



AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

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

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2010

FACULTE DE PHARMACIE

**La myrtille (*Vaccinium myrtillus*) : Botanique, chimie et intérêts
thérapeutiques**

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

Le 11 février 2010

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Jean ESPITALIER**
né le 13 septembre 1981 à Metz (57)

Membres du Jury

| | | |
|-------------|--|---|
| Président : | M. Max HENRY, | Professeur à l'université UHP Nancy 1 |
| Juges : | Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Melle Claire GODOT, | Professeur à l'université UHP Nancy 1 Pharmacien |

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2009-2010

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Mobilité ERASMUS et Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Francine PAULUS

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD,
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Responsable du Collège d'Enseignement :
Pharmaceutique Hospitalier**

Jean-Michel SIMON

DOYEN HONORAIRE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Marie-Madeleine GALTEAU

Gérard SIEST

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY

Thérèse GIRARD

Maurice HOFFMANN

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

**MAITRES DE CONFERENCES
HONORAIRES**

Gérald CATAU

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Dominique NOTTER

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE

Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

| | |
|-------------------------------------|--|
| Gilles AULAGNER | Pharmacie clinique |
| Alain BAGREL | Biochimie |
| Jean-Claude BLOCK | Santé publique |
| Christine CAPDEVILLE-ATKINSON | Pharmacologie cardiovasculaire |
| Chantal FINANCE | Virologie, Immunologie |
| Pascale FRIANT-MICHEL | Mathématiques, Physique, Audioprothèse |
| Christophe GANTZER | Microbiologie environnementale |
| Max HENRY | Botanique, Mycologie |
| Jean-Yves JOUZEAU | Bioanalyse du médicament |
| Pierre LABRUDE | Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile |
| Isabelle LARTAUD | Pharmacologie cardiovasculaire |
| Dominique LAURAIN-MATTAR | Pharmacognosie |
| Brigitte LEININGER-MULLER | Biochimie |
| Pierre LEROY | Chimie physique générale |
| Philippe MAINCENT | Pharmacie galénique |
| Alain MARSURA | Chimie thérapeutique |
| Patrick MENU | Physiologie |
| Jean-Louis MERLIN | Biologie cellulaire oncologique |
| Jean-Bernard REGNOUF de VAINS | Chimie thérapeutique |
| Bertrand RIHN | Biochimie, Biologie moléculaire |
| Jean-Michel SIMON | Economie de la santé, législation pharmaceutique |

MAITRES DE CONFÉRENCES

| | |
|--------------------------|--|
| Monique ALBERT | Bactériologie, Virologie |
| Sandrine BANAS | Parasitologie |
| Mariette BEAUD | Biologie cellulaire |
| Emmanuelle BENOIT | Communication et santé |
| Isabelle BERTRAND | Microbiologie environnementale |
| Michel BOISBRUN | Chimie thérapeutique |
| François BONNEAUX | Chimie thérapeutique |
| Ariane BOUDIER | Chimie Physique |
| Cédric BOURA | Physiologie |
| Jean-Claude CHEVIN | Chimie générale et minérale |
| Igor CLAROT | Chimie analytique |
| Jocelyne COLLOMB | Parasitologie, Mycologie |
| Joël COULON | Biochimie |
| Sébastien DADE | Bio-informatique |
| Dominique DECOLIN | Chimie analytique |
| Béatrice DEMORE | Pharmacie clinique |
| Joël DUCOURNEAU | Biophysique, audioprothèse, acoustique |
| Florence DUMARCAY | Chimie thérapeutique |
| François DUPUIS | Pharmacologie |
| Raphaël DUVAL | Microbiologie clinique |
| Béatrice FAIVRE | Hématologie |
| Adel FAIZ | Biophysique-accoustique |
| Luc FERRARI | Toxicologie |
| Stéphane GIBAUD | Pharmacie clinique |

| | |
|-------------------------------|---|
| Thierry HUMBERT | Chimie organique |
| Frédéric JORAND | Santé et environnement |
| Olivier JOUBERT | Toxicologie, sécurité sanitaire |
| Francine KEDZIEREWICZ | Pharmacie galénique |
| Alexandrine LAMBERT | Informatique, Biostatistiques |
| Faten MERHI-SOUSSI | Hématologie biologique |
| Christophe MERLIN | Microbiologie environnementale et moléculaire |
| Blandine MOREAU | Pharmacognosie |
| Maxime MOURER | Pharmacochimie supramoléculaire |
| Francine PAULUS | Informatique |
| Christine PERDICAKIS | Chimie organique |
| Caroline PERRIN-SARRADO | Pharmacologie |
| Virginie PICHON | Biophysique |
| Anne SAPIN | Pharmacie galénique |
| Marie-Paule SAUDER | Mycologie, Botanique |
| Nathalie THILLY | Santé publique |
| Gabriel TROCKLE | Pharmacologie |
| Marie-Noëlle VAULTIER..... | Biodiversité végétale et fongique |
| Mohamed ZAIYOU | Biochimie et Biologie moléculaire |
| Colette ZINUTTI | Pharmacie galénique |

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER

| |
|------------|
| Sémiologie |
|------------|

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD

| |
|---------|
| Anglais |
|---------|

ASSISTANT

Annie PAVIS

| |
|---------------|
| Bactériologie |
|---------------|

Bibliothèque Universitaire Santé - Lionnois (Pharmacie - Odontologie)

Anne-Pascale PARRET

| |
|-----------|
| Directeur |
|-----------|

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

Ɖ' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

Ɖ'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

Ɖe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES
DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE
CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

Monsieur Max HENRY,

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse. Nous vous remercions de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

Madame Dominique LAURAIN-MATTAR,

Vous nous avez fait l'honneur d'être membre du jury. Nous vous remercions pour le temps que vous nous avez accordé. Veuillez trouver ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Mademoiselle Claire GODOT,

Vous avez aimablement accepté de participer à ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Je dédie cette thèse à mes parents,

Sans qui je ne serais pas là où j'en suis, je les remercie du fond du cœur.

Je remercie aussi :

Ma famille, pour leur soutien.

Mathieu, le meilleur binôme de TP de toute l'histoire de la faculté de Pharmacie et ami.

Mélanie, Stéphanie, Antoine et Adrien, pour m'avoir supporté en cours sans trop sourciller, pour les agréables moments passés ensemble et pour leur amitié qui m'est chère.

Yann, Xavier, Philippe, Nicolas et Julien pour leur soutien, leur amitié et leur dynamisme.

Et tous les autres pour toutes ces expériences que vous m'avez apportées.

Liste des figures

Figure 1 : Position systématique et classification infra-familiale des *Ericaceae* selon l'*Angiosperm Phylogeny Group* [Stevens, 2001].

Figure 2 : Répartition mondiale des *Ericaceae* selon Stevens (Stevens, 2001).

Figure 3 : planche illustrée taxonomique de *Vaccinium myrtillus*

Figure 4 : photographie présentant le fruit et les feuilles de *Vaccinium myrtillus*

Figure 5 : distribution des podzols à travers le monde

Figure 6 : Carte de répartition de *Vaccinium myrtillus* (d'après l'atlas partiel de la flore de France).

Figure 7 : L'acide oléanique

Figure 8 : L'acide ursolique

Figure 9 : Représentation de la formule semi développée de l'acide gallique

Figure 10 (à gauche) : L'acide vanillique

Figure 11 : La vanilline

Figure 12 : L'acide p-coumarique

Figure 13 : L'acide caféique

Figure 14 : graphique montrant les variations de concentrations des phénylpropanoïdes contenus dans les feuilles pendant la période de croissance de *Vaccinium myrtillus*.

Figure 15 : L'acide benzoïque

Figure 16 : L'ion flavylum

Figure 17 : La chromone

Figure 18 : La phényl-2-chromone

Figure 19 : Le quercétol

Figure 20 : Le liquiritoside

Figure 21 : Structure de base des isoflavones

Figure 22 : La xanthone

Figure 23 : Structure de base des aurones

Figure 24 : le rutoside, diglycoside de quercétol

Figure 25 : Schéma simplifié de la biogenèse des flavonoïdes

Figure 26: L'acide gallique

Figure 27: L'acide ellagique

Figure 28 : représentation de Fisher des formes D et L du glucose. Les deux sont symétriques par rapport à un plan

Figure 29 : Liaisons des xyloglucanes et des fibrilles de cellulose

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les surfaces cultivées ainsi que les quantités produites de fruit de *Vaccinium myrtillus* au niveau mondial en 2003

Tableau 2: composition en polyphénols (en $\mu\text{g}/\text{G}$ de matériel congelé) dans différents organes chez *Vaccinium myrtillus* (Jaakolu et al, 2004)

| | |
|---|----|
| Introduction : | 6 |
| Première partie : Botanique | 8 |
| I) Botanique | 9 |
| A) Classification | 9 |
| 1) Rappels..... | 9 |
| 2) Nomenclature..... | 10 |
| B) Description et caractéristiques | 12 |
| 1) Les Ericaceae..... | 12 |
| 2) Vaccinium sp..... | 14 |
| 3) La myrtille..... | 16 |
| II) Ecologie | 18 |
| A) Répartition géographique | 18 |
| B) Ecologie | 20 |
| 1) Facteurs influençant sa distribution..... | 20 |
| 2) Facteurs influençant sa croissance..... | 20 |
| III) Culture et Economie | 23 |
| A) Culture | 23 |
| B) Données économiques | 24 |
| Deuxième partie : Composition chimique | 26 |
| I) Les substances banales | 27 |
| A) L'eau | 27 |
| B) Les substances minérales et les oligoéléments | 27 |
| C) Les vitamines | 28 |
| D) Les oses | 28 |
| 1. Définition..... | 28 |

| | |
|---|----|
| 2. Constitution chimique | 28 |
| a. Structure acyclique | 29 |
| b. Structure cyclique | 30 |
| 3. Dérivés glucidiques | 30 |
| a. La cellulose | 30 |
| b. Les hemicelluloses..... | 30 |
| c. Les pectines..... | 32 |
| 4. Les oses chez <i>Vaccinium myrtillus</i> | 32 |
| II) Les composés phénoliques | 33 |
| A) Généralités | 33 |
| 1) Le phénol | 33 |
| 2) Les polyphénols | 34 |
| B) Les acides phénoliques | 35 |
| 1) Les dérivés de l'acide benzoïque : les acides hydroxybenzoïques | 35 |
| 2) Les dérivés de l'acide cinnamique : les acides hydroxycinnamiques ... | 37 |
| 3) Les acides phénoliques chez <i>Vaccinium myrtillus</i> | 38 |
| C) Les flavonoïdes | 39 |
| 1) définition | 39 |
| 2) Constitution chimique et classification des flavonoïdes | 41 |
| a. Les génines..... | 41 |
| b. Les oses..... | 44 |
| c. Biogenèse des flavonoïdes | 45 |
| 3) Les flavonoïdes chez <i>Vaccinium myrtillus</i> | 46 |
| a. Méthodes d'identification et de qualification..... | 46 |
| b. Résultats | 46 |
| D) Les anthocyanes | 47 |
| 1. Généralités | 47 |

| | |
|---|-----------|
| 2. Caractères physico-chimiques | 47 |
| 3. Biogenèse des anthocyanes | 48 |
| 4. Extraction des anthocyanosides | 48 |
| 5. Les anthocyanes chez <i>Vaccinium myrtillus</i> | 49 |
| a. Les génines..... | 49 |
| b. Les oses..... | 50 |
| c. Identification et étude quantitative des anthocyanosides de <i>Vaccinium myrtillus</i> | 50 |
| 6. Facteurs influençant la composition des anthocyanosides..... | 53 |
| E) Les tanins..... | 53 |
| 1) Définition..... | 53 |
| 2) Constitution chimique | 54 |
| a. les tanins hydrolysables..... | 54 |
| d. Les tanins condensés | 54 |
| 3) Les tanins chez <i>Vaccinium Myrtillus</i> | 55 |
| III) Autres constituants..... | 56 |
| IV) Conclusion..... | 57 |
| | |
| Troisième partie : Pharmacologie..... | 58 |
| I) Propriétés pharmacologiques des anthocyanosides..... | 59 |
| A) Antioxydants..... | 59 |
| 1) définition | 59 |
| 2) Quantification de l'activité antioxydante..... | 60 |
| B) Interaction avec la matrice extracellulaire | 63 |
| 1) Inhibiteurs de l'élastase..... | 63 |
| 2) Interaction avec le collagène | 63 |
| 3) Interaction avec les phospholipides..... | 64 |

| | |
|--|-----------|
| 4) Interaction avec les protéoglycanes..... | 64 |
| C) Inhibiteur des phosphodiésterases | 65 |
| D) Activité d'antiagrégants plaquettaires..... | 65 |
| E) Activités antimicrobienne et antiparasitaire | 66 |
| F) Activité vitaminique P | 67 |
| II) Les applications thérapeutiques | 67 |
| A) Ophtalmologie | 67 |
| B) Diabétologie..... | 68 |
| C) Activité anti-ulcéreuse | 69 |
| D) Cancérologie | 70 |
| E) Neurologie | 71 |
| F) Activité cardiovasculaire | 71 |
| G) Hygiène des voies urinaires..... | 71 |
| III) Pharmacocinétique | 72 |
| IV) Toxicologie | 73 |
| | |
| Quatrième Partie : emplois..... | 74 |
| I) Emplois officiels en thérapeutique et spécialités | 75 |
| A) Indications | 75 |
| B) Effets secondaires | 76 |
| C) Spécialités pharmaceutiques..... | 76 |
| 1) En allopathie | 76 |
| 2) En homéopathie | 78 |
| II) Emplois dans la médecine populaire..... | 78 |
| A) Usage interne | 78 |
| 1) Maladies du tube digestif..... | 79 |
| 2) Autres indications..... | 79 |

| | |
|--|-----------|
| B) Usage externe..... | 80 |
| C) Formes galéniques..... | 80 |
| III) Emplois en cosmétologie | 81 |
| IV) Emplois dans l'alimentation | 81 |
| V) Règlements..... | 82 |
| | |
| Conclusion : | 87 |

Introduction :

L'usage thérapeutique des plantes remonte aux temps les plus reculés de l'histoire de l'homme. En effet, l'histoire officielle de la phytothérapie prend ses "racines" il y a plusieurs millénaires. On en retrouve la trace dans à peu près toutes les civilisations, sur les cinq continents. La notion de tradition reste particulièrement attachée à cette thérapeutique. Cette tradition reste vive dans certains pays, en Chine en particulier. En Occident, l'utilisation thérapeutique des plantes s'est peu à peu estompée, au profit de la synthèse de molécules chimiques. Cependant depuis une dizaine d'années, on constate un vif regain d'intérêt pour les plantes qui ne cesse de croître aujourd'hui.

L'Homme a toujours puisé dans la nature de quoi calmer sa douleur et guérir ses maux. Dans les pays en développement, 80% de la population de soignent avec des remèdes traditionnels, extraits de plantes. Nos médicaments « modernes », comprenant un voire deux principes actifs et non un mélange de substances, doivent aussi leur existence à la biodiversité naturelle. Morphine, quinine, digitaline, ne sont que quelques exemples des multiples médicaments issus de plantes couramment utilisés. Les plantes sont à l'origine de la plupart de nos médicaments : Deux médicaments vendus en pharmacie sur trois seraient d'origine naturelle et cette «pharmacie verte» pèse quelque 30 milliards de dollars par an.

Etymologiquement, la myrtille, *Vaccinium myrtillus* est une petite myrte, du latin *myrtus* lui-même issu du grec *murtos*. Malgré leur vague ressemblance, la myrte et la myrtille n'ont pas de proche parenté au niveau botanique.

La myrtille est utilisée depuis de siècles, voire même depuis des millénaires, bien qu'il soit difficile d'établir précisément l'identité de certaines espèces de *Vaccinium* utilisées dans le passé. La connaissance de ses vertus a longtemps été purement empirique et parfois fondée sur une théorie selon laquelle les plantes "signaient" leurs propriétés par certains aspects de leur morphologie. Ce n'est qu'au XIX^{ème} siècle, avec l'étude chimique des substances contenues dans les plantes, que les choses deviennent réellement scientifiques. À partir de cette époque, les vertus thérapeutiques de certaines plantes sont scientifiquement prouvées, leurs principes

actifs identifiés et parfois extraits ou copiés pour en faire des médicaments. Depuis, les extraits de *Vaccinium myrtillus* sont largement utilisés en Europe et en Amérique du Nord. Par exemple, *Vaccinium myrtillus* a la réputation d'avoir été consommée au cours de la seconde guerre mondiale par les pilotes de la Royal Air Force (RAF) pour améliorer l'acuité visuelle par faible visibilité. Hélas pour la légende, le Centre de médecine aéronautique de la RAF, interrogé, dément que les pilotes aient reçu des myrtilles, de la confiture de myrtille voire des extraits.

Mais *Vaccinium myrtillus* n'est pas utilisée uniquement pour ses propriétés thérapeutiques.

La cueillette et le commerce de *Vaccinium myrtillus* étaient couramment pratiqués aux 19e et 20e siècles. Les myrtilles étaient destinées à la vente au détail, à la distillerie, à la coloration des vins, à la fabrication de confitures et de pâtisseries. Les gens en conservaient aussi pour leurs besoins personnels, notamment dans leur pharmacopée en raison de leurs vertus thérapeutiques. La cueillette et le commerce des myrtilles ont cependant disparu progressivement après les années 1950. Les raisons principales de ce déclin sont la raréfaction des populations de myrtilles due aux reboisements en épicéa, qui ne laissent pas filtrer de lumière en suffisance, et l'instauration des congés payés en 1936, qui apportèrent un supplément de rentrées financières aux salariés, les dispensant peu à peu de ce travail saisonnier. Mais certaines des utilisations populaires de *Vaccinium myrtillus* perdurent encore et sont pratiquées en Europe de l'est et en Europe du nord.

Le travail effectué dans cette thèse est de mettre à jour les informations scientifiques disponibles sur *Vaccinium myrtillus*.

Tout d'abord son étude botanique sera traitée; une description de la plante, sa classification dans le règne végétal ainsi que sa culture. Après l'étude de son environnement, et de sa morphologie il faudra s'intéresser à sa composition chimique, surtout à la composition des organes qui sont utilisés. De ses utilisations, les capacités thérapeutiques et pharmacologiques de *Vaccinium myrtillus* seront plus spécialement détaillées ensuite pour terminer par l'aboutissement des connaissances acquises, ses utilisations en thérapeutique, les médicaments concernés ainsi que ses utilisations traditionnelles qui persistent encore.

Première partie : Botanique

I) Botanique

A) Classification

1) Rappels

La classification scientifique ou taxonomie, a d'abord divisé les êtres vivants en deux groupes (végétal/animal) et a évolué pour aboutir à la constitution de cinq règnes du vivant, selon leur biologie :

- Les procaryotes (archéo- et eubactéries)
- Les protistes (eucaryotes unicellulaires)
- Les champignons
- Les végétaux
- Les animaux

Ces trois derniers groupes sont tous les trois des organismes eucaryotes multicellulaires.

Chez les végétaux, la classification se fait en fonction de leur structure cellulaire et de leur complexité d'organisation, ce qui permet de distinguer :

- **les végétaux procaryotes** : bactéries et cyanobactéries

- **les végétaux eucaryotes** ; chez lesquels on distingue trois grands types d'organisation.

Les *thallophytes* (algues, lichens, champignons) caractérisées par un thalle, appareil végétatif peu différencié.

Les *bryophytes* (mousses et hépatiques) où l'appareil végétatif commence à se différencier en tige et feuille.

Les *tracheophyta* (ou cormophytes, « végétaux supérieurs ») avec leur appareil végétatif bien différencié en tige, feuille et surtout vaisseaux conducteurs de sève (phloème et xylème).

Avec la différenciation qui se complexifie on passe de plantes aquatiques ou vivant dans des milieux humides (thallophytes) à des plantes totalement adaptées au milieu terrestre (trachéophyta) par la présence d'un axe aérien dressé ou cormos, d'où leur nom de Cormophytes.

Ce stade de trachéophyta est acquis chez les ptéridophytes (fougères) et les spermaphytes (plantes à graines).

Les spermaphytes sont encore appelés Phanérogames (du grec, *Ophaneros*, visible et *gamos*, mariage), leurs structures reproductives étant facilement observable (fleurs, cônes des conifères) et contrairement aux autres végétaux dénommés Cryptogames (vasculaires ou non) en raison des modalités, en général, peu visible de leur reproduction (du grec *kruptos*, caché)

2) Nomenclature

La myrtille fait parti des végétaux eucaryotes mais plus précisément :

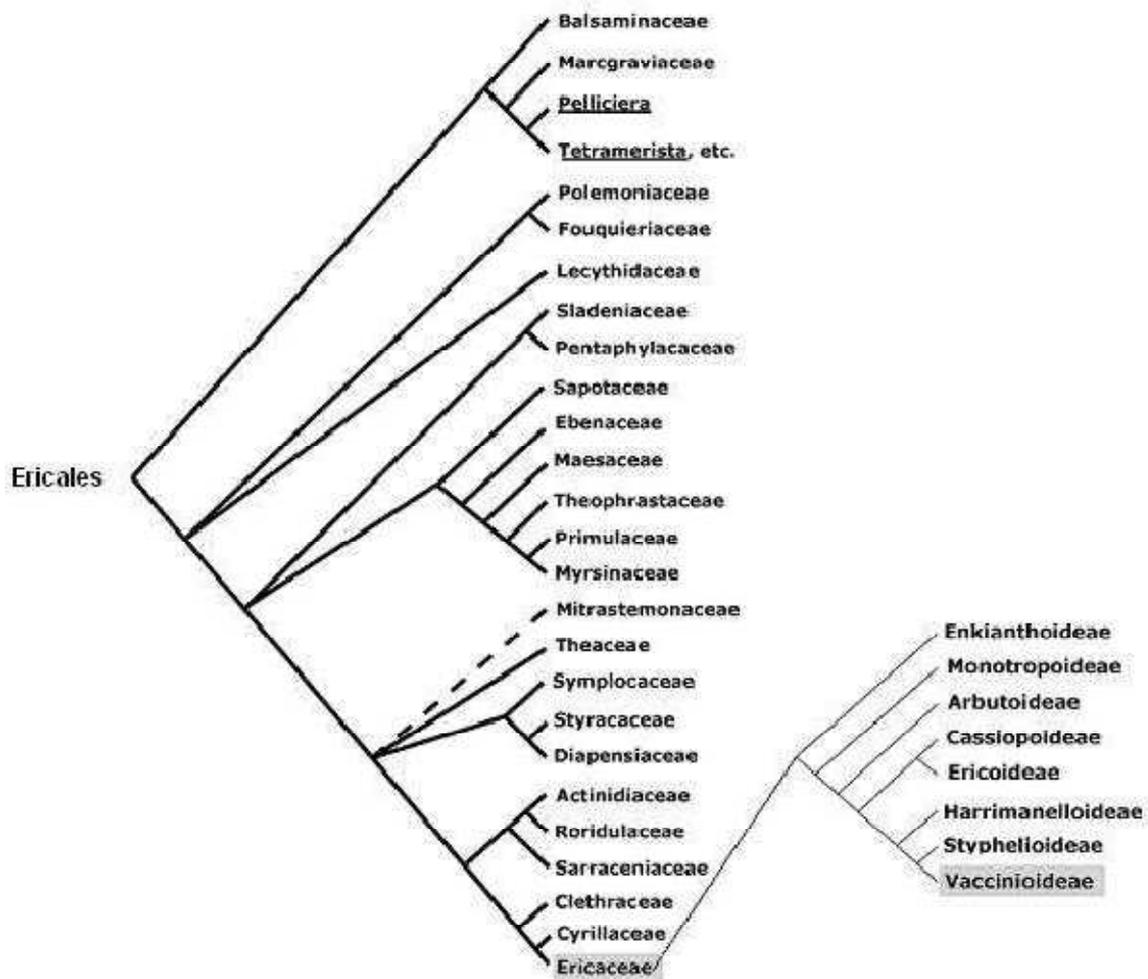
- L'embranchement des spermaphytes ou phanérogames (« plantes à graines »)
- Sous embranchement des angiospermes (« plantes à fleurs »)
- Classe des Dicotylédones
- Sous-classe des Astéridées (pétales et carpelles soudés)
- Ordre des Ericales
- Famille des Ericacées

Bien que les limites de la famille des *Ericaceae* soient bien définies, il existe de nombreuses subdivisions en sous-familles et en tribus établies en 1971 puis révisées par les travaux de Stevens en 2004 (Stevens, 1971 ; Stevens *et al*, 2004).

Les relations phylogénétiques au sein des *Ericaceae* ont été étudiées au moyen d'analyses cladistiques basées sur la combinaison de caractères phénotypiques (Morphologie, anatomie, nombre de chromosomes et métabolites secondaires) et de caractères moléculaires (séquences de nucléotides) (Kron *et al*, 1986 ; Stevens *et al*, 2004), et ont permis d'obtenir une classification moléculaire.

Les *Ericaceae* se répartissent en 8 sous-familles, elles-mêmes subdivisées en tribus.

Figure 1 : Position systématique et classification infra-familiale des *Ericaceae* selon l'Angiosperm Phylogeny Group [Stevens, 2001].



B) Description et caractéristiques

1) Les Ericaceae

C'est une grande famille cosmopolite qui est représentée par 124 genres (dont *Arbutus* (arbousier), *Calluna* (calune), *Erica* (bruyère) et environ 4 100 espèces (Maberley, 1987). Les plantes regroupées dans la famille des *Ericaceae* sont pour la plupart calcifuges, elles prospèrent dans les sols acides. Les *Ericaceae* prédominent en Arctique, dans les régions tempérées et dans les montagnes tropicales et extratropicales du sud-est de l'Asie et d'Amérique avec une forte concentration dans l'Himalaya, en Nouvelle-Guinée et dans les Andes.

En général, la plus grande densité ainsi que la plus grande diversité des *Ericaceae* se retrouve sous les climats méditerranéens notamment en Australie et en Afrique du Sud (Stevens *et al*, 2004).

Beaucoup de plantes connues de cette famille vivent dans les climats tempérés, comme la canneberge, la myrtille, la bruyère, les rhododendrons et les azalées. Toutefois, la famille contient aussi de nombreuses espèces tropicales.

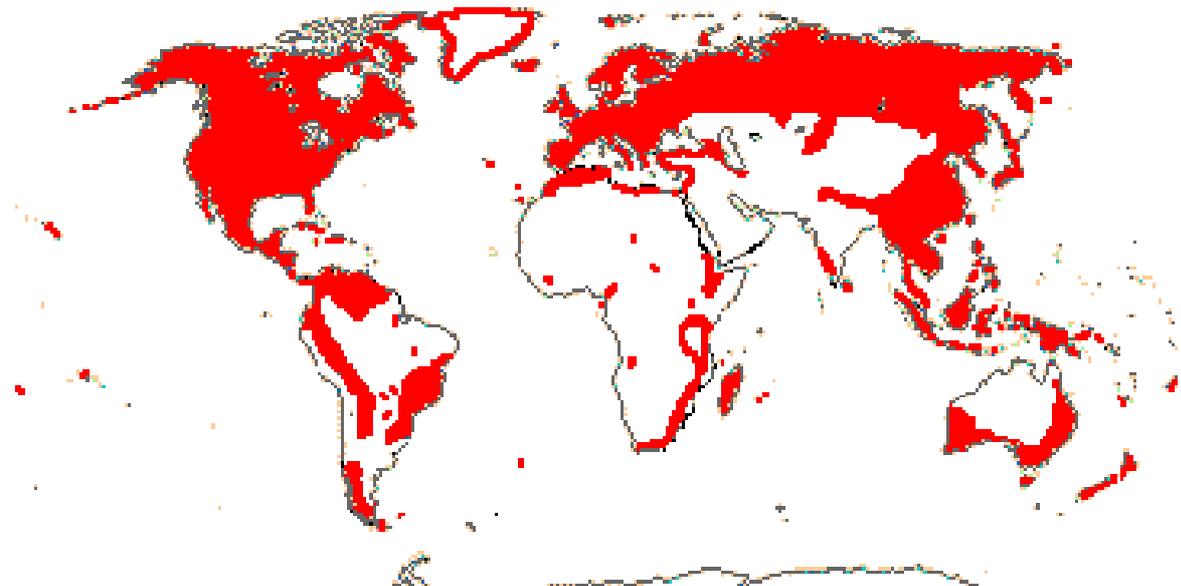


Figure 2 : Répartition mondiale des *Ericaceae* selon Stevens (Stevens, 2001).

La famille des Ericaceae se compose d'herbes, d'arbustes et d'arbres à feuilles qui sont en général alternes, simples et sans stipules, et des fleurs hermaphrodites. Les fleurs montrent une variabilité considérable. Les pétales sont souvent soudés (gamopétale) avec des formes allant de tubes étroits jusqu'en forme de cuvette. Les corolles sont généralement radialement symétrique (actinomorphe), mais beaucoup de fleurs du genre Rhododendron sont quelque peu bilatéralement symétriques (zygomorphe).

Les récentes recherches génétiques par l'Angiosperm Phylogeny Group ont abouti à l'inclusion des anciennes familles *Empetraceae*, *Epacridaceae*, *Monotropaceae*, *Prionotaceae* et *Pyrolaceae* dans les *Ericaceae*.

La plupart des *Ericaceae*, à l'exception de *Monotropaceae*, *Prionotaceae* et *Pyrolaceae* forment un port végétatif éricoïde et sont caractérisées :

- par des tiges d'aspect contourné, conséquence d'une croissance très lente (d'où leur emploi dans la fabrication de pipe).
- par des feuilles étroites dont les bords du limbe sont pourvus de poils et se replient sur eux même protégeant leur face inférieure, portant les stomates, contre l'évaporation.
- des racines qui entrent fréquemment en symbiose avec des champignons, les mycorhizes, capables d'exploiter directement la matière organique en décomposition.

De plus cette relation symbiotique est considérée comme cruciale pour la survie des espèces de cette famille dans un environnement mondial stressant et édaphique. (Cairney et Meharg, 2003)

2) *Vaccinium* sp

Le genre *Vaccinium* regroupe plus de 400 espèces, dont les plus répandues sont :

Vaccinium angustifolium (airelle à feuilles étroites, bleuet sauvage)

L'airelle à feuilles étroites, le bleuet ou bleuet sauvage au Canada, ou le *Vaccinium angustifolium* (nom scientifique) est un arbuste de 30 cm, étalé et très ramifié croissant dans l'est de l'Amérique du Nord. Le bleuet ne pousse qu'en Amérique du Nord, alors que la myrtille pousse aussi en Europe et en Asie.

Vaccinium corymbosum (airelle en corymbe, bleuet cultivé)

L'airelle en corymbe donne les baies les plus grosses, ayant facilement 2 cm de diamètre. C'est l'espèce la plus cultivée en Amérique du Nord, particulièrement dans l'est des États-Unis.

Vaccinium myrtilloides (airelle fausse-myrtille, bleuet)

La fausse-myrtille est un arbuste de 30 cm fréquentant les milieux secs au sol grossier ou les lieux humides, tels les tourbières. Elle partage souvent les mêmes habitats avec l'airelle à feuille étroite (*Vaccinium angustifolium*), avec laquelle elle est souvent confondue.

Les fleurs, campanulées, sont blanches ou rosées.

Vaccinium oxycoccos

La canneberge (ou grande airelle rouge d'Amérique du Nord) est un arbrisseau qui croît dans les tourbières des régions froides. Sa présence caractérise les sols à sphaignes, imbibés d'eau. Le fruit de canneberge (*Vaccinium macrocarpon*) est aussi reconnu pour ses qualités thérapeutiques. Place de la canneberge (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) dans le traitement des infections urinaires (cf. Chaspoul florent. Thèse d'exercice : pharmacie : Nancy 1. 2008).

Vaccinium uliginosum (airelle uligineuse ou Myrtille des marais)

La myrtille des marais (*Vaccinium uliginosum*) appelée aussi « orcette », « airelle des marais », « airelle bleue » ou « embrune » a des baies globuleuses, bleu noir, ressemblent beaucoup aux myrtilles (*Vaccinium myrtillus*) mais la pulpe intérieure est blanche et non rouge.

Des extraits de *Vaccinium uliginosum* entrent, pour leur pouvoir inhibiteur de la tyrosinase et anti-cytokines, dans la composition de produits cosmétiques destinés à lutter contre le vieillissement de la peau par les rayons ultraviolets.

Vaccinium vitis-idaea (airelle vigne d'Ida, airelle rouge)

Espèce assez fréquente que l'on retrouve en Arctique, dans le nord de l'Eurasie, du Japon et de l'Amérique du Nord. Cette espèce est en voie de disparition à basse altitude, où les populations sont à protéger. Elle possède quelques propriétés ; des utilisations culinaires (sauces acidulées accompagnant les gibiers, fabrication d'alcool), des utilisations médicinales (fabrication de teinture mère, utilisation en gemmothérapie). C'est une plante à orientation principalement féminine lors de la ménopause.

3) La myrtille

Vaccinium myrtillus

Sous-arbrisseau vivace pouvant vivre 30 ans, glabre, atteignant 50-60 cm de haut, sans poils, très rameux, à rejets latéraux rampants, stoloniformes, s'enracinant et émettant des rameaux dressés.

Les tiges souterraines sont nombreuses et, comme la partie aérienne, rameuses, avec des racines adventives qui forment, près de la surface du sol, un lacis très serré ; la plante se perpétue et se multiplie soit par la ramification de ses tiges souterraines, soit par des bourgeons nés sur les racines.

Les tiges aériennes, ou rameaux, sont ascendantes, anguleuses, vertes et ailées.

Les feuilles se trouvent sur les rameaux supérieurs. Elles sont caduques (tombent en hiver), alternes, simples, ovales, non enroulées sur les bords, finement dentées, à nervures fines en réseau visible sur les deux faces, avec un pétiole court et vertes sur les deux faces.

Les fleurs sont rosées ou d'un blanc plus ou moins verdâtre et qui fleurissent d'avril à juin. Elles sont par une ou deux à l'aisselle des feuilles, à pédoncules courbés, courts (de 4 à 7 mm). L'ovaire est infère et soudée au calice. Le calice est gamosépale (sépales soudés entre eux) à 5 ou 4 divisions larges et courtes peu distinctes. La corolle est urcéolée (en forme de grelot), verte blanchâtre ou rosée, globuleuse, à 5 dents un peu convergentes. Son ouverture est plus ou moins fermée par le style légèrement saillant et entouré de 8 et plus rarement 10 étamines libres entre elles. Les anthères sont longues, à deux loges, chacune de celles-ci s'ouvrant par un orifice au sommet et portant sur le dos un appendice étroit et aigu.

II) Ecologie

Les Éricacées sont répandus dans le monde entier, mais se localisent surtout dans les régions tempérées ou froides, voire même les hautes montagnes. La plupart, en particulier les bruyères, sont adaptées à des terrains acides et pauvres, tels les landes.

A) Répartition géographique

Leur répartition géographique s'étend des zones circumboréales aux montagnes des zones tropicales : En Amérique du Nord, en Asie mineure, en Sibérie, dans le Caucase et dans les massifs anciens d'Europe.

C'est une espèce répandue, abonde dans les forêts de montagne et descend jusqu'en plaine (de 2500m à 400m) et formant des peuplements étendus dans les bois clairs et les landes buissonneuses, sur les sols à humus brut, acides et pauvres en calcaire. La répartition de la myrtille suit la distribution mondiale de sols acides, caractère de l'environnement indispensable pour son existence : la fréquence relative de la myrtille selon l'acidité des sols montre qu'on ne retrouve la myrtille que sur des sols acides (Szafer, 1975).

De plus *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis-idaea* et *Calluna vulgaris* font partis des principaux responsables contribuant aux créations de podzols (sol de mauvaise qualité, caractérisé par l'accumulation en couche de matières organiques peu décomposées, au pH très acide) et d'agglomérats de sable et de substances salines, qui vont souvent ensemble. (Szafer, 1975)

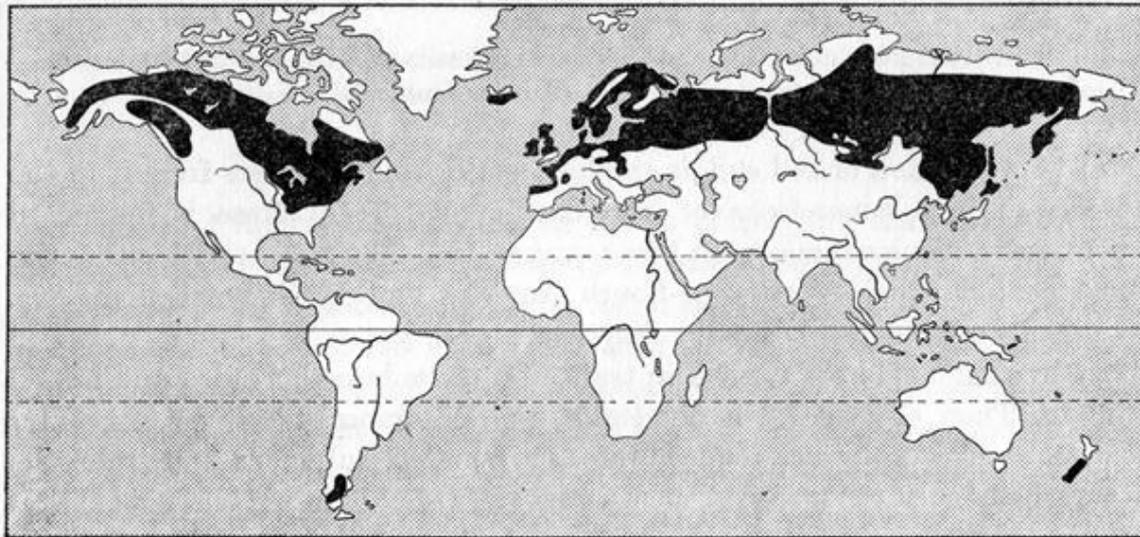


Figure 5 : distribution des podzols à travers le monde

En France, d'après les cahiers d'habitats, on en retrouverait dans 3 habitats particulièrement :

- dans les forêts et landes acidiphiles des hautes montagnes
- dans les forêts résineuses et landes associées acidiphiles sur sols oligotrophes
- dans les pineraies subalpines (rarement montagnardes) à flore acidiphile.

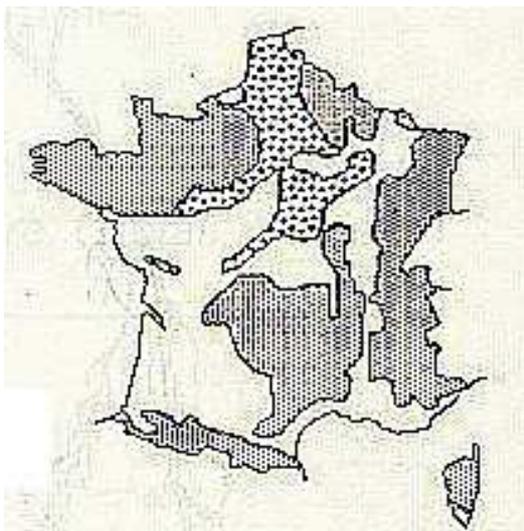


Figure 6 : Carte de répartition de *Vaccinium myrtillus* (d'après l'atlas partiel de la flore de France).

B)Ecologie

1) Facteurs influençant sa distribution

Terrain acide :

La myrtille est une plante qui demande une terre de bruyère, un sol sableux, perméable, riche en humus mais surtout acide (P.H. d'environ 4), le calcaire y étant quasi inexistant.

Climat :

La myrtille affectionne les stations avec une hygrométrie atmosphérique normale.

Espèce de demi-ombre, devenant héliophile en altitude.

Sol :

L'humidité du sol y est normale à moyen. Ses racines sont très nombreuses, fines et uniformes, ne peuvent pas pénétrer dans un sol compact, il leur faut un sol léger et poreux.

2) Facteurs influençant sa croissance

Vaccinium myrtillus a, comme toute plante, un impact sur son environnement, et de même, son environnement interagit avec elle.

La pollinisation est assurée par les abeilles, de nombreuses espèces d'oiseaux et de mammifères mangent les fruits et ne digèrent pas les graines ; ils participent de cette manière à la dissémination des graines. D'après une étude finlandaise réalisée par the Department of Biological and Environmental Science, l'ingestion par les grives des graines de *Vaccinium myrtillus* entrainerait un taux de germination de ces

graines supérieur ou identique à celui de graines non ingérées. Ce taux est supérieur ou identique car les effets varient dans la saison et selon les années.

Remarque : la plante se reproduit également par multiplication végétative.

Il semblerait aussi d'après l'étude « Plant-part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtillus*) plants » que certains composés phénoliques comme l'acide chlorogénique varient selon la partie de plante et les variations saisonnières et ceci en vue d'influencer les interactions réciproques entre *Vaccinium myrtillus* et ses ennemis naturels. En effet cet acide est un bon antioxydant (piégeage de radicaux libres) et possède aussi des propriétés antifongiques et antiseptiques (Lee *et al*, 2008). Ses capacités jouent un rôle immédiat sur son environnement car elles le protègent contre les attaques de pathogènes.

Plus particulièrement trouvées dans les rhizomes, certaines lignanes, principalement le lyoniside, possèdent un rôle important dans la défense de la plante et dans la régulation de sa croissance. En effet celles-ci donneraient un potentiel allélopathique à *Vaccinium myrtillus*, c'est-à-dire lui apportent un rôle important dans les interactions biochimiques avec son environnement, dans la compétition aux ressources (eau, lumière et substances nutritives).

Les lignanes limitent la germination de graines dans les forêts telles que les forêts à Pin sylvestre. Elles permettent ainsi un accès plus facile aux ressources. (Szakiel *et al*, 2008)

D'après les mêmes expérimentations, les rhizomes de *Vaccinium myrtillus* contiennent aussi des triterpènes, substances organiques à chaînes carbonées (30 atomes de carbone) dont plus spécifiquement deux dont leur action rejoint celle du lyoniside : l'acide oléanique et l'acide ursolique.

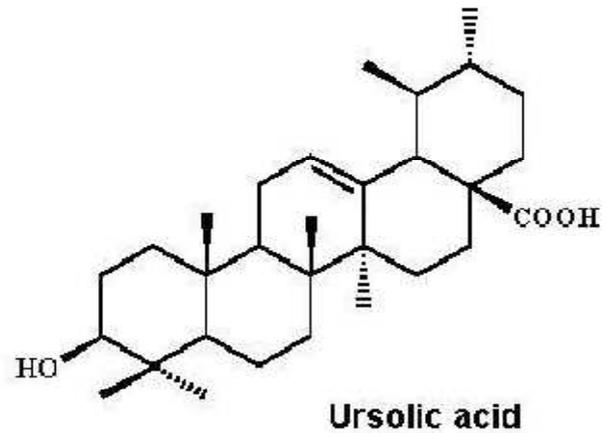
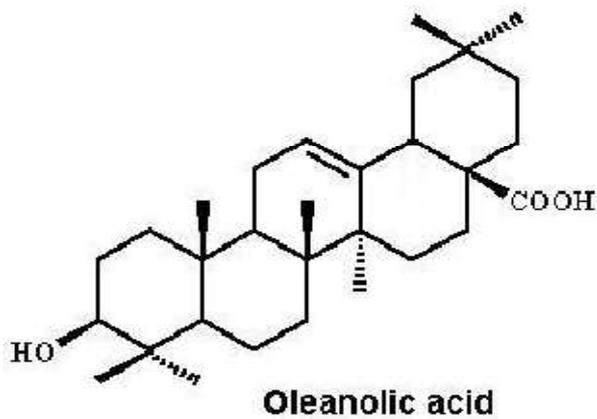


Figure 7 : L'acide oléanique

Figure 8 : L'acide ursolique

Ils possèdent des propriétés phytoprotectrices en tant qu'antimicrobiens mais surtout ici soutiennent le potentiel allélopathique de *Vaccinium myrtillus*.

De plus, l'existence du lyoniside et de ces deux triterpènes, ensemble dans les rhizomes, amène un synergisme du potentiel allélopathique de *Vaccinium myrtillus*. (Szakiel *et al*, 2008)

Mais *Vaccinium myrtillus* n'a pas que des propriétés « inhibitrices » sur son environnement : Pour cette espèce d'insecte, *Tetrao urogallus* L. : La présence d'une forêt entretenue et de *Vaccinium myrtillus* amène à une plus grand densité de larve (Wegge *et al*, 2005)

La pollution joue aussi un rôle sur la croissance de cet arbrisseau. Une étude polonaise (Kukla *et al*, 2008) démontre que sur deux localités différentes au niveau du sol, de l'altitude et de la composition de la forêt présente, sur ces localités, en fonction des métaux lourds plus ou moins présents dans le sol (plusieurs « spots » ont été étudiés sur chaque localité), la taille, le poids et la longueur des branches de *Vaccinium myrtillus* ont des variations de 33% de moyenne et ceci sur les deux localités. Les chiffres les plus hauts étant atteints sur les endroits sains évidemment.

Il est donc visiblement indéniable que *Vaccinium myrtillus* joue un rôle important sur son environnement et que des modifications de celui-ci peut amener de profonds changements dans sa croissance voire même dans son existence.

III) Culture et Economie

A) Culture

La culture des myrtilles est assez délicate, ces plantes étant calcifuges et exigeant une terre de bruyère fraîche.

La plantation : Les plantations de myrtilles sont cultivées en automne ou au printemps, en terre acide et poreuse, espacées de 1.50*2.50-3 mètres selon la vigueur des plants.

En cas de terre non acide, il faut remplacer celle –ci sur un mètre de profondeur par un mélange de terre de bruyère et de tourbe enrichie.

Sur un terrain nettoyé des herbes vivaces, préparé et fumé au moins 3 mois à l'avance avec de la tourbe enrichie ou du fumier très décomposé. N'apporter aucun engrais ou fumier au moment même de la plantation. Après la troisième année de culture seulement, apporter chaque année en automne des engrais composés d'acidifiants et, au printemps suivant, 30-50 grammes de sulfate d'ammoniac. En raison de l'enracinement superficiel, l'engrais est répandu sur le sol et incorporé par griffage. Lors de transplantation, rechercher des expositions fraîches et abritées des vents secs. (Burte, 2004)

Maladie et ravageurs : peu de parasites dangereux par rapport aux autres espèces fruitières. Si le temps est trop humide et les fruits trop nombreux et serrés, ceux-ci sont parfois attaqués par *botrytis*. Exceptionnellement, il y a des dégâts dus aux

pucerons. En certaines régions, protéger les plantations par des filets en plastique contre les oiseaux.

Variétés utilisées : La myrtille sauvage (*Vaccinium myrtillus*), la myrtille étudiée, est spontanée dans les sous-bois montagneux, l'un des fruits les plus savoureux, reste très difficile à cultiver hors de son milieu d'origine.

Les myrtilles actuellement cultivées proviennent presque toutes de croisements entre les espèces indigènes en Europe (*Vaccinium uliginosum* et *vaccinium vitis-idaea*) et celles d'origine nord-américaine (*Vaccinium corymbosum*).

B) Données économiques

Aujourd'hui, la plupart des myrtilles commercialisées en France sont cultivées. Comme toute plante, sa production varie en fonction des années. *Vaccinium myrtillus* étant difficile à cultiver, on utilise plutôt des croisements entre les espèces indigènes en Europe (*V. uliginosum* et *V. vitis-idaea*) et celles d'origine nord-américaines (*V. corymbosum*). *Vaccinium corymbosum* est utilisée aussi. *Vaccinium myrtillus* est une espèce restée relativement sauvage dans les massifs montagneux.

Les plantations commerciales de myrtilles sont très répandues aux Etats-Unis et sont d'un bon rapport. Chaque arbuste produit environ 10 kilogrammes de fruits. Plusieurs pieds sont regroupés ensemble et même parfois plusieurs espèces afin de favoriser la fécondation et d'augmenter le rendement. En France, la culture s'est développée tardivement (depuis 1985) par rapport aux Etats-unis (depuis 1920)

Entre 1995 et 2003, les surfaces mondiales de myrtilles cultivées ont progressé de 51% et les tonnages récoltés ont augmenté de 33%.

| | Surface (en ha) | Production (en tonnes) |
|------------------------------|-----------------|------------------------|
| Amerique du Nord | 26590 | 103150 |
| Europe | 3935 | 10940 |
| Amerique du Sud | 2810 | 6755 |
| Australie & Nouvelle Zélande | 910 | 2895 |
| Asie | 400 | 1015 |
| Afrique du sud | 350 | 300 |
| Total | 34995 | 125055 |

Figure 9 : Tableau montrant les surfaces cultivées ainsi que les quantités produites au niveau mondial en 2003

Dans certains pays, comme en Finlande, la production de baies de forêt est une façon de mesurer la valeur de la forêt comme un environnement de loisirs. Le cueillage de baie est aussi une activité de valeur économique directe.

Les capacités allélopathiques de *Vaccinium myrtillus* ont un intérêt certain pour l'agriculture moderne, elles permettraient de diminuer les quantités d'herbicides de synthèse utilisées, ces herbicides étant de plus en plus confrontés à des résistances. (Szakiel A., Henry M., 2008)

Deuxième partie :

Etude chimique

I) Les substances banales

A) L'eau

L'eau est un élément essentiel pour tous les organismes vivants connus. *Vaccinium myrtillus* ne déroge pas à cette règle et l'eau représente 85% de la baie (Vanstippen, 2005).

B) Les substances minérales et les oligoéléments

Les substances minérales peuvent aussi jouer un rôle thérapeutique, associé ou différent de celui joué par les polyphénols : Il est donc important de les identifier et d'essayer de les quantifier, ce qui n'est pas toujours fait, en raison de leur faible concentration.

- Le chrome : présent surtout dans la feuille à une teneur élevée : 9 ppm (partie pour million) dans la feuille séchée

Les teneurs suivantes ont été obtenues à partir de la baie fraîche

- Le potassium : entre 1000 et 8460 ppm c'est l'élément le plus présent dans le fruit
- Le magnésium : 700 ppm
- Le calcium : 200-500 ppm
- Le manganèse : 370 ppm
- Le phosphore : entre 170 et 1385 ppm
- Le fer : 150 ppm
- L'aluminium : 20-40 ppm : due aux traitements ou à la pollution des sols ?
- Le zinc : entre 1.4 et 40 ppm
- Le sélénium : entre 0.2 et 2.8 ppm

Ces résultats trouvés sont une synthèse de ce qui a été cité dans diverses études et comptes-rendus (Vanstipen, 2005 ; Boudet, 2000). Néanmoins les minéraux restent assez fluctuants selon la composition du sol, de l'air, des engrais.

C) Les vitamines

Les études faites portent bien souvent sur le fruit de la myrtille, qui peut être consommé frais, ce qui n'est pas le cas pour la feuille (les apports vitaminiques de celle-ci sont restreints).

Dans le fruit frais : 0.2 mg/g de vitamine C (Vanstipen 2005), valeur qui n'est pas négligeable comparée aux oranges 0.6mg/g (souci *et al*, 1995).

Vitamine E, vitamine A et vitamine B1 sont aussi présentes mais aucune étude n'a été faite pour les quantifier.

D) Les oses

1. Définition

Les oses, ou monosaccharides, sont des **monomères** de glucides. Ils ne sont pas hydrolysables. Ils possèdent un **pouvoir sucrant** et sont **solubles dans l'eau**. On les distingue selon leur longueur de chaîne de carbone : trioses (trois carbones), tétroses (4), pentoses (5) hexoses (6) et heptoses (7).

2. Constitution chimique

Ces oses peuvent être représentés sous deux formes et existent sous ces deux structures différentes

a. Structure acyclique

Cette conformation est appelée aussi représentation de Fisher. La chaîne carbonée de l'ose ne possède que des liaisons simples et chaque carbone porte une fonction alcool sauf un qui possède un groupement carbonyle. On pourra déterminer deux catégories d'oses :

- Les **aldoses** où le groupement carbonyle est une fonction aldéhyde
- Les **cétooses** où le groupement est ici cétone.

Tous ces oses possèdent un pouvoir rotatoire spécifique du fait de la présence d'au moins un carbone asymétrique : les oses sont dits chiraux et cela permet de les différencier simplement.

Remarque : un ose peut être représenté sous deux « angles » différents : on parle d'**énantiomères**. Ces énantiomères ont les mêmes propriétés à l'exception d'une seule : leur pouvoir rotatoire est opposé ; on parlera de formes L (lévogyre, dévie la lumière à gauche) et D (dextrogyre, à droite)

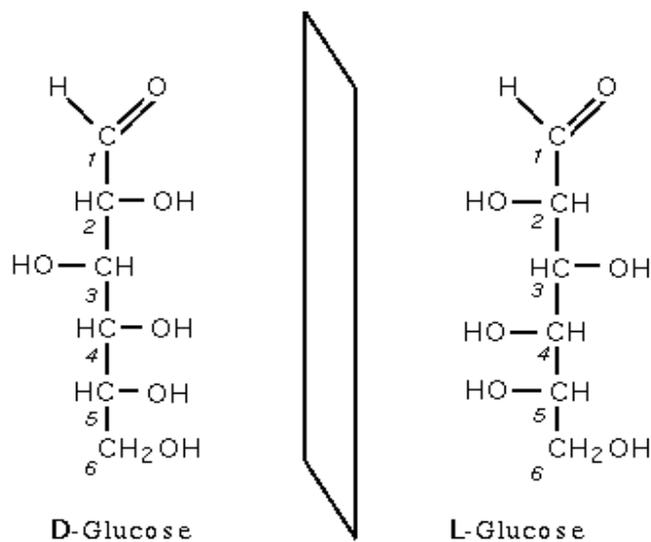


Figure 30 : représentation de Fisher des formes D et L du glucose. Les deux sont symétriques par rapport à un plan

b. Structure cyclique

Appelée aussi représentation de Haworth, c'est une cyclisation de la chaîne carbonée entre la fonction carbonyle et un hydroxyle : on obtient un hémiacétal. On obtiendra soit un cycle à quatre carbones et un oxygène, on parlera alors de forme **furanique**, soit de cinq carbones et d'un oxygène, ce sera alors une forme **pyranique**.

3. Dérivés glucidiques

Lorsqu'ils sont seuls, les oses sont souvent sous forme acyclique, mais lorsqu'ils rentrent dans la composition d'autres molécules en se liant avec des génines, on les retrouve principalement sous forme cyclique.

Ces oses entrent dans la composition de nombreuses molécules présentes dans le règne végétal. Lorsqu'une molécule n'est composée que d'oses, on parle d'**holoside** ; mais lorsque les composants sont différents, on parle d'**hétérosides** (C.f. page 29).

a. La cellulose

La cellulose, est un polyholoside : constituée d'une chaîne linéaire de D-glucose (entre 200 et 14000 unités) et est un des principaux constituants des végétaux, en particulier des parois cellulaires. Lorsque le D-glucose n'est pas le seul constituant de la chaîne, on parle d'hémicellulose.

b. Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont une classe de polymères très variés (de nombreux monomères et de nombreux branchements différents) et donc mal définis. La classe la mieux étudiée correspond aux **xyloglucanes**. Ils sont constitués d'une chaîne de

glucose (bêta 1-4) et de courtes chaînes latérales de xylose, galactose et fucose. Par suite de leur conformation (glucoses liés en bêta 1-4), les xyloglucanes peuvent contracter des liaisons H avec la cellulose. A cause de la présence de chaînes latérales, ils ne sont pas eux même susceptibles de constituer des fibrilles. Ils peuvent ainsi jouer un rôle fondamental dans le maintien d'une architecture pariétale organisée en liant les fibrilles de cellulose entre elles.

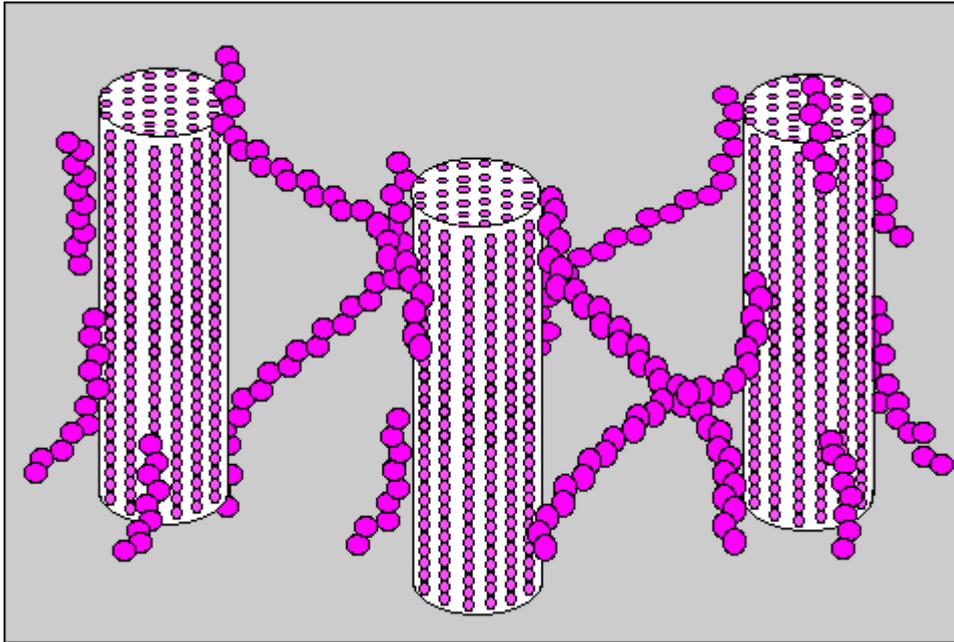


Figure 31 : Liaisons des xyloglucanes et des fibrilles de cellulose

Les xyloglucanes semblent jouer un rôle important dans la constitution de la charpente

Remarque :

- Par suite de leur conformation, certains xyloglucanes jouent un rôle informatif (oligosaccharides)
- Les xyloglycanes de *Vaccinium myrtillus* ont été étudiés car ils forment des structures parmi les plus complexes décrites dans le règne végétal (Hiltz et al, 2007)

c. Les pectines

Les pectines sont des polymères de polysaccharides acides : ce sont des chaînes linéaires d'acides uroniques liés en 1-4, où s'intercalent des molécules de rhamnose par des liaisons 1-2 ou 1-4. Ces liaisons donnent une conformation en « zig-zag » à la molécule et sont en partie à l'origine de son activité. De plus des ramifications sur les acides uroniques existent comme au niveau du rhamnose avec d'autres sucres (galactane, arabinane...)

4. Les oses chez *Vaccinium myrtillus*

Il existe de nombreux oses présents chez *Vaccinium myrtillus*, mais il faut différencier les oses entrant dans la formation de molécules complexes (cellulose, anthocyanes, flavonoïdes) et ceux existant sous formes plus simples : monoside ou oligosides tels que le saccharose. Ce sont ces derniers qui nous intéressent ici. Ils sont présents essentiellement dans la baie, entre 3 et 7% du fruit frais. Ils sont constitués par le glucose, qui amène le pouvoir sucrant du fruit, le galactose et l'arabinose (Delaveau, 1980).

Les **fibres** sont abondantes dans le fruit: 3 à 5 %. Les fibres insolubles (cellulose et hémicelluloses) représentent 70 % du total, les fibres solubles (pectines essentiellement) 30 %.

II) Les composés phénoliques

A) Généralités

Pour toutes les expériences ou pour tous les dosages exprimés dans cette partie consacrée à l'étude chimique, les parties de plante utilisées seront exclusivement la feuille et le fruit.

En effet ce sont dans ces organes de plante où les composés étudiés sont présents de manière suffisante ce sont donc ces parties qui trouvent leurs intérêts en thérapeutique. Le reste de la plante sera laissé de côté.

De plus, les quantités de principes actifs présents dans le fruit d'une part et dans la feuille d'autre part seront comparés.

1) Le phénol

Le phénol (du grec phainein : paraître, briller) est un dérivé hydroxylé du benzène : C_6H_5OH , composé chimique aromatique. On le retrouve pur sous forme de cristaux déliquescents, avec une température de fusion à $43\text{ }^{\circ}C$. Il possède, grâce à son **cycle aromatique**, une odeur intense et caractéristique et est partiellement soluble, mais non miscible dans l'eau, ne se mélangeant pas totalement l'un dans l'autre (eau phéniquée à 10 % de phénol et phénol aqueux à 10% d'eau).

Il est aussi appelé hydroxybenzène, acide phénique ou encore acide carbolique.

C'est un intermédiaire important pour de nombreuses synthèses de produits pharmaceutiques, utilisé en parfumerie (composés aromatiques sont odorants), en médecine comme puissant antiseptique.

Le terme phénol est aussi utilisé pour rassembler un groupe d'alcools aromatiques complexes produits par les végétaux et par les micro-organismes et comportant un noyau aromatique et une ou plusieurs fonctions hydroxyles : **les polyphénols**.

2) Les polyphénols

Le terme polyphénol a été introduit en 1980, en remplacement du terme ancien de « **tanin végétal** » (vegetable tanin), et a été défini ainsi :

Les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Daltons, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines. On peut aussi rajouter le fait que ces polyphénols possèdent un pouvoir antioxydant élevé.

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant donc, comme dit précédemment, au moins **un noyau aromatique** et un ou plusieurs **groupes hydroxyles**, en plus d'autres composants.

Avec le temps on a remarqué qu'en fait cette famille de composés pouvait regrouper des molécules très diversifiées, allant des molécules les plus simples comme les **acides phénoliques**, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Daltons de poids moléculaire, comme **les tanins**.

Les polyphénols sont des composés présents dans **le fruit** de la myrtille; pour 100 grammes de fruits on trouve approximativement 600 mg de polyphénols. (Giovanelli and Buratti, 2009)

Au niveau de **la feuille**, la teneur moyenne en composés phénoliques est moindre entre 12.98 et 10.62 milligrammes pour 100 grammes de feuilles. (Carnat et al, 1996).

On peut donc remarquer :

- que les quantités de composés phénoliques présents dans la feuille sont inférieures à celles retrouvées dans le fruit.

- qu'il est plus facile d'étudier les composés phénoliques présents dans la feuille que dans le fruit, ils demandent moins de matière première à étudier et les réactions de dosage et de qualification fonctionnent mieux.

Plus précisément, on distingue quatre principales familles de composés phénoliques, mais il existe d'autres familles de composés phénoliques telles que les phénols simples, les coumarines... Mais n'étant pas présentes, ou en quantité négligeable, et n'ayant pas démontré une activité utilisée en thérapeutique par *Vaccinium myrtillus* nous n'en parleront pas. Ces **quatre familles étudiées** sont :

- **Les acides phénoliques**
- **Les flavonoïdes**
- **Les anthocyanes**
- **Les tanins**

B) Les acides phénoliques

Un acide phénolique (ou acide-phénol) est un composé organique qui possède au moins une **fonction carboxylique** et un **hydroxyle phénolique**. Chez les plantes, ces acides dérivent de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique.

1) Les dérivés de l'acide benzoïque : les acides hydroxybenzoïques

Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, et ces mêmes hydroxyles phénoliques peuvent ensuite être méthylés.

Exemples :

- **L'acide gallique**, (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) élément constitutif des tanins hydroxylables fréquemment utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Il est aussi un précurseur pour la synthèse d'un alcaloïde hallucinogène, la mescaline.

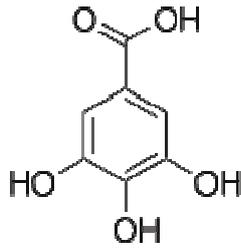


Figure 10 : Acide gallique

- L'acide vanillique dont l'aldéhyde, **la vanilline**, est l'un des constituants de l'arôme naturel de la vanille. On arrive à la synthétiser industriellement de nos jours, mais il existe une différence de qualité : En effet l'arôme naturel de vanille contient de nombreux autres composants, alors que la vanilline obtenue par synthèse est chimiquement pure. La vanilline est l'arôme le plus fabriqué dans le monde, loin devant le chocolat et le café.

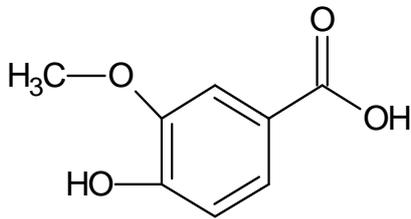


Figure 11 : Acide vanillique

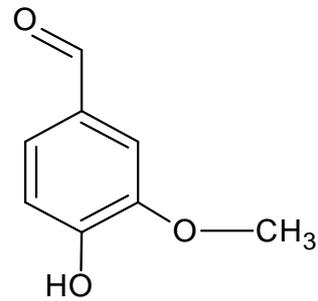


Figure 12 : Vanilline

2) Les dérivés de l'acide cinnamique : les **acides hydroxycinnamiques**

L'acide cinnamique diffère de l'acide benzoïque par la longueur de sa chaîne carboxylée, mais de la même manière, ses dérivés hydroxylés peuvent voir leurs groupements hydroxyles méthylés. On les appelle aussi des **phénylpropanoïdes**.

Exemples :

- L'acide p-coumarique, dont les dérivés (lactones, coumarines) sont largement répandus dans le règne végétal.

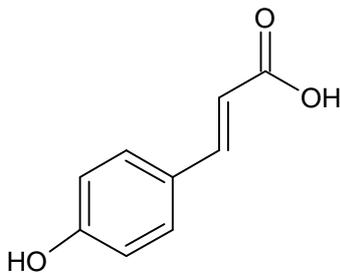


Figure 13 : Acide p-coumarique

- L'acide caféique, aussi fréquemment présent dans les végétaux et dont l'une des formes, **l'acide chlorogénique** nous intéresse précisément : c'est l'une des molécules apportant des capacités thérapeutiques spécifiques à *Vaccinium myrtillus*.

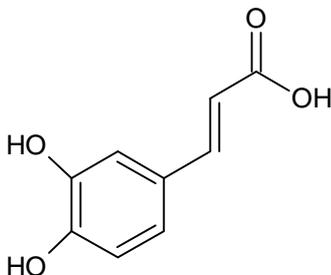


Figure 14 : Acide caféique

Dans les plantes, ces acides phénoliques sont souvent trouvés sous forme d'esters d'alcools aliphatiques, d'acides (acide quininique, acide rosmarinique) ou de glycosides.

3) Les acides phénoliques chez *Vaccinium myrtillus*

Il a été démontré que l'acide phénolique le plus présent quantitativement chez *Vaccinium myrtillus* est l'acide chlorogénique et que la quantité contenue dans la plante varie durant l'année (Witzell et al, 2003)

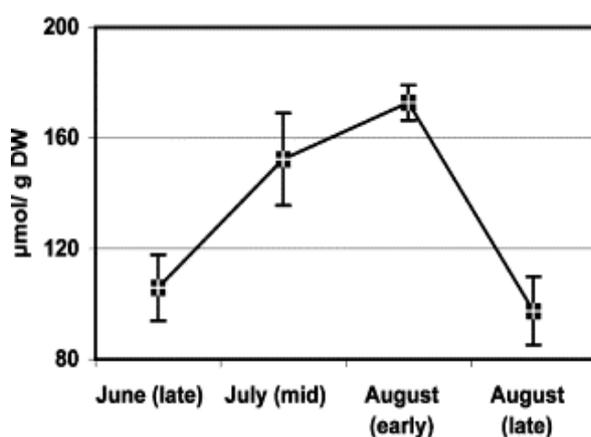


Figure 15 : graphique montrant les variations de concentrations des phénylpropanoïdes contenus dans les **feuilles** pendant la période de croissance de *Vaccinium myrtillus*.

D'après la figure 15, on observe une augmentation de la quantité d'acide chlorogénique contenue dans les feuilles qui commence au mois de juin pour devenir maximum au début du mois d'aout, puis diminue rapidement pendant le mois d'aout. Le maximum d'acide chlorogénique est obtenu au moment où les fruits sont murs. L'acide chlorogénique possède une grande activité anti-microbienne et sert de protection contre les agressions au moment de la phase de dissémination de la plante.

Aucune valeur pour le fruit n'a été trouvée, il se peut que les expériences n'aient pas été effectuées pour le fruit.

Il y a aussi présence de plusieurs acides organiques :

Dans la feuille : acide benzoïque, acide malique, acide succinique, acide quinique

Dans le fruit : acide malique, acide citrique, acide quinique

L'acide benzoïque : de formule chimique C_6H_5COOH (ou $C_7H_6O_2$) est un acide carboxylique aromatique dérivé du benzène.

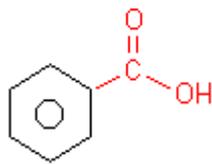


Figure 16 : Acide benzoïque

Il est surtout utilisé en alimentation comme conservateur et dans deux trois autres domaines qui seront détaillés ultérieurement, c.f. page 69.

Ces acides organiques sont essentiellement des acides non aromatiques (à part l'acide benzoïque), ils seront donc traités avec les acides organiques non aromatiques.

c) Les flavonoides

1) définition

Ils ont été découverts par **Albert Szent-Györgyi**, scientifique hongrois en 1936 dans le zeste de citron. Celui-ci reçut en 1937 le prix Nobel de médecine pour ses travaux

sur la vitamine C et les flavonoïdes. Près de 4000 flavonoïdes ont été recensés à nos jours.

C'est une classe de métabolites secondaires dérivés de l'acide shikimique trouvés sous forme de pigments jaunes, très répandus chez les végétaux ; ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides dont les **génines** (partie non glucidique) sont des dérivés de la **phénylchromone** (flavones vraies), la chromone étant la **benzo γ -pyrone** (voir figure 18).

Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles comme les Polygonacées, les Rutacées, les Légumineuses.

Dans les flavonoïdes au sens large, on inclut tous les composés en $C_6-C_3-C_6$ comprenant en plus les dérivés du phényl-chromane ou **flavannes** ; ce sont :

- les catéchols (**catéchines**)
- les **proanthocyanidols** (anciennement leucoanthocyanes)
- on rattache aussi aux flavannes les anthocyanes qui sont dérivés du **flavylium** :

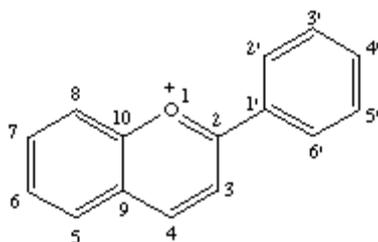


Figure 17 : Représentation de la formule semi-développée de l'ion flavylium

Remarque : les catéchines et proanthocyanidols font partis de la sous-classe des flavanols (et pas des flavonols) du fait de l'absence de la fonction cétone en C_4 .

2) Constitution chimique et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone, fait de deux cycles en C_6 reliés par une chaîne en C_3 . Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone (cycle pyrane C_5O possédant une fonction cétone)

Les flavonoïdes sont des hétérosides, on les classifie selon la génine et/ou le(s) ose(s) associé(s).

a. Les génines

Les génines sont des dérivés polyhydroxylés, parfois méthoxylés ou méthylés de la chromone.

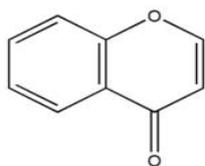


Figure 18 : Représentation de la formule semi-développée de la chromone

On distingue :

- Les **flavones vraies**, dérivées de la phényl-2-chromone

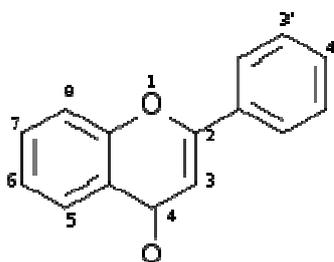


Figure 19 : Représentation de la formule semi développée de la phényl-2-chromone

- Les **flavonols**, qui possèdent un hydroxyle phénolique en C₃. Ce sont des pigments végétaux de couleur jaune plus ou moins clair. Ils diffèrent entre eux par le nombre et la position d'hydroxyles.

On les trouve dans les plantes sous forme aglycone (sans sucres associés) par exemple le kaempférol et le quercétol (ou quercetine) mais surtout sous forme d'hétérosides. On trouve des mono-, di- et triglycosides.

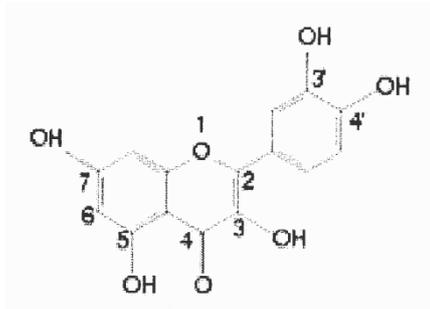


Figure 20 : Représentation de la formule semi-développée du quercétol

- **Les flavanones**, qui n'ont pas de double liaison en C₃

Exemple : le liquiritoside (flavonoïde antispasmodique présent dans les racines de réglisse). C'est la liquiritigénine liée à un glucose cyclisé.

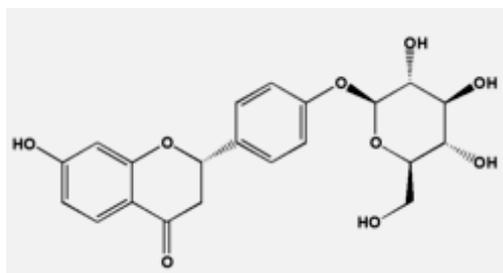


Figure 21 : Représentation de la formule semi-développée du liquiritoside

- **Les Chalcones**, dont le cycle pyronique est ouvert. Ce sont des isomères des flavanones.

- **Les isoflavones** dérivés de la phényl-3-chromone. Ils sont présents dans le soja (génistéine par exemple) et sont étudiés pour leurs propriétés pseudo-oestrogéniques.

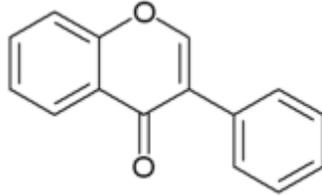


Figure 22 : Structure de base des isoflavones

- On peut rattacher aussi aux flavonoïdes :
 - Les xanthones (dibenzopyrones)

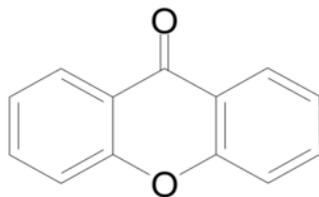


Figure 23 : Structure de la xanthone

- Les aurones (benzalcoumaranones), classe restreinte (quelques dizaines) présente naturellement dans certaines fleurs (Muflier, Dahlia) et qui leur confère leur couleur jaune d'or.

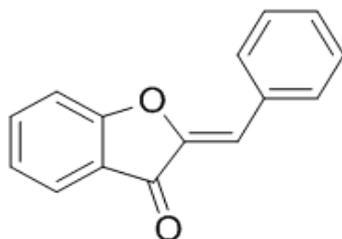


Figure 24 : Structure de base des aurones

b. Les oses

Les oses sont les monomères des glucides. Généralement ce sont le glucose et le rhamnose, parfois le galactose sous leurs formes cycliques. Le plus souvent on les retrouve fixés en 3 et en 7 (voir numérotation de la molécule dans a) génine, flavones vraies). Ils peuvent être fixés seuls sous forme d'oses, ou polymérisés ; on parle alors d'holoside. Souvent ce sont des di- et triholosides.

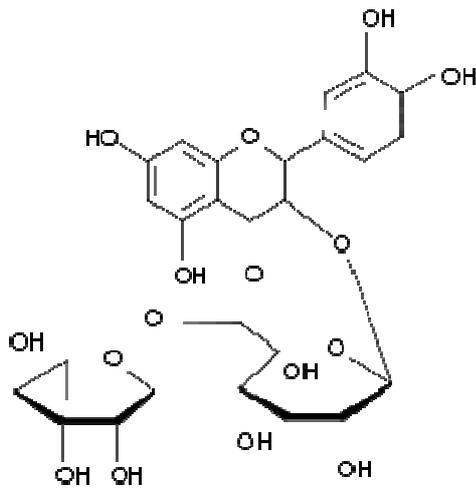


Figure 25 : le rutose, rhamnoglucoside du quercétol

c. Biogenèse des flavonoïdes

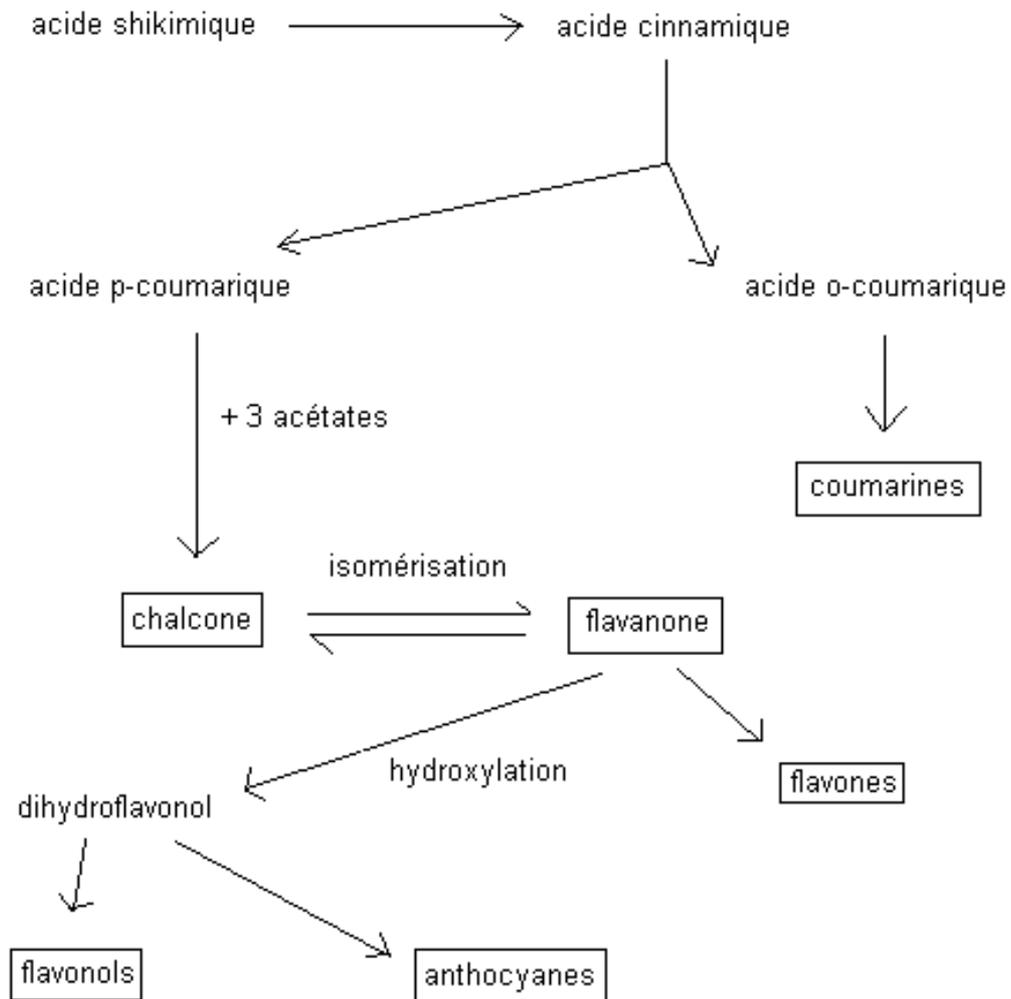


Figure 26 : Schéma simplifié de la biogenèse des flavonoïdes

D'après ce schéma simplifié sur la biogenèse des flavonoïdes, on observe que les flavonoïdes (flavones et flavonols) et les anthocyanosides viennent du même précurseur, le flavanone. De plus, tous les polyphénols sont obtenus à partir d'une seule molécule, l'acide shikimique.

3) Les flavonoïdes chez *Vaccinium myrtillus*

a. Méthodes d'identification et de qualification

Un bon nombre de méthodes ont été développées et appliquées pour mesurer l'activité anti-oxydante et la composition d'extraits de plantes. En effet, pour séparer, identifier et quantifier les compositions individuelles en polyphénols qui influencent leur capacité antioxydante, on utilise essentiellement des techniques chromatographiques, spécialement la chromatographie haute performance (CLHP).

b. Résultats

Dans étude visant à caractériser le « profil phénolique » de baies du Nord de L'Europe (Ehala et al, 2005), un autre système d'identification a été utilisé : **l'électrophorèse capillaire**. C'est une méthode alternative possédant certains avantages par rapport à la CLHP : des échantillons de très petites tailles, une meilleure efficacité due à une migration non parabolique, un temps d'analyse plus court, un coût peu élevé et pas ou peu d'utilisation de solvants organiques.

L'expérience a été faite à partir d'échantillons de fruits congelés, les résultats obtenus seront exprimés en $\mu\text{g/g}$ de MF (MF pour matière fraîche). On retrouve principalement quatre polyphénols :

La Quercetine: $12.75 \mu\text{g/g}$ de MF

L'acide ferulique: $23.01 \pm 1.69 \mu\text{g/g}$ de MF

Le trans-resveratrol: $6.78 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$ de MF

L'acide p-coumarique : $6.00 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$ de MF

Les résultats obtenus pour la feuille de myrtille ont été référencés dans un tableau récapitulatif (Figure 27) page 47, le tableau contenant également les dosages obtenus pour les anthocyanes, il a été placé dans la partie les concernant.

