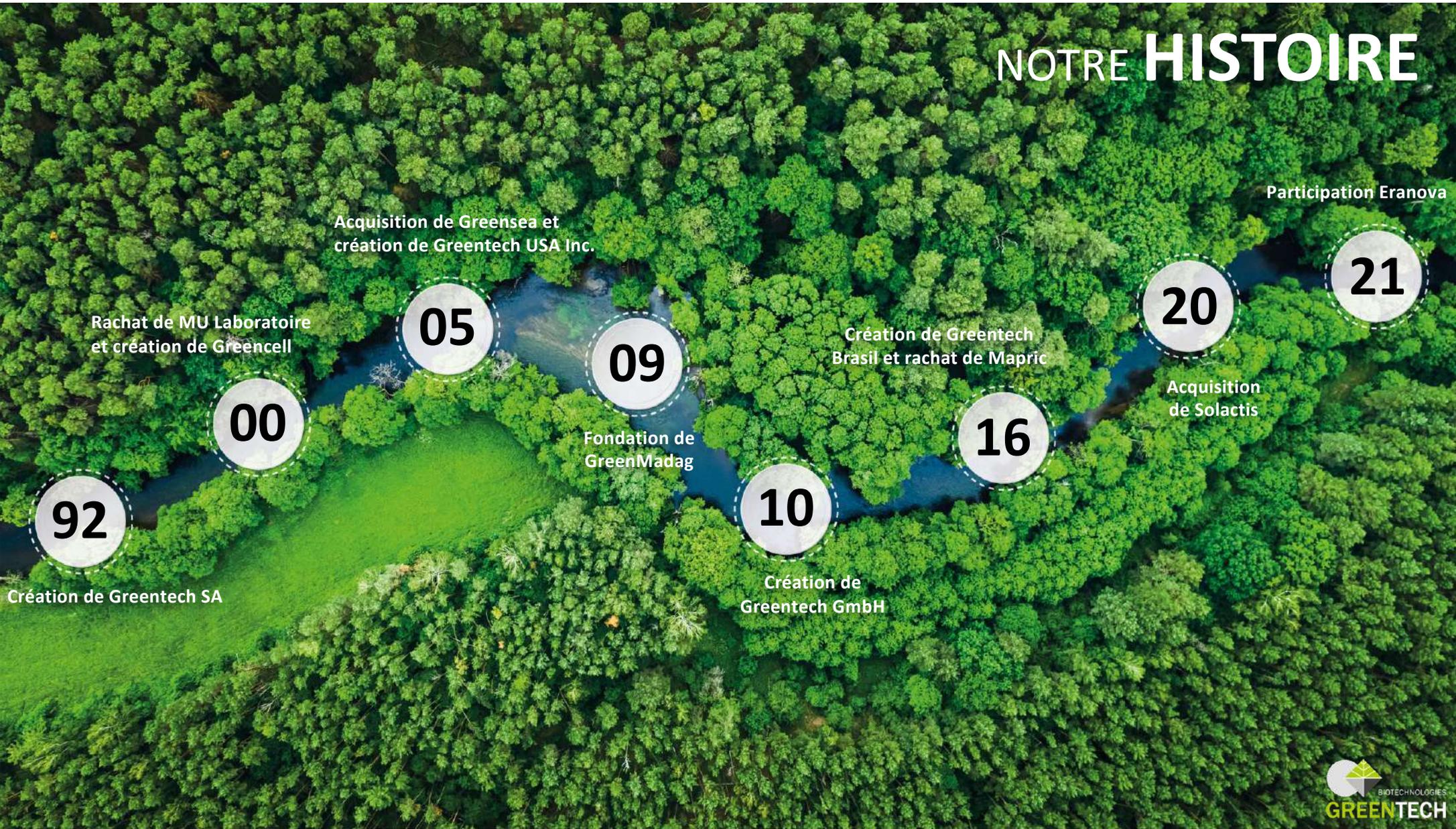


# Contrôle des plantes : HPTLC et analyse génétique, deux approches complémentaires

Edwige Ranouille, Responsable pharmacognosie  
Club de CCM – Juillet 2024



# NOTRE HISTOIRE



40 pays, 30 distributeurs,  
9 filiales et 5 sites de production.

# NOTRE TERRAIN DE JEU



●●●● Filiales  
● Distributeurs



# CHIFFRES CLÉS 2024



**45M€**  
CA 2023

**230**  
Collaborateurs

# GROUPE GREENTECH

## DES PRODUITS POUR L'AVENIR

Les entreprises du Groupe Greentech sont unies pour relever les défis de demain, en alliant innovation scientifique, durabilité et éthique.

### AGRO-ÉCOLOGIE



### ