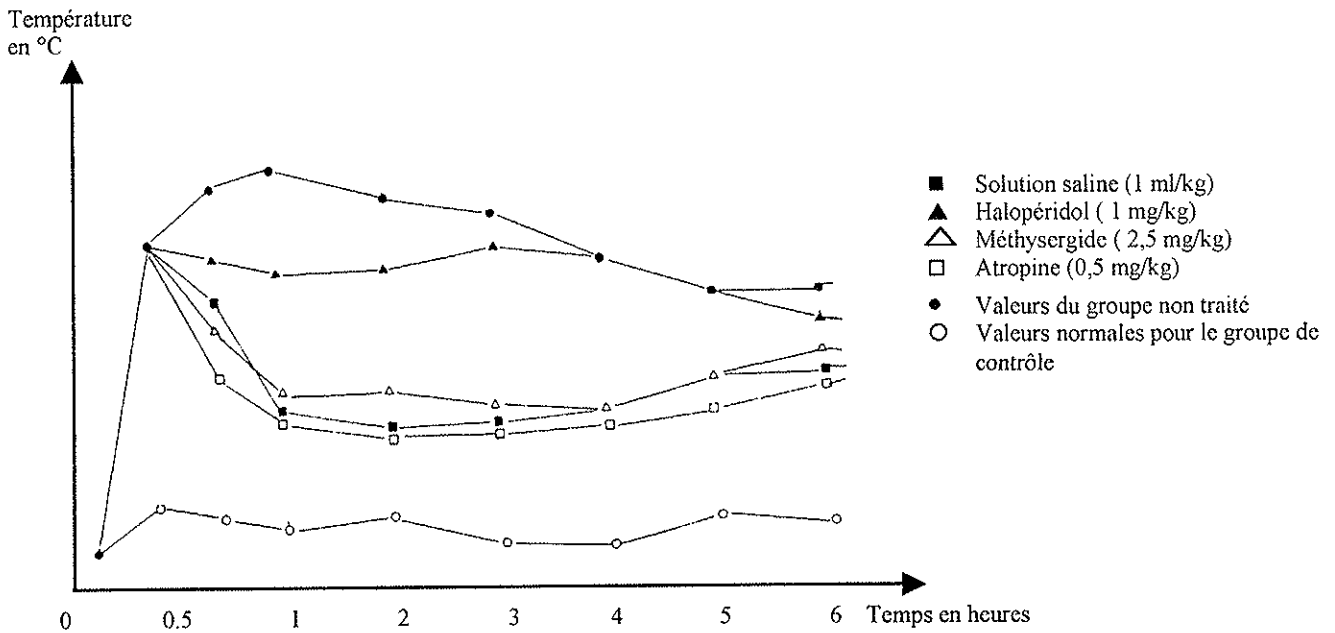
Graphique 3 : Effet d'une administration intrapéritonéale sur la fièvre induite des rats (MARTIN et coll. 1988).

L'anémone et la protoanémone possèdent une activité antipyrétique qui se traduit par une diminution de la température rectale. L'anémone semble être plus antipyrétique que la protoanémone.

Puis ces mêmes auteurs ont réalisé une deuxième expérience en utilisant d'autres produits en plus de l'anémone : halopéridol à 1 mg/kg, méthysergide à 2,5 mg/kg et atropine à 0,5 mg/kg.

Ces produits sont injectés en intrapéritonéale 1 heure avant l'injection d'anémone. La température rectale est suivie 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 heures après l'injection d'anémone.

Les résultats sont recueillis sous forme de graphique.



Graphique 4 : Effets d'un prétraitement par une solution saline, de l'halopéridol, du méthysergide, ou de l'atropine sur l'activité antipyrétique de l'anémone ( MARTIN et coll. 1988).

L'action antipyrétique de l'anémone est inhibée par l'halopéridol mais pas par le méthysergide et l'atropine.

L'action antipyrétique de l'anémone pourrait s'expliquer par un mécanisme similaire à celui de la dopamine qui est un neuromédiateur hormonal thermorégulateur.

#### 4. ACTION SUR LA TENSION CAROTIDIENNE ET LA VASOMOTRICITE RENALE

QUEVAUVILLER a expérimenté cette vasomotricité rénale sur un chien, endormi au chloralose, dont la tension est surveillée au manomètre. La vasomotricité rénale est suivie par l'oncographe de Roy.

Les solutions issues de l'anémone pulsatile sont injectées en intraveineuse dans la veine saphène du chien. L'expérience se déroule en plusieurs étapes avec un tracé à chacune d'elle.

A 10 heures 30, l'animal reçoit 1 ml / kg d'alcool à 12,5°. La constriction rénale observée n'est pas constante car d'autres chiens ne réagissent pas de la même façon. La tension carotidienne est peu modifiée.

A 10 heures 45, il est injecté 1 ml / kg d'eau distillée d'anémone pulsatile. Le tracé montre une vasoconstriction rénale importante suivie d'une vasodilatation prolongée. Cela est accompagné d'une légère hypotension.

A 11 heures, le chien reçoit 1 ml / kg d'alcoolature d'anémone pulsatile diluée au  $\frac{1}{4}$ . Comme précédemment, il est observé une importante vasoconstriction accompagnée dans l'ordre d'une vasodilatation temporaire et d'une vasoconstriction. Les variations de tension sont les mêmes que celles observées avec l'eau distillée d'anémone.

A 11 heures 15, le chien reçoit 1 ml / kg de teinture d'anémone diluée au  $\frac{1}{4}$ . La vasoconstriction rénale et l'hypertension sont présentes mais moins marquées qu'avec l'alcoolature d'anémone.

Par ces expériences, QUEVAUVILLER a mis en évidence le pouvoir vasoconstricteur des préparations galéniques d'anémone pulsatile sur le rein. Cette action vasoconstrictrice rénale primaire est accompagnée d'une hypertension suivie généralement d'une légère hypotension. L'hypertension résulte de l'action vasoconstrictrice de l'anémone.

D'après HAMET, l'hypotension n'est pas d'origine vagale, et ne résulte pas, à faibles doses, d'une dépression cardiaque. En effet, il remarque, après une injection de préparation d'anémone, une hypotension sans que « l'inotropie » et la « chronotropie » du cœur soient modifiés. Il en conclut alors que cette

hypotension est d'origine vasculaire, du moins, avec des doses faibles d'anémone pulsatile.

## 5. ACTION SUR LA MOTRICITE INTESTINALE

Les conditions expérimentales sont les mêmes que pour l'expérience précédente. L'étude se déroule en plusieurs étapes.

A 17 heures, le chien reçoit 1 ml / kg d'alcool à 12,5°. On n'observe pas d'action notable sur l'intestin.

A 17 heures 25, il est injecté 1 ml / kg d'eau distillée d'anémone pulsatile. Les mouvements péristaltiques de l'intestin sont inhibés pendant plus de 5 minutes, ils reprennent après leur rythme normal.

A 17 heures 35, l'animal reçoit 1 ml / kg d'alcoolature d'anémone diluée au  $\frac{1}{4}$ . L'intestin est inhibé pendant 4 minutes puis les mouvements péristaltiques reprennent mais avec plus d'intensité qu'à l'état normal accompagnés d'une légère augmentation du tonus. 5 minutes après l'injection, le tonus intestinal revient à la normale mais les mouvements intestinaux restent accentués.

A 17 heures 45, on injecte 1 ml / kg de teinture d'anémone diluée au  $\frac{1}{4}$ . Les phénomènes observés sont identiques à ceux de l'alcoolature.

Cette étude montre l'action inhibitrice *in situ* de l'anémone pulsatile. De plus, par ces expérimentations, QUEVAUVILLER montre que la dessiccation ne prive pas l'anémone pulsatile de toutes ses propriétés pharmacodynamiques. En effet, que ce soit l'action sur la tension, sur la vasomotricité rénale ou sur l'intestin, la teinture est presque aussi active que l'alcoolature.



## 6. ACTIVITE ANTIMUTAGENE

MINAKATA et coll. veulent mettre en évidence le pouvoir antimutagène de la protoanémone issue de l'anémone pulsatile.

Ils ont observé que cette substance est capable d'inhiber les mutations induites par des agents mutagènes chez une souche de bactéries *Escherichia coli* B/r WP<sub>2</sub> trp. Les agents mutagènes utilisés sont des rayons UV et du MNNG ou N méthyl N' nitro N nitrosoguanidine. Ces agents sont capables de convertir des bactéries ordinairement tryptophane - (trp-) en bactéries tryptophane + (trp+). L'activité antimutagène de la protoanémone est confirmée par les résultats rassemblés dans les tableaux 6 et 7. Cette activité est appréciée par sa capacité à réduire de façon dose dépendante la fréquence des mutations induites par les agents mutagènes.

Dosage UV (J/m <sup>2</sup> )	Protoanémone (µg/ml)	Nombre de colonies survivantes (trp-) par plaque (x 10 <sup>6</sup> )	Nombre de colonies mutantes (trp+) par plaque	Nombre de mutants induits (trp+) par plaque	Fréquence de mutation (x 10 <sup>-6</sup> )
0	0	400	9	—	0,023
3,45	0	462	412	402	0,87
3,45	20	394	261	252	0,64
3,45	40	398	157	148	0,37
3,45	80	376	70	62	0,16
3,45	120	361	18	18	0,05
3,45	160	339	8	8	0,023

J= joule

Tableau 6: Activité antimutagénique de la protoanémone sur les mutations induites par les UV sur *E. coli* B/r WP<sub>2</sub> trp ( MINAKATA et coll.).

Dosage MNNG (µg/ml)	Protoanémone (µg/ml)	Nombre de colonies survivantes (trp-) par plaque ( $\times 10^6$ )	Nombre de colonies mutantes (trp+) par plaque	Nombre de mutants induits (trp+) par plaque	Fréquence de mutation ( $\times 10^{-6}$ )
0	0	189	11	—	0,058
30	0	162	874	865	5,34
30	20	126	540	533	4,23
30	40	132	354	347	2,63
30	80	147	225	217	1,48
30	120	115	115	108	0,94
30	160	120	69	62	0,52

Tableau 7 : Activité antimutagénique de la protoanémone sur les mutations induites par le MNNG sur *E. coli* B/r WP2 *trp* ( MINAKATA et coll.).

Cette étude a permis de calculer la dose antimutagénique 50 (DA 50). C'est la concentration chimique à laquelle la fréquence des mutations est réduite de moitié par rapport au dosage 0 de protoanémone. Les DA 50 de la protoanémone sont respectivement de 30 et 47 µg pour les mutations induites par les UV et le MNNG.

Les auteurs ont recommencé l'expérience pour montrer la sensibilité des mutants face à la protoanémone, cela est représenté dans les tableaux suivants.

Protoanémone (µg/ml)	Nombre de colonies trp+ par plaque	Pourcentage de survie
0	1077	100
50	1074	99,7
100	1052	97,7
150	1065	98,7
200	982	91,2

Tableau 8 : Sensibilité des colonies trp+ induites par les UV à la protoanémone

Protoanémone (µg/ml)	Nombre de colonies trp+ par plaque	Pourcentage de survie
0	1051	100
50	1076	102,3
100	1107	105,3
150	1049	99,8
200	1006	95,7

Tableau 9 : Sensibilité des colonies trp+ induites par le MNNG à la protoanémone

A partir de ces résultats, la possibilité que les cellules mutantes induites trp+ soient sensibles à la protoanémone est éliminée. En effet, il n'y a pas de diminution significative du taux de survivants en présence de protoanémone. Donc, l'activité antimutagénique de cette substance n'est pas due à la mort sélective des bactéries induites trp+. C'est à dire qu'il y a moins de trp+ non pas

parce qu'elles meurent mais parce qu'il s'en forme moins en présence de protoanémone.

Cette étude a permis de démontrer l'activité antimutagénique de la protoanémone qui agit lors de la fixation de la mutation et réduit ainsi la fréquence des mutations induites.

## 7. INHIBITION DE LA CROISSANCE

THIMANN et BONNER ont voulu montrer l'effet inhibiteur de la protoanémone sur la croissance des plantes. Ils ont mis en contact, dans un milieu contenant de l'indole acétique, des tiges de pois avec une solution d'auxine (hormone végétale qui agit sur la courbure des plantules de façon positive) de concentration inconnue, et avec une solution de protoanémone. Ils mesurent ensuite les déviations des tiges (les valeurs positives pour les déviations vers l'intérieur, les valeurs négatives pour les déviations vers l'extérieur).

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant.

Concentration en indole acétique (mg/ml)	Concentration de protoanémone ( $10^{-4}$ M)	Degrés de courbure
1	0	+112
1	0,04	+87
1	0,2	+51
1	1,0	-118
1	4,5	Toxique

Tableau 10 : Inhibition de la courbure de la tige de pois par la protoanémone.

L'inhibition est détectable à  $4 \times 10^{-6}$  M de protoanémonine et complète à partir de  $1 \times 10^{-4}$  M. Ces résultats montrent que la protoanémonine antagonise l'action de l'auxine.

Par ailleurs, THIMANN et BONNER effectuent le test d'élongation sur des coléoptiles d'avoine. Pour cela, ils utilisent des sections étiolées de 3 mm, coupées 72 heures plus tôt. Ces tiges sont placées dans un milieu de croissance contenant de l'indole acétique à raison de 1 mg /ml et du sucre à 1%. Elles sont ensuite mises en contact avec des solutions de protoanémonine.

Les auteurs remarquent que la protoanémonine, à des doses faibles, accélère la croissance du coléoptile. Mais à une concentration de  $1 \times 10^{-4}$  M, la croissance de la plante diminue progressivement de façon linéaire et inversement proportionnelle au logarithme de la concentration de la lactone.

Ces 2 expériences montrent l'action inhibitrice de la protoanémonine sur la croissance de la plante. THIMANN et BONNER réalisent une dernière expérience pour mettre en évidence l'action antagoniste du BAL ou 1, 2, dimercaptopropane sur la protoanémonine. Les auteurs réalisent ces expériences en utilisant du dimercaptopropane et une concentration suffisante de protoanémonine pour donner une inhibition bien au dessus de 50 %.

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux suivants.

Concentration d'indole acétique (mg/ml)	Concentration de protoanémone (x 10 <sup>-4</sup> M)	Concentration de BAL (x 10 <sup>-4</sup> M)	Degrés de courbure	Augmentation due au BAL en degrés
10	0	0	+238	—
10	0,4	0	-39	—
10	0,4	0,5	+73	+112
10	0,4	3	+121	+160
10	0	0,5	+271	—
10	0	3	+207	—
0	0	0	-183	—

Tableau 11 : Inhibition des courbures de tiges de pois de la protoanémone et sa prévention par le BAL

Concentration de protoanémone (x 10 <sup>-5</sup> M)	Concentration de BAL (x 10 <sup>-4</sup> M)	Croissance du coléoptile	Croissance des contrôles	Augmentation due au BAL en %
0	0	91,0	(100)	—
0,5	0	30,1	33	—
0,5	1	79,9	88	+55
0,5	3	71,3	78	+45
1,0	0	14,6	16	—
1,0	3	31,8	35	+19

Tableau 12 : Inhibition de la croissance des sections de coléoptile par la protoanémone et sa prévention par le BAL

Ces résultats montrent l'antagonisme entre la protoanémone et le BAL. La protoanémone seule inhibe la croissance, alors qu'en présence de BAL l'action de la lactone est antagonisée et la croissance repart.

Ces études montrent que la protoanémone inhibe les processus de croissance. L'inhibition de la croissance des plantes peut s'expliquer par l'interaction entre la protoanémone et la sulfuryl enzyme contenue dans les végétaux. Il apparaît que cette enzyme, où du moins la réaction qu'elle catalyse, soit le facteur limitant dans la croissance des plantes. Ainsi, la protoanémone par ses caractères électrophiles réagit avec les groupes thiols de l'enzyme, provoquant son inhibition et bloque ainsi la croissance des plantes et le BAL, molécule contenant aussi un groupe thiol. C'est pourquoi cette inhibition peut être prévenue par l'addition du BAL, qui va protéger la sulfuryl enzyme et permet à la croissance de repartir.

## 8. ACTIVITE CYTOTOXIQUE DE LA PROTOANEMONINE

Il a été montré que la protoanémone peut être responsable de modifications sur des végétaux et des organismes cellulaires comme des algues.

### 8.1. Action sur les cellules végétales

ERICKSON et ROSEN utilisent de jeunes racines de maïs qu'ils placent dans des bacs contenant 25 ml d'une solution de protoanémone et d'eau, à température ambiante. L'étude est réalisée sur plusieurs périodes plus ou moins longues avec différentes concentrations de protoanémone. Les auteurs suivent la fréquence mitotique des cellules de la racine en comptabilisant le nombre d'anaphases et de métaphases reporté dans le tableau suivant.

Concentration de protoanémone	Temps de l'expérience	Nombre de cellules examinées	Nombre de métaphase et anaphase
Contrôle	–	3544	42
Contrôle	–	3186	44
Contrôle	–	3176	62
$1 \times 10^{-5} \text{ M}$	24 h	2846	39
$1 \times 10^{-4} \text{ M}$	24 h	3063	25
$2,15 \times 10^{-4} \text{ M}$	24 h	2998	26
$4,65 \times 10^{-4} \text{ M}$	24 h	2210	0
$1 \times 10^{-3} \text{ M}$	24 h	2230	0

Tableau 13 : Nombre de métaphases et d'anaphases dans des racines de maïs traitées avec de la protoanémone

Ces résultats montrent une très nette diminution du nombre de métaphases et d'anaphases indiquant ainsi que la protoanémone est un inhibiteur de la mitose. A des concentrations de  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$  de protoanémone, les cellules sont nécrosées et ont perdu presque toute ressemblance avec des cellules de structure normale. Elles sont apparemment mortes au moment de la fixation de la protoanémone car les parois cellulaires n'apparaissent pas aussi clairement qu'avant le traitement.

Au niveau des cellules non nécrosées, la protoanémone a perturbé de façon importante les étapes et les caractéristiques de la mitose.

Tout d'abord les noyaux ont perdu leur position centrale dans la cellule. Ils sont tous dans une phase ressemblant à une interphase ou à une « post phase ». Ces noyaux en « post phase » ont une membrane nucléaire intacte et un nucléole d'apparence normale, mais les chromosomes sont plus courts et plus



fins que dans une mitose normale. Les polyploïdies, les métaphases, les anaphases et la séparation des chromatides ont disparu.

En outre, le cytoplasme a lui aussi subi des perturbations. En effet, le cytoplasme, à l'état normal, a une structure lisse interrompue par des petites vacuoles sphériques. Or, lors du traitement avec la protoanémone, il est réduit à des brins irréguliers et des granules sphériques lourdement colorés. Cela suggère une sévère contraction et une rupture de la structure normale.

Dans les cellules traitées, on remarque aussi la coalescence des vacuoles laissant une ou plusieurs vacuoles larges responsables du déplacement du noyau. Dans ces grosses vacuoles, des masses granulaires ont été observées.

Enfin, la modification la plus marquante du traitement concerne les mitochondries. En effet, après le traitement, elles ne peuvent plus être identifiées, et seuls les granules sphériques ont pu être interprétés. Cette perturbation se produit à des concentrations faibles, inférieures à  $1 \times 10^{-3}$  M de protoanémone.

Les cellules de la racine de maïs sont très perturbées en présence de protoanémone. Elles perdent toutes les caractéristiques des cellules végétales normales notamment au niveau du noyau, des vacuoles et des mitochondries. Puis, la division cellulaire est également modifiée puisque toutes les cellules qui ont survécu au traitement sont bloquées en prophase et n'ont pas subi la métaphase et l'anaphase.

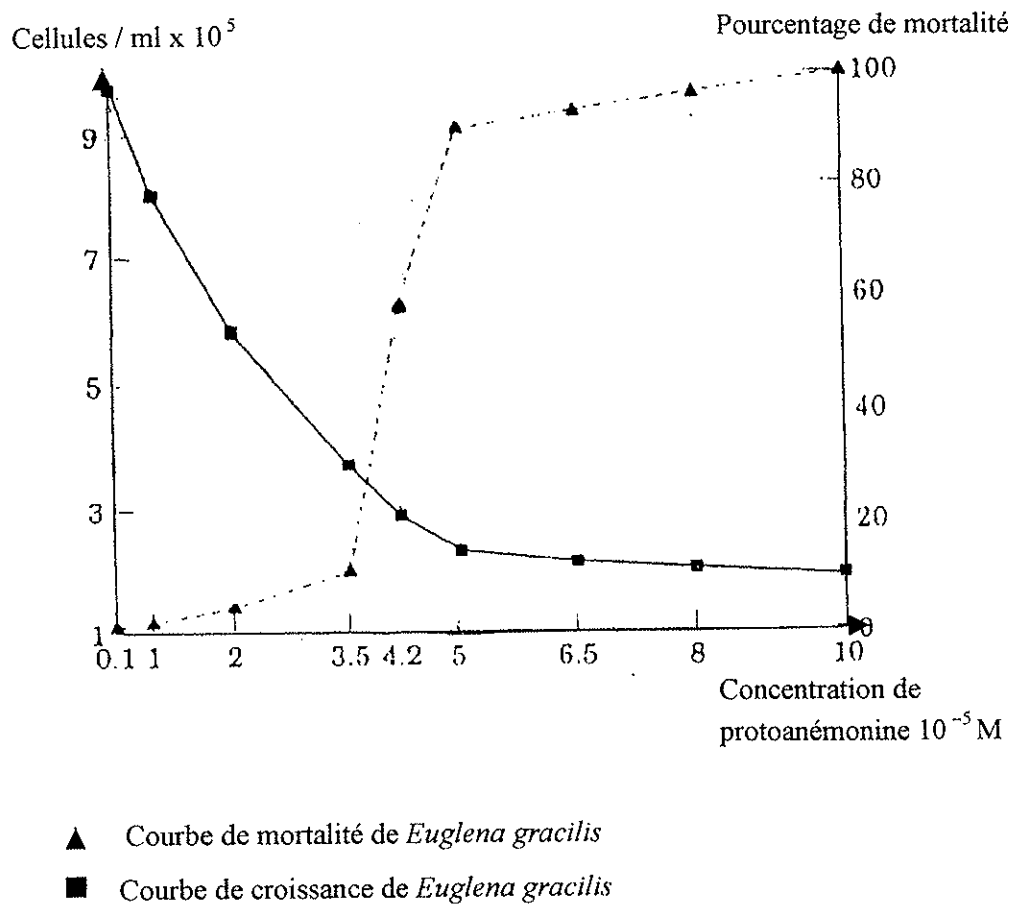
Cette étude permet de conclure à des effets cytotoxiques et antimitotiques de la protoanémone sur les cellules végétales.

## 8.2. Action sur les algues

MARES et coll. (1997) ont montré les effets cytotoxiques de la protoanémone sur des algues du type *Euglena gracilis*.

L'algue est cultivée en laboratoire, sous une agitation constante à 26°C. Lorsque les cellules entament la phase logarithmique de croissance, la protoanémone est ajoutée à des concentrations croissantes de  $1 \times 10^{-6}$  M à  $1 \times 10^{-4}$  M. La croissance des cellules de *Euglena gracilis* est suivie en mesurant la densité optique des cultures. A partir de cette dernière, les auteurs obtiennent le nombre de cellules / ml.

Puis une méthode au bleu de méthylène permet de suivre la viabilité des cellules. Les résultats sont obtenus au bout de 24 heures et représentés sous forme de graphique.



Graphique 5 : Croissance et mortalité de *Euglena gracilis* après 24 heures de traitement avec de la protoanémone (MARES et coll. 1997)

Ces résultats montrent que la protoanémone est particulièrement toxique pour l'algue. La toxicité est dose dépendante. A la concentration de  $5 \times 10^{-5}$  M, la lactone réduit de 67% la croissance de l'algue mais ne compromet pas de façon trop importante la viabilité cellulaire.

Les cellules subissent des modifications morphologiques comme apparition de formes globulaires ou perte de leur flagelle et de leur stigmate. Les noyaux des cellules traitées sont bloqués en phase  $G_2$  de la mitose. Les chromosomes des noyaux sont éparpillés, enfoncés à l'intérieur de la masse chromatique. Le fait que les noyaux de cellules non traitées soient rarement observés en phase  $G_2$  prouve que cette substance bloque les noyaux.

En ce qui concerne l'inhibition de l'algue par la protoanémone, le mécanisme d'action évoqué est une interaction entre la lactone et les groupes thiols présents chez les algues. Il se produirait la formation de complexes protoanémone – SH, qui empêcherait le cycle cellulaire de s'accomplir en bloquant la division cellulaire.

De plus, cette expérience a permis d'étudier la répartition pigmentaire de *Euglena gracilis* avant et après traitement avec la protoanémone. Les conclusions sont rassemblées dans le tableau suivant.

	Taux de pigment de contrôle en mmol/10 <sup>6</sup> cellules	Taux de pigment dans les cellules traitées en mmol/10 <sup>6</sup> cellules	Changement en pourcentage
Chlorophylle <i>a</i>	6,89	3,40	-51
Chlorophylle <i>b</i>	0,80	0,64	-20
Phéophytine <i>a</i>	0,16	0,46	+187
Phéophytine <i>b</i>	–	–	–
Caroténoïdes hydrophiles	1,33	0,99	-26
Caroténoïdes lipophiles	0,48	0,21	-56

Tableau 14 : Composition pigmentaire de *Euglena gracilis* après 24 heures de traitement avec la protoanémone

Ces résultats mettent en évidence la diminution dans l'algue de la teneur en chlorophylles *a* et *b* ainsi qu'en caroténoïdes hydrophiles et lipophiles. Par contre, on note une importante augmentation de la phéophytine *a*. La diminution des caroténoïdes entraîne la diminution des pigments chlorophylliens. La chlorophylle *a* se transforme en phéophytine *a*. La décroissance des caroténoïdes lipophiles correspond avec la disparition du stigmat. En effet, les caroténoïdes sont nécessaires à la formation des stigmates. La diminution de tous ces pigments est en accord avec la viabilité et la morphologie cellulaire de l'algue après le traitement.

En conclusion, la protoanémone altère profondément la croissance de *Euglena gracilis*. Elle perturbe de façon importante la division cellulaire de l'algue ainsi que sa répartition pigmentaire.

Ces études confirment les effets cytotoxiques de la protoanémone sur de nombreux types cellulaires.

## 8.3. Action antitumorale

Cette action antitumorale peut être une application de l'activité cytotoxique.

Une expérience est réalisée pour mettre en évidence le pouvoir antitumoral de la protoanémone. Il s'agit d'une administration intratrachéale d'une solution de méthylprotoanémone chez des rats. Les rats sont ensuite exposés à des fumées de tabac pendant 52 semaines. Ils reçoivent 2 fois par semaine, pendant 30 semaines, diverses solutions : huile,  $\beta$  propionolactone, acide pénicillique, méthylprotoanémone, benzopyrène et des condensats de tabac. L'expérience consiste à surveiller l'apparition de tumeurs chez les rats (DICKENS et coll.).

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant.

Substance administrée	Dose administrée	Nombre de semaines de traitement	Apparition de tumeurs	Temps de décès
Huile	30 $\mu$ l	30	—	62,68,72,79,80
$\beta$ propionolactone	0,3 mg	30	Cancer des bronches	12,67,72,78,89
Acide pénicillique	0,3 mg	30	—	13,16,72,85,86
Méthylprotoanémone	0,6 mg	30	—	10,63,100,100,100
Benzopyrène	0,3 mg	30	—	8,25,47,100,100
Condensat de tabac	30 $\mu$ l	52	Tumeur mammaire	23,43,63,74,100

Tableau 15 : Administration intratrachéale, chez des rats, de diverses solutions

Ainsi, on remarque qu'avec la méthylprotoanémone il ne s'est pas formé de tumeurs chez les rats. De plus, ils ont une durée de vie plus longue qu'avec les autres substances.

STAMOS expose que l'activité antitumorale des lactones, protoanémone et anémone, est liée à la présence de groupes électrophiles dans ces molécules. En effet, le groupe carbonyle des lactones semble jouer un rôle important dans l'activité antitumorale, ce qui conduit STAMOS à élaborer la synthèse des dérivés de l'anémone comme la dihydroanémone, la tétrahydroanémone.

Ces expériences montrent le pouvoir antitumoral de ces deux lactones et leurs dérivés.

Toutes ces études révèlent le pouvoir cytotoxique de la protoanémone qui non seulement perturbe la croissance cellulaire mais en plus modifie la division cellulaire en bloquant la mitose, on la qualifie alors d'antimitotique (COUQUELET, POURRAT). Il en est de même pour les dérivés de la protoanémone et de l'anémone.

## 9. ACTIVITE ANTIFONGIQUE

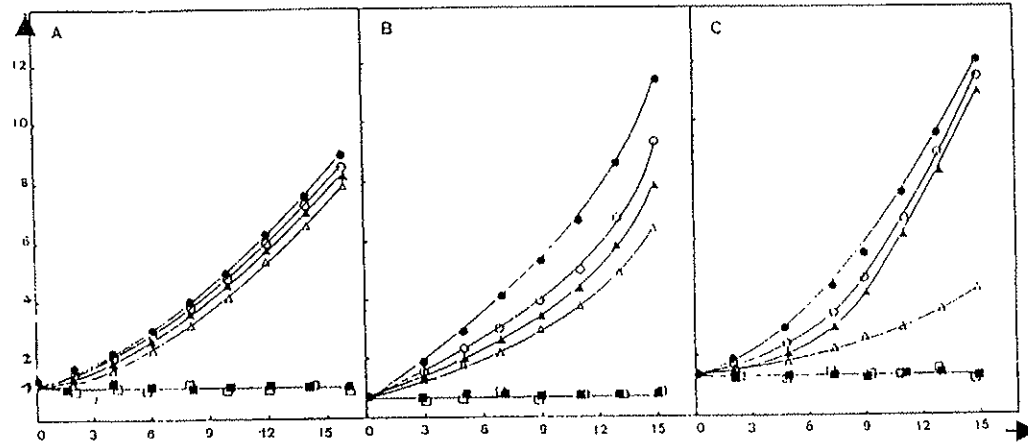
### 9.1. Action sur les levures

Cette étude souligne l'activité antifongique de la protoanémone vis à vis de divers micro-organismes tels que *Candida albicans*, *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Ces levures sont placées dans des milieux de culture en présence de protoanémone. Les concentrations de protoanémone utilisées sont de 1,5 µg/ml, 3,5 µg/ml, 15 µg/ml et 30 µg/ml. La croissance des micro-organismes est déterminée en mesurant l'absorbance des milieux de culture à 600 nm.

L'effet inhibiteur de la protoanémone est schématisée dans le graphique suivant (MARTIN et coll. 1990).

Absorbance à 600 nm



Temps en heure

- Contrôle
- Protoanémone à 1,5 µg/ml
- ▲ Protoanémone à 3,75 µg/ml
- △ Protoanémone à 7,5 µg/ml
- Protoanémone à 15 µg/ml
- Protoanémone à 30 µg/ml

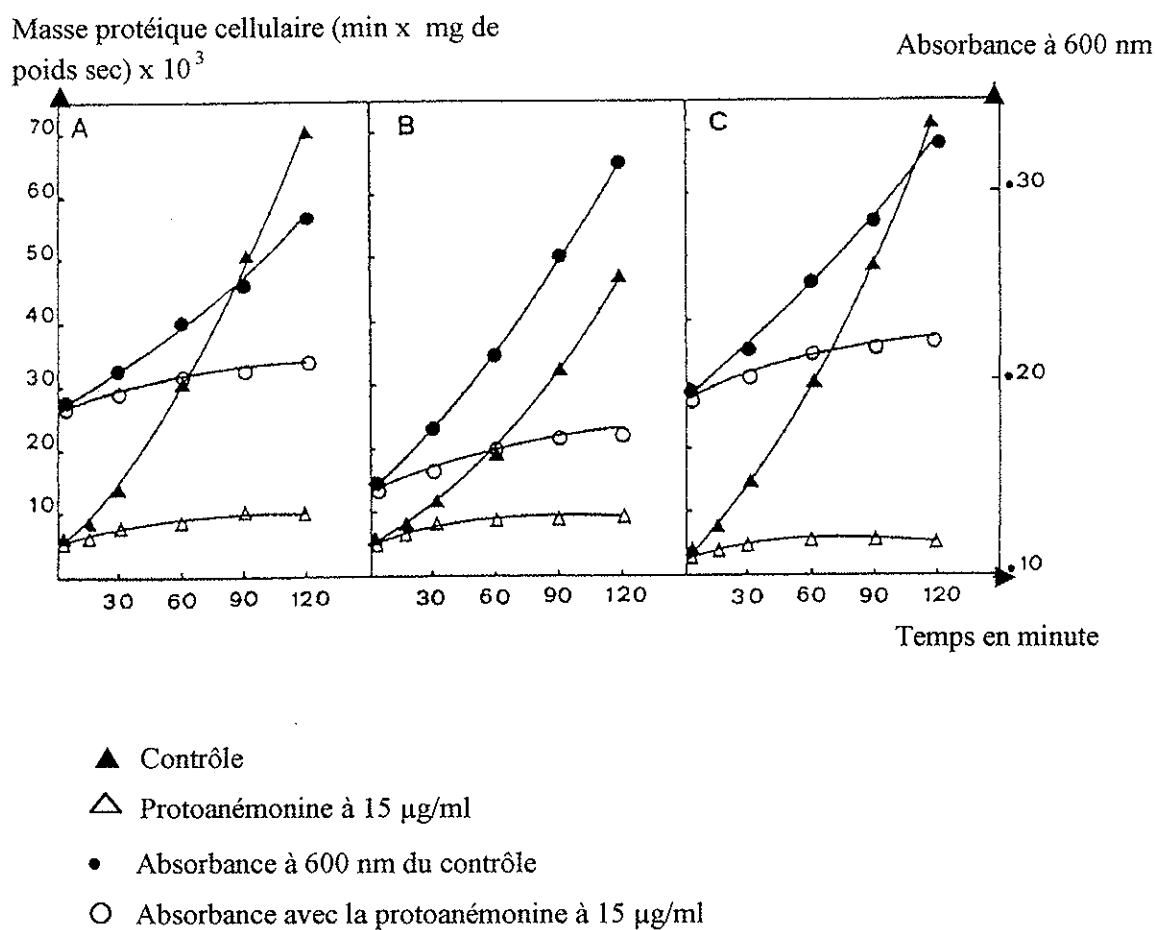
Graphique 6 : Effet de la protoanémone sur la croissance de *S. cerevisiae* (A), *Y. lipolytica* (B) et *C. albicans* (C) (MARTIN et coll. 1990).

L'inhibition de la croissance des trois types de levures arrive lorsque la concentration de protoanémone est de 15 µg/ml. A des concentrations inférieures on note une diminution de l'absorbance correspondant à une diminution de la croissance. L'inhibition totale dure 20 heures après le traitement.

Cette étude permet de mesurer également la synthèse protéique et la synthèse de l'ARN dans les cellules. Pour cela, des cellules en pleine croissance sont récoltées, incubées à 28°C et mises en contact avec la protoanémone.

La synthèse protéique ainsi que celle de l'ARN sont évaluées en surveillant l'incorporation d'une base pyrimidique, la 6-<sup>3</sup>-H uracile, à l'intérieur de la cellule, ceci en mesurant l'absorbance à 600 nm.

Les résultats sont représentés dans le graphique suivant.



Graphique 7 : Effet de la protoanémone sur l'incorporation de 6-<sup>3</sup>-H uracile dans l'ARN chez *S. cerevisiae* (A), *Y. lipolytica* (B) et *C. albicans* (C) (MARTIN et coll. 1990).



La synthèse de l'ARN se fait normalement dans les cultures de contrôle, alors que dans les cultures traitées avec de la protoanémone cette synthèse est inhibée après 30 minutes d'incubation, ceci pour les trois types de levures.

La faible augmentation de l'absorbance est due à une légère synthèse résiduelle dont le mécanisme n'est pas élucidé.

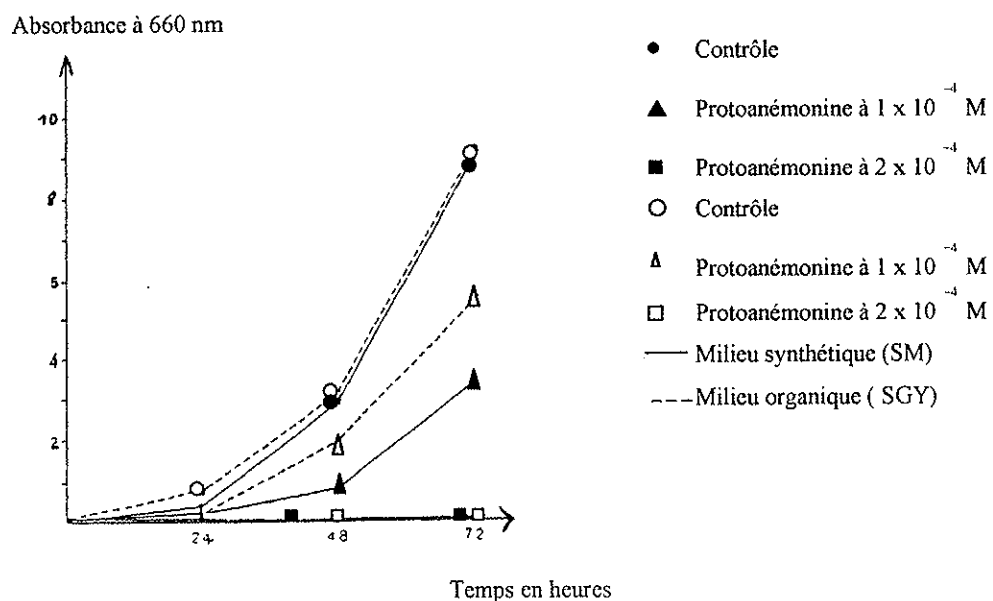
Cette étude permet de conclure que la protoanémone est un antifongique efficace contre les levures.

D'autres auteurs étudient l'efficacité de la protoanémone suivant la lumière, le milieu de culture et la réversibilité du pouvoir inhibiteur de la lactone en présence de cystéine.

Les auteurs étudient l'influence du milieu de culture sur l'efficacité de la protoanémone. En effet, ils réalisent leur première expérience avec deux milieux de culture différents : un milieu synthétique et un milieu organique composé de glucose (milieu de Sabouraud).

Cette expérience est réalisée avec une levure *Rhodotorula glutinis*, les résultats sont obtenus en mesurant la densité optique à 660 nm (MARES 1987).

Le schéma suivant illustre les résultats de l'expérience.



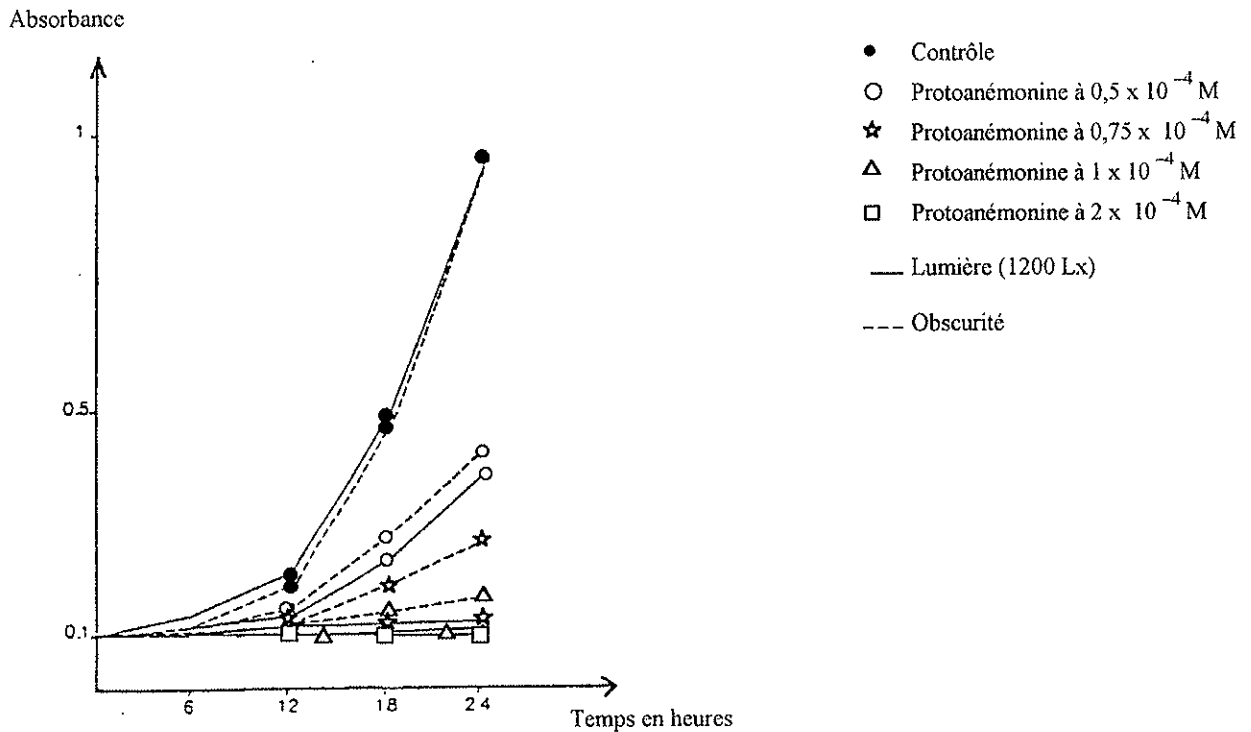
Graphique 8 : Effet de la protoanémone sur *Rhodotorula glutinis* (MARES 1987)

La concentration de  $2 \times 10^{-4} \text{ M}$  de protoanémone inhibe complètement la croissance de la levure dans les 2 milieux. Par contre, à  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ , l'inhibition est partielle dans les 2 milieux, la croissance est de 45% dans le milieu de Sabouraud et de 59% dans le milieu synthétique.

Ainsi, il semble que le milieu organique contienne un facteur inhibiteur de l'effet antifongique de la protoanémone.

L'étude de l'effet de la lumière sur l'activité de la protoanémone utilise le milieu synthétique. Les cultures en contact avec la protoanémone sont placées dans le noir puis dans la lumière à l'intensité de 1200 Lx. Les intensités lumineuses plus importantes de 2000 Lx et 3000 Lx ne sont pas utilisées car elles sont toxiques pour les cultures.

Ainsi, les résultats obtenus sont rassemblés dans le graphique suivant.



Graphique 9 : Effet de la lumière sur l'efficacité de la protoanémone (MARES 1987)

La MIC (concentration minimale inhibitrice : concentration la plus faible qui inhibe la croissance) de la protoanémonine dans l'obscurité est de  $2 \times 10^{-4} \text{ M}$  alors qu'à une intensité lumineuse de 1200 Lx, elle diminue à  $0,75 \times 10^{-4} \text{ M}$ .

Ainsi, l'activité antifongique est modifiée par la lumière, la diminution de la MIC signifie que la lumière amplifie la toxicité de la lactone.

Enfin, cette étude met en évidence la prévention du pouvoir inhibiteur de la protoanémonine par de la cystéine. Cette expérience se partage en 2 sous parties.

Premièrement, on étudie les spectres d'absorption de la protoanémonine et de la cystéine, seules, puis en mélange. Ces spectres sont représentés ci-dessous.

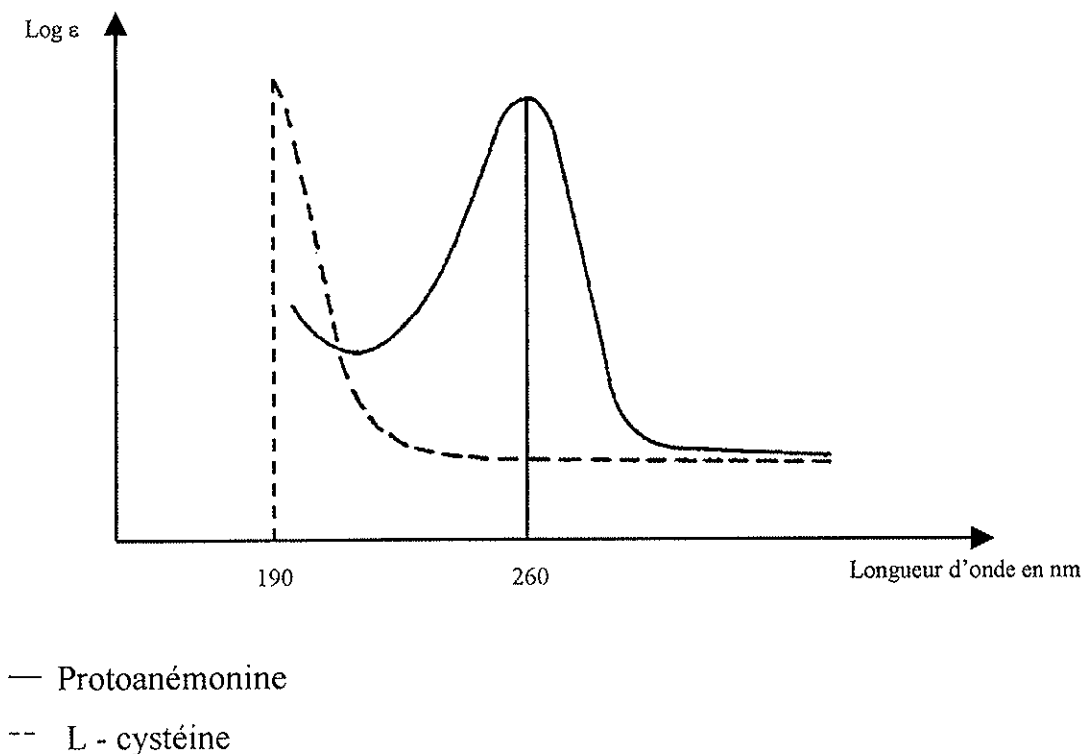
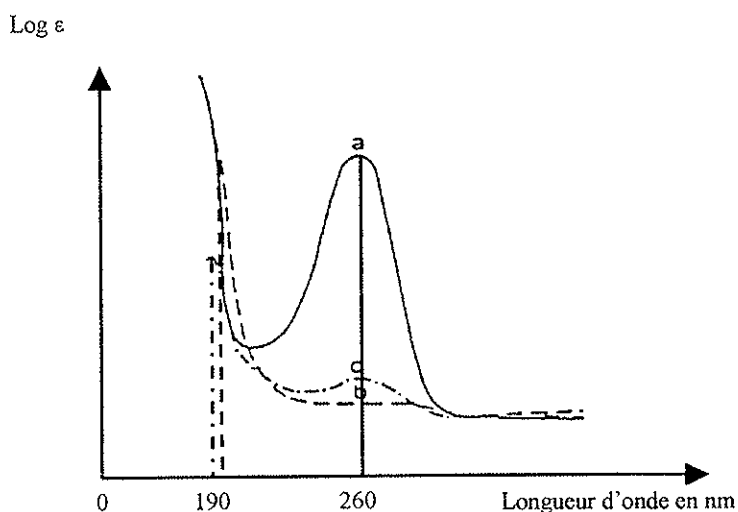


Figure 19 : Spectres d'absorption de la protoanémonine et de la cystéine seules (MARES 1987).



- Protoanémonine à 1,72  $\mu\text{g/ml}$  et L - cystéine à 8,6  $\mu\text{g/ml}$  avant autoclavage avec un rapport de  $\frac{1}{5}$  (a)
- Protoanémonine à 1,72  $\mu\text{g/ml}$  et L - cystéine à 8,6  $\mu\text{g/ml}$  après autoclavage avec un rapport de  $\frac{1}{5}$  (b)
- Protoanémonine et cystéine dans un rapport de  $\frac{1}{0.5}$  (c)

Figure 20 : Spectres d'absorption de la protoanémonine et de la cystéine en mélange ( MARES 1987).

Le spectre de la protoanémonine, seule, montre un maximum d'absorption à 260 nm, tandis que la cystéine, seule, a un pic à 190 nm.

Quand la protoanémonine et la cystéine sont mélangées dans la proportion protoanémonine / cystéine =  $\frac{1}{5}$ , le pic de la protoanémonine à 260 nm a disparu alors que subsiste celui de la cystéine. Mais lorsque le mélange se fait dans des proportions moins importantes : protoanémonine / cystéine =  $\frac{1}{0.5}$ , les 2 pics gardent respectivement leur maximum d'absorption de 260 nm et de 190 nm, mais ils sont d'une intensité moins importante.

Ces constatations montrent qu'il existe une interaction entre la protoanémone et la cystéine.

Deuxièmement, dans des expérimentations *in vivo*, la protoanémone et la cystéine sont mélangées simultanément. Une concentration de  $2 \times 10^{-4}$  M de protoanémone inhibe complètement la croissance des cellules, mais quand la cystéine est ajoutée à une concentration de  $1 \times 10^{-4}$  M, la croissance augmente de 72,3%.

En résumé, l'activité antifongique de la protoanémone est diminuée dans un milieu organique, mais par contre elle est augmentée par une intensité lumineuse de 1200 Lx. Cette activité antifongique peut être inhibée par l'addition de cystéine.

## 9.2. Action sur les dermatophytes

Dans cette expérience, les dermatophytes utilisés sont : *Epidermophyton floccosum*, *Trycophyton mentagrophytes* et *Microsporium cookei*. Le milieu de culture employé est un Sabouraud avec du dextrose et de l'agar. Les colonies de dermatophytes sont mises à incuber pendant 5 jours à 28°C en présence de différentes concentrations de protoanémone.

Tout d'abord, cette étude permet de calculer la MIC de la protoanémone sur les dermatophytes. Elle est évaluée en mesurant le diamètre de la colonie dans la boîte de pétri. La MIC est obtenue au bout de 6 jours et se trouve dans une gamme de 2 à  $7,5 \times 10^{-4}$  M de protoanémone. De plus, cette expérience permet de déterminer la concentration minimale létale (MLC). C'est la concentration la plus faible qui tue les cellules. La MLC est déterminée en utilisant la méthode au bleu de méthylène permettant de dénombrer les cellules non viables. La MLC est dans une gamme de  $3,8 \times 10^{-4}$  M à  $1 \times 10^{-3}$  M de protoanémone.

Les MIC et MLC, pour chaque dermatophyte, sont récapitulées dans le tableau suivant (MARES 1987).

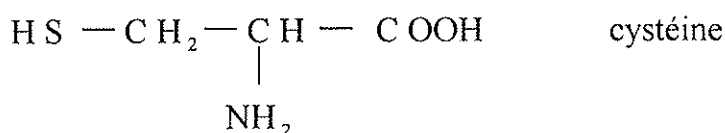
Organisme testé	MIC	MLC
<i>Trycophyton mentagrophytes</i>	$7,5 \times 10^{-4} \text{ M}$	$1 \times 10^{-3} \text{ M}$
<i>Epidermophyton floccosum</i>	$2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$	$5 \times 10^{-4} \text{ M}$
<i>Microsporum cookei</i>	$3 \times 10^{-4} \text{ M}$	$5,5 \times 10^{-4} \text{ M}$

Tableau 16 : MIC et MLC de la protoanémone avec trois dermatophytes ( MARES 1987).

La protoanémone a une action antifongique sur les dermatophytes. Les influences du milieu de culture, de la lumière et de la cystéine sont les mêmes que celles observées sur les levures.

### 9.3. Mécanisme d'action

Pour un grand nombre de substances comme les lactones, il est montré l'existence d'une relation structure - activité entre les lactones et leur pouvoir antifongique. De plus, l'activité antifongique peut être inhibée par l'addition de substances contenant un groupe sulfuryle comme la cystéine.



Ce mécanisme d'action est basé sur la capacité des lactones sesquiterpéniques contenant une fonction  $\text{— O — C — CH}_2$  à réagir avec les groupes SH.

Par analogie, on suppose que les molécules telles que la protoanémone contenant une fonction  $\text{— O — C — CH=CH}$ , peuvent réagir avec les groupes SH, déterminant ainsi l'activité biologique. Cette interaction est prouvée par l'addition de cystéine avec de la protoanémone qui fait disparaître le pic spectral de cette substance.

La protoanémone inhibe les levures et les dermatophytes en interagissant avec des enzymes contenant des groupes sulfuryl. L'action de la protoanémone est influencée par le milieu de culture et la lumière. Il semble que la 1<sup>ère</sup> cible de la protoanémone, en tant qu'antifongique, soit l'ARN comme le montre l'étude avec les levures.

Face au nombre croissant de mycoses liées aux infections opportunistes et à la perte d'efficacité des médicaments déjà existants, ces études mettent en évidence de nouveaux antifongiques d'origine végétale (MARES 1987).

## 10. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

De nombreux auteurs ont démontré que l'anémone pulsatile possède des propriétés antibiotiques dues à la présence de la protoanémone et de l'anémone.

### 10.1. Premières recherches sur l'activité antibactérienne

Des auteurs se sont intéressés à l'activité antimicrobienne de l'anémone pulsatile dès 1943, en effectuant des expériences avec de nombreuses bactéries.

Tout d'abord, Shmit a démontré l'activité antibiotique de l'anémone sur le bacille de Flexner, les staphylocoques, les streptocoques, le bacille diphtérique, le colibacille et le bacille d'Eberth (HOLDEN et coll. 1946).

Plus tard, d'autres auteurs ont réalisé une expérience avec une souche de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli*, en présence de protoanémone naturelle et de protoanémone de synthèse. Ils mesurent ainsi l'activité antibiotique de la protoanémone.

Ainsi, ils remarquent que l'activité antibactérienne existe aussi bien avec la protoanémone naturelle que la synthétique, ce qui confirme la propriété antibiotique de l'anémone (HOLDEN et coll. 1946).

Puis, ces mêmes auteurs ont testé, en 1947, la sensibilité des bactéries vis à vis de la protoanémone. Ils apprécient l'effet bactériostatique par la détermination de la MIC. Ils réalisent des essais sur des plaques de gélose et des dilutions en série sont utilisées. Ils observent cet effet antibiotique entre autre sur *Streptococcus hemolytica* groupe A, *Streptococcus hemolytica* groupe D, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium hominis*, *Moxarella catharralis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* (HOLDEN et coll. 1947).

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant.



	Organismes étudiés	Dilution de protoanémone $\times 10^3$	Temps d'incubation
Gram +	<i>Streptococcus hemolytica</i> groupe A	52-66	16 h
	<i>Streptococcus hemolytica</i> groupe D	16-20	16h
	<i>Streptococcus viridans</i>	35-55	16h
	<i>Staphylococcus aureus</i>	66	16h
	<i>Mycobacterium hominis</i>	166	1 mois
Gram -	<i>Moxarella catharralis</i>	166	16h
	<i>Vibrio cholerae</i>	60-100	16h
	<i>Salmonella typhi</i>	250-330	16h
	<i>Shigella dysenteriae</i>	250	16h

Tableau 17 : MIC de la protoanémone vis à vis de diverses bactéries.

Il semble que certaines bactéries soient plus sensibles que d'autres à la protoanémone. En effet, on remarque que certaines bactéries sont sensibles à des dilutions de 10 000 à 66 000 alors que d'autres sont sensibles à des dilutions beaucoup plus importantes de l'ordre de 100 000, par exemple. Ainsi, par ce tableau, nous constatons que les bactéries Gram +, sont dans l'ensemble moins sensibles que les bactéries Gram -, puisque les dilutions de protoanémone, pour obtenir la MIC, sont plus importantes pour les Gram -.

Par une série d'expériences, HOLDEN et ses collaborateurs ont pu vérifier que l'activité antibactérienne est indépendante de l'acidité du milieu, de la taille de l'inoculum et de l'âge de la culture.

## 10.2. Etudes récentes

Des études récentes concernant l'activité antibactérienne de la protoanémone sur des bactéries ont été effectuées.

Les bactéries sontensemencées sur un milieu de gélose dans des boîtes de pétri. Puis un disque de papier filtre imprégné de 50 µl de protoanémone est déposé dans chacune de ces boîtes. Après une incubation de 24 heures à 37 °C, l'activité antibactérienne se traduit par l'apparition, à la surface de la gélose ensemencée, d'une zone d'inhibition de la culture dont on mesure le diamètre (DIDRY et coll. 1991).

Les résultats de l'expérience sont regroupés dans le tableau suivant.

	Bactéries	Diamètre d'inhibition en mm
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	65
	<i>Sptreptococcus faecalis</i>	0
	<i>Streptococcus mutans</i>	0
	<i>Streptococcus mitis</i>	0
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	67
	<i>Enterobacter cloacae</i>	62
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	52
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45

Tableau 18 : Activité antibactérienne de la protoanémone

Cette étude confirme que les bactéries Gram + sont moins sensibles et ne sont pas inhibées par la protoanémone puisque le diamètre d'inhibition est nul alors que les bactéries Gram – sont sensibles car le diamètre d'inhibition est important.

Une autre étude montre les MIC de la protoanémone vis à vis de bactéries aérobies ou anaérobies (DIDRY et coll. 1993).

Les résultats sont dans le tableau suivant.

	Bactéries	MIC (µg/ml)
Bactéries aérobies	<i>Staphylococcus aureus</i>	31,25
	<i>Streptococcus mutans</i>	62,5
	<i>Streptococcus faecalis</i>	31,25
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	62,5
	<i>Escherichia coli</i>	62,5
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	31,25
	<i>Providencia stuarti</i>	15,625
	<i>Proteus hauseri</i>	62,5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31,25
	<i>Serratia marescens</i>	15,625
Bactéries anaérobies	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	31,25
	<i>Streptococcus intermedius</i>	31,25
	<i>Clostridium perfringens</i>	62,5
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	15,625
	<i>Propionibacterium intermedium</i>	31,25
	<i>Bacteroides oralis</i>	15,625
	<i>Bacteroides fragilis</i>	62,5
	<i>Fusobactérium nucleatum</i>	125

Tableau 19 : MIC de la protoanémone avec des bactéries aérobies et anaérobies

Ces données révèlent l'action antibiotique de la protoanémone vis à vis de certains germes, à l'origine très résistants aux antibiotiques courants. C'est le cas pour *Serratia marescens*, *Providencia stuarti*, *Bacteroides oralis*.

De plus, la protoanémone possède une activité antibactérienne, intéressante, sur *Streptococcus mutans*, une bactérie impliquée dans les caries dentaires et les maladies bucco-dentaires. En effet, des antibiotiques chimiques sont utilisés pour éliminer cette bactérie de la flore buccale mais ils possèdent de nombreux effets secondaires. Ainsi cette étude ouvre peut être la voie vers de nouveaux médicaments.

Ces auteurs ont réalisé une autre expérience en combinant l'activité de la protoanémone avec certains antibiotiques courants. Les antibiotiques utilisés sont des pénicillines comme l'oxacilline, des céphalosporines, des aminoglycosides avec l'amikacine, des tétracyclines et des macrolides.

Les bactéries sont placées dans des microtubes en présence de 25 µl de protoanémone diluée et de 25 µl d'antibiotique dilué. Cette expérience va permettre de calculer la FIC (concentration fractionnée inhibitrice), qui est utilisée pour comparer les combinaisons protoanémone - antibiotique.

La FIC est obtenue par la formule suivante :

$$FIC = \frac{A}{MIC_A} + \frac{B}{MIC_B} = FIC_A + FIC_B$$

Avec A = Concentration en antibiotique

$MIC_A$  = MIC de l'antibiotique

B = Concentration en protoanémone

$MIC_B$  = MIC de la protoanémone

FIC	Combinaison protoanémone- antibiotique
$\leq 0,5$	Synergie totale
$0,5 < FIC \leq 0,75$	Synergie partielle
$0,75 < FIC \leq 2$	Pas d'effets
$>2$	Antagonisme

Tableau 20 : Valeurs de la FIC et combinaison et antibiotique - protoanémone

Les résultats, obtenus après 24 heures, apparaissent dans le tableau suivant.

Bactéries	Antibiotiques utilisés	A en $\mu\text{g/ml}$	MIC <sub>A</sub> en $\mu\text{g/ml}$	B en $\mu\text{g/ml}$	MIC <sub>B</sub> en $\mu\text{g/ml}$	FIC
<i>Staphylococcus aureus</i>	Céfamandole	0,125	1	7,81	31,25	0,375
	Oxacilline	0,062	0,25	15,625	31,25	0,75
<i>Streptococcus mutans</i>	Erythromycine	0,004	0,008	3,90	31,25	0,625
	Gentamycine	0,25	1	15,625	31,25	0,75
	Doxicycline	0,031	0,25	15,625	31,25	0,625
	Amoxicilline	0,037	0,15	15,625	31,25	0,75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ceftazidime	1	2	7,81	31,25	0,75
	Ticarcilline	32	64	3,9	31,25	0,625
<i>Serratia marescens</i>	Céfotaxime	0,015	0,125	7,81	15,625	0,625
	Amikacine	0,062	1	7,81	15,625	0,56

Tableau 21 : Index FIC calculé avec les combinaisons antibiotique - protoanémone.

Lors de l'expérience, la plupart des combinaisons sont en synergie partielle. Une synergie totale est observée avec une combinaison céfamandole - protoanémone contre le germe *Staphylococcus aureus*. Dans ce cas, une concentration de 0,125 µg/ml de céfamandole est utilisée avec une MIC<sub>A</sub> de 1 µg/ml, la concentration de la protoanémone utilisée est de 7,81 µg/ml avec une MIC<sub>B</sub> de 31,25 µg/ml, la FIC est alors de 0,375. Ceci montre que certaines associations protoanémone - antibiotique peuvent être efficaces contre des bactéries qui sont pourtant souvent résistantes.

### 10.3. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action est le même que celui déjà présenté dans l'étude de l'activité antifongique de la protoanémone. En effet, il s'agit d'une interaction entre les groupes SH des bactéries et la protoanémone.

De plus, la protoanémone est capable de pénétrer à l'intérieur des cellules, ce qui expliquerait son large spectre d'action. Puis, cette capacité à rentrer dans les cellules permet de comprendre l'effet de synergie obtenu par la combinaison entre la protoanémone et l'antibiotique qui pénètre mieux et agit ainsi plus facilement dans la cellule.

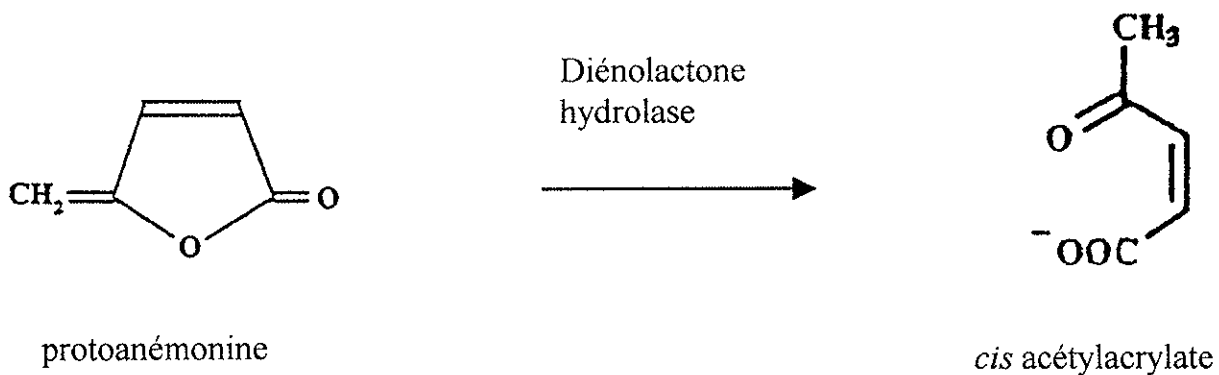
Du fait d'un large spectre antibactérien et d'une action en synergie avec un antibiotique, la protoanémone se révèle être un bon agent antibactérien. Ainsi, des études plus prononcées sur l'activité pharmacologique de la protoanémone permettront peut être un jour d'utiliser cette substance comme une sorte d'antibiotique (DAL POZZO, DANZI).

### 10.4. Cas particulier d'un germe *Pseudomonas*

Une étude sur une souche bactérienne de *Pseudomonas* sp B<sub>13</sub> met en évidence un mécanisme de détoxification de la protoanémone.

Pour l'expérience, 220  $\mu\text{M}$  de protoanémone et 20  $\mu\text{l}$  de diénolactone hydrolase purifiée, correspondant à 0,077 UI, sont utilisés. La diénolactone hydrolase est une enzyme de *Pseudomonas*. L'activité enzymatique est évaluée par la mesure de l'absorbance à 260 nm. Lorsque la réaction se fait, il se forme un nouveau produit : le *cis* acétylacrylate et il y a moins de protoanémone.

La réaction est schématisée de la façon suivante :



Or, il faut savoir qu'à l'état naturel, la bactérie *Pseudomonas* est capable de produire une faible quantité de protoanémone par la voie du 4 - chlorocatéchol déjà étudiée précédemment. Ainsi lors du métabolisme de la bactérie, on obtient de la protoanémone et de la *cis* diénolactone qui sont deux substrats de la diénolactone hydrolase. Cependant, il semblerait que la protoanémone soit un inhibiteur compétitif de la *cis* diénolactone. De ce fait, la protoanémone est utilisée par l'enzyme comme un substrat et est détruite. Mais cela ne peut s'appliquer qu'à une faible quantité de protoanémone et pourrait ainsi expliquer des phénomènes de résistance ou du moins l'augmentation de la MIC de la protoanémone face à *Pseudomonas* (BRÜCKMANN et coll.).

## 11. CONCLUSION

A la vue de toutes les études citées, la protoanémonine et l'anémonine confèrent à l'anémone pulsatile de nombreuses propriétés pharmacologiques. En effet, ces lactones présentent des activités insecticide, sédative, antipyrétique et agissent sur la vasomotricité rénale et la motricité intestinale.

Les mécanismes d'action, pour ces propriétés, ne sont pas tous élucidés, mais il semble que l'action sur la tension, les actions rénale et intestinale soient liées à des propriétés vasoconstrictrices des lactones.

De plus, les deux lactones sont cytotoxiques et bloquent la croissance des cellules végétales. Elles inhibent la croissance tumorale.

La protoanémonine se révèle être antifongique contre des levures et des dermatophytes et antibactérienne sur un large spectre de bactéries Gram + et Gram -. Les propriétés cytotoxique, antifongique et antibactérienne semblent être basées sur le même mécanisme d'action. En effet, la protoanémonine forme des complexes avec les groupes SH, très nombreux chez les organismes vivants, dans leurs enzymes et leurs systèmes de croissance. Cela explique que la protoanémonine bloque la croissance de tous ces organismes végétaux, fongiques ou bactériens.

Toutefois, malgré ces propriétés très intéressantes, la protoanémonine n'est pas utilisée en médecine car elle est considérée comme irritante, instable et toxique.

A l'avenir, des études permettront peut être d'exploiter les propriétés antitumorale, antifongique, antibactérienne de la protoanémonine voire de l'anémonine, issues de l'anémone pulsatile.



## VII UTILISATIONS DE L'ANEMONE PULSATILLE

L'anémone pulsatile est un antispasmodique reconnu par de nombreux auteurs.

D'après H. Vignes (1927), elle agirait sur le système nerveux végétatif de la sphère génitale d'où son utilisation pour calmer les douleurs d'ovarites, d'orchites et de dysménorrhées. De plus, elle aurait un effet sur les menstruations.

Pour G. Paturier (1930), elle agit sur la sphère hépatique contre l'aérophagie des affections hépato-biliaires et les états spasmodiques gastro-intestinaux en général.

L'anémone pulsatile agit comme un antispasmodique de la toux sèche et est utilisée comme expectorant des toux grasses.

Par ailleurs, elle peut être employée dans les troubles veineux, notamment dans la congestion et la stase veineuse, les varices et les engelures.

L'anémone pulsatile est également utilisée comme sédatif dans les états nerveux et états dépressifs réactionnels.

Ainsi, en phytothérapie, l'anémone intervient dans un grand nombre de pathologies. Elle est encore plus largement utilisée en homéopathie. Pour les médecins homéopathes, c'est un médicament spécifique du coryza et du catarrhe au niveau de toutes les muqueuses.

### 1. USAGES EN MEDECINE HUMAINE

#### 1.1. En allopathie

L'allopathie, nom scientifique donné à la médecine classique est basée sur la loi des contraires. Les médicaments allopathiques traitent la maladie en provoquant l'obtention d'un effet opposé aux symptômes présentés par le malade.

La phytothérapie, une branche particulière de l'allopathie, est une thérapeutique par les plantes ou des médicaments à base de plantes. Les principales utilisations de l'anémone pulsatile restent dans ce cadre de médecine.

#### 1.1.1. Usage interne

La phytothérapie utilise l'anémone pulsatile dans plusieurs secteurs. On la retrouve dans des remèdes conseillés dans les affections neurologiques, respiratoires, digestives, gynécologiques et vasculaires.

##### 1.1.1.1. Affections neurologiques

L'anémone pulsatile est utilisée pour son action sédative, dans le traitement de la spasmophilie. C'est une affection caractérisée par un état d'extrême excitabilité nerveuse et musculaire, se manifestant par des crampes, des fourmillements, des crises d'agitation et des malaises. Elle est également utilisée dans les dystonies neurovégétatives qui sont des troubles du fonctionnement des systèmes sympathiques et parasympathiques, causes de symptômes divers.

Dans ces affections, FAURON et MOATTI proposent l'utilisation d'un mélange de digesté de plantes fraîches composé de :

<i>Anemone pulsatilla</i>	phytosol	}	
<i>Teucrium chamaedrys</i>	phytosol	}	âa 4 ml
<i>Origanum vulgare</i>	phytosol	}	
<i>Emulherba</i>			1,50 g
Eau distillée			qsp 125 ml

Ils préconisent de prendre une cuillère à café de ce mélange, 2 fois par jour avant les principaux repas.

Il existe aussi une spécialité de phytothérapie à visée sédative.

BIOCARDE® est une solution buvable composée de :

Alcoolature d'anémone pulsatile	1,66 ml
Alcoolature d'aubépine	16,66 ml
Alcoolature de passiflore	11 ml
Alcoolature de muguet au $\frac{1}{10}$	6,66 ml
Alcoolature de strophantus	0,66 ml
Alcoolature d' <i>Avena sativa</i>	6,66 ml
Teinture de valériane	16,66 ml
Teinture de cactus	16,66 ml
Alcool camphré	6,66 ml
Or colloïdal	0,5 ml

BIOCARDE® est indiqué dans les manifestations des dystonies neurovégétatives : palpitations, oppressions et douleurs thoraciques. Les posologies usuelles sont de 30 à 45 gouttes par jour en plusieurs prises.

L'anémone pulsatile, non associée, est utilisée dans la neurasthénie et les états mélancoliques sous forme de teinture (RUBIN, MESSALI). Cette teinture est obtenue en faisant macérer la plante fraîche pilée pendant 10 jours dans son poids d'alcool à 90°. La posologie est de 10 gouttes plusieurs fois par jour, sans dépasser 60 gouttes par jour.

## 1.1.1.2. Affections respiratoires

## ■ Coryza

Le coryza aussi appelé rhume de cerveau est une inflammation des fosses nasales. Il se caractérise par un écoulement nasal aqueux souvent accompagné d'une congestion des voies respiratoires et des difficultés à respirer.

L'anémone pulsatile pourra être utilisée dans les coryzas aigus, chroniques et spasmodiques comme le rhume des foins. Dans ces cas, l'anémone sera employée sous forme de teinture à raison de 10 gouttes plusieurs fois par jour (RUBIN, MESSALI).

## ■ Toux spasmodiques

L'anémone pulsatile est présente dans le traitement de la coqueluche. Dans ce cas, RUBIN et MESSALI proposent de l'utiliser sous forme de teinture avec les posologies déjà citées précédemment.

L'anémone est employée comme antitussif dans les toux spasmodiques de l'asthme. FAURON et MOATTI l'utilisent dans cette indication sous forme d'un mélange de digesté de plantes fraîches dont la formule est la suivante.

<i>Anemone pulsatilla</i>	phytosol	}	
<i>Papaver rhoeas</i>	phytosol	}	âa 3 ml
<i>Grindelia robusta</i>	phytosol	}	
<i>Emulherba</i>			1,50 g
Eau distillée		qsp	125 ml

La posologie recommandée est de une cuillère à café 2 fois par jour.

Ces auteurs présentent une deuxième formule antitussive constituée de :

Teinture de droséra	10 g
Extrait fluide de grindélia	6 g
Teinture de belladone	1 g
Teinture de lobélie	1 g
Alcoolature d'anémone	1 g
Sirop de cyprès	300 g
Sirop de coquelicot	300 g
Sirop de gomme	qsp 100 ml

Il faut prendre une cuillère à soupe de cette potion, matin et soir.

#### 1.1.1.3. Affections digestives

L'anémone pulsatile est utilisée dans les pathologies digestives car elle a une action antispasmodique sur cette sphère. En effet, comme cela a été montré précédemment avec les expériences de QUEVAUVILLER, l'anémone modifie la motricité intestinale en diminuant le tonus intestinal et les spasmes.

#### ■ Dyspepsie

La dyspepsie est un trouble de la digestion.

Il existe une spécialité visant à améliorer la digestion appelée HEPATOUM®.

C'est une solution buvable dont la composition est la suivante :

<i>Anemone pulsatilla</i> }	150 mg (macérats hydroalcooliques)
<i>Curcuma longa</i> }	
Chloroforme	125 mg
Acétate d'amyle	16,5 mg

Huile essentielle de 10,9 mg  
menthe poivrée

HEPATOUM® est indiqué pour faciliter l'élimination de la bile et la digestion, pour calmer les douleurs d'origine digestive. La posologie quotidienne est de 2 cuillères à soupe 6 à 8 fois par 24 heures.

#### ■ Congestion hépatique

En cas de congestion hépatique responsable de troubles digestifs, il est possible d'utiliser la teinture d'anémone. La spécialité HEPATOUM® peut également être employée dans cette indication.

#### 1.1.1.4. Affections gynécologiques

#### ■ Règles douloureuses

Par son action antispasmodique et sa capacité à améliorer la circulation sanguine, l'anémone peut être employée pour soulager les règles douloureuses. Elle est présente dans une spécialité de phytothérapie appelée MENSUOSEDYL® composée de :

Paracétamol	300 mg
Extrait sec d'anémone	12 mg
Extrait sec d'aubépine	16 mg

Ce médicament est indiqué en cas de migraines cataméniales et de règles douloureuses à raison de 1 à 4 comprimés par jour.

De plus, lorsque le syndrome prémenstruel agit sur le psychisme, FAURON et MOATTI proposent de prendre au coucher une tasse de tisane SANTANE n°9® ( tisane indiquée comme adjuvante de la médication sédatrice) avec 50 gouttes de la préparation suivante :

Teinture d'aubépine	}	
Teinture de passiflore	}	âa 6 g
Teinture d'eschsoltzia	}	
Alcoolature d'anémone	}	
Alcoolat de lotier	}	âa 10 g
Alcoolat de saule	}	
Alcoolat de primevère		10 g
Alcoolat de mélisse		qsp 100 ml

#### ■ Aménorrhées

Les aménorrhées sont l'absence de menstruations.

Ces mêmes auteurs proposent de traiter ce trouble avec une préparation composée de :

Alcoolat de lotier	}	
Alcoolat de saule	}	âa 10 g
Alcoolat de ballote	}	
Alcoolat d'anémone	}	
Teinture d'aubépine	}	
Teinture de passiflore	}	âa 5 g
Teinture de pivoine	}	
Alcool à 80°		qsp 100ml

Il faut prendre la tisane SANTANE n°9® avec 80 gouttes de ce mélange ( FAURON, MOATTI).

### ■ Affections génitales

L'anémone est employée dans des affections génitales telles que des infections et des inflammations de l'utérus.

Dans les infections péri-urétrines chroniques, il a été proposé la préparation suivante qui est constituée de :

Alcoolat de lotier	}	
Alcoolat de saule	}	âa 10 g
Alcoolat d'ulmaire	}	
Teinture d'aubépine	}	
Alcoolat d'anémone	}	âa 5 g
Teinture de piscida		5g
Alcoolat de framboise		qsp 100 ml

C'est un traitement à visée antalgique et tranquillisante. On utilise une tasse de SANTANE n°9®, 3 fois par jour, avec 50 gouttes de cette préparation.

L'anémone a été proposée dans le traitement des fibromes au niveau utérin. Ce sont des tumeurs conjonctives bénignes formées de fibroblastes. Il est préconisé de prendre à 17 heures et à 21 heures la tisane SANTANE n°9® avec 80 gouttes du mélange suivant :

Alcoolat de lotier	}	
Alcoolat d'anémone	}	âa 10 g
Alcoolat de saule	}	
Teinture d'aubépine	}	
Teinture de passiflore	}	âa 5 g
Teinture de pivoine	}	
Teinture de valériane		3 g
Alcoolat de romarin		qsp 100ml



### ■ Stérilité

Ces auteurs utilisent dans les stérilités, sur des terrains névrotiques, 50 gouttes du mélange suivant dans une tasse de tisane SANTANE n°9® :

Alcoolat de lotier	}	
Alcoolat de saule	}	âa 10 g
Alcoolat d'anémone	}	
Alcoolat d'eschsoltzia	}	
Alcoolat de pivoine	}	âa 5 g
Alcoolat de ballote	}	
Alcoolat de mélisse	}	qsp 90 ml

Quand c'est dû à des facteurs endocriniens, il faut prendre à 10 heures, 18 heures et 21 heures une tasse de tisane SANTANE n°9® avec 50 gouttes de la préparation suivante :

Alcoolat de lotier	}	
Alcoolat de saule	}	âa 10 g
Teinture d'aubépine	}	
Alcoolat d'anémone	}	
Teinture de passiflore	}	âa 15 g
Alcoolat de mélisse	}	qsp 90 ml

En fait, tous les mélanges utilisés pour les affections gynécologiques sont très proches les uns des autres. Ils sont, pour la plupart, utilisés à des fins sédatives et antispasmodiques.

## 1.1.1.5. Troubles circulatoires

L'anémone pulsatile est reconnue comme agissant sur la congestion veineuse et améliore ainsi la circulation.

FAURON et MOATTI proposent l'utilisation d'un mélange proche de celui employé pour traiter les aménorrhées. En effet, on retrouve dans ce mélange :

Alcoolat de lotier	}	
Alcoolat de saule	}	âa 5 g
Alcoolat de ballotte	}	
Alcoolat de pivoine	}	
Alcoolat d'anémone	}	
Alcoolat de passiflore	}	âa 3 g
Teinture d'aubépine	}	
Teinture d'eschsoltzia		3 g
Alcoolat de mélisse		qsp 90 ml

Les posologies sont les mêmes que pour les aménorrhées.

Il existe deux spécialités utilisées dans l'insuffisance veinolympatique et contenant de l'anémone pulsatile.

Tout d'abord, il y a HEMOLUOL®, sous forme de solution buvable. Elle est composée de :

Alcoolature d'anémone pulsatile	2 g
Teinture d'achillée	1,5 g
Extrait mou titrant de marron d'Inde	0,9 g
Extrait fluide de bourse à pasteur	6 g
Extrait fluide de cyprès	9 g

Extrait fluide d'osier rouge	6 g
Extrait fluide de sénéçon	3 g
Extrait fluide de noisetier	12 g

Ce médicament est indiqué dans les troubles fonctionnels de l'insuffisance veinolymphatique, les crampes et les œdèmes. Il peut être également utilisé dans le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.

La posologie dans l'insuffisance veinolymphatique est de 1 à 2 cuillères à café 3 fois par jour. Dans la crise hémorroïdaire, il faut prendre 1 cuillère à soupe 3 fois par jour.

Une autre spécialité HISTOFLUINE P®, est une solution buvable constituée de :

Extrait fluide de marron d'Inde	62,5 mg
Extrait fluide d'hamamélis	62,5 mg
Extrait fluide de bourse à pasteur	25 mg
Extrait fluide d'anémone pulsatile	25 mg
Esculoside	1250 µg

HISTOFLUINE P® est indiqué dans le traitement des manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique et de la crise hémorroïdaire. Il est aussi conseillé dans le traitement des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire. La posologie usuelle est de 30 à 60 gouttes 2 à 3 fois par jour, un moment avant les repas.

## 1.1.2. Usage externe

### 1.1.2.1. Affections dermatologiques

Selon RUBIN et MESSALI, l'anémone pulsatile est utilisée dans les eczémas, les raschs, les urticaires. Dans ce cas là, elle peut être employée sous forme de teinture à raison de 10 gouttes par jour, plusieurs fois par jour.

FAURON et MOATTI utilisent également l'anémone dans les affections de la peau et des phanères. Il est conseillé de se lotionner 2 fois par jour avec un infusé d'anémone. Ce dernier est constitué de 50 g d'anémone avec un litre d'eau bouillante qu'on laisse infuser 10 minutes.

### 1.1.2.2. A visée anti-inflammatoire

Il est possible d'utiliser un macérat d'anémone que l'on applique sur la zone douloureuse. Pour cela, il faut laisser macérer 200 g de plante dans un litre d'eau pendant 2 jours. Toutefois, il ne faut pas que l'application soit trop longue, ce qui pourrait entraîner des brûlures, comme on l'a vu précédemment au niveau des propriétés toxiques.

### 1.1.2.3. A visée cicatrisante

L'anémone pulsatile est employée dans une spécialité de phytothérapie à visée antalgique et cicatrisante. Il s'agit de CICADERMA®, en pommade, composé de :

Plante fraîche de <i>Calendula officinalis</i>	60 g
Plante fraîche d' <i>Hypericum perforatum</i>	3 g
Plante fraîche d' <i>Achillea millefolium</i>	3 g

Teinture de <i>Ledum palustre</i>	0,45 g
Teinture d' <i>Anemone pulsatilla</i>	0,45 g

Cette pommade est indiquée dans le traitement des petites plaies, des brûlures et crevasses.

L'anémone pulsatile est aujourd'hui peu utilisée en phytothérapie. Dans plusieurs cas il est possible d'utiliser la teinture d'anémone pulsatile. En ce qui concerne les spécialités, elles sont de moins en moins nombreuses. Dans ces médicaments, l'anémone est toujours associée, soit à des principes actifs chimiques soit à d'autres plantes.

L'anémone pulsatile est plus largement employée en homéopathie, aussi nous allons étudier toutes ces applications homéopathiques.

## 1.2. En homéopathie

### 1.2.1. Généralités

L'homéopathie est une autre thérapeutique employée par les médecins. Elle a été mise au point par Hahnemann.

Le principe de l'homéopathie peut s'énoncer de la façon suivante : « Toute substance pharmacologiquement active, capable de provoquer à dose pondérale chez l'homme sain des symptômes, peut supprimer des symptômes semblables chez l'homme malade, à condition d'être employée à dose faible. ».

Elle repose sur deux notions fondamentales :

- la similitude,
- la dose infinitésimale.

Tout d'abord, la similitude peut être énoncée de la façon suivante : « Tout individu malade peut être guéri par de petites doses dynamisées de la substance, qui provoque, à doses fortes chez l'individu sain, des symptômes semblables à ceux présentés par le malade. ». Ainsi, on peut définir le principe de similitude selon une expression populaire « le mal par le mal » ou encore les semblables sont guéris par les semblables.

Puis, la deuxième notion importante en homéopathie est la dose infinitésimale c'est à dire l'emploi du médicament à des concentrations hautement diluées. Si on employait le médicament à dose forte, on aggraverait la symptomatologie. Par ailleurs, Hahnemann a effectué de nombreuses expérimentations, où il diminuait les doses employées et cela a conduit à des doses infinitésimales qui étaient efficaces mais après une opération de succussion (agitation prolongée entre chaque dilution) et dont l'objectif est la dynamisation du principe actif.

Les médicaments homéopathiques sont fabriqués à partir :

- des teintures mères d'origine végétale qui sont obtenues par macération alcoolique des plantes fraîches et plus rarement desséchées, dans des récipients en verre ou en acier inoxydable, pendant 3 semaines. Ensuite, elles sont décantées, filtrées et conservées à l'abri de la lumière, de la chaleur....,
- les souches d'origine animale sont constituées d'une macération alcoolique au  $\frac{1}{20}$  d'animaux entiers vivants ou de certaines parties d'organes,
- les souches d'origine chimique, minérale ou organique.

A partir de la teinture mère ou de la souche chimique ou animale, on prépare les différentes dilutions.

Tout d'abord, les dilutions centésimales hahnemanniennes CH, elles sont préparées en additionnant 1 partie de substance de base dans 99 parties de

solvant. On obtient alors la 1<sup>ère</sup> dilution centésimale 1 CH. Puis 1 partie de cette dilution est mélangée à 99 parties de solvant et ainsi de suite pour obtenir les dilutions 2 CH jusqu'à 30 CH.

Ensuite, il y a les dilutions décimales hahnemanniennes DH. Ce sont des dilutions successives au dixième préparées exactement selon la même méthodologie que pour les centésimales. Les dilutions les plus utilisées sont 1 DH, 3 DH, 6 DH.

Enfin, il y a les dilutions korsakoviennes où la méthode consiste à verser 5 ml de teinture mère dans un flacon puis on vide le flacon et on ajoute de l'eau dans ce flacon afin de diluer ce qui reste sur les parois. Les dilutions les plus courantes sont 200 K, 1000 K et 10 000 K.

Les dilutions hahnemanniennes sont plus utilisées que les dilutions korsakoviennes.

Les médicaments homéopathiques issus de l'anémone pulsatile sont fabriqués à partir de la teinture mère de l'anémone et se nomment *Pulsatilla*.

## 1.2.2. Souche homéopathique

### 1.2.2.1. Définition

Dans la dernière édition de la Pharmacopée Française, la teinture mère de *Pulsatilla* est préparée à la teneur en éthanol de 55 % V/V à partir de la plante entière fleurie fraîche *Anemone pulsatilla* L. ou *Pulsatilla vulgaris* Mill. selon la technique de préparation des teintures mères.

#### 1.2.2.2. Caractères

La teinture mère se présente sous forme d'un liquide brun verdâtre, de saveur âcre et d'odeur herbacée.

#### 1.2.2.3. Identification

Deux méthodes d'identification sont proposées par la Pharmacopée Française.

La première méthode consiste à verser 2 ml de teinture mère sur du charbon activé, puis filtrer. Ensuite, il faut ajouter au filtrat 2 gouttes de solution de nitroprussiate de sodium à 10 % m/V, fraîchement préparée et 2 gouttes d'hydroxyde de potassium. Il apparaît alors une coloration rouge violacé.

La deuxième méthode consiste à ajouter à 1 ml de teinture mère 10 ml d'eau, puis après agitation, il se forme une mousse abondante persistant 15 minutes environ.

#### 1.2.2.4. Essais

##### ■ Teneur en éthanol

La teneur en éthanol est comprise entre 50 % V/V et 60% V/V.

##### ■ Résidu sec

Le résidu sec est supérieur ou égal à 1,20%.



## ■ Chromatographie

On utilise la chromatographie couche mince avec des plaques recouvertes de gel de silice.

### 1<sup>ère</sup> phase :

Déposer sur la plaque, en bande de 10 mm, 30  $\mu$ l de la teinture mère. Le développement s'effectue avec un mélange de 40 volumes de butanol, de 10 volumes d'acide acétique glacial et de 10 volumes d'eau sur un parcours de 10 cm. Le séchage se fait à l'air libre.

Examiné en lumière ultraviolette à 365 nm, le chromatogramme présente généralement :

- deux bandes bleues de Rf voisins de 0,20 et 0,35,
- une bande étalée jaunâtre comprise entre les Rf 0,45 et 0,55,
- une bande bleue de Rf voisin de 0,80 et une bande rouge de Rf voisin de 0,95.

Après pulvérisation sur le chromatogramme d'une solution de diphenylborate d'aminoéthanol à 1 % m/V dans du méthanol, il présente en lumière ultraviolette à 365 nm :

- une bande verte de Rf voisin de 0,20,
- trois bandes oranges de Rf 0,30, 0,35 et 0,45,
- une bande étalée jaune comprise entre les Rf 0,45 et 0,55,
- une bande verte de Rf voisin de 0,90.

### 2<sup>ème</sup> phase :

Sur un deuxième chromatogramme préparé dans les mêmes conditions, pulvériser le mélange à volumes égaux d'une solution de nitroprussiate de sodium à 5% m/V et d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium 2N.

Le chromatogramme présente à la lumière du jour deux bandes rosées de Rf voisins de 0,60 et 0,75.

### 1.2.3. Action générale

L'action générale est aussi nommée pathogénésie. C'est le recueil des symptômes observés chez l'homme sain, au cours de l'administration accidentelle ou expérimentale, d'une substance pharmacologiquement active, à dose pondérale. Ces expérimentations sur l'homme sain permettent de répertorier toutes les sensations personnelles au sujet et d'en définir les modalités qui seront déterminantes pour le choix d'un médicament par le médecin. Ces pathogénésies peuvent être aiguës, là les symptômes sont communs et ne sont pas spécifiques, ou, elles peuvent être chroniques, lentes et progressives et les symptômes qu'elles provoquent sont variés et spécifiques de la substance.

Nous allons donc énumérer toutes les actions et les symptômes provoqués par *Pulsatilla* sur un sujet sain.

#### 1.2.3.1. Action sur les muqueuses

*Pulsatilla* agit sur toutes les muqueuses en les irritant et en produisant une sécrétion catarrhale avec des écoulements jaune verdâtre épais et non irritants. Les muqueuses les plus touchées sont celles de l'arbre respiratoire, du tube digestif, de l'appareil génito-urinaire, des yeux et des oreilles.

Au niveau du tube digestif, on observe un état de dyspepsie atonique (DUPRAT, JOUANNY).

### 1.2.3.2. Action sur le système veineux

*Pulsatilla* correspond à une disposition pléthorique veineuse avec distension des veines et des capillaires à tendance variqueuse. De plus, il provoque des phénomènes de congestion et de stase surtout marqués au extrémités des membres (DUPRAT, JOUANNY).

### 1.2.3.3. Action sur la peau

Il peut causer des éruptions morbiliformes semblables à celles de la rougeole. On peut également observer un érythème, un prurit brûlant, des papules urticariennes et de l'acné (DUPRAT, ZISSU, GUILLAUME)

### 1.2.3.4. Action sur le système endocrinien

*Pulsatilla* modifie les échanges nutritifs et le malade qui lui correspond est disposé à l'engraissement (DUPRAT). Cette dernière influence paraît secondaire à un dysfonctionnement thyroïdien et hypophysaire.

La pathogénésie de l'anémone pulsatile est aiguë et chronique.

## 1.2.4. Typologie

Les expérimentations pathogénétiques et thérapeutiques ont permis aux homéopathes de mettre en évidence des types sensibles.

Ce sont des sujets qui, en expérimentation pathogénétique, toutes choses égales par ailleurs, développent pour un même produit plus de symptômes pathogénétiques que les autres. Ou bien, ce sont des sujets qui se révèlent, plus

souvent sur le plan thérapeutique, justiciables d'une même substance où d'un même groupe chimique.

Les types sensibles peuvent être définis par :

- des normes morphologiques communes,
- des tendances morbides semblables,
- un comportement caractériologique comparable.

Cela explique que l'homéopathe peut parfois retenir dans son examen clinique, en plus de la sémiologie classique, la morphologie et le comportement.

#### 1.2.4.1. Caractères physiques

Ce sont des sujets au teint clair, blonds aux yeux bleus avec une tendance à l'embonpoint. Ils ont le visage congestionné pourpre ou bleuâtre.

Leur peau a un aspect marbré caractéristique, provoqué par une stase veineuse périphérique, particulièrement nette et importante aux mains, aux genoux et aux pieds.

Ce sont des malades qui frissonnent facilement malgré la crainte de la chaleur et le désir d'air frais. Ce sont le plus souvent des filles, des jeunes femmes mais ce peut être aussi des garçons peu virils (DUPRAT, JOUANNY).

#### 1.2.4.2. Caractères physiologiques

Ce sont des malades caractérisés par 5 traits :

- tristesse et tendance aux larmes,
- besoin de consolation, de sympathie,
- humeur changeante,
- timidité, émotivité,
- caractère doux, facile et résigné.

Donc, ce sont des sujets très nerveux qui pleurent facilement et recherchent sans cesse la consolation. De plus, comme ils sont très timides ils ont tendance à rougir dès qu'on leur parle. Ce sont des malades repliés sur eux mêmes qui ont peur de la nouveauté, mais aussi de la mort, du malheur et de l'obscurité. Puis, ils sont tristes, mélancoliques et inquiets sur tout, ils ont parfois des impulsions suicidaires. Enfin, ils sont susceptibles, imaginatifs, capricieux et jaloux.

#### 1.2.5. Modalités

La modalité est la qualification d'un symptôme dans le sens de l'aggravation ou de l'amélioration sous l'influence des circonstances extérieures, de l'environnement ou des circonstances physiologiques comme la chaleur ou le froid, les horaires, le mouvement ou le repos .... (DUPRAT, JOUANNY).

##### 1.2.5.1. Aggravation

L'état d'un sujet *Pulsatilla* est aggravé par les facteurs suivants :

- la chaleur en particulier dans les lieux fermés, dans le lit d'où la recherche d'air frais,
- l'humidité,
- le repos, l'immobilité qui favorise la stase veineuse,
- le soir,
- après les repas surtout après avoir mangé des aliments gras,
- avant et pendant les règles,
- pendant la grossesse,
- l'approche d'un orage,
- à la lune croissante.

### 1.2.5.2. Amélioration

L'état du malade type *Pulsatilla* s'améliore avec les facteurs suivants :

- le grand air,
- le mouvement,
- les applications froides,
- la sympathie et la consolation.

### 1.2.6. Signes caractéristiques

#### 1.2.6.1. Excrétions

Elles peuvent survenir au niveau de toutes les muqueuses. Elles ont pour caractéristiques d'être jaune ou jaune verdâtre bien liées et non irritantes à l'exception toutefois du larmoiement et de la leucorrhée qui peuvent être légèrement offensifs (DUPRAT).

#### 1.2.6.2. Sensations

Elles sont très variées, changeantes, déchirantes et pulsatives. Les personnes ressentent des douleurs d'ulcérations sous cutanées, ce sont des douleurs erratiques et accompagnées de frissons. Elles débutent brusquement mais disparaissent lentement.

#### 1.2.6.3. Désirs et aversions

Il y a un désir de fraîcheur malgré la frilosité. Puis, ils éprouvent le désir de salades, de vinaigre, d'aliments frais, de fruits juteux, de glace qui sont

pourtant mal supportés. Enfin, ces malades présentent une aversion pour les aliments chauds, gras et pour le beurre, le lait (DUPRAT).

#### 1.2.6.4. Symptômes mentaux

En fait, ils reprennent les signes psychiques du type sensible de *Pulsatilla* représentés par des sujets mélancoliques, tristes, dépressifs à tendance suicidaire (DUPRAT).

#### 1.2.6.5. Symptômes oculaires

Les yeux du malade *Pulsatilla* sont caractérisés par un écoulement épais, profus, jaune verdâtre et non irritant.

Les paupières sont enflammées, agglutinées avec une inflammation du bord marginal. De plus, le malade a une impression de brouillard, de voile et se frotte continuellement les yeux ( VOISIN).

#### 1.2.6.6. Symptômes respiratoires et ORL

##### ■ Le nez

Il a des coryzas fréquents accompagnés d'une perte du goût et de l'odorat, d'éternuements et d'un état fébrile. Le nez est sec et obstrué le soir et la nuit (avec formation de croûtes jaunes épaisses) (JOUANNY). Mais dans la journée il y a un écoulement surtout dans l'après-midi. Cela est aggravé dans une pièce chaude mais amélioré au grand air ( VOISIN).

### ■ Le larynx

Le malade *Pulsatilla* souffre d'un enrrouement capricieux aggravé dans une pièce chaude.

### ■ Les bronches, les poumons

Il présente une toux sèche, nocturne obligeant le malade à s'asseoir dans son lit et qui réapparaît en se couchant. Par contre, le jour, la toux est grasse avec des mucosités épaisses et jaunâtres.

De plus, le sujet souffre de vagues douleurs erratiques dans la poitrine et d'une sensation d'endolorissement dans la région sous claviculaire, au sommet des poumons qui est ressentie quand le sujet est couché sur le poumon malade. Cela est dû à une congestion de la poitrine (VOISIN).

### ■ Les oreilles

Elles sont caractérisées par un écoulement épais, jaune, malodorant, non irritant et par une otalgie calmée par le mouvement lent.

#### 1.2.6.7. Symptômes digestifs (JOUANNY)

### ■ La bouche

Le sujet *Pulsatilla* a la bouche sèche mais sans soif. De plus, il y a un mauvais goût dans la bouche, le matin au réveil. La langue est chargée recouverte d'un enduit épais, sale et blanc jaunâtre.



### ■ Le pharynx, les glandes salivaires

La gorge est sèche, rouge sombre avec des varicosités. Il y a une inflammation des parotides.

### ■ L'estomac

Le malade *Pulsatilla* préfère les mets froids mais ne supporte pas les glaces. Il ne supporte pas les aliments gras, les boissons chaudes et les pâtisseries. La digestion est lente et difficile avec des aigreurs, des ballonnements, des éructations ayant le goût des aliments.

De plus, il y a une sensation de lourdeur épigastrique surtout après les aliments gras, ce qui oblige le malade à desserrer sa ceinture.

### ■ L'abdomen

Il est sensible au toucher, distendu, avec beaucoup de flatulences. Il est très gonflé surtout après les repas et le soir.

### ■ L'anus et les selles

Le malade souffre de douleurs d'excoriations à l'anus, de prurit anal et d'hémorroïdes avec des douleurs piquantes.

Il n'y a jamais deux selles semblables. Il peut, après avoir mangé des fruits, des glaces souffrir de diarrhées et à d'autres moments, au contraire souffrir d'une constipation chronique avec des envies continuelles et des selles insuffisantes.

## 1.2.6.8. Symptômes génitaux ( JOUANNY)

## ■ Masculins

Les sujets *Pulsatilla* masculins souffrent d'orchite par métastase ourlienne ou gonorrhéique et d'épididymite.

## ■ Féminins

Il peut se produire une inflammation de l'utérus et des ovaires.

Les jeunes filles du type *Pulsatilla* ont leurs règles en retard, elles sont peu abondantes, de sang noir et épais. L'écoulement est intermittent, plus prononcé le jour que la nuit. Les règles s'arrêtent un jour puis reprennent.

On observe également une aménorrhée après avoir eu les pieds mouillés. Les règles sont très douloureuses avec des douleurs dans les reins et les cuisses. Enfin, elles présentent des leucorrhées épaisses, jaunâtres, laiteuses et abondantes.

## 1.2.6.9. Symptômes veineux

Le sujet *Pulsatilla* a des varices, des dilatations veineuses au niveau des membres, qui gênent le malade par des petites douleurs lancinantes. Les veines sont bleues, gonflées et enflammées.

Il y a également une érythrocyanose des extrémités, aggravée par la chaleur et le repos, améliorée par la marche au grand air.

#### 1.2.6.10. Symptômes cutanés

Le malade présente un rash morbiliforme associé à des symptômes catarrhaux des muqueuses d'où l'utilisation de *Pulsatilla* dans la rougeole et la rubéole.

Puis, la peau a un aspect marbré, cyanosé, violacé, provoqué par la stase veineuse.

#### 1.2.6.11. Le dos et les extrémités

L'irritation spinale est caractéristique du malade type *Pulsatilla*. Le cou et le corps sont raides. Les douleurs rhumatismales dans les membres sont fréquentes et changent facilement de place.

#### 1.2.6.12. La fièvre

Le sujet est très frileux même dans une pièce chaude.

Le malade est brûlant, sans soif, cela principalement le soir et la nuit avec distension des veines et un pouls accéléré.

La sueur est abondante la nuit et est souvent unilatérale.

En conclusion, le sujet *Pulsatilla* est un sujet du type tuberculinique. C'est un état qui se divise en 2 phases. La 1<sup>ère</sup> phase, asthénique, est marquée par le drainage des déchets surchargeant les systèmes veineux et ganglionnaires, ces déchets sont éliminés au niveau des larges surfaces muqueuses. La 2<sup>ème</sup> phase, asthénique, est supposée liée à un trouble de la minéralisation. Le tuberculisme correspond à un groupe d'individus caractérisés par leur maigreur, leur frilosité ou leur hypersensibilité au froid, souffrant d'affections récidivantes des voies

respiratoires supérieures, et sur le plan psychique, par leur nervosité, leur sensibilité et leur irritabilité (HOUMARD).

### 1.2.7. Indications thérapeutiques

#### 1.2.7.1. Au niveau du système nerveux

*Pulsatilla* est indiqué dans :

- les états dépressifs réactionnels sans connotation névrotique ou psychotique dominante (DEMARQUE et coll.),
- les états de mélancolie importants et de tristesse taciturne (VOISIN),
- les manifestations phobiques,
- les troubles du sommeil et de l'alimentation (ZIEGEL).

Chez les nourrissons et les enfants, *Pulsatilla* peut être employé dans les troubles psychosomatiques ou nerveux tels que :

- dyspnée émotionnelle,
- hypersomnie du nouveau né,
- mictions involontaires,
- selles involontaires,
- spasme du sanglot,
- vertiges des hauteurs (LAMOTHE).

Pour les troubles nerveux, *Pulsatilla* est utilisé comme traitement de fond car ce sont des affections chroniques.

## 1.2.7.2. Dans les affections oculaires

Il peut être employé dans :

- le larmoiement chronique de l'œil dû au dysfonctionnement de la glande lacrymale (BILLOT),
- la blépharite, avec les paupières rouges et agglutinées le matin au réveil (VOISIN),
- les orgelets (ELBAZ).

## 1.2.7.3. Dans les affections respiratoires et ORL

*Pulsatilla* est indiqué dans les affections suivantes :

- les otorrhées chroniques,
- les otites purulentes,
- les coryzas aigus et chroniques,
- les coryzas spasmodiques et le rhume des foins,
- les rhino-pharyngites,
- les bronchites à la phase catarrhale,
- les poussées de surinfection.

*Pulsatilla* peut être employé en traitement de fond, pour les affections chroniques ou en traitement d'attaque dans les affections aiguës (JOUANNY).

## 1.2.7.4. Dans les affections digestives

Il est proposé dans les troubles digestifs chroniques mais aussi aigus ou subaigus tels que :

- les parotidites,

- les embarras gastriques après un excès d'aliments gras, de pâtisseries, de glaces, suite d'intolérances alimentaires,
- les dyspepsies atoniques,
- le pyrosis,
- les flatulences, les ballonnements,
- la constipation ou la diarrhée due aux fruits et aux glaces, c'est cette variabilité qui caractérise *Pulsatilla* (JOUANNY, COULAMY).

*Pulsatilla* peut être utilisé dans les affections ou les insuffisances pancréatiques, les affections hépatiques et dans les vomissements gravidiques.

#### 1.2.7.5. Dans les affections génito-urinaires

##### ■ Masculins

Il peut être employé dans les suites de blennorragies, dans les épидидymites et les orchites ourliennes (JOUANNY).

##### ■ Féminins

*Pulsatilla* est indiqué dans :

- les troubles de règles tels que les hypoménorrhées, les aménorrhées de la puberté chez les jeunes filles (JOUANNY),
- les syndromes prémenstruels (DEMARQUE et coll.),
- les dysménorrhées,
- les leucorrhées quelque soit l'âge,
- les troubles de la ménopause,

- les urétrites,
- les ovarites (JOUANNY).

*Pulsatilla* peut être proposé dans la grossesse dans le but d'améliorer les troubles psychiques, veineux et digestifs (MOREAU-DELGADO).

#### ■ Urinaires

*Pulsatilla* peut être utilisé dans :

- la miction par regorgement,
- l'incontinence d'effort par insuffisance sphinctérienne (en toussant par exemple),
- l'instabilité vésicale (BILLOT).

#### 1.2.7.6. Dans les affections veineuses

*Pulsatilla* est indiqué dans le traitement de fond :

- des varices,
- des érythrocyanoses,
- des varicosités du visage, des cuisses et des jambes,
- de la congestion mammaire pré pubertaire de la jeune fille,
- dans les écoulements lactés pendant ou entre les règles.

De plus, il permet de soulager la sensation de lourdeur de jambes. Ce remède est également utilisé dans le traitement des ulcères variqueux et des séquelles de phlébites. Il permet d'améliorer la circulation de retour et l'engorgement capillaire. Enfin, il est employé pour soigner les extrémités glacées au froid et les engelures (JOUANNY).

## 1.2.7.7. Dans les affections dermatologiques

*Pulsatilla* est indiqué dans le traitement :

- de l'urticaire avec un prurit aggravé par la chaleur, souvent dû à une ingestion d'aliments gras,
- de l'eczéma de stase responsable d'un prurit nocturne,
- de la rougeole,
- de la rubéole lorsqu'on a de l'exanthème,
- de l'acné, des éruptions vésiculeuses,
- des dermatoses réactionnelles au froid (HOUMARD).

## 1.2.7.8. Dans les douleurs

Il peut être prescrit chez des patients présentant des douleurs rhumatismales subaiguës très erratiques, ou des rhumatismes articulaires ou musculaires chroniques.

Ainsi, il est parfois employé comme adjuvant dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (BILLOT).

## 1.2.7.9. Dans les états fébriles

*Pulsatilla* est proposé dans les états fébriles où il y a une instabilité thermique et circulatoire, une frilosité générale, une absence de soif et un besoin d'air frais (VOISIN).

*Pulsatilla* est donné dans les états aigus accompagnés de fièvre tels que :

- les bronchites aiguës,
- les pathologies pulmonaires aiguës,
- la coqueluche,
- les viroses (oreillons, rougeole, rubéole),



- la conjonctivite muco-purulente aiguë (JOUANNY).

#### 1.2.7.10. Dans les affections diverses

*Pulsatilla* est employé dans les céphalées et les migraines unilatérales, sus orbitaires ou frontales et dans les névralgies du trijumeau (PONS).

Enfin, *Pulsatilla* est utilisé en traitement de fond dans les phénomènes allergiques digestifs (dus aux aliments gras), respiratoires (asthme) et cutanés (CENNELIER).

En conclusion, *Pulsatilla* est utilisé dans de nombreux domaines. Ainsi, en homéopathie, c'est un polychestre, c'est à dire un médicament d'usage fréquent de par ses indications thérapeutiques et son pouvoir pharmacodynamique étendu. *Pulsatilla* est employé aussi bien en traitement de fond que dans les pathologies aiguës. C'est le remède de fond essentiel du tuberculisme. En effet, c'est un draineur du terrain tuberculinique qui permet ainsi d'éliminer toutes les sécrétions et déchets présentés par le malade. Ce remède n'est efficace que si le patient présente les symptômes correspondant à ceux de *Pulsatilla*.

#### 1.2.8. Utilisations et posologies

##### 1.2.8.1. Généralités

La prescription du médicament homéopathique consiste à rapprocher et à comparer deux observations : le tableau clinique, présenté par le malade et le tableau pathogénique, résultant de l'expérimentation d'une substance chez l'homme sain. Plus les deux tableaux coïncident, plus le choix du médicament s'impose.

Les symptômes sont hiérarchisés en :

- signes locaux : signes objectifs recueillis par l'observation,
- signes généraux : ils sont l'expression d'un mode réactionnel général,
- signes psychiques,
- signes anatomo-pathologiques : ce sont les signes histologiques.

Donc, suivant tous ces signes le médecin peut prescrire le médicament homéopathique approprié.

Puis, une fois que le médicament est choisi, il faut déterminer la dilution à laquelle il sera utilisé. Les dilutions les plus utilisées sont les dilutions hahnemanniennes centésimales.

Les dilutions basses ( 4 CH / 5 CH) ou moyennes ( 7 CH / 9 CH) ont une action limitée dans le temps et correspondent à des signes locaux ou généraux. Elles sont en général administrées 2 à 3 fois par jour.

Les dilutions hautes ( 15 CH / 30 CH) sont généralement utilisées pour les maladies chroniques et les types sensibles et prescrites par le médecin à raison d'une fois par semaine ou par quinzaine.

Enfin, il faut choisir la forme d'administration du médicament homéopathique.

Cela peut être des granules ou des globules. Ce sont des sphères constituées de saccharose et de lactose. Ces granules et globules neutres sont rendus médicamenteux par imprégnation d'une dilution de teinture mère. Les granules sont présentés en tube ( 80 granules par tube) et seront pris par 3 ou 5, le plus souvent. Les globules sont plus petits que les granules et sont présentés dans des tubes doses ( 200 globules par tube), le tube sera absorbé en une seule fois.

Il existe aussi des formes buvables.

Il est préférable de prendre les médicaments homéopathiques à distance des repas. Le choix de la forme tient compte du mode d'utilisation : répétition dans la journée ou prise unique journalière, hebdomadaire ou mensuelle.

#### 1.2.8.2. Avec *Pulsatilla*

Dans les affections chroniques (psychiatriques, digestives, respiratoires, rhumatismes, troubles circulatoires), *Pulsatilla* est utilisé en traitement de fond à des hautes dilutions de 15 et 30 CH. Par exemple on peut utiliser 5 granules par jour de *Pulsatilla* 15 CH.

Dans les affections aiguës ou subaiguës (respiratoires, digestives), VOISIN préconise des dilutions basses de 5 CH. Par contre JOLY préfère ne pas utiliser ces dilutions, car pour cet auteur, cela risque d'aggraver les symptômes. Il préfère donc des dilutions moyennes de 9 ou 12 CH. On peut alors utiliser 5 granules de *Pulsatilla* plusieurs fois par jour.

Dans les affections gynécologiques, *Pulsatilla* peut être prescrit de façon particulière à raison de 1 dose en 9, 15 ou 30 CH vers les 20, 21, 22<sup>ème</sup> jours du cycle.

#### 1.2.9. Exemples

##### ■ 1<sup>er</sup> cas : Pathologies aiguës

En phase de résolution d'une bronchite aiguë, le médecin homéopathe pourra prescrire *Pulsatilla* à visée émollissante, décongestionnante et anti-inflammatoire. Il sera par exemple prescrit *Pulsatilla* 9 CH, 5 granules au réveil et vers 17 heures (JOUANNY et coll.).

### ■ 2<sup>ème</sup> cas : Pathologies psychiatriques pédiatriques

Amélie, petite fille de 6 ans est très timide et a peur de tout à l'école. Elle présente toutes les caractéristiques physiques et psychiques de *Pulsatilla* déjà décrites précédemment (blonde, le teint clair, pleure facilement, besoin de consolation).

De plus, il est noté :

- une réaction vive au BCG avec suppuration prononcée,
- des rhino-pharyngites répétées avec bronchite et le nez coulant jaune,
- un refus total de manger du beurre et du fromage.

Le médecin prescrit *Pulsatilla* 15 CH, une dose tous les 15 jours pendant 2 mois.

Le caractère d'Amélie s'améliore, elle est moins timide et ne fait plus de bronchites (TETAU).

### ■ 3<sup>ème</sup> cas : Pancréatite chronique

Il s'agit d'une femme de 50 ans atteinte d'une pancréatite chronique. Elle a beaucoup de troubles gastriques, une aversion pour les aliments gras qui provoquent des éructations, des vomissements, des diarrhées et des céphalées. Par ailleurs, elle a une mauvaise circulation capillaro-veineuse, elle est très mélancolique et pleure facilement.

Elle sera traitée par une dose de *Pulsatilla* 15 CH tous les dimanches.

L'amélioration est rapide au niveau des constantes biologiques et au niveau clinique en ce qui concerne les troubles digestifs. L'état mental s'est amélioré mais le traitement n'est pas terminé (COULAMY).

## 1.2.10. Spécialités homéopathiques

Les spécialités homéopathiques contenant l'anémone pulsatile sont les suivantes :

- ARTHRO DRAINOL® , Boiron ( douleurs rhumatismales)
- Complexes homéopathiques BORIPHARM® , Plantes et Médecine
  - n°5 granules ( affections des yeux)
  - n°5 suppositoires ( otites)
  - n°8 granules ( affections nasales)
- Complexes LEHNING® gouttes
  - n°2 (états adénoïdiens des infections chroniques)
  - n°7 (énurésie)
  - n°9 ( états infectieux et inflammatoires de la vessie)
  - n°24 ( troubles menstruels)
  - n°37 ( traitement des verrues)
  - n°42 ( névralgies)
  - n°49 ( indigestion alimentaire)
  - n°60 ( troubles des règles)
  - n°63 ( infections chroniques des voies respiratoires)
  - n°64 ( toux non productives)
  - n°73 ( mal des transports)
  - n°86 ( affections cutanées sèches)
  - n°92 ( chalazions et orgelets)
- CORYZALIA®, Boiron granules ou comprimés (rhinites, affections rhinopharyngées)
- Formules de l'ABBE CHAUPITRE®
  - n°7 ( anxiété, nervosité)

- n°64 ( ulcères variqueux)
- n°82 ( troubles génito-urinaires)
- HOMEODOSE n°20 ®, Boiron ( troubles circulatoires)
- HOMEOGENE n°9 ®, Boiron ( maux de gorge, laryngites)
- HOMEOGENE n°41®, Boiron ( douleurs rhumatismales)
- HOMEORYZA ®, Boiron granules ( rhinites, rhume des foins)
- POMMADE BORIBEL n°1®, Plantes et Médecine (rhinites)
- PULMODRAINOL®, Boiron gouttes ( toux grasses)
- RECTOBYL®, Boiron suppositoires ( hémorroïdes)
- STODAL®, Boiron sirop ( toux d'origine diverse)
- STODAL®, Boiron granules ( toux sèche)
- TUSIDORON®, Weleda (toux)
- VEINO DRAINOL®, Boiron gouttes ( insuffisance veinolymphatique, hémorroïdes)

#### 1.2.11. Relations médicamenteuses avec d'autres médicaments homéopathiques

##### 1.2.11.1. Complémentarité

*Pulsatilla* peut être utilisé dans le traitement des diarrhées d'un sujet tuberculinique, avec *Natrum muriaticum*, *Silicea*, *Sulfur iodatum*, *Sulfur*, *Lycopodium*.

C'est un remède complémentaire dans les traitements symptomatiques avec *Allium cepa*, *Kalium sulfuricum* ( ZISSU, GUILLAUME).

### 1.2.11.2. Remède de fond

*Pulsatilla* est le remède de fond du tuberculisme. Comme autre traitement de fond de cet état, on trouve *Tuberculinum*, *Calcarea carbonicum* et *Sulfur*, *Calcarea phosphoricum* et *Natrum muriaticum* (ZISSU, GUILLAUME).

### 1.2.11.3. Comparaison

Sur le plan ORL et respiratoire, quand il y a un catarrhe muqueux, *Mercurius solubilis* et *Bryonia* présentent les mêmes caractéristiques que *Pulsatilla*. Ils sont souvent donnés avant *Pulsatilla* ( ZISSU, GUILLAUME).

Sur le plan digestif, *Lycopodium*, *Nux vomica* et *Pulsatilla* sont indiqués dans le traitement des flatulences et de gonflement de l'estomac et de l'abdomen. *Sepia* et *Pulsatilla* ont un désir de salades et de vinaigre. *Bryonia* et *Arsenicum* ressemblent à *Pulsatilla* en ce qui concerne les diarrhées consécutives à une ingestion de fruits et de glaces.

Sur l'appareil circulatoire, *Lachesis* et *Sepia* ont les mêmes caractéristiques que *Pulsatilla* : varices, hémorroïdes et peau violacée (JOLY).

## 2. MEDECINE HOMEOPATHIQUE VETERINAIRE

### 2.1. Pathogénésie vétérinaire

Il existe peu de matière médicale homéopathique appliquée à l'animal.

Qinquandon et ses collaborateurs ont décrit la pathogénésie vétérinaire en précisant que la plupart des signes pathogénétiques sont communs à la médecine humaine et à la médecine vétérinaire.

Les signes communs sont :

- la variabilité des symptômes,
- la frilosité avec une aggravation à la chaleur,
- l'absence de soif,
- l'état catarrhal des muqueuses,
- l'intolérance aux aliments gras,
- l'engorgement veineux avec stase.

## 2.2. Type sensible

Le type sensible de *Pulsatilla* est important aussi en médecine vétérinaire.

L'animal est asthénique, passif, résigné, silencieux, soumis, timide, au caractère doux mais extrêmement changeant et capricieux. C'est un animal nerveux, agité, facilement irritable mais non agressif, vite atteint de tristesse. Son état est amélioré par la consolation et il recherche la sympathie de ceux qui l'entourent.

## 2.3. Réactions caractéristiques

Les sécrétions catarrhales des muqueuses sont aiguës, subaiguës ou chroniques et sont jaune verdâtre. Elles sont irritantes à l'exception des sécrétions vaginales qui sont purulentes.

Au niveau des yeux, les animaux présentent des conjonctivites, des blépharites, des blépharo-conjonctivites avec une suppuration et une inflammation des paupières. Il y a également un larmoiement intense.

Au niveau des oreilles, les otites sont fréquentes, aiguës ou chroniques avec une grosse suppuration et un écoulement jaune, épais et malodorant.



Au niveau du nez, le type *Pulsatilla* est sujet aux coryzas répétés, avec des éternuements et une obstruction nasale. Il présente un écoulement muqueux abondant le soir avec des mucosités jaune verdâtre le matin.

Au niveau des bronches et des poumons, la bronchite est grasse avec des glaires épaisses verdâtres.

Au niveau digestif, les animaux souffrent d'insuffisances gastrique, hépatique et pancréatique. Ils ont une aversion et une intolérance pour les graisses. Ils ont un désir d'aliments frais. La digestion est lente, ils éructent souvent après les repas avec des régurgitations rances. Les selles sont variables comme chez les humains.

Au niveau de l'appareil génito-urinaire, les animaux présentent un catarrhe vésical chronique.

Les mâles souffrent fréquemment d'orchites et d'épididymites.

Les femelles présentent un cycle sexuel irrégulier, supprimé au moindre refroidissement. Les ovaires et l'utérus peuvent être enflammés. Les leucorrhées sont épaisses, laiteuses généralement non irritantes.

Les animaux peuvent présenter des rhumatismes aigus avec des douleurs changeantes, variables et erratiques. Quand ils ont de la fièvre, elle est intermittente avec une instabilité thermique et circulatoire. Les animaux sont frileux et n'ont pas soif mais ils transpirent beaucoup la nuit.

#### 2.4. Modalités

Les symptômes sont aggravés par :

- le repos,
- la chaleur,

- la nuit, le soir,
- l'approche d'un orage,
- les aliments gras,
- la pluie,
- le fait de se coucher sur le côté douloureux.

Les symptômes sont améliorés par :

- le mouvement lent,
- l'air frais et vif,
- les applications froides.

## 2.5. Indications thérapeutiques

*Pulsatilla* est un remède très utilisé en médecine vétérinaire. Les indications dans ce domaine ont été précisées par Quiquandon et ses collaborateurs.

### 2.5.1. Chez les chiens

*Pulsatilla* est indiqué lorsque les chiennes refusent de se faire saillir. Chez les animaux, il est employé également dans :

- l'eczéma surtout au niveau du ventre,
- les vulvovaginites,
- les endométrites.

Chez les chiens, mâles ou femelles, *Pulsatilla* est prescrit dans :

- les troubles du comportement,
- les troubles digestifs.

### 2.5.2. Chez le cheval

*Pulsatilla* est indiqué lors du jetage épais (écoulement purulent) au niveau des narines avec une toux peu importante.

De plus, il est employé dans les débuts de fourbure (congestion et inflammation des pieds), dans les boiteries peu marquées et erratiques.

Enfin, il est prescrit dans le traitement de fond des coliques répétées du cheval, surtout si elles sont d'origine psychique (OSDOIT).

### 2.5.3. Chez les bovins

*Pulsatilla* est employé dans :

- les troubles digestifs,
- les petites boiteries,
- les mammites chroniques,
- les avortements avec tonie utérine complète (*Pulsatilla* permet l'expulsion du fœtus).

### 2.5.4. Chez toutes les espèces

*Pulsatilla* est le type de remède convenant dans les états de convalescence. Il peut s'administrer au début des maladies chroniques et à la fin des maladies aiguës. Ce remède est d'autant plus efficace que la bête présente les caractéristiques psychiques de *Pulsatilla* citées précédemment.

## 2.6. Exemples

### 2.6.1. Chez un chien

Il s'agit de Rex, un berger allemand âgé de 10 ans, qui a de l'eczéma, et un problème aux coussinets plantaires : ils sont lisses. L'animal possède aussi le caractère décrit dans la typologie de *Pulsatilla*.

Il lui est prescrit 1 injection de *Pulsatilla* 9 CH puis une autre de *Pulsatilla* 15 CH 15 jours plus tard. Enfin, 15 jours après, le chien reçoit une dernière injection de *Pulsatilla* 15 CH. Aucun topique n'a été appliqué sur les coussinets pendant toute la durée du traitement.

On note une nette amélioration de l'état du chien au niveau cutané et au niveau des coussinets plantaires (CHEMIN, MILLEMAN).

### 2.6.2. Chez un cheval

Il s'agit d'un étalon pur sang arabe, âgé de 10 ans.

Il a des coliques répétées depuis qu'un autre étalon est venu le narguer à sa porte. De plus, ce jour là, il y avait beaucoup de vent et ses carottes étaient gelées. Ainsi, depuis ce jour, il a des coliques dès qu'il vente un peu fort et cela est aggravé par les aliments gelés.

Il lui est prescrit un dose de *Pulsatilla* 9 CH.

Le cheval n'a pas eu de problèmes après ce traitement, il a même gagné une épreuve d'endurance de haut niveau (OSDOIT).

### 2.6.3. Chez une vache

Il s'agit d'une génisse de 2 ans ayant été en chaleur il y a 4 mois sans avoir été saillie. Elle se trouve en état de frigidité qui est dû à la persistance des

corps jaunes de la menstruation. Le traitement habituel est une injection de YOHIMBIN®. Par la suite l'homéopathie a été tentée et il lui est administré une dose de *Pulsatilla* 200 K.

Trois semaines après l'action de cette dose, la bête est en chaleur et accepte le taureau. Elle est alors devenue gestante ( FERREOL).

## 2.7. Utilisations et posologies

*Pulsatilla* est souvent prescrit sous forme de granules et de globules. Les dilutions sont moyennes de 7 ou 9 CH ( dans les maladies aiguës : eczéma, cystite...) ou fortes de 30 CH dans les traitements de fond, certains vétérinaires utilisent *Pulsatilla* sous forme d'injection.

## 3. CONCLUSION

L'anémone pulsatile est de moins en moins utilisée en phytothérapie car le nombre des spécialités la contenant diminue. Par contre, elle est très employée dans le domaine homéopathique.

Les actions pharmacologiques déjà démontrées, permettent de comprendre certaines indications de l'anémone pulsatile aussi bien en phytothérapie qu'en homéopathie. D'autres indications n'ont pas été démontrées ni expérimentées mais les exemples montrent l'efficacité de l'anémone pulsatile, cela surtout en homéopathie.

Enfin, *Pulsatilla* est utilisé aussi en médecine homéopathique vétérinaire, ce qui élargi le champ d'action de cette plante.

Ainsi, à travers tous ces exemples nous pouvons dire que l'anémone pulsatile est une plante qui possède de nombreuses vertus.

## VIII CONCLUSION

L'anémone pulsatile est une plante herbacée, à fleurs violettes appartenant à la famille des Renonculacées, elle est en voie de disparition dans certaines régions françaises.

L'anémone pulsatile possède dans l'ensemble, les caractères généraux des Renonculacées à l'exception de la corolle qui, chez elle, est absente. Elle possède la particularité d'appartenir à deux genres suivant les flores : *Anemone* ou *Pulsatilla*. Nous avons choisi d'étudier le genre *Anemone* car en France, il est plus cité que le genre *Pulsatilla*.

L'anémone pulsatile, outre sa beauté, est très intéressante sur le plan chimique. Elle contient de nombreux composés dont le groupe le plus important est celui des lactones avec la ranunculine, la protoanémonine, l'anémonine et une génine (différente de la protoanémonine). Ces 4 molécules possèdent des points communs et sont étroitement liées entre elles. Concernant l'extraction de ces composés, les méthodes sont spécifiques de chaque molécule et comme nous avons pu voir, techniquement elles ont évolué. En effet, les premières extractions se faisaient par des opérations simples comme des partages liquide-liquide, des distillations, des cristallisations... Les dernières techniques de séparation font appel de plus en plus à des chromatographies, plus difficiles à mettre en œuvre certes mais qui donnent de bons résultats. En ce qui concerne les méthodes de synthèse, elles sont très nombreuses pour la protoanémonine, ceci vient du fait qu'elle joue un rôle important, notamment au niveau de la toxicité et au niveau des propriétés pharmacologiques.

Le pouvoir toxique de l'anémone pulsatile a été démontré et il est attribué principalement à la protoanémonine. Toutefois, nous pouvons nous demander pourquoi la toxicité ne pourrait – elle pas être due à la ranunculine, la forme hétérosidique de la protoanémonine qui est présente dans la plante à l'état frais.

Peut - être cela est - il dû au fait que la ranunculine n'est pas stable et se transforme rapidement en protoanémone.

De plus, outre les propriétés toxiques, la protoanémone et l'anémone confèrent à l'anémone pulsatile de nombreuses propriétés pharmacologiques notamment sédative et antispasmodique. D'autres propriétés ont été démontrées, en particulier des propriétés cytotoxique, antimittotique, antifongique et antibactérienne. Les études ont prouvé que la protoanémone est un excellent agent antibactérien sur certains germes à l'origine très résistants. Malgré ces résultats, la protoanémone n'est pas utilisée en médecine, car elle est toxique.

Enfin, à l'heure actuelle, l'utilisation de l'anémone pulsatile se limite à la médecine douce avec quelques spécialités de phytothérapie. Par contre, elle est très largement utilisée en homéopathie, dans de nombreuses affections.

Ainsi, dans le domaine thérapeutique, malgré ses propriétés très intéressantes, l'anémone pulsatile ne suscite que peu d'intérêts, ceci à cause de sa toxicité. Le nombre de spécialités allopathiques en contenant diminue. Mais fort heureusement, l'anémone pulsatile trouve encore beaucoup d'applications en thérapeutique homéopathique que ce soit humaine ou vétérinaire.

**BIBLIOGRAPHIE**

ABBAYES H., CHADEFAUD M., GAUSSEN H., GRASSE P.P., FELDMANN J., DE FERRE Y., LEGREDDE M.C., OZENDA P. et PREVOT A.R.

Précis de sciences biologiques : Précis de botanique.

Paris, Masson et Cie éditeurs, 1963.

BACH D., MASCRE M. et DEYSSON G.

Cours de botanique générale : Organisation générale et reproduction des plantes vasculaires.

Tome I.

Paris, Société d'édition d'enseignement supérieur, 1955.

BACH D., MASCRE M. et DEYSSON G.

Cours de botanique générale : Organisation générale et classification des plantes vasculaires.

Tome II.

Paris V, Société d'édition d'enseignement supérieur, 1951.

BAI Y., BENN M.H., MAJAK W. et McDIARMID R.

Extraction and HPLC determination of ranunculin in species of the buttercup family.

*J. Agric. Food. Chem.*, 1996, 44, 2235-2238.

BALANSARD J. et DELPHAUT J.

Recherches chimiques sur l'extrait hydroalcoolique et sur l'alcoolature d'Anémone pulsatile.

*Travaux de société de pharmacie de Montpellier*, 1945-1946, 5, 50-56.



BALANSARD J. et DELPHAUT J.

Sur l'anémone pulsatile.

*Rev. Phytoth.*, 1946, 10, 37.

BALLON L.

Contribution à l'étude physiologique et thérapeutique des Anémones.

Thèse doctorat de médecine, Paris, 1904.

BEILLE L.

Précis de botanique pharmaceutique.

Tome II, 1<sup>ère</sup> partie.

Paris, Maloine, 1935.

BERNARD C.

Flore des Causses.

Société botanique du Centre Ouest, 1996.

BESSE BERGIER F.X.

Etude de préparations galéniques d'Anémone pulsatile : Mise au point de méthodes de contrôle.

Thèse pharmaceutique, Clermont Ferrand, 1975.

BEZANGER - BEAUQUESNE L., GARNIER G. et DEBREAUX G.

Ressources médicinales de la flore française.

Paris, Vigot Frères, 1961.

BHATTACHARYYA P.R., NATH S. et BORDOLOI D.N.

Insecticidal activity of *Ranunculus sceleratus* L. against *Drosophila melanogaster* and *Tribolium castaneum*.

*Ind. J. Exp. Biol.*, 1993, 31, 85-86.

BIANTINI F., CORBETTA F. et PIOTRIA M.

Atlas des plantes médicinales.

Paris, Fernand Nathan, 1976.

BILLOT J.P.

Homéopathie en gériatrie.

Paris, Maloine, 1992.

BLASCO R., WITTICH R.M., MALLAVARAPU M., TIMMIS K.N. et PIEPER D.H.

From xenobiotic to antibiotic, formation of protoanemonin from 4 - chlorocatechol by enzymes of the 3 oxoadipate pathway.

*J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 29229-29235.

BONNIER G.

Flore complète illustrée en couleurs de France, de la Suisse et de la Belgique.

Tome I.

Paris, Orlhac, 1934.

BONNIER G. et DE LAYENS G.

Flore complète portative de la France, de la Suisse et de la Belgique.

Paris, Belin, 1986.

BONORA A., DALL'OLIO G. et BRUNI A.

Separation and quantification of protoanemonin in Ranunculaceae by normal and reversed phase HPLC.

*Planta Medica*, 1985, 5, 364-367.

BOURGEOIS J., DELABOS C. et FAUGERAS G.

Enquêtes sur les plantes toxiques de Haute Normandie.

*Plantes médicinales et phytothérapie*, 15, 133-138.

BRÜNKMANN M., BLASCO R., TIMMIS K.N. et PIEPER D.H.

Detoxification of protoanemonin by Dienelactone hydrolase.

*J. Bacterio.*, 1998, 180, 400-402.

CALDERON A., FONT J. et ORTUÑO R.M.

Studies on structurally simple  $\alpha$ ,  $\beta$  butenolides : Behaviour of protoanemonin as electrophile towards alcohols and thiols.

*Tetrahedron*, 1984, 40, 3787-3794.

CAMEFORT H. et BOUE H.

Reproduction et biologie des végétaux supérieurs.

Paris, Doin, 1980.

CAMPBELL W.E., CRAGG G.M.L. et POWRIE A.H.

Anemonin, protoanemonin and ranunculin from *Knowltonia capensis*.

*Phytochem.*, 1979, 18, 323-324.

CAMPS P., CARDELLACH J., FONT J., ORTUÑO R.M. et PONSATI O.

(-) (S)  $\gamma$  hydroxymethyl -  $\alpha$  -  $\beta$  - butenolides and derivatives from - D - ribonolactone efficient synthesis of (-) ranunculin.

*Tetrahedron*, 1982, 38, 3295-2402.

CENNELIER M.

L'allergique et l'homéopathie.

Paris, Maloine, 1995.

CHADEFAUD M. et EMBERGER L.

Traité de botanique : Les végétaux vasculaires.

Tome II, Fascicule II.

Paris, Masson et Cie éditeurs, 1960.

CHAUVET M.

Plantes sauvages menacées de France : Bilan et protection.

Actes du Colloque de Brest du 8 au 10 octobre 1987.

Paris, Lavoisier Technique et Documentation, 1989.

CHEMIN C. et MILLEMAN J.

Trois cas cliniques.

*Homéo. Fr.*, 1983, 71, 169-174.

CLERCK P.

La botanique des Pulsatilles.

*Homéo. Fr.*, 1977, 4, 225-230.

CONSTANTINESCU E., ISTUDOR V., UNGUREANU D. et FORSTNER S.

Contribution à l'étude chimique de *Hepatica transsilvanica* Fuss.

*Ann. Pharm. Fr.*, 1970, 28, 661-666.

COSTE H.

Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes.

Paris, Albert Blanchard, 1990.

COULAMY A.

Homéopathie en pathologie digestive.

Paris, Maloine, 1992.

COUPLAIN F. et STYNNER E.

Guide des plantes sauvages, comestibles et toxiques.

Paris, Delachaux et Niestlé, 1994.

COUQUELET J. et POURRAT H.

Antimitotiques extraits des végétaux supérieurs.

*Les actualités pharmaceutiques*, 1971, 68, 30-31.

CRETE P.

Précis de botanique : Systématique des Angiospermes.

Tome II.

Paris, Masson et Cie éditeurs, 1965.

DAL POZZO A. et DANSI A.

Biologically active insaturated gamma lactones.

*Boll. Chim. Farm.*, 1979, 118, 239-260.

DEBELMAS A.M. et DELAVEAU P.

Plantes agressives et poisons végétaux.

Paris, Maloine, 1978.

DELAVEAU P.

Plantes agressives et poisons végétaux.

France, Horizons de France, 1974.

DEMARQUE D., JOUANNY J., POITEVIN B. et SAINT JEAN Y.

Pharmacologie et matière médicale homéopathique.

France, Editions Boiron, Centre d'études et de documentation homéopathiques,  
1993.

DICKENS F., JONES E.H. et WAYNFORTH H.B.

Oral, subcutaneous and intratracheal administration of carcinogenic lactones and related substances : the intratracheal administration of cigaret tar in the rat.

*Br. J. Cancer.*, 1966, 20, 134-143.

DIDRY N., DUBREIL L. et PINKAS M.  
Antibacterial activity of protoanemonin vapor.  
*Pharmazie*, 1991, 46, 546-547.

DIDRY N., DUBREUIL L. et PINKAS M.  
Microbiological properties of protoanemonin isolated from *Ranunculus bulbosus*.  
*Phytother. Res.*, 1993, 7, 21-24.

DORVAULT F.  
L'OFFICINE.  
20<sup>ème</sup> édition.  
Paris, Editions Vigot, 1995.

DUKE J.A.  
Hand book of Medicinal Herbs.  
CRC Press Inc, 1985.

DUPRAT H.  
Traité de matière Médicale homéopathique.  
Tome II, 3<sup>ème</sup> édition.  
Paris, J.B Baillière, 1985.

DURAND I.  
Contribution à l'étude d'*Anemone pulsatilla* L.  
Thèse pharmaceutique, Lyon, 1985.

EAMES  
Morphology of the Angiospermes.  
New York, McGrawhill Book company, 1961.

ELBAZ J.P.

Traité de gériatrie homéopathique.

Paris, Similia, 1994.

ERICKSON R.O. et ROSEN G.U.

Cytological effects of protoanemonin on the root tip of *Zea mays*.

*Am. J. Bot.*, 1949, 36, 317-322.

FAURON R. et MOATTI R.

Guide pratique de phytothérapie.

Paris, Maloine, 1984.

FERREOL

De l'action des hautes dilutions chez les animaux.

*Groupement hahnemannien*, 1977, 44, 128-132.

FONT J. et PASCUAL J.

Ranunculina, protoanemonina y anemonina, obtencion de ranunculina de la *Clematis flammula* L.

*An. R. Soc. Esp. Fisica y Quimica*, 1966, 62, 705-707.

FORMULAIRE NATIONAL.

Complément de la Pharmacopée Française.

1<sup>ère</sup> édition.

Paris, Edité sous la direction de la Commission Nationale de Pharmacopée par l'Ordre National des Pharmaciens, 1974.

FOURNIER P.

Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France.

Paris, Le Chevalier, 1947.

GAUSSEN H., LEROY J.F. et OZENDA P.

Précis de botanique : Végétaux supérieurs.

Volume 2, 2<sup>ème</sup> édition.

Paris, Masson, 1982.

GRUNDMANN C. et KOBER E.

An improved synthesis of protoanemonin.

*J. Am. Chem. Soc.*, 1955, 77, 2332-2333.

GUIGNARD J.L.

Abrégés de botanique.

Paris, Masson, 1993.

GUINOCHET M.

Notions fondamentales de botanique générale.

Paris, Masson, 1965.

GUINOCHET M. et VILMORIN R.

Flore de France.

Tome 3.

Paris, Editions du Centre National de la recherche scientifique, 1978.

HAMET R.

Contribution à l'étude pharmacodynamique de l'*Anemone pulsatilla* L.

*Bulletin des sciences pharmacologiques*, 1927, 34, 143-151.

HELLSTROM N. et AAMISEPP M.

On ranuculin I : The glucosid linkage and its stability.

*Lantbrukshoegsk Ann.*, 1949, 25, 171-184.



HILL R. et VAN HEYNINGEN R.

Ranunculin : the precursor of the vesicant substance of the buttercup.

*Biochem. J.*, 1951, 49, 332-335.

HOLDEN M., CARRIER SEEGAL B. et BAER H.

The nature of the antibacterial agent from *Anemone pulsatilla*

*Journ. Biol. Chem.*, 1946, 162, 65-68.

HOLDEN M., CARRIER SEEGAL B. et BAER H.

Antibiotic activity of protoanemonin.

*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1947, 66, 54-60.

HOUMARD A.

Thérapeutique homéopathique en dermatologie.

France, Editions Boiron, 1992.

JOLY P.

*Pulsatilla*.

*Ann. Hom. Fr.*, 1982, 1, 35-40.

JOUANNY J.

Notions essentielles de matière médicale homéopathique.

France, Editions Boiron, 1984.

JOUANNY J., CRAPANNE J.B., DANCER H. et MASSON J.L.

Thérapeutique homéopathique : Possibilités en pathologies aiguës.

Tome I.

France, Editions Boiron, 1986.

KIPPING F.

The lactone of gamma hydroxyvinylacrylic acid, protoanemonin.

*J. Chem. Soc.*, 1935, 80-87, 1145-1147.

LAMOTHE J.

Homéopathie pédiatrique.

Paris, Similia, 1996.

LECLERC H.

Précis de phytothérapie :Thérapeutique par les plantes.

Paris, Masson, 1963.

LEGRAND A.

Flore analytique du Berry.

Bourges, Soumard Berneau, 1887.

MAHRAN G.H., HIFNY SABER A. et EL - ALFY T.

Spectrophotometric determination of protoanemonin, anemonin and ranunculin in *Ranunculus sceleratus*.

*Planta Medica*, 1968, 16, 323-328.

MARES D.

Antimicrobial activity of protoanemonin a lactone from ranunculaceous plants.

*Mycopathologia*, 1987, 98, 133-140.

MARES D., BONORA A., SACHETTI G., RUBINI M. et ROMAGNOLI C.

Protoanemonin induced cytotoxic effects in *Euglena gracilis*.

*Cell. Biol. Int.*, 1997, 21, 397-404.

MARTIN M.L., ORTIZ DE URBINA A.V., MONTERO M.J., CARRON R. et SAN ROMAN L.

Pharmacologic effects of lactones isolated from *Pulsatilla alpina* subsp. *apiifolia*.  
*J. Ethnopharm.*, 1988, 24, 185- 191.

MARTIN M.L. , SAN ROMAN L. et DOMINGUEZ A.

In vitro activity of protanemonin an antifungal agent.  
*Planta Medica*, 1990, 56, 66-69.

THE MERCK INDEX.

12<sup>ème</sup> édition.

Whitehouse Station, Merck and Co Inc, 1996.

METCALFE C.K. et CHALK L.

Anatomy of the Dicotyledones.

Volume I.

Londres, Oxford of the Clarendon Press, 1950.

MINAKATA H., KOMURA H., NAKANISKI K. et KADA T.

Protoanemonin an antimutagen isolated from plants.

*Mutat. Res.*, 1983, 116, 317-322.

MOREAU - DELGADO F.

Manuel pratique d'homéopathie en gynécologie obstétrique.

Paris, Ipredis, 1995.

MORIATY R.M., ROMAIN C.R. et KARLE I.L.

The structure of anemonin.

*J. Am. Chem. Soc.*, 1965, 87, 3251- 3252.

NACHMAN R.J. et OLSEN J.D.

Ranunculin : a toxic constituent of the poisonous range plant bur buttercup.

*J. Agric. Food. Chem.*, 1983, 31, 1358-1360.

OSDOIT P.

Abord homéopathique des coliques du cheval.

Colloque du 23 mai 1993. Homéopathie et Sport. Société d'homéopathie vétérinaire.

PARIS R. et MOYSE H.

Précis de Matière Médicale.

Tome II.

Paris, Masson, 1981.

PERROT E. et PARIS R.

Les plantes médicinales.

Presses universitaires de France, 1971.

PHARMACOPEE FRANCAISE.

8<sup>ème</sup> édition.

Paris, Edité sous la direction de la Commission Nationale de Pharmacopée par l'Ordre National des Pharmaciens, 1945.

PHARMACOPEE FRANCAISE.

10<sup>ème</sup> édition, 6<sup>ème</sup> supplément.

Monographies de souches homéopathiques pour préparations homéopathiques, 1989.

PONS J.

Apport de l'homéopathie dans les odontalgies et algies faciales d'origine extra dentaires.

*Homéo. Fr.*, 1988, 76, 37-147.

POURRAT A., LEJEUNE B. et BESSE BERGIER F .X.

Preparation and control of galenic forms from *Anemone pulsatille*.

*J. Pharm. Belg.*, 1980, 35, 277-280.

QUEVAUVILLER A.

Comparaison pharmacodynamique entre l'alcoolature d'Anémone pulsatille et une teinture d'Anémone pulsatille.

*Produits Pharm.*, 1950, 281-289.

RAYNAUD J. et DEBOURCIEU L.

Les hétérosides flavoniques des étamines de *Pulsatilla rubra* D. (Renonculacées).

*Plantes médicinales et phytothérapie*, 1977, 11, 87-90.

ROMAGNESI H., WEILL J.

Fleurs sauvages de France et des régions limitrophes.

Tome I.

Paris, Bordas, 1977.

RUBIN M. et MESSALI J.P.

Abrégés de phytothérapie pratique.

Paris, Doin, 1988.

SAULE M.

Grande flore illustrée des Pyrénées.

Milan, Randonnées Pyrénéennes, 1991.

SHAUENBERG P. et PARIS F.

Guide des Plantes médicinales.

Paris, Delachaux et Nestlé, 1977.

SHAW E.

A synthesis of protoanemonin : The tautomerism of acetylacrylic acid and of penicillic acid .

*J. Am. Chem. Soc.*, 1946, 68, 2510-2513.

SHEARER G.D.

Some observations of the poisonous properties of buttercups.

*Vet. J.*, 1938, 94, 22-31.

SOUICHE B.

Flore du Haut Poitou.

Niort, Société botanique des Deux-Sèvres, 1901.

SOUTHWELL I.A. et TUCKER J.

Protoanemonin in Australian Clematis.

*Phytochem.*, 1993, 33, 1099-1102.

STAMOS I.K., HOWIE G., MANNI P., HAWS W., BYRN S. et CASSADY J.

Synthesis and structures of dilactones related to anemonin.

*J. Org. Chem.*, 1977, 42, 1703-1709.

SUGA T. et HIRATA T.

The biosynthesis of protoanemonin in *Ranunculus glaber* : The pivotal biosynthetic intermediate and the stereospecific hydrogen elimination from the intermediate.

*Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1982, 55, 1584-1587.

TETAU M.

Le point sur homéopathie et troubles caractériels de l'enfant.

Paris, Similia, 1992.

THERA 98.

10<sup>ème</sup> édition.

SEMP, Laboratoires Pierre Fabre, 1998.

THIMANN K. et BONNER W.

Inhibition of plants growth by protoanemonin and coumarin and its prevention by BAL.

*Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, 1949, 35, 272-273.

TSCHESCHE R., WIRTH W. et WELMAR K.

5 - hydroxylevulinic acid, a new intermediate in the biosynthesis of protoanemonin.

*Phytochem.*, 1981, 20, 1835-1839.

TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., VALENTINE D.H. et BURGESS N.A.

Florea Europaea.

Volume I.

Cambridge, University Press, 1964.

VALARDI F.

Encyclopédie du monde végétal.

Tome II.

Paris, Aristide Quillet, 1964.

VIDAL 98.

Paris, Editions du Vidal, 1998.

VILLMORIN ANDRIEUX et Cie.

Les fleurs de pleine terre.

Paris, Les éditions 1900, 1989.

VINCENT D.

Substances antibiotiques chez les végétaux supérieurs.

*Presse médicale*, 1947, 50, 574.

VOISIN H.

Matière Médicale du praticien homéopathe.

Paris, Maloine, 1996.

WARDLAW C.W.

Morphogenesis in plants.

Great Britain, University of Manchester, 1968.

ZIEGEL G.

De la psychiatrie à l'homéopathie : Parcours évolutif en thérapeutique psychopathologique.

Paris, Similia, 1990.

ZISSU R. et GUILLAUME M.

Fiches de matière médicale homéopathique.

Tome I : Les 60 principaux remèdes.

Paris, Doin, 1973.



# TABLE DES MATIERES

## REMERCIEMENTS

SOMMAIRE .....	8
I INTRODUCTION.....	11
II HISTORIQUE.....	12
III ETUDE BOTANIQUE.....	14
1. SYSTEMATIQUE.....	14
1.1. Place dans la systématique.....	14
1.2. Caractères distinctifs.....	15
1.2.1. Embranchement des Spermaphytes.....	15
1.2.2. Sous embranchement des Angiospermes.....	15
1.2.3. Classe des Dicotylédones.....	16
1.2.4. Sous classe des Dialypétales.....	16
1.2.5. Série des Thalamiflores.....	16
1.2.6. Sous série des Polystémones.....	16
1.2.7. Ordre des Ranales ou des Polycarpiques.....	17
1.2.8. Famille des Renonculacées.....	17
1.2.9. Tribu des Anémonées.....	17
1.2.10. Genre <i>Anemone</i> et <i>Pulsatilla</i> .....	17
1.2.10.1. Genre <i>Anemone</i> .....	18
1.2.10.2. Genre <i>Pulsatilla</i> .....	18
1.2.11. Espèce <i>Anemone pulsatilla</i> L. ou <i>Pulsatilla vulgaris</i> Mill. ....	18
1.2.11.1. Description.....	18
1.2.11.2. Synonymes.....	19
1.2.11.3. Noms en langues étrangères.....	19
1.2.11.4. Sous espèces.....	20
1.2.12. Autres espèces voisines.....	20
2. CARACTERES BOTANIQUES.....	21

2.1.	Caractères botaniques des Renonculacées .....	21
2.1.1.	Appareil végétatif .....	21
2.1.2.	Appareil reproducteur .....	21
2.2.	Caractères botaniques du genre <i>Anemone</i> .....	23
2.2.1.	Appareil végétatif .....	23
2.2.2.	Appareil reproducteur .....	23
2.3.	Caractères botaniques de l'espèce <i>Anemone pulsatilla</i> L. ....	23
2.3.1.	Appareil végétatif .....	23
2.3.2.	Appareil reproducteur .....	26
3.	POLLINISATION .....	31
4.	HABITAT .....	32
5.	REPARTITION GEOGRAPHIQUE .....	32
6.	CULTURE .....	33
7.	RECOLTE .....	33
8.	DIAGNOSE DE LA DROGUE .....	34
8.1.	Caractères microscopiques de la drogue .....	34
8.2.	Teneur en eau .....	34
8.3.	Caractères organoleptiques et essais de l'alcoolature d'anémone pulsatile .....	34
8.3.1.	Caractères de l'alcoolature .....	35
8.3.2.	Titre alcoolique .....	35
8.3.3.	Résidu sec .....	35
8.3.4.	Densité .....	35
8.3.5.	Réactions de caractérisation .....	35
<b>IV</b>	<b>ETUDE CHIMIQUE .....</b>	<b>37</b>
1.	INTRODUCTION .....	37
2.	LES CORPS LACTONIQUES .....	37
2.1.	Introduction .....	37
2.2.	Rappels sur les lactones .....	38
2.3.	La ranunculine .....	38

2.3.1.	Propriétés physico-chimiques .....	38
2.3.2.	Isolement de la ranunculine .....	39
2.3.2.1.	Méthode de HILL et VAN HEYNINGEN (1951) .....	39
2.3.2.2.	Méthode de Ruijgrok (1963) .....	40
2.3.2.3.	Méthode de FONT et PASCUAL (1966) .....	41
2.3.2.4.	Méthode de CAMPBELL, CRAGG et POWRIE (1978) .....	42
2.3.2.5.	Méthode de BAI, BENN, MAJAK et McDIARMID (1996) .....	43
2.3.3.	Réactions chimiques de la ranunculine .....	45
2.3.3.1.	Propriétés réductrices .....	45
2.3.3.2.	Réaction avec les alcalis .....	46
2.3.4.	Identification de la ranunculine .....	46
2.3.4.1.	Activité optique .....	46
2.3.4.2.	Chromatographie papier .....	47
2.3.4.3.	Spectre ultraviolet .....	48
2.3.4.4.	Spectre Infrarouge .....	50
2.3.5.	Synthèse de la ranunculine .....	52
2.4.	La protoanémone .....	54
2.4.1.	Propriétés physico-chimiques .....	54
2.4.2.	Isolement de la protoanémone .....	55
2.4.2.1.	Méthode de SHAW (1946) .....	55
2.4.2.2.	Méthode de HILL et VAN HEYNINGEN (1951) .....	55
2.4.2.3.	Méthode de Ruijgrok (1963) .....	56
2.4.2.4.	Méthode de MINAKATA, KOMURA, NAKANISKI et KADA (1983) .....	57
2.4.2.5.	Méthode de DIDRY, DUBREUIL et PINKAS (1991) .....	58
2.4.2.6.	Méthode de SOUTWELL et TUCKER (1992) .....	59
2.4.3.	Réactions chimiques de la protoanémone .....	61
2.4.3.1.	Stabilité .....	61
2.4.3.2.	Propriétés réductrices .....	61
2.4.3.3.	Transformation de la protoanémone en acide acétylacrylique .....	61
2.4.3.4.	Hydrogénation de la protoanémone .....	62
2.4.3.5.	Réactions de la protoanémone en tant que substance électrophile .....	63
2.4.4.	Identification de la protoanémone .....	63
2.4.4.1.	Chromatographie papier .....	63
2.4.4.2.	Spectre ultraviolet .....	64
2.4.4.3.	Spectre infrarouge .....	64
2.4.4.4.	Réactivité au mercaptoéthanol .....	66
2.4.5.	Synthèse de la protoanémone .....	66
2.4.5.1.	Méthode de SHAW (1946) .....	66
2.4.5.2.	Méthode de GRUNDMAN et KOBER (1955) .....	67
2.4.5.3.	Méthode de FONT et PASCUAL (1966) .....	69

2.4.5.4.	Méthode de BLASCO et collaborateurs (1995).....	70
2.4.6.	Biosynthèse de la protoanémone.....	71
2.4.6.1.	Méthode de TSCHESCHE (1981).....	71
2.4.6.2.	Méthode de SUGA et HIRATA (1982).....	72
2.5.	L'anémone.....	73
2.5.1.	Propriétés physico-chimiques.....	73
2.5.2.	Isolement de l'anémone.....	74
2.5.2.1.	Obtention à l'état naturel.....	74
2.5.2.2.	Isolement par BESSE BERGIER.....	74
2.5.2.3.	Isolement à partir de la plante par CONSTANTINESCU et ses collaborateurs.....	75
2.5.2.4.	Isolement par CAMPBELL, CRAGG et POWRIE.....	76
2.5.3.	Réactions chimiques de l'anémone.....	77
2.5.3.1.	Propriétés réductrices.....	77
2.5.3.2.	Hydrogénation de l'anémone.....	77
2.5.4.	Identification de l'anémone.....	78
2.5.4.1.	Chromatographie papier.....	78
2.5.4.2.	Spectre ultraviolet.....	79
2.5.4.3.	Spectre infrarouge.....	80
2.5.5.	Synthèse de l'anémone.....	82
2.5.5.1.	Méthode de FONT et PASCUAL.....	82
2.6.	La génine.....	82
2.6.1.	Propriétés physico-chimiques.....	82
2.6.2.	Isolement de la génine.....	83
2.6.3.	Identification de la génine.....	83
2.6.3.1.	Chromatographie papier.....	83
2.6.3.2.	Spectre ultraviolet.....	83
2.6.3.3.	Spectre Infrarouge.....	84
2.6.3.4.	Pouvoir rotatoire.....	86
2.7.	Dosage des corps lactoniques.....	86
2.7.1.	Dosage de la ranunculine.....	86
2.7.1.1.	Titration avec les alcalis.....	86
2.7.1.2.	Dosage par HPLC.....	86
2.7.2.	Dosage de la protoanémone.....	87
2.7.2.1.	Titration avec les alcalis.....	87
2.7.2.2.	Dosage par HPLC.....	87
2.7.3.	Dosage de la ranunculine et de la protoanémone.....	88
2.7.4.	Dosage de la ranunculine, de la protoanémone et de l'anémone.....	91
2.8.	Conclusion.....	92
3.	LES COMPOSES POLYPHENOLIQUES.....	95

3.1.	Les flavonoïdes.....	95
3.1.1.	Recherche des flavonoïdes.....	95
3.1.1.1.	Identification des génines flavoniques.....	95
3.1.1.2.	Identification des glucosides de flavones.....	96
3.1.2.	Recherche par RAYNAUD et DEBOURCIEU.....	97
3.2.	Les anthocyanes.....	100
3.3.	Les tanins.....	101
4.	LES SAPONINES ET LES TRITERPENES.....	101
5.	LES GLUCIDES.....	103
6.	LES ACIDES ORGANIQUES.....	104
7.	LES LIPIDES.....	104
8.	CONCLUSION.....	105
<b>V</b>	<b>ETUDE TOXIQUE.....</b>	<b>106</b>
1.	INTRODUCTION.....	106
2.	ACTION TOXIQUE SUR L'HOMME.....	106
2.1.	Par contact sur la peau et les muqueuses.....	106
2.1.1.	Par contact avec la peau.....	106
2.1.2.	Par contact sur les muqueuses.....	107
2.2.	Par absorption.....	107
2.3.	Quelques exemples d'intoxication.....	107
3.	ACTION TOXIQUE SUR LES ANIMAUX.....	109
3.1.	Par absorption spontanée.....	109
3.2.	Quelques exemples d'intoxication.....	109
3.3.	Intoxications expérimentales.....	110
3.3.1.	Suc frais.....	111
3.3.1.1.	Voie stomacale.....	111
3.3.1.2.	Voie sous cutanée.....	111
3.3.1.3.	Voie intrapéritonéale.....	112
3.3.1.4.	Voie intraveineuse.....	112

3.3.1.5.	Voie lymphatique .....	112
3.3.1.6.	Substances responsables .....	113
3.3.2.	Formes galéniques de l'anémone pulsatile .....	114
3.3.2.1.	Eau distillée d'anémone .....	114
3.3.2.2.	Alcoolature d'anémone .....	114
3.3.2.3.	Teinture d'anémone .....	115
3.3.2.4.	Alcool à 50° .....	115
3.3.2.5.	Conclusion .....	115
3.3.3.	Solution d'anémone .....	116
3.3.3.1.	Voie sous cutanée .....	116
3.3.3.2.	Voie intrapéritonéale .....	116
3.3.3.3.	Voie intraveineuse .....	116
3.3.3.4.	Voie lymphatique .....	117
3.3.3.5.	Action de l'anémone .....	117
4.	CONCLUSION .....	118
<b>VI</b>	<b>ETUDE PHARMACOLOGIQUE .....</b>	<b>119</b>
1.	ACTIVITE INSECTICIDE .....	119
2.	ACTIVITE SEDATIVE .....	121
3.	ACTIVITE ANTIPYRETIQUE .....	122
4.	ACTION SUR LA TENSION CAROTIDIENNE ET LA VASOMOTRICITE RENALE .....	124
5.	ACTION SUR LA MOTRICITE INTESTINALE .....	126
6.	ACTIVITE ANTIMUTAGENE .....	127
7.	INHIBITION DE LA CROISSANCE .....	130
8.	ACTIVITE CYTOTOXIQUE DE LA PROTOANEMONINE .....	133
8.1.	Action sur les cellules végétales .....	133
8.2.	Action sur les algues .....	135
8.3.	Action antitumorale .....	139
9.	ACTIVITE ANTIFONGIQUE .....	140

9.1.	Action sur les levures.....	140
9.2.	Action sur les dermatophytes.....	147
9.3.	Mécanisme d'action.....	148
10.	ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....	149
10.1.	Premières recherches sur l'activité antibactérienne.....	149
10.2.	Etudes récentes.....	152
10.3.	Mécanisme d'action.....	156
10.4.	Cas particulier d'un germe <i>Pseudomonas</i> .....	156
11.	CONCLUSION.....	158
<b>VII</b>	<b>UTILISATIONS DE L'ANEMONE PULSATILLE.....</b>	<b>159</b>
1.	USAGES EN MEDECINE HUMAINE.....	159
1.1.	En allopathie.....	159
1.1.1.	Usage interne.....	160
1.1.1.1.	Affections neurologiques.....	160
1.1.1.2.	Affections respiratoires.....	162
1.1.1.3.	Affections digestives.....	163
1.1.1.4.	Affections gynécologiques.....	164
1.1.1.5.	Troubles circulatoires.....	168
1.1.2.	Usage externe.....	170
1.1.2.1.	Affections dermatologiques.....	170
1.1.2.2.	A visée anti-inflammatoire.....	170
1.1.2.3.	A visée cicatrisante.....	170
1.2.	En homéopathie.....	171
1.2.1.	Généralités.....	171
1.2.2.	Souche homéopathique.....	173
1.2.2.1.	Définition.....	173
1.2.2.2.	Caractères.....	174
1.2.2.3.	Identification.....	174
1.2.2.4.	Essais.....	174
1.2.3.	Action générale.....	176
1.2.3.1.	Action sur les muqueuses.....	176
1.2.3.2.	Action sur le système veineux.....	177
1.2.3.3.	Action sur la peau.....	177
1.2.3.4.	Action sur le système endocrinien.....	177

1.2.4.	Typologie .....	177
1.2.4.1.	Caractères physiques.....	178
1.2.4.2.	Caractères physiologiques.....	178
1.2.5.	Modalités.....	179
1.2.5.1.	Aggravation.....	179
1.2.5.2.	Amélioration.....	180
1.2.6.	Signes caractéristiques.....	180
1.2.6.1.	Excrétions.....	180
1.2.6.2.	Sensations.....	180
1.2.6.3.	Désirs et aversions.....	180
1.2.6.4.	Symptômes mentaux.....	181
1.2.6.5.	Symptômes oculaires.....	181
1.2.6.6.	Symptômes respiratoires et ORL.....	181
1.2.6.7.	Symptômes digestifs (JOUANNY).....	182
1.2.6.8.	Symptômes génitaux (JOUANNY).....	184
1.2.6.9.	Symptômes veineux.....	184
1.2.6.10.	Symptômes cutanés.....	185
1.2.6.11.	Le dos et les extrémités.....	185
1.2.6.12.	La fièvre.....	185
1.2.7.	Indications thérapeutiques.....	186
1.2.7.1.	Au niveau du système nerveux.....	186
1.2.7.2.	Dans les affections oculaires.....	187
1.2.7.3.	Dans les affections respiratoires et ORL.....	187
1.2.7.4.	Dans les affections digestives.....	187
1.2.7.5.	Dans les affections génito-urinaires.....	188
1.2.7.6.	Dans les affections veineuses.....	189
1.2.7.7.	Dans les affections dermatologiques.....	190
1.2.7.8.	Dans les douleurs.....	190
1.2.7.9.	Dans les états fébriles.....	190
1.2.7.10.	Dans les affections diverses.....	191
1.2.8.	Utilisations et posologies.....	191
1.2.8.1.	Généralités.....	191
1.2.8.2.	Avec <i>Pulsatilla</i> .....	193
1.2.9.	Exemples.....	193
1.2.10.	Spécialités homéopathiques.....	195
1.2.11.	Relations médicamenteuses avec d'autres médicaments homéopathiques.....	196
1.2.11.1.	Complémentarité.....	196
1.2.11.2.	Remède de fond.....	197
1.2.11.3.	Comparaison.....	197



2.	MEDECINE HOMEOPATHIQUE VETERINAIRE .....	197
2.1.	Pathogénésie vétérinaire .....	197
2.2.	Type sensible.....	198
2.3.	Réactions caractéristiques.....	198
2.4.	Modalités.....	199
2.5.	Indications thérapeutiques.....	200
2.5.1.	Chez les chiens .....	200
2.5.2.	Chez le cheval.....	201
2.5.3.	Chez les bovins.....	201
2.5.4.	Chez toutes les espèces .....	201
2.6.	Exemples.....	202
2.6.1.	Chez un chien.....	202
2.6.2.	Chez un cheval .....	202
2.6.3.	Chez une vache.....	202
2.7.	Utilisations et posologies .....	203
3.	CONCLUSION.....	203
<b>VIII</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>204</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>206</b>
	<b>TABLES DES MATIERES.....</b>	<b>223</b>

## SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de Faculté et de mes condisciples:

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 325

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

VINCENT (Sandrine). — L'anémone pulsatile, *Anemone pulsatilla* L. — 232 f. ;  
ill. ; tabl. ; 30 cm (Thèse : Pharm. ; Limoges ; 1999).

#### RESUME :

L'anémone pulsatile, *Anemone pulsatilla* L., est une plante de la famille des Renonculaceae présente sur des coteaux ensoleillés, calcaires, crayeux, élevés et battus par le vent.

Au plan chimique, l'anémone pulsatile renferme des flavonoïdes, des saponines et des corps lactoniques avec la ranunculine, la protoanémonine et l'anémone. Ces lactones, constituants majeurs de l'anémone, ont suscité de nombreux travaux sur le plan toxicologique et pharmacologique.

En effet, la toxicité de l'anémone se manifeste dans les cas graves par des troubles cardiaques, neurologiques, hémorragiques pouvant conduire au décès de l'homme ou de l'animal.

Sur le plan pharmacologique, les corps lactoniques se révèlent actifs sur le système nerveux, la tension, la motricité intestinale. D'autres études montrent qu'ils sont antimutagènes, antimitotiques, antifongiques et antibactériens.

En médecine humaine, la plante entière fleurie est utilisée pour son action sur le système nerveux et comme sédatif, anticatarrhal sur le système respiratoire, antispasmodique de la sphère digestive et de la sphère génito-urinaire.

En médecine homéopathique, l'anémone pulsatile trouve des applications encore plus larges. Elle est indiquée dans les états nerveux, les affections de la sphère ORL, les troubles digestifs, les troubles de la circulation, les affections génito-urinaires. Par ailleurs, elle peut être efficace dans les douleurs rhumatismales et la fièvre.

Enfin, toutes ces vertus s'appliquent également à la médecine homéopathique vétérinaire.

#### MOTS CLES :

- *Anemone pulsatilla* L.
- *Pulsatilla vulgaris* Mill.
- Renonculacées.
- Protoanémonine.
- Lactone.

**JURY :** Président : Monsieur A. CHULIA, Professeur de Pharmacognosie.  
Juges : Madame D. ALLAIS, Maître de Conférences.  
Madame A. RETIERE, Pharmacien.  
Monsieur J.-L. FRAYSSE, Pharmacien.