D) Les anthocyanes

1. Généralités

Les anthocyanes ou pigments anthocyaniques sont des composés hydrosolubles, de teinte rouge, violette ou bleue (spectre visible). C'est le nom donné à une famille de composés naturels végétaux ; ils colorent généralement les fleurs, les fruits et parfois les feuilles. C'est aussi le nom donné aux pigments végétaux à **activité vitaminique P**.

Les anthocyanes sont présentes dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides appelés **anthocyanosides** ou **anthocyanines**. Les génines, anthocyanidines et anthocyanidols sont des dérivés du phényl-2-benzopyrolium ou **flavylium**, présents dans la plante sous forme de sels (étant donné le caractère cationique du flavylium, ces corps sont toujours associés à un anion).

On les trouve notamment dans :

- Les fleurs : coquelicot, mauve et violette ;
- Les fruits : cassis, myrtille ;
- Les feuilles : vigne rouge, cacaoyer ;
- Les graines : cacaoyer.

Remarque : ils sont présents uniquement dans les vacuoles des plantes, mais aussi chez certains champignons. De plus ils sont principalement localisés dans les cellules des couches extérieures telles que l'épiderme. Ainsi, manger une pomme épluchée n'apportera quasiment aucun apport en anthocyanes à l'organisme.

2. Caractères physico-chimiques

Ces hétérosides sont donc comme mentionnés précédemment solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants organiques apolaires.

Par contre les génines sont insolubles dans l'eau, solubles dans l'éther éthylique.

Les anthocyanes ont une coloration qui varie en fonction du pH : rouge en milieu acide, elles deviennent bleues en milieu neutre ou alcalin.

Relativement stables à pH acide, ces pigments sont dénaturés irréversiblement à pH très alcalin.

Les anthocyanes, possédant deux hydroxyles libres en ortho sur le phényle latéral, donnent des complexes avec les métaux comme le fer, l'aluminium et le magnésium.

3. Biogenèse des anthocyanes

Les anthocyanes ont la même origine biogénétique que les flavonoïdes (voir figure 26) ; ils dérivent de l'acide p-coumarique par l'intermédiaire de l'acide shikimique. Les dérivés flavoniques sont les premiers formés, les anthocyanes sont bio synthétisées à partir des dihydroflavonols.

4. Extraction des anthocyanosides

La purification des anthocyanosides peut être effectuée simplement après une **extraction alcoolique** à l'acide chlorhydrique (HCl) de l'organe ou de la partie de plante que l'on veut étudier. On précipite ensuite à l'éther éthylique. L'extraction alcoolique se fait dans du **méthanol acidifié par HCl** à 0,6M (Jaakola *et al*, 2004). Après purification, on obtient les anthocyanes sous forme de chlorure.

Il existe d'autres méthodes d'extraction (Ehala and al, 2005):

L'extraction assistée par micro-ondes : Elle a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal qui est ensuite mesurées. Cette absorption dépend de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal.

Il a été utilisé 12.5g de végétal congelé mis dans 25 ml de solution de C₂H₅OH/H₂O (70 :30). Sur cette mixture a été appliquée une micro-onde de 180 Watts pendant 3 minutes. Ceci est répété 3 fois par échantillon.

L'extraction ultrasonique : L'action des Ultrasons dans les milieux liquides repose sur le phénomène de **cavitation**: création, croissance et Implosion de bulles formées lorsqu'un liquide est soumis à une onde de pression périodique.

On utilise des quantités plus importantes de matériel végétal (50g) mises dans 100 mL de solution.

L'extraction peut-être effectuée avec des solutions différentes : CH₃OH/H₂O (50:50), CH₃OH/H₂O (70:30), et C₂H₅OH/H₂O (70:30). A ces solutions est rajouté 1% d'HCl. Des bains de 8 minutes à température ambiante sont répétés 3 fois.

Remarque : L'extraction assistée par micro-onde et l'extraction ultrasonique demandent quand même un matériel coûteux et utilisent toujours le principe alcool/acide pour l'extraction, mais sont plus rigoureuses et plus fiables ; l'extraction est meilleure, les résultats obtenus sont plus proches de la réalité.

5. Les anthocyanes chez *Vaccinium myrtillus*

Il est important de bien détailler les anthocyanosides présents chez *Vaccinium myrtillus* parce qu'ils sont responsables d'une grande partie des activités thérapeutiques de la myrtille.

On se retrouve toujours avec des formes d'hétérosides comportant une génine (aglycone) et un ou plusieurs sucres associés.

Remarque : dans un souci de synthèse, la qualification et la quantification des anthocyanosides de la myrtille ont été énuméré dans le tableau de la figure 27.

a. Les génines

Ce sont des dérivés polyhydroxylés, parfois méthoxylés du flavylum (voir figure 17)

On les considère parfois comme des dérivés du noyau flavane. Les hydroxyles en 3, 5, 7 et 4' sont communs à la plupart des molécules, d'autres peuvent être présents

principalement sur le phényle latéral. Des variations minimales de la structure chimique de la génine vont être responsables de la modification de la coloration.

b. Les oses

Les oses sont le plus souvent le glucose, ou le rhamnose, parfois la xylose ou le galactose.

L'ose est fixé en 3 dans les monosides ; dans les biosides le deuxième ose est lié en 5 et exceptionnellement en 7. La liaison avec des sucres facilite l'hydro solubilité et permet l'accumulation vacuolaire des anthocyanes.

c. Identification et étude quantitative des anthocyanosides de *Vaccinium myrtillus*

Après l'extraction, une caractérisation et un dosage peuvent être faits simplement : la mise en évidence des anthocyanes sur un extrait aqueux ou alcoolique en observant la **coloration suivant le pH**. Les **chromatographies** sur papier ou sur couche mince permettent l'identification ; on utilise des solvants acides comme le solvant de Forestal (acide acétique, eau, acide chlorhydrique).

Il existe aussi d'autres méthodes plus modernes et plus précises :

La spectrophotométrie dans le visible et l'ultraviolet qui se prête bien à une évaluation quantitative.

La chromatographie liquide haute performance (CLHP), la séparation des composants se fait selon des constantes de migration propre à chaque composé et dépendantes du solvant, de la composition de la colonne de migration.

L'électrophorèse capillaire, où la migration se fait grâce à un courant électrique.

D'après les études de Jaakola et al (2004) et de Ehala et al (2005), la composition en polyphénols de *Vaccinium myrtillus* ainsi que leurs concentrations ont pu être déterminées, et ceci pour différentes parties de la plante.

Ehala et al (2005) ont utilisé l'électrophorèse capillaire et Jaakola et al (2004) la CLHP. Burdulis et al (2007) s'est penché sur la diversité d'anthocyanosides dans le fruit de *Vaccinium myrtillus* en utilisant la CLHP et la spectrophotométrie

Les résultats obtenus par Jaakola *et al* (2004) ont été représentés à la page suivante sous forme de tableau.

Remarques sur le tableau :

- Tous les anthocyanosides présents dans *Vaccinium myrtillus* et surtout dans le fruit ne sont pas retenus (Burdulis et al, 2007). En effet 5 anthocyanosides ont été identifiés dans le fruit mais n'ayant pas été dosés dans les expériences il est difficile de donner plus d'informations.
- La cyanidine représente presque la moitié des anthocyanides trouvées (46% d'après Burdulis *et al* (2007)
- Chez la myrtille il y a aussi comme anthocyanoside (Burdulis et al, 2007) : de la Petunidine, de la Peonidine et de la Malvidine, mais il est difficile de donner une teneur exacte car plusieurs dilutions et manipulations ont été effectuées.

| | | Anthocyanes | Proanthocyanes | | Flavonols | | | Acides Cinnamiques | | somme |
|------------------------|-------|-------------|----------------|--------------|------------|------------|------------|--------------------|---------------------------|-------|
| | | | Prodelphinine | Procyanidine | Myricetine | Quercetine | Kaempferol | Acide p-coumarique | acide caffeique/ferulique | |
| <i>fleur</i> | 86 | ND | 50 | ND | 130 | ND | 396 | 587 | 1244 | |
| <i>peau du fruit</i> | 20256 | NA | NA | 47 | 159 | ND | 32 | 175 | 20669 | |
| <i>chair du fruit</i> | 1040 | NA | NA | 3 | 12 | ND | 100 | 63 | 1218 | |
| <i>feuilles rouges</i> | ND | 25 | 962 | ND | 3369 | 171 | 2989 | 7808 | 15324 | |
| <i>feuilles vertes</i> | 882 | 36 | 402 | ND | 10369 | 244 | 6007 | 16249 | 34193 | |
| <i>rhizome</i> | ND | ND | 336 | ND | ND | ND | 778 | 273 | 1387 | |

NA = not analysed, ND = not detected

Tableau 1 (page précédente) : composition en polyphénols (en µg/G de matériel congelé) dans différents organes chez *Vaccinium myrtillus* (Jaakolu et al, 2004)

6. Facteurs influençant la composition des anthocyanosides

Les pigments anthocyanidiques sont très répandus dans le règne végétal ; sur les jeunes plants ou les nouveaux rameaux, quand la production de chlorophylle n'a pas encore commencé et que la plante est donc sans protection contre les **ultra-violets**, la production d'anthocyane augmente. Dès que la production de chlorophylle commence, celle d'anthocyanes est réduite. Le taux d'anthocyanes produit dépend du type de la plante, du substrat, de la lumière et de la température.

E) Les tanins

1) Définition

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la **rendre imputrescible** ; cette aptitude est liée à leur propriété de se lier aux protéines.

Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 daltons.

Très répandus dans le monde végétal (mais particulièrement abondants dans certaines familles : Myrtacées, Légumineuses...), ils peuvent exister dans divers organes cependant, il est à noter une accumulation dans les écorces âgées et les tissus d'origine pathologique (galles).

Ils sont localisés dans les vacuoles et sont quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. Leur teneur est parfois très élevées (70% dans la galle du chêne).

2) Constitution chimique

La classification admise divise les tanins en deux groupes :

- les tanins hydrolysables
- les tanins condensés

a. les tanins hydrolysables

Ce sont des polyesters de glucides et d'acides phénols. Ils sont facilement scindés par les acides ou des enzymes (tannases) en ose et en acide-phénol. Selon la nature de cet acide, on distingue **les tanins galliques** et **les tanins ellagiques** (l'acide éllagique est un produit de condensation de 2 molécules d'acide gallique)

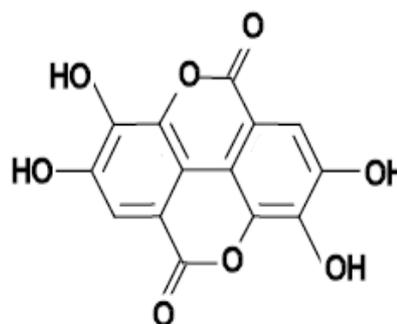
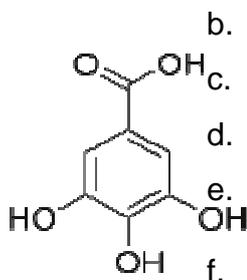


Figure 28: structure de l'acide gallique

Figure 29: structure de l'acide ellagique

L'acide gallique dérive de l'acide shikimique mais n'utilise pas la même voie que les précédents polyphénols.

d. Les tanins condensés

Ils diffèrent fondamentalement des tanins galliques et ellagiques :

- leur **structure** est voisine de celle des flavonoïdes
- ils ne possèdent **pas de sucre** dans leur molécule : non hydrolysables, ils ont même tendance au contraire à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune (spécialement en solution acide concentrée ou par action d'agents

oxydants). Ces produits, nommés phlobaphènes, sont insolubles dans bon nombre de solvant.

Ils sont formés de **2 ou plusieurs molécules** de flavanne-3-ols (catéchols ou catéchines) ou de flavanne-3,4-diols (leucoanthocyanes ou proanthocyanidols). On les rattache aux flavonoïdes au sens large, d'ailleurs leur synthèse est identique : voir figure 26 page 40.

Ces tanins condensés sont des oligomères flavanoliques correspondant à l'union de 2 à 10 unités flavanne.

3) Les tanins chez *Vaccinium Myrtillus*

D'après l'étude de Fraise *et al* (1996), la feuille de myrtille récoltée possède 7.87 µg/g de feuilles séchées de tanins dont 0.8 à 6.7 µg/g de tanins catéchiques. Ces résultats ont été obtenus par spectrophotométrie.

Le fruit, d'après d'anciennes données (Kröger Ch., 1951) possède jusqu'à 10% de tanins principalement des tanins catéchiques, mais aussi un peu de tanins galliques.

III) Autres constituants

-Les **protéines** : 5µg/g de fruit frais

-100 g de fruits apporte environ 20 calories de **graisses**.

- *Vaccinium myrtillus* est aussi une bonne source **d'oméga 3 et d'oméga 6** (respectivement 0.29 mg/g et 0.23 mg/g dans le fruit frais) (Bere, 2006)

-Une étude sur les graines de *Vaccinium myrtillus* (Yang et al, 2002) a démontré qu'il existe dans ces graines, représentant entre 1 à 3% du poids du fruit, **des acides gras essentiels, de l'acide oléique et des stérols libres et estérifiés** (sitostérol et campestérol principalement); ces huiles font 30% du poids sec de la graine, ce qui n'est pas négligeable dans le rôle nutritionnel de la baie.

-Du **Beta carotène**

-Dans un extrait éthylique de feuille de *Vaccinium myrtillus* ont été identifiés **les acides aminés** : glutamine, thréonine, acide glutamique, tyrosine et valine (Petlevski et al, 2007)

-des composés aromatiques : L'**arbutoside** et l'**hydroquinone**, cités dans les bibliographies anciennes, ne sont présents qu'à l'état de trace, voire totalement absents (Frohne et al, 1990) et (Bertuglia et al, 1995). Si l'hybride *Vaccinium Intermedium* est présent, on peut détecter de l'arbutoside, car ses feuilles en contiennent jusqu'à 2%.

Des alcaloïdes, et principalement 2 alcaloïdes quinolizidiniques : **myrtine** et **épimyrtine** ont été identifiés chez *Vaccinium myrtillus* (Anton R. et al, 2003). Mais ces alcaloïdes ont juste été cités et jusqu'à présent il n'existe pas d'expérience aboutissant à la quantification de ces composés.

- Ces acides organiques sont souvent décrits comme présents dans le fruit, à raison de 14 mg/g. Il s'agit surtout d'acide malique et d'acide citrique associés à de plus

petites quantités d'autres acides organiques naturels : acides tartrique par exemple. Ces acides organiques sont responsables de la saveur acidulée du fruit.

IV) Conclusion

Les études d'identification et de quantification des composés ont souvent été faites pour démontrer une activité pharmacologique. Ainsi donc, les études ont été faites selon la partie de plante ou l'organe et leurs utilités en médecine traditionnelle. Les études publiées vont dans ce sens et il est difficile d'obtenir des renseignements sur des composés ou des organes de *Vaccinium myrtillus* peu utilisés. A l'inverse, *Vaccinium myrtillus* a été énormément étudiée pour ses polyphénols, qui lui apportent l'activité la plus connue et la plus recherchée en thérapeutique. Mais il n'y a pas que ces polyphénols qui possèdent une activité thérapeutique et *Vaccinium myrtillus* a de nombreuses activités comme constaté dans le chapitre suivant.

Troisième partie :

Pharmacologie

I) Propriétés pharmacologiques des anthocyanosides

Comme constaté précédemment, *Vaccinium myrtillus* présente un intérêt lié à la présence d'anthocyanosides dans le fruit et dans la feuille.

L'activité des anthocyanosides et leurs propriétés chimiques sont bien connues comme le démontrent de nombreuses études.

A) Antioxydants

1) définition

Un paradoxe du métabolisme de la vie sur Terre est que la majorité des être vivants ont besoin de dioxygène pour assurer leur existence alors que le dioxygène est une molécule hautement réactive qui produit des dégradations sur les organismes vivants. Cependant les organismes possèdent un système d'antioxydants et d'enzymes qui agissent ensemble pour empêcher la dégradation des composants des cellules comme l'ADN, les lipides et les protéines.

Les anthocyanosides (extraits de *Vaccinium myrtillus*) sont des antioxydants biologiques actifs, non toxiques et solubles dans l'eau. On regroupe sous le terme d'**antioxydants**, différentes substances apportées par l'alimentation jouant un rôle d'antidote en régulant la quantité de **radicaux libres** présents dans l'organisme. Ces radicaux libres sont synthétisés par l'organisme, à partir du dioxygène, parfois en excès, notamment sous l'effet de la pollution, du tabac... Ceux-ci peuvent engendrer alors le **vieillessement prématuré** des cellules et le développement de certaines maladies.

Plus explicitement, ces radicaux libres formés à partir de l'oxygène et hautement réactifs sont l'**anion superoxyde** (O_2^-), le **peroxyde d'hydrogène** (H_2O_2) et le **radical hydroxyle** (HO) qui réagissent en présence d'ADN, de lipides ou de protéines pour former des **radicaux peroxydes** qui sont eux même réactifs.

2) Quantification de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes visant à quantifier l'activité antioxydante d'un aliment, d'une plante ou plus simplement parfois d'une molécule unique en tant que protecteur contre ces radicaux libres.

— **ORAC : Oxygen radical absorbance capacity** : méthode la plus répandue, elle mesure la capacité d'un composé à neutraliser le radical peroxyde. C'est un test *in vitro* : la fluoresceine (composé fluorescent) réagit avec le **radical peroxyde** pour donner un composé qui n'est plus fluorescent. Il suffit ensuite de mesurer la fluorescence et de la comparer à une molécule de référence (le trolox) pour obtenir une valeur qui s'exprime en unités ORAC. Pour *Vaccinium myrtillus* elle est de 6400 ORAC (Kalt *et al*, 1999).

— **FRAP : Ferric reducing antioxidant power** : cet indice utilise le pouvoir de réduction antioxydant de l'ion ferrique (Fe^{2+}), qui en présence de radicaux libres, s'oxyde en ion ferreux (Fe^{3+}). La mesure de l'absorbance d'un plasma frais avec Na_2EDTA à une longueur d'onde donnée (cette absorbance varie selon la concentration d'ion ferrique ou d'ion ferreux) donne la valeur de cet indice, en μ moles de $FeSO_4$.

Quelle que soit la méthode utilisée, le fruit de *Vaccinium myrtillus* a une des activités anti oxydantes les plus élevées avec le fruit de la canneberge (*Vaccinium oxycoccos*) et le fruit du mangoustanier (*Garcinia mangostana*) (Martin L., 2005).

Les anthocyanosides de *Vaccinium myrtillus* et quelques aglycones ont été étudiés et établis comme de bons récupérateurs de radicaux libres comme démontré dans un test *in vitro* dans la réaction **hypoxanthine/xanthine oxydase** (Salvayre *et al.*, 1981 et Acquaviva *et al.*, 2003), générant des ions superoxydes.

Les extraits anthocyanosidiques du fruit de *Vaccinium myrtillus* ont montré une activité d'élimination de l'ion superoxyde et une activité d'**inhibition de la peroxydation** des lipides (Meunier *et al.*, 1989 ; Martin-Aragon *et al.*, 1998 et 1999) dans les microsomes de foie de rat. Plus précisément, ils sont capables de soulager le stress induit par les radicaux libres et la peroxydation des lipides au niveau du foie des souris (Bao *et al.*, 2008).

Les chlorures de cyanidine et de delphinidine ont prouvé leur potentiel d'élimination de radicaux libres (1,1-diphényl-1-picrylhydrazyl ou DPPH) et le chlorure de cyanidine est un composant actif dans les **lipoperoxydations** (Morazzoni *et al.*, 1988).

D'après une étude de Laplaud *et al.* (1997), l'extrait aqueux de *Vaccinium myrtillus* protège des LDL (low-density lipoprotéines) de l'oxydation faite par le cuivre.

Comme reporté par Rasetti *et al.* (1996), l'extrait de *Vaccinium myrtillus* est capable de protéger les **apolipoprotéines B** (constituant des LDL, VLDL et chylomicrons) contre la fragmentation induite par l'oxydation des rayonnements UV.

L'activité de 11 anthocyanosides majeurs présents dans le fruit a été étudiée contre le radical hydroxyle, l'anion superoxyde. Leur activité est comparable à celle de la **catéchine** (Ichiyanagi *et al.*, 2003) et l'origine de l'activité contre l'ion superoxyde a été déterminée comme provenant de la **structure aglycone** de ces anthocyanosides.

Sparrow *et al.* (2003), ont démontré que les extraits de fruits riches en anthocyanosides peuvent prévenir la photo-oxydation incitée par la lumière sur A2E, qui est la **lipofuscine** majeure de l'œil. Les lipofuscines, une classe de pigments de couleur orange, fluorescents, s'accumulent avec l'âge dans l'épithélium rétinien et sont donc aussi connus comme "les pigments de l'âge". Ils ont été suspectés de jouer un rôle critique dans la pathogenèse de la **dégénérescence maculaire liée à l'âge** (AMD), cause importante de cécité dans les pays industrialisés. Quand elles

sont exposées à la lumière, les lipofuscines produisent des oxygènes singlets réactifs qui déclenchent la dégénération de l'épithélium visuel. Ce processus a été réprimé par les anthocyanosides de fruits et la protection contre la photo-oxydation de la rétine pourrait être un mécanisme important pour les effets favorables des anthocyanosides sur l'œil.

L'inflammation est responsable de la formation de radicaux libres. Dans une étude encore plus récente sur l'expression de gènes déterminée par l'analyse de micro réseaux, il a été montré que les anthocyanosides peuvent atténuer le niveau d'expression de **gènes pro-inflammatoires** et restituer l'activité de gènes « anti-inflammatoires » dans un modèle de cellules inflammatoires (Chen *et al*, 2008).

Les anthocyanosides peuvent aussi prévenir l'oxydation d'un autre antioxydant (et donc permettre que celui-ci garde sa capacité antioxydante), **la vitamine C**, oxydation causée par des ions métalliques. La formation d'un complexe [acide ascorbique-métal-anthocyanoside] permet cette protection (Sarma *et al*, 1997).

De plus, en additionnant des extraits d'anthocyanosides dans des **enthérocytes humains**, il a été démontré (Maridonneau *et al*, 1982 ; Mavelli *et al*, 1983) que ces extraits inhibent la perte de potassium (sous forme K^+ au niveau intracellulaire) induite par les radicaux libres et les réactions cellulaires induites par des composés oxydants, la daunomycine (antibiotique de la famille des tétracyclines) et le paraquat (biocide pesticide et herbicide de la famille des pyridines).

Les études les plus récentes indiquent que les extraits de *Vaccinium myrtillus* possèdent une activité de protection au niveau des **déformations rénales** provoquées par le bromate de potassium ($KBrO_3$) chez les souris (Bao *et al*, 2008). Le bromate de potassium est un polluant de l'environnement, qui peut être formé lors du processus de purification de l'eau potable par l'ozone. Il peut former des radicaux libres déclenchant des modifications néfastes dans les tissus rénaux. Ces extraits améliorent la capacité antioxydante des tissus : ils réduisent la production de NO et augmentent la capacité à éliminer les radicaux oxygène (ORAC).

B) Interaction avec la matrice extracellulaire

1) Inhibiteurs de l'élastase

L'élastase est une **enzyme protéolytique** pancréatique hydrolysant l'élastine, constituant majeur des fibres élastiques de la matrice intercellulaire (tissu conjonctif) mais aussi de nombreux autres substrats protéiques tels que les protéoglycanes du cartilage, le collagène de type I, II, III et IV et des composants de la membrane basale.

Cette activité anti-élastase des anthocyanosides de *Vaccinium myrtillus* a été observée par Jonadet et al, 1983, élastase qui est impliquée dans la dégradation du collagène et d'autres composants de la matrice extravasculaire dans certaines conditions pathologiques comme l'athérosclérose, l'emphysème pulmonaire, l'arthrite rhumatoïde.

Cette enzyme est surtout abondante dans les polynucléaires neutrophiles, ce qui suggère un rôle important dans la phagocytose, la défense contre les infections, voire aussi certains remaniements tissulaires.

2) Interaction avec le collagène

Les extraits d'anthocyanosides peuvent interagir avec le **métabolisme du collagène**, en se liant aux fibres de collagène et en les faisant plus résistantes contre l'action des collagénases (Robert et al, 1979).

Une réduction de la biosynthèse des polymères de collagène et de glycoprotéines structurales, responsables de l'épaississement du capillaire chez **les diabétiques** a aussi été décrite (Boniface et al, 1986).

3) Interaction avec les phospholipides

Les études biochimiques et histochimiques ont montré que les anthocyanosides de *Vaccinium myrtillus* interagissent avec les **constituants phospholipidiques** des membranes plasmiques des cellules de cerveau de rat, en modifiant potentiellement leurs propriétés chimiques et physiques et en améliorant leur résistance à certains stimuli (Curri *et al*, 1976).

Salmona *et al* (1990) ont étudié l'influence d'extraits de 36 % du fruit de *Vaccinium myrtillus* sur la **viscosité des membranes** des plaquettes et ont confirmé que les anthocyanosides étaient capables de modifier la fluidité membranaire en raison de leur haute affinité pour la membrane phospholipidique.

4) Interaction avec les protéoglycanes

Un effet stimulant local des anthocyanosides de *Vaccinium myrtillus* a été établi par Mian *et al* (1977), sur la **biosynthèse de mucopolysaccharides** dans les granulomes, tumeur de nature inflammatoire constituée de tissu conjonctif, induits par des corps étrangers.

Les mucopolysaccharides sont reconnus pour jouer un rôle important dans le maintien de l'intégrité tant du tissu périvasculaire que de la membrane basale. Dans des études *in vitro*, en utilisant les cellules endothéliales du cordon ombilical humain, Piovella *et al* (1979 et 1981), ont montré que les anthocyanosides incitent à la phagocytose active de pigments et stimulent la régénération cellulaire. Une augmentation de l'activité des fibroblastes et des cellules de muscles lisses a été aussi établie dans la même étude.

Les anthocyanosides peuvent faciliter **la régénération de la composante cellulaire** de la paroi vasculaire et des tissus périvasculaires, en raison de leur effet stimulant sur les mucopolysaccharides.

C) Inhibiteur des phosphodiésterases

Les phosphodiésterases (PDE) sont des enzymes jouant un rôle dans les **messages intracellulaires**. Elles permettent la désactivation des messagers secondaires intracellulaires, l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) et la guanosine monophosphate cyclique (GMPc).

Les anthocyanidines telles que la cyanidine, la delphinidine et la malvidine 3-O-glucosides et leurs parties aglycones **inhibent les phosphodiésterases** (PDE) présentes dans différents organes et tissus comme la rétine, la choroïde, les grands vaisseaux et les plaquettes. Les composés sont plus actifs sur les PDE de la rétine que celles des plaquettes, en particulier sur les enzymes stimulant la calmoduline rétinienne, protéine stimulant l'activité des PDE de la rétine (Ferretti *et al*, 1988 ; Pifferi *et al*, 1992).

D) Activité d'antiagrégants plaquettaires

Morazzoni *et al* en 1990 ont étudié l'activité antiagrégante plaquettaire d'extrait de fruits de *Vaccinium myrtillus* contre l'agrégation incitée par l'**adénoside diphosphate** (ADP), le **collagène** et l'**arachidonate de sodium** sur le plasma de lapin riche en plaquettes (PRP). L'extrait du fruit de *Vaccinium myrtillus* est un fort inhibiteur d'agrégation des plaquettes avec les valeurs d'IC50 (concentration nécessaire pour obtenir 50% de l'inhibition maximale, valeur d'activité d'un produit) variant de 0,36 à 0,81 mg/mL de PRP, résultats comparables avec ceux obtenus avec le dipyridamole.

De plus, ces extraits exercent un effet **inhibiteur sur l'agrégation plaquettaire** induite par l'ADP chez les rats maintenus en état de circulation extracorporelle.

En administration orale chez le rat, sur une activité de 24h et sans modifier la circulation sanguine, il a été observé grâce à des microbilles en verre, une réduction de la viscosité sanguine.

Un extrait d'anthocyanosides du fruit de *Vaccinium myrtillus* inhibe l'agrégation *in vitro* induite par l'ADP ou l'adrénaline sur le plasma humain (Morazzoni *et al*, 1990).

L'effet inhibiteur sur l'agrégation de plaquettes, démontré *in vitro*, a été confirmé *in vivo* sur l'agrégation incitée par l'ADP et le collagène (Pulliero *et al*, 1989). Ces résultats ont été obtenus à partir du sang de 30 sujets en bonne santé traités par voie orale (480 mg/jour pendant 30 à 60 jours).

E) Activités antimicrobienne et antiparasitaire

Une étude récente (Burdulis *et al*, 2009) a démontré des **propriétés antimicrobiennes** du fruit de *Vaccinium myrtillus*. Sur huit bactéries gram-négatives et gram-positives, *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) et *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) sont les plus sensibles à un extrait de *Vaccinium myrtillus*.

L'activité antimicrobienne de 12 baies appartenant à des genres différents présentent dans le nord de l'Europe a été étudiée par Nohynek *et al*, en 2006. Les composés phénoliques présents dans ces baies inhibent la prolifération des germes pathogènes dans le tractus gastro-intestinal humain. La canneberge, la mûre, la framboise, la fraise et la myrtille sont les baies qui possèdent une activité antimicrobienne observée. Chez la mûre, la framboise et la fraise, leurs polymères phénoliques, tels que les tanins ellagiques, sont de puissants agents antibactériens. Cette activité antimicrobienne peut être reliée à la capacité de ces baies à inhiber l'adhérence des bactéries aux parois. Les bactéries les plus sensibles sont *Helicobacter pylori* et *Bacillus cereus* et on retrouve une forte activité contre *Salmonella enterica* et *Staphylococcus aureus*.

Giardia duodenalis et *Cryptosporidium parvum* sont deux protozoaires communément responsables de diarrhées à travers le monde. Anthony *et al* (2007) ont prouvé que des extraits de *Vaccinium myrtillus* diminuent la viabilité de ces protozoaires *in vitro* : ces extraits peuvent tuer les trophozoites de *Giardia duodenalis*, forme de reproduction asexuée et étape d'alimentation active dans le

cycle de vie du parasite. Ces extraits modifient la morphologie de *Giardia duodenalis* et de *Cryptosporidium parvum*, rendent ainsi les parasites incompetents à se nourrir.

F) Activité vitaminique P

Anciennement Vitamine P, cette vitamine est dénommée maintenant vitamine C2 (Cotereau et al, 1948), et est une famille de bioflavonoïdes appartenant au groupe des anthocyanes regroupant entre autre le rutoside et la citrine. Cette vitamine est présente chez *Vaccinium myrtillus*. Cette vitamine C2 est un coenzyme de la vitamine C, aide et catalyse l'absorption de cette dernière. On peut lui accorder une activité antioxydante en synergie avec la vitamine C, plus précisément en tant que protecteur des capillaires sanguins.

II) Les applications thérapeutiques

A) Ophtalmologie

D'après des essais contrôlés à partir de fruits séchés de *Vaccinium myrtillus* versus placebo, aucune étude n'a prouvé l'intérêt de ces substances sur la vision nocturne normale et **aucune recherche rigoureuse** n'a été effectuée sur les héméralopies, difficulté excessive à voir lorsque la luminosité diminue, d'origine pathologique (Canter et al, 2004).

Cependant de nombreuses études effectuées ont prouvé une activité antioxydante et protectrice des capillaires sanguins de *Vaccinium myrtillus* (cf page 58). Il est donc

normal de conclure que *Vaccinium myrtillus* possède un rôle dans la protection des capillaires rétiniens et donc dans le maintien du bon fonctionnement de cet organe.

Matsunaga *et al*, 2009 viennent de démontrer une **activité neuroprotectrice** des anthocyanosides présents chez *Vaccinium myrtillus* sur les cellules ganglionnaires rétiniennes dans des tests *in vitro* et *in vivo*. Cette étude relie l'activité protectrice des anthocyanosides vis à vis la peroxydation des lipides.

Aussi, dans le vieillissement de l'œil et dans certaines pathologies associées, le rôle de *Vaccinium myrtillus* en tant que protecteur contre le vieillissement a été établi. Ces pathologies sont surtout la cataracte lorsqu'elle est liée à l'âge et la **dégénérescence maculaire liée à l'âge** ou DMLA.

Pour ce qui concerne **la cataracte**, qui est une opacification du cristallin, il est connu qu'un des principaux facteurs de risque est une alimentation déficiente en fruits et légumes, et donc en vitamines et minéraux antioxydants. Les antioxydants luttent contre le vieillissement prématuré des cellules et donc s'ils ne sont pas présents, le vieillissement se fait plus rapidement et le risque de survenue de cataracte augmente.

Dans les rétinopathies d'origine vasculaire (lors de diabète ou d'hypertension), les fruits de *Vaccinium myrtillus* possèdent un effet réparateur (Goetz, 2008).

L'utilisation d'antioxydants dans la prévention des pathologies liées au vieillissement oculaire est fondée, mais l'utilisation de la myrtille pour améliorer la vision n'a pas été démontrée et reste encore controversée.

B) Diabétologie

Les baies et surtout les feuilles de myrtille ont été utilisées en médecine populaire dans le traitement du diabète. La feuille de myrtille a la réputation d'être un agent « hypoglycémiant ». On peut noter la présence d'une certaine quantité de chrome (9 ppm) dans la feuille de myrtille, chrome qui posséderait, selon certains, une activité dans le métabolisme des sucres (Catling *et al*, 2000).

Il a été aussi démontré que la **myrtiline** (glucoside méthoxylé de l'acide gallique) contenue dans les feuilles de myrtille fait baisser le taux de sucre et normalise la glycémie chez l'Homme (Friedrich *et al*, 1973).

Vuong *et al* (2009) soulignent les capacités du jus de *Vaccinium myrtillus* biotransformé. Ce jus est obtenu par fermentation à partir d'une souche de la bactérie *Serratia vaccini*, qui est isolée de la peau des baies de *Vaccinium myrtillus*. L'étude a été menée sur des souris, jeunes et adultes, sujettes à l'obésité et au diabète.

Selon les résultats, les jeunes souris qui ont consommé le jus de *Vaccinium myrtillus* biotransformé consomment moins de nourriture (12,5 %) et maigrissent (30 % de perte de poids) par rapport à celles ne consommant pas le jus. De plus, 80 % d'entre elles ont conservé une glycémie stable durant une période cruciale de 4 à 7 semaines.

C) Activité anti-ulcéreuse

De part son activité antimicrobienne, en particulier sur *Helicobacter pylori*, germe responsable de certains ulcères, il est très facile de conclure quant à l'activité anti ulcéreuse de *Vaccinium myrtillus*. Ses capacités antimicrobiennes existent grâce à ses composés phénoliques et ses composants antiseptiques (acide chlorogénique et acide gallique, mais que l'on retrouve aussi dans de nombreuses autres plantes). De plus, les extraits de *Vaccinium myrtillus* possèdent une activité conservatrice des mucopolysaccharides et donc protectrice du mucus tapissant la paroi gastrique, permettant ainsi à celui-ci de mieux jouer son rôle d'anti-ulcéreux (Myan *et al*, 1977)

D) Cancérologie

L'AREB®, un produit commercialisé riche en anthocyanosides extraits du fruit de *Vaccinium myrtillus* a été étudié en tant que **protecteur contre la myélotoxicité** d'un anticancéreux, le 5-fluorouracile (5-FU). Ce médicament utilisé lors de chimiothérapie, de part sa toxicité, voit ses limites en clinique. L'étude a démontré que les patients traités par le 5-fluorouracile et l'AREB ont vu leur activité cellulaire dans la moelle osseuse plus élevée que ceux traités uniquement par la 5-FU.

Une étude menée en 2007 par Matsunaga *et al*, montre que les extraits de *Vaccinium myrtillus* **inhibent l'angiogenèse**, procédé physiologique qui peut se dérégler dans certains cancers, cette activité pourrait trouver sa place en adjuvant de chimiothérapie dans certains cancers.

Chez les rats traités par un carcinogène, les extraits riches en anthocyanosides de *Vaccinium myrtillus* protègent contre la **carcinogénèse du colon** (Lala *et al.*, 2006). Le but de l'étude a été de démontrer une activité protectrice d'extrait riches en anthocyanosides venant de *Vaccinium myrtillus*, *Aronia melanocarpa* et de *Vitis vinifera* en évaluant des biomarqueurs présents dans un colon de rat cancérisé grâce à un carcinogène, l'azoxyméthane. Deux groupes de rats ont été utilisés, l'un servant de contrôle et l'autre avec une supplémentation d'extraits riches en anthocyanosides. Les biomarqueurs évalués ont été le nombre et la multiplicité de foyers cellulaires aberrants, la prolifération de colonies cellulaires, la concentration de débris d'ADN présents dans les urines et l'expression des gènes des cyclooxygénases. L'étude a conclu qu'il existait une différence significative entre les deux groupes, avec une inhibition des biomarqueurs pour le groupe supplémenté avec les extraits d'anthocyanosides.

E) Neurologie

Une propriété remarquable du jus de *Vaccinium myrtillus* est sa capacité à restaurer la mémoire des rats âgés : démontré par Joseph *et al* (2003) cet effet a été confirmé depuis par d'autres équipes. De plus, les observations d'une protection des anthocyanosides contre la peroxydation de lipides (Bao *et al*, 2008) affirment ce rôle de protecteur des membranes cellulaires neuronales. *Vaccinium myrtillus* pourrait avoir un rôle à jouer dans des maladies neurodégénératives telles qu'Alzheimer, même s'il n'existe aucun traitement efficace à ce jour.

F) Activité cardiovasculaire

En 2009, Persson *et al*, observent que des cellules endothéliales humaines, incubées avec des extraits de *Vaccinium myrtillus* montrent **une inhibition de l'enzyme de conversion**, protéine responsable de l'activation de l'angiotensine. Ces extraits ont le potentiel de prévenir et de protéger contre certaines maladies cardiovasculaires.

G) Hygiène des voies urinaires

Vaccinium myrtillus compte au moins certaines des propriétés bénéfiques de la canneberge : Ces deux plantes sont des bons compléments au soin des infections des voies urinaires. Les flavonoïdes tels que la **proanthocyanidine** en particulier permettent de prévenir les cystites à répétition. Ils sont en effet capables d'empêcher les bactéries responsables d'infections de se fixer sur la paroi de la vessie (Nohynek *et al*, 2006)

A remarquer que la canneberge (*Vaccinium oxycoccos*) reste la plante dont le fruit est le plus riche en ces composés, et donc celle utilisée en phytothérapie le plus fréquemment.

III) Pharmacocinétique

Le métabolisme des anthocyanosides de quelques baies dont celles de *Vaccinium myrtillus* a été étudié dans une étude récente par Nurmi *et al* (2009). On a donné une purée de baie de myrtilles à six sujets humains avec et sans avoine.

Le mélange purée+avoine contient 1435 μ moles (micromoles) d'anthocyanosides et 339 μ moles d'acides phénoliques. L'excrétion urinaire de 18 acides phénoliques a augmenté jusqu'à 241 μ moles pendant 48 heures suite à l'ingestion de la purée+avoine. Le pic d'excrétion a été obtenu après 4 à 6 heures après la supplémentation en purée+avoine et 2 heures plus tôt après ingestion de la purée seule. On constate donc une augmentation du temps d'élimination des anthocyanosides et des acides phénoliques lors d'administration cumulée avec de la nourriture.

Sur les métabolites détectés dans l'urine, l'acide vanillique et homovanillique sont les plus abondants, et sont en partie obtenus à partir des anthocyanosides. Il n'a pas été détecté d'acide gallique, fragment de la delphinidine. Cependant les anthocyanosides ont été partiellement fragmentés en acides phénoliques, une grande partie des métabolites restent inconnus.

IV) Toxicologie

Comme tout fruit frais, les baies fraîches peuvent causer la diarrhée chez certaines personnes, mais elles ne sont cependant pas considérées comme toxiques. De plus, en Allemagne par exemple, la Commission E considère que la feuille de myrtille ne possède aucune des activités qui lui sont traditionnellement attribuées. De plus, elle souligne qu'il existe un risque d'intoxication lié aux fortes doses ou à une utilisation chronique. Elle n'en recommande donc pas l'emploi.

Le fruit peut être à l'origine d'une parasitose, l'échinococcose. *Echinococcus multilocularis* est un petit ver qui parasite les renards et les chiens et peut contaminer l'homme lors d'ingestion d'aliments contaminés par les déjections de ces animaux. Même si la prévalence d'échinococcose est faible (15 cas par an en France), c'est une maladie grave et qui peut être simplement évitée : ne pas ramasser les fruits les plus près du sol, laver systématiquement les fruits et les légumes. Les œufs d'échinocoque craignent la chaleur, et donc la cuisson les détruit. Et règle d'hygiène de base, se laver les mains après avoir touché la terre ou un animal et avant de passer à table.

Il existe dans la nature d'autres baies, noires, rondes et attirantes mais qui ne sont pas comestibles. Il existe surtout une confusion possible avec la belladone (*Atropa belladonna*) : c'est une plante dont le fruit est une baie noire facilement confondue par les enfants avec celle de *Vaccinium myrtillus*. 3-5 baies représentent une dose suffisante pour être mortelle chez les enfants car la baie contient des alcaloïdes (hyoscyamine le plus important : 90%). Ces alcaloïdes sont responsables de l'activité parasympatholytique de la plante (antispasmodique, bronchodilatateur, diminue les sécrétions, tachycardie, mydriase) et sont donc responsables des symptômes lors d'ingurgitation de doses toxiques : rubéfaction de la face, soif vive (sécheresse de la bouche et des muqueuses), tachychardie, mydriase et hyperthermie.

Quatrième Partie : emplois

I) Emplois officiels en thérapeutique et spécialités

A) Indications

(Vallat 1972, Pourrat 1977)

Les indications dégagées à partir des études cliniques sont :

- Maladies artérielles :
 - o Athérosclérose
 - o Artérite
 - o Coronarite
 - o Hypertension artérielle (troubles vasculaires secondaires)
 - o Troubles vasculaires chorio-rétiniens et troubles vasculaires des diabétiques
 - o Maladie de Raynaud
- Maladies veineuses :
 - o Jambes lourdes
 - o Sequelles de phlébites
 - o Varices
 - o Ulcères variqueux
 - o Insuffisance veineuse de la grossesse
 - o Syndrôme prémenstruel
 - o Hémorroïdes
 - o Engelures
 - o Capillaroses hémorragiques des diabétiques
 - o Purpuras et dermatoses purpuriques
 - o Sénescence vasculaire
- En ophtalmologie :
 - o Dégénérescences dues au vieillissement (cataracte, DMLA)
- Autres indications
 - o Prévention des hémorragies dues aux anticoagulants

B) Effets secondaires

La tolérance est excellente en général. Quelques troubles digestifs ont été rapportés (VIDAL 2007). De plus le surdosage des préparations à partir de feuilles pourrait être toxique. Cependant l'intoxication se manifeste à des doses quotidiennes de 90 grammes à 120 grammes pour un être humain, ce qui représente environ dix fois la dose traditionnellement recommandée.

C) Spécialités pharmaceutiques

1) En allopathie

Difrarel® 100 (laboratoire MERCK et DOHME CHIBRET):

Se présente sous forme de comprimé enrobé bleu clair, en étui de 20 comprimés.

Composition :

- Vaccinium myrtillus, extrait anthocyanosidique : 100 mg/ comprimé
- Bêta-carotène : 5 mg/ cp

Indications particulières (Vidal 2004)

Traitement d'appoint des manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolympatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences du primodécubitus)

Ces indications sont celles données lors de l'obtention d'AMM (autorisation de mise sur le marché) et servaient au remboursement du médicament. Celui-ci n'est plus remboursé par la sécurité sociale depuis 2006, sous un motif de service médical rendu insuffisant.

Posologie :

3 à 6 comprimés par jour

Difrarel® E :

Se présente sous forme de comprimé enrobé blanc, en boîte de 24 comprimés.

Composition :

- Vaccinium myrtillus, extrait anthocyanosidique : 50 mg/cp
- acétate d'alpha tocophérol ou vitamine E : 50 mg/cp

Indications :

Traitement d'appoint des troubles de la vision mésopique et scotopique (Caractères de la vision quand la rétine est excitée par une lumière de faible intensité), myopie. Même si les dernières études réfutent maintenant ces indications, elles confirment aussi le fait que ce médicament peut jouer un rôle dans la prévention des maladies oculaires liées à l'âge : glaucome, cataracte et DMLA. On peut aussi lui associer de grandes capacités anti-oxydantes (La vitamine E est aussi une vitamine antioxydante).

Posologie :

3 à 6 comprimés par jour

Remarque : on retrouve les doses utilisées lors d'essais pharmacologiques (entre 300 mg et 600 mg d'extraits d'anthocyanosides par dose, avec ici une administration de la dose sur 24h)

Meralops® (laboratoire Dulcis) : comprimé enrobé à 200 mg de chlorure de cyanosides. Le chlorure de cyanoside est un produit obtenu par synthèse chimique et non par extraction végétale.

Remarque : Il existe beaucoup de sites sur internet mettant en vente des produits contenant des extraits de Vaccinium myrtillus. Ces produits sont indiqués comme toniques vasculaires et angioprotecteurs.

Exemple : Venapro : contient 50 mg d'extrait de baie de Vaccinium myrtillus par capsule mais aussi d'autres plantes comme le marron d'inde (*Equisetum arvense*). Ce produit est commercialisé en tant que traitement contre les hémorroïdes.

Il existe beaucoup de produits qui peuvent être vendus librement en pharmacie et parapharmacie, mais ces produits ne sont pas considérés comme des médicaments

mais plutôt comme des produits de confort, des compléments alimentaires ou des produits diététiques. Beaucoup de produits sont vendus aussi sur internet, une thèse d'exercice s'est intéressée de près à ses produits et ainsi permettre de mieux s'y retrouver (thèse : vente d'antioxydants sur internet et rôle du pharmacien dans le conseil officinal, Ferry Yann, Nancy, 2008).

2) En homéopathie

Diabène® (laboratoire Lehning) : complexe homéopathique contenant *Vaccinium Myrtillus* à 2D (décimales hahnemaniennes) et utilisé lors de surcharges métaboliques.

En homéopathie diathésique, *Vaccinium myrtillus* en teinture mère fait parti des remèdes du groupe de l'Aluminium (Kollitsch, 1955) : dans le cas d'urines troubles et pyurie au cours d'une affection intestinale aiguë (dysenterie, typhoïde...).

II) Emplois dans la médecine populaire

A) Usage interne

Depuis très longtemps, la baie de *Vaccinium myrtillus* est réputée pour ses effets bénéfiques dans les maladies du tube digestif et dans le traitement des hémorroïdes.

Les tisanes faites à partir des feuilles et des baies séchées sont utilisées pour traiter la diarrhée et soulager les nausées et les indigestions. L'action astringente des tanins explique l'efficacité de *Vaccinium M.* dans le traitement des troubles digestifs et dans le traitement superficiel des inflammations bénignes des muqueuses buccale et de la gorge.

Remarque : les baies fraîches possèdent quant à elles un pouvoir purgatif par l'effet irritant des acides.

1) Maladies du tube digestif

L'action bénéfique des baies de myrtille peut se comprendre par :

- Leur acidité (acidité qui entrave la multiplication des germes de putréfaction)
- Leur action astringente (tanins) et antimicrobienne
- L'action anti-inflammatoire et cicatrisante des anthocyanosides qu'elles contiennent.

Les baies séchées de *Vaccinium myrtillus* sont indiquées dans les diarrhées, les entérites et les colites ainsi que dans les infections intestinales (dysenterie notamment)

Diarrhée :

Décoction. Plonger de 30 g à 60 g de fruits séchés dans 1 litre d'eau froide. Amener à ébullition et laisser mijoter doucement durant dix minutes. Filtrer pendant que la préparation est encore chaude. Laisser refroidir et garder au réfrigérateur. Boire jusqu'à six tasses par jour au besoin. Consulter un médecin si la diarrhée persiste plus de trois ou quatre jours

2) Autres indications

L'utilisation dans les inflammations de la bouche, de la gorge et dans les hémorroïdes s'explique par l'action astringente des tanins et des anthocyanosides.

- Inflammation des muqueuses de la bouche et de la gorge

Se rincer la bouche ou se gargariser avec la préparation suivante : faire une décoction en plongeant 100 g de fruits séchés dans 1 litre d'eau froide. Amener à

ébullition et laisser mijoter doucement durant dix minutes. Filtrer pendant que la préparation est encore chaude. Laisser refroidir et garder au réfrigérateur.

Remarque : les baies fraîches possèdent quant à elles un pouvoir purgatif par l'effet irritant des acides.

B) Usage externe

Les propriétés astringentes, cicatrisantes, anti-inflammatoires et antiseptiques de la baie et de ses constituants justifient ces emplois.

Dans les affections de la peau principalement :

- Eczéma
- Couperose
- Dermatitis avec démangeaisons
- Brûlures

C) Formes galéniques

- Baies fraîches ou sèches : 50-100 grammes par litre
- Décoction de baies : 50 grammes/litre environ ; 150 g/litre en usage externe, bouillir 20 à 30 minutes ; 4 à 6 tasses par jour dans l'entérite aiguë.
- Teinture : 100 grammes dans 1 litre d'alcool à 80° pendant 15 jours au soleil. Filtrer. Posologie : 20 gouttes dans un peu d'eau tiède avant les repas. (Cecchini 1975, selection 1987)

III) Emplois en cosmétologie

Les propriétés astringentes des tanins et les propriétés antioxydantes des polyphénols, inhibitrices de l'élastase et protectrices du collagène sont intéressantes en cosmétologie pour les produits utilisés face au vieillissement cutané et à l'apparition des rides. Les polyphénols protègent le collagène présent au niveau cutané et ainsi permettent le maintien d'une bonne élasticité de la peau. De plus leur activité antioxydante lutte contre le vieillissement des cellules du derme, afin que celles-ci gardent leur activité.

Par exemple Caudalie vient de sortir une gamme de produits à base de polyphénols extraits de *Vitis vinifera*.

IV) Emplois dans l'alimentation

Les anthocyanosides sont des composés atoxiques et ne présentant que très peu d'incompatibilités. Ils sont utilisables comme colorants pharmaceutique et alimentaires.

Ils sont autorisés dans l'alimentation dans la CEE (colorant E 163) et dans le Royaume Uni (groupe A : autorisé pour l'usage dans l'alimentation).

Pour être utilisable dans l'alimentation, ces pigments doivent être extraits de végétaux comestibles. Cependant, leur sensibilité aux variations de pH, à la température et à l'oxygène, leur insolubilité dans les lipides limitent leur utilisation en France (Brunneton , 1987)

V) Règlements

Comme toute matière première d'origine végétale autorisée en France pour la fabrication de médicaments ou pour être utilisés en tant que tels, les organes de *Vaccinium myrtillus* sont soumis à une réglementation. Ces réglementations sont recensées dans un recueil à caractère officiel, la pharmacopée européenne.

MYRTILLE (FRUIT FRAIS DE)

Vaccinii fructus recens

La partie utilisée de la myrtille (ou airelle) est constituée par le fruit frais (baie polysperme) de *Vaccinium myrtillus* L.

CARACTÈRES

Le fruit frais de myrtille a une saveur douce et sucrée, un peu astringente, légèrement acidulée avant maturité.

Le fruit, de couleur noir-bleu, est globuleux, un peu déprimé à son sommet, de diamètre variant de 4 mm à 8 mm et couvert d'une très fine pruine. La pulpe est fortement colorée en rouge-violet et renferme un grand nombre de graines de très petite taille.

IDENTIFICATION

Le fruit frais de myrtille présente les caractères macroscopiques précédemment décrits.

ESSAI

Éléments étrangers (V.4.2). Le taux des éléments étrangers n'est pas supérieur à 2,0 pour cent (feuilles et débris de rameaux).

Extrait sec du jus. Broyez 10 g environ de fruit frais de myrtille. Centrifugez à 3 000 g pendant 10 min. Diluez le surnageant (appelé jus de fruit) au 1/5 avec de l'eau distillée. Introduisez 2 ml de cette solution dans une capsule contenant 2 g à 3 g de sable R, préalablement séché, et tarée. Placez 16 h à l'étuve à 60 °C. Pesez. L'extrait sec est au minimum de 9,0 pour cent *m/V*.

Anthocyanosides. Broyez 10 g de fruit frais de myrtille. Centrifugez à 3 000 g pendant 10 min. Diluez le surnageant au 1/100 avec la solution tampon phosphorique pH 2,0 R. L'absorbance (V.6.19) mesurée à 516 nm est au minimum de 0,65.

Chromatographie. Opérez par chromatographie sur couche mince (V.6.20.2) en utilisant une plaque recouverte de cellulose pour chromatographie R.

Solution à examiner. Dans un ballon à col rodé, chauffez à reflux 10 ml de jus de fruit de myrtille tel qu'obtenu dans l'essai « Extrait sec du jus » additionnés de 1,5 ml d'acide chlorhydrique R pendant 1 h 30 min. Laissez refroidir à température ambiante, filtrez sur papier, introduisez le filtrat dans une ampoule à décanter et traitez avec 5 ml d'alcool isoamylique R.

Solution témoin (a). Solution de chlorure de cyanidine R à 2 pour cent *m/V* dans du méthanol R.

Solution témoin (b). Solution de chlorure de delphinidine R à 2 pour cent *m/V* dans du méthanol R.

Solution témoin (c). Solution de chlorure de malvidine R à 2 pour cent *m/V* dans du méthanol R.

Déposez séparément sur la plaque 30 μ l de la solution à examiner et 15 μ l de chacune des solutions témoins. Développez sur un parcours de 10 cm avec un mélange de 3 volumes d'acide chlorhydrique R, de 10 volumes d'eau et de 30 volumes d'acide acétique R. Séchez la plaque dans un courant d'air. Examinez à la lumière du jour. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente trois taches principales, rouge à rouge bleuté semblables quant à leur position et leur coloration aux taches principales des chromatogrammes obtenus avec les solutions témoins (a) (b) et (c). Il présente également, au-dessus de ces taches, une tache rouge-violet à un R_f voisin de 0,80.

CONSERVATION

A l'abri de la lumière et de l'humidité.

MYRTILLE (FRUIT SEC DE)

Vaccinii fructus siccus

La partie utilisée de la myrtille (ou airelle) est constituée par le fruit sec (baie polysperme) de *Vaccinium myrtillus* L.

CARACTÈRES

Le fruit sec de myrtille a une saveur aigre-douce, légèrement astringente.

Les baies sont ratatinées, arrondies, bleu-noir ; elles mesurent de 4 mm à 7 mm, comportent une cicatrice de pédoncule ou, parfois, un fragment de ce dernier à la base du fruit ; au sommet, on remarque un petit disque entouré d'un faible rebord. La baie se compose de 5, ou plus rarement de 4, petites loges contenant de nombreuses graines très petites, brun-rouge. Le mésocarpe charnu est bleu-noir.

Examinée au microscope, la section transversale révèle un épiderme externe à cellules généralement allongées tangentiellement, à parois légèrement épaissies. Le mésocarpe est constitué essentiellement par un parenchyme lacuneux à parois minces dont le contenu est bleu. L'épiderme interne du fruit et les cloisons des loges contiennent de nombreux amas de cellules à parois minces et percées de ponctuations.

IDENTIFICATION

Le fruit sec de myrtille présente les caractères macroscopiques précédemment décrits.

ESSAI

Éléments étrangers (V.4.2). Le taux des éléments étrangers n'est pas supérieur à 2,0 pour cent (feuilles et débris de rameaux).

Préparation P. A 50 g de fruit sec de myrtille, placés dans un vase à précipiter de 250 ml, ajoutez 110 g d'eau, bouchez, pesez et maintenez à 30 °C pendant 60 h environ en agitant de temps en temps. Réajustez à la masse initiale, si nécessaire.

Extrait sec du jus. Broyez 10 g environ de préparation P. Centrifugez à 3 000 g pendant 10 min. Diluez le surnageant (appelé jus de fruit) au 1/5 avec de l'eau distillée. Introduisez 2 ml de cette solution dans une capsule contenant 2 g à 3 g de sable R, préalablement séché, et tarée. Placez 16 h à l'étuve à 60 °C. Pesez. L'extrait sec est au minimum de 9,0 pour cent *m/V*.

Anthocyanosides. Broyez 10 g de préparation P. Centrifugez à 3 000 g pendant 10 min. Diluez le surnageant au 1/100 avec la solution tampon phosphorique pH 2,0 R. L'absorbance (V.6.19) mesurée à 516 nm est au minimum de 0,60.

Chromatographie. Opérez par chromatographie sur couche mince (V.6.20.2) en utilisant une plaque recouverte de cellulose pour chromatographie R.

Solution à examiner. Dans un ballon à col rodé, chauffez à reflux 10 ml de jus de fruit de myrtille tel qu'obtenu dans l'essai « Extrait sec du jus » additionnés de 1,5 ml d'acide chlorhydrique R pendant 1 h 30 min. Laissez refroidir à température ambiante, filtrez sur papier, introduisez le filtrat dans une ampoule à décanter et traitez avec 5 ml d'alcool isoamylique R.

Solution témoin (a). Solution de chlorure de cyanidine R à 2 pour cent *m/V* dans du méthanol R.

Solution témoin (b). Solution de chlorure de delphinidine R à 2 pour cent *m/V* dans du méthanol R.

Solution témoin (c). Solution de chlorure de malvidine R à 2 pour cent *m/V* dans du méthanol R.

Déposez séparément sur la plaque 30 µl de la solution à examiner et 15 µl de chacune des solutions témoins. Développez sur un parcours de 10 cm avec un mélange de 3 volumes d'acide chlorhydrique R, de 10 volumes d'eau et de 30 volumes d'acide acétique R. Séchez la plaque dans un courant d'air. Examinez à la lumière du jour. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente trois taches principales, rouge à rouge bleuté semblables quant à leur position et leur coloration aux taches principales des chromatogrammes obtenus avec les solutions témoins (a) (b) et (c). Il présente également, au-dessus de ces taches, une tache rouge-violet à un R_f voisin de 0,80.

Perte à la dessiccation. (V.6.22). Déterminée à l'étuve à 100-105 °C sur 1,00 g de fruit sec de myrtille, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 12,0 pour cent.

CONSERVATION

A l'abri de la lumière et de l'humidité.

Conclusion :

La famille des éricacées est répandue dans le monde entier, mais se localisent dans des régions spécifiques : zones tempérées, froides, hautes montagnes. Elles sont adaptées à des terrains acides et pauvres, ce qui amène certains problèmes lorsque l'on veut les cultiver. L'écosystème de *Vaccinium myrtillus* est un équilibre fragile entre l'influence qu'a la myrtille sur son environnement de part sa composition chimique (lyoniside, acide chlorogénique) et l'influence de l'environnement sur cette plante (chaleur, composition du sol, pollution).

Les usages de *Vaccinium myrtillus* en phytothérapie, en médecine traditionnelle, dans l'alimentation montrent que la myrtille possède des utilisations multiples et variées, parfois très anciennes. La science a permis de mieux définir certaines de ces activités, d'en identifier d'autres et de s'intéresser à sa composition. *Vaccinium myrtillus* possède une composition chimique complexe, pas encore totalement bien définie. Certains de ses composés sont tout de même très bien connus : les polyphénols et en particulier les anthocyanosides. Ils sont à l'origine des activités les plus connues et les plus recherchées en thérapeutique ; leur capacités antioxydantes, astringentes, inhibitrices de l'élastase et protecteur du collagène suscitent des intérêts certains dans la protection contre le vieillissement, la dégradation des matrices extracellulaires de l'organisme. On retrouve ces polyphénols utilisés dans des traitements de protection des vaisseaux sanguins (au niveau des jambes surtout), contre le vieillissement cutané.

Mais les anthocyanosides présents chez *Vaccinium myrtillus* sont au centre d'études ayant démontré qu'ils possèdent des activités autres et présentant des intérêts en thérapeutique : en cancérologie, neurologie et ophtalmologie, des recherches sont faites pour vérifier l'implication de *Vaccinium myrtillus* dans les soins de maladies qui ne possèdent aucun traitement jusque maintenant. De plus les capacités allélopathiques de *Vaccinium myrtillus* pourraient avoir intérêt certain pour l'agriculture moderne, en tant qu'herbicide naturel.

Cela montre qu'il reste encore de beaux jours pour cette plante, qui confirme ses intérêts en thérapeutique et à qui il semble fleurir un avenir prometteur.

Bibliographie :

Académie nationale de pharmacie

Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques, 1997; (III):98

Acquaviva R., Russo A., Galvano F., Galvano G., Barcellona M.L., Li Volti G., Vanella A.

"Cyanidin and cyanidin 3-O-beta-D -glucoside as DNA cleavage protectors and antioxidants", Cell. Biol. Toxicol., 2003;(19):243

Anthony JP, Fyfe L, Stewart D, McDougall GJ, Smith HV

The effect of blueberry extracts on Giardia duodenalis viability and spontaneous excystation of Cryptosporidium parvum oocysts, in vitro Methods, 2007; 42(4):339-48

Anton R., Wichtl M.

Plantes thérapeutiques, Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Tec & Doc Lavoisier, 2^{ème} édition, 2003 : p. 407-413

Bao L., Xin-Sheng Yao, Chin-Chin Yau, Daniel Tsi, Chew-Sern Chia, Hajme Nagai, Hiroshi Kurihara

"Protective effects of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract on restraint stress-induced liver damage in mice" J. Agric. Food Chem., 2008 ;(49):455-458

Bao L., Yao XS., Tsi D., Yau CC., Chia CS., Nagai H., Kurihara H.

"Protective effects of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract on KBrO₃-induced kidney damage in mice", J. Agric. Food Chem., 2008; (56): 420-425

Bere E

Wild berries: a good source of omega-3, Eur Jou Cli Nu , 2006; (61):431-433

Bertuglia S., Malandrino S., Colantuoni A.

Pharmacol. Res., 1995 ; (31) : 183-187

Boniface R., Miskulin M., Robert L., Robert A.M.

"Flavonoids and Bioflavonoids, 1985", L. Farkas, M. Gábor, F. Kallay (Eds), Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokio 1986: 293-301

Bonnier Gaston

Flore complète de France, Suisse et Belgique, Belin, 1998 ; (VII) : 52-53

Boudet Alain-Michel

Texte de la 9ème conférence de l'Université de tous les savoirs réalisée le 9 janvier 2000

Brenneisen R., Steinegger Et.

Aur analytik der Polyphenole der Früchte von Vaccinium myrtillus L (Ericaceae)
Pharm. Acte Helv., 1981 ;(56):180-185, 341-343

Brouillard R., Dangles O.

The Flavonoids: Advances in Research Since 1986, Chapman & Hall, 1993: p.565-588

Brunneton J.

Elements de phytochimie et de pharmacognosie, Tec & Doc (Lavoisier), 1987

Burdulis D, Sarkinas A, Jasutiené I, Stackevicené E, Nikolajevs L, Janulis V

Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (Vaccinium myrtillus L.) and blueberry (Vaccinium corymbosum L.) fruits,
Acta Pol Pharm., 2009 ;66(4):399-408

Burte Jean-noël

Le bon jardinier, encyclopédie horticole, Maison rustique (La), 1995 ;(III) : 2646-2647

Cairney J.W.G. , Meharg A.A

Ericoid mycorrhiza: a partnership that exploits harsh edaphic conditions. European Jou of Soil Sci, 2003 ;(54):735-740

Canter P.H., Ernst E.

Anthocyanosides of Vaccinium myrtillus (bilberry) for night vision--a systematic review of placebo-controlled trials, Surv. Ophthalmol., 2004 ; 49(1) : 38-50

Carnat A., Fraisse D., Lamaison J.-L.

Composition poly phénolique de la feuille de myrtille, Annales pharmaceutiques françaises, 1996 ;6 (54) :280-283

Catling P.M., Small E.

Les cultures médicinales canadiennes, Les Presses scientifiques du CNRC, Ottawa, 2000, 281 p.

Cecchini T.

Encyclopédie des plantes médicinales, Hachette, 1975

Chen, Jihua, Uto, Takuhiro, Tanigawa, Shunsuke, Kumamoto, Takuma, Fujii, Makoto and Hou, De-Xing

"Expression Profiling of Genes Targeted by Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) in Macrophages Through DNA Microarray", *Nutrition and Cancer*, 2008;1(60): 43 - 50

Cotereau H., Gabe M., Géro E., Parrot J.L.

Influence of Vitamin P (Vitamin C2) upon the Amount of Ascorbic Acid in the Organs of the Guinea Pig, *nature*, 1948; (161): 557-558

Couplan Francois et Stinner Eva

Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques, les guides du naturaliste, Delachaux et Niestlé, 2002, 415 pages

Curri B.S., Bombardelli E.

Therapia Angiol. 1976 ;(32) : 117

Deividas Burdulis, Liudas Ivanauskas¹, Vidmantas Dirsė, Saulius Kazlauskas, Almantas Ražukas

*Study of diversity of anthocyanin composition in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits*, *Medicina*, 2007; 43(12): 514-515

Ducerf Gérard

Guide ethnobotanique de Phytothérapie, Promonature, 2006 : p.211-212

Dupont P.

Atlas partiel de la flore de France, Muséum d'histoire naturelle, 1990, 442 pages

Ehala S., Vaher M., and Kaljurand M.

Characterization of Phenolic Profiles of Northern European Berries by Capillary Electrophoresis and Determination of their Antioxidant Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005 ;(53):6484-6490

Elroy Leon Rice

Allelopathy, Second Edition, Academic Press, 1984: p.422

Fereidoon Shahidi, Marian Naczk

Phenolics in Food and Nutraceuticals, CRC Press, 2004, 576 pages

Ferretti C., Magistretti M.J., Robotti A., Ghi P., Genazzani E.

Vaccinium-Myrtillus Anthocyanosides Are Inhibitors of Cyclic Amp and Cyclic Gmp Phosphodiesterases, *Pharmacol. Res. Commun.* 1988 ; 2(20) : 150

Friedrich H., Schonert J.

Phytochemical investigation of leaves and fruits of Vaccinium Myrtillus, *Plant. Med.*, 1994; 24(1):90-110

Frohne D.

Vaccinium myrtillus L., Die Heidelbeere. *Zeitschr. Für Phyt* 6: 209-14

Garnier G., Bezanger-Beauquesnes L., Debraux G.

Ressources médicinales de la flore de France, Vigot Frères, 1961; (2): p.964-965

Giovanelli G., Buratti S.

Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties, *Food Chem*, 2009; 112 (4): 903-908

Goetz P.

Vaccinium myrtillus, Ribes nigrum, anthocyanosides and retinopathy, *Phytothérapie*, 2008 ; 6(2) :122-124

Guignard J-L., Dupont F.

Botanique. Abrégés Masson. 12^{ème} édition, 2007 : p.245-248

Hilz H, de Jong LE, Kabel MA, Verhoef R, Schols HA, Voragen AG

Bilberry xyloglucan--novel building blocks containing beta-xylose within a complex structure, *Carbohydr Res.*, 2007; 342(2): 81-170

Honkavaara, J., Siitari, H., Saloranta, V., & Viitala, J.

Avian seed ingestion changes germination patterne of bilberry, Vaccinium myrtillus. *Ann. Bot. Fennici*, 2007; (44) : 8-17

Hurabielle M., Paris M.

Abrégé Masson de matière médicale-pharmacognosie, 1981 ; (1) : 82-85, 98-107

Ihalainen, M., Alho, J., Kolehmainen, O., Pukkala, T.

Expert models for bilberry and cowberry yields in Finnish forests Forest Eco and Manage 2002; (1-3):15-22

Ichiyanagi T., Hatano Y., Matsugo S., Konishi T.

Method Development for Determination of Anthocyanidin Content in Bilberry (Vaccinium myrtillus L) Fruits, New Tech. & Med., 2003; (4): 788

Jaakola L., Määttä-Riihinen K., Kärenlampi S. and Hohtola A.

Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (Vaccinium myrtillus L.) leaves, Planta, 2004; (218): 721–728

Jonadet M, Meunier MT, Bastide J, Bastide P

[Anthocyanosides extracted from Vitis vinifera, Vaccinium myrtillus and Pinus maritimus. I. Elastase-inhibiting activities in vitro. II. Compared angioprotective activities in vivo], J Pharm Belg. 1983; 38(1):41-6

Joseph J.A. et coll.

Blueberry supplementation enhances signaling and prevents behavioral deficits in an Alzheimer disease model, Nutri Neuro 6, 2003; (3): 153-62

Kalt W., Charles F. Forney, Antonio Martin, and Ronald L. Prior

Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins after Fresh Storage of Small Fruits, J. Agric. Food Chem., 1999; (47): 4638-4644

Kollitsch P., Martiny M.

Homéopathie : matière médicale, thérapeutique (les précis pratiques), Maloine, 1955, 830 pages

Krausel Richard

Flore d'Europe II : Arbrisseaux, arbustes et arbres. Société française du livre, Erich Cramer, Planche 125

Kukla J., Kuklova M.

Growth of Vaccinium myrtillus L. (Ericaceae) in spruce forests damaged by air pollution, Pol Jou of Eco, 2008; (56-1): 149-155

Lala G, Malik M, Zhao C, He J, Kwon Y, Giusti MM, Magnuson BA

Anthocyanin-rich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats, Nutr Cancer. 2006; 54(1):84-93

Laplaud P.M., Lelubre A., Chapman M.J.

"Antioxidant action of Vaccinium myrtillus extract on human low density lipoproteins in vitro: initial observations.", Fundam. Clin. Pharmacol., 1997; (11): 35

Lee, J.-H., Park, J.H., Kim, Y.S., Han, Y.

Chlorogenic acid, a polyphenolic compound, treats mice with septic arthritis caused by Candida albicans, Intern Immunopharma, 2008; (12): 1681-1685

Maridonneau I., Braquet P., Garay R.P.

"Flavonoids and Bioflavonoids, 1981", L. Farkas, M. Gábor, F. Kállay, H. Wagner (Eds), Elsevier, Amsterdam, 1982: 427-436

Marques V., Farah A.,

Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions, Food Chem, 2009; 113(4): 1370-1376

Martín-Aragón S., Basabe B., Benedí J.M., Villar A.M.

Second International Symposium on Natural Drugs, Phytother. Res., 1997; 1(12): 104-106

Martín-Aragón S., Basabe B., Benedí J.M., Villar A.M.

Pharm. Biol., 1999 ; (37): 109

Martin L.

Les antioxydants, escalquens (France) :editions Dangles, 187 pages

Matsunaga N, Chikaraishi Y, Shimazawa M, Yokota S, Hara H

Vaccinium myrtillus (Bilberry) Extracts Reduce Angiogenesis In Vitro and In Vivo Evid Based Complement, Alternat Med., 2007; (45): 46-47

Matsunaga N, Imai S, Inokuchi Y, Shimazawa M, Yokota S, Araki Y, Hara H

Bilberry and its main constituents have neuroprotective effects against retinal neuronal damage in vitro and in vivo, Mol Nutr Food Res., 2009 ;53(7):869-77

Mavelli I., Rossi L., Autuori F., Braquet P., Rotilio G.

"Oxy Radicals Their Scavenger Syst.", Proc. Int. Conf. Superoxide Dismutase, 3dr 1982 , G. Cohen , R.A. Greenwald , Elsevier, New York, 1983: 326-329

Meunier M.T., Duroux E., Bastide P.

Acitivité radicalaire d'oligomères procyanosidiques et d'anthocyanosides vis-à-vis de l'anion superoxyde et vis-à-vis de la lipoperoxydation, Plant médicin. Phytothér., 1989 ; (23) : 267-274

Mian E., Curri B.S., Lietti A., Bombardelli E.

Anthocyanosides and the walls of microvessels: Further aspects of the mechanism of action of their protective in syndromes due to abnormal capillary fragility, Min. Med.,1977 ; (68) : 3565

Morazzoni P., Magistretti M.J.

Activity of Myrtocyan, anthocyanoside complex from Vaccinium myrtillus (VMA), on platelet aggregation and adhesiveness, Fitoterapia, 1990 : (61) : 13

Morazzoni P., Malandrino S.

Anthocyanins and their aglycons as scavengers of fre radicals and antilipoperoxydant agents, Pharmacol. Res. Comms., 1988 ; 2(20) : 254

Natura 2000

"Cahiers d'habitats". habitats forestiers 1(2), 33-34, 185-186, 223-224, 245-246

Nohynek LJ, Alakomi HL, Kähkönen MP, Heinonen M, Helander IM, Oksman-Caldentey KM, Puupponen-Pimiä RH

Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. nutr & cancer., 2006; 54(1):18-24

Nurmi T, Mursu J, Heinonen M, Nurmi A, Hiltunen R, Voutilainen S

Metabolism of berry anthocyanins to phenolic acids in humans, J Agric Food Chem. 2009; 57(6):2274-81

Persson IA, Persson K, Andersson RG

Effect of Vaccinium myrtillus and its polyphenols on angiotensin-converting enzyme activity in human endothelial cells, J Agric Food Chem. 2009; 57(11):4626-9

Petlevski, R., Hadžija, M., Slijepčević, M., Juretić, D.

Amino acids in Bilberry leaf, Chicory root and Black mulberry leaf (Myrtilli folium, Cichorii radix et Mori nigrae folium), Forest Ecology and Management, 2007, 242 (2-3), 391-397

Pifferi G, Malandrino S., Morazzoni P., Ferretti C.

XVIth International Conference of the Groupe Polyphenols, Lisbon, July 13-16, 1992 - Polyphenols Actualities, 1992; (8): 60

Piovella C., Curri B.S., Piovella M., Piovella F.

Therapia Angiol., 1979 ; (35) : 119

Piovella F., Ricetti M.M., Almasio P., Feoli F.R., Pesenti Campagnoni M., Castagnola C.

Characterisation and synthesis of some factor VIII related properties in cultured human endothelial cells, Min. Angiol., 1981; (6): 135

Pulliero G., Montin S., Bettini V., Martino R., Mogno C., Lo Castro G.

Ex vivo study of the inhibitory effects of Vaccinium myrtillus anthocyanosides on human platelet aggregation, Fitoterapia, 1989; (60): 69

Pourrat H., Bastide P., Tronche P., Pourrat A., Dorier P.

Préparation et activité thérapeutique de quelques glycosides d'anthocyanes, Bull. Chim. Thérap., 1967; 2(1): 33-38

Rasetti M.F., Caruso D., Galli G., Bosisio E.

Extracts of Ginko biloba L. leaves and Vaccinium myrtillus L. fruits prevent photo-induced oxidation of low density lipoprotein cholesterol, Phytomedicine, 1996; (3): 335

Robert A.M., Miskulin M., Godeau G., Tixier J.M.

"Frontiers of Matrix Biology", L. Robert (Ed), Karger, Basel, 1979; (7):336-349

Salmona M., Masturzo P., Cini M., Morazzoni P., Magistretti M.J.

"Flavonoids in Biology and Medicine III: Current Issues in Flavonoids Research.",
N.P. Das (Ed.), Singapore 1990: 475-480

Salvayre R., Braquet P., Perruchot Th., Douste-Blazy L.

« Flavonoids and Bioflavonoids, 1981 », L. Farkas, M. Gábor, F. Kállay, H. Wagner
(Eds), Elsevier, Amsterdam, 1982: 437-442

Sarma A.D., Sreelakshmi Y., Sharma R.

Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation, Phytochemistry,
1997; (45): 671

Sarni-Manchado P., Cheynier V.

Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, 2006 : p.398

Souci, Fachmann et Kraut

Répertoire général des aliments, REGAL (1995), 245 pages

**Sparrow JR, Vollmer-Snarr HR, Zhou J, Jang YP, Jockusch S, Itagaki Y,
Nakanishi K.**

*A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. Vitamin E and other
antioxidants inhibit A2E-epoxide formation*, J. Biol. Chem., 2003; 20(278): 18207-
18213

Szafer Wladyslaw

General plant geography. Translated from polish. 1975: 189-192

Szakiel A., Voutquenne-Nazabadioko L., Henry M.

*separation and structural analysis of lignan glycoside Isolated from vaccinium
myrtillus l. Rhizomes*, experimentation, 2008

Szakiel A., Henry M.

étude présentée lors du 7ème congrès joint de l' AFERP, ASP, GA, et PSE + PSI à
Athènes, 2008.

Tela Botanica

Vaccinium vitis-idaea subsp. vitis-idaea

Vallat G., Jambon C.

Compte rendu d'expérimentation du diffrairel 100, Lyon Méditerranée Méd., 1972, 8(12)

Vanstippen Marie-Jo

La myrtille commune (Vaccinium myrtillus), Cercle des Naturalistes de Belgique (CNB), les sources, 2005 (http://www.lessources-cnb.be/bota_vaccinium-myrtillus.pdf)

Vidal 2007

Diffrairel E, diffrairel 100

Vuong T, Benhaddou-Andaloussi A

Antiobesity and antidiabetic effects of biotransformed blueberry juice in KKA(y) mice. Int J Obes (Lond). 2009; (52): 1547-1551

Watson L., and Dallwitz, M.J.

The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval, Cambridge University Press, 2008

Wegge, P., Olstad, T., Gregersen, H., Hjeljord, O., Sivkov, A.V.

Capercaillie broods in pristine boreal forest in northwestern Russia: The importance of insects and cover in habitat selection, Canadian Jour of Zoo, 2005, 12 (83), 1547-1555

Witzell, J., Gref, R., Näsholm, T.

Plant-part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (Vaccinium myrtillus) plants, Biochemical Systematics and Ecology 2003, 31 (2), 115-127

Yang B., Koponen J., Tahvonen R., Kallio H.

Plant sterols in seeds of two species of Vaccinium (V. myrtillus and V. vitis-idaea) naturally distributed in Finland, European Food Research and Technology, 2002, 1 (216), 213-214

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 11 février 2010

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

présenté par ESPITALIER Jean

Sujet :

LA MYRTILLE (*Vaccinium myrtillus*) : BOTANIQUE,
CHIMIE, APPLICATIONS THERAPEUTIQUES

Jury :

Président : M. Max HENRY, Professeur

Juges : Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur
Mme Claire GODOT, Pharmacien

Vu,

Nancy, le 8 Février 2010

Le Président du Jury

Le Directeur de Thèse



M. HENRY

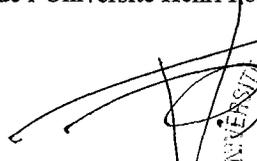
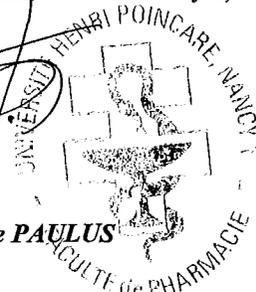


M. HENRY

Vu et approuvé,

Nancy, le

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 11.02.2010

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

Pour le Président
et par Délégation,
La Vice-Présidente du Conseil
des Etudes et de la Vie Universitaire,



Jean-Benoît PERRANCE
VICE-PRÉSIDENTE DU CONSEIL
DES ETUDES ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE

N° d'enregistrement : 3199

N° d'identification :

TITRE

La myrtille (*Vaccinium myrtillus*) : Botanique, chimie et intérêts thérapeutiques

Thèse soutenue le 11 février 2010

Par Jean ESPITALIER

RESUME :

Vaccinium myrtillus fait partie de la famille des Ericaceae, famille regroupant quelques 4100 espèces. C'est un sous-arbrisseau connu pour ses fruits, de petites baies noires-bleuâtres au goût sucré. C'est une plante difficile à cultiver de part sa sensibilité à un environnement particulier, on ne la retrouve donc qu'à l'état sauvage.

Sa composition, complexe, a fait l'objet d'études car certains de ses composés attirent l'intérêt des scientifiques et des industriels : les polyphénols et en particulier les anthocyanosides. La composition de la feuille et la composition du fruit sont les plus étudiés car ce sont ces organes qui sont utilisés en thérapeutiques.

La myrtille est étudiée aussi pour les nombreuses propriétés pharmacologiques qu'elle possède, et pour les propriétés pharmacologiques de ses composés. Les études récentes amènent de nouvelles perspectives d'utilisation thérapeutique pour cette plante.

Les utilisations de *Vaccinium myrtillus* sont nombreuses : en thérapeutique et depuis de nombreuses années en médecine traditionnelle, en cosmétologie, dans l'industrie et juste par gourmandise aussi.

De part la nature difficile à être cultivée, d'autres plantes possédant des composés similaires à *Vaccinium myrtillus* sont préférées en industrie, mais la myrtille possède des propriétés uniques qui lui vaudront toujours un intérêt certain.

MOTS CLES :

| Directeur de thèse | Intitulé du laboratoire | Nature |
|--------------------|--|--|
| Pr Max HENRY | Laboratoire de Botanique Faculté de Pharmacie | Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème 1 |

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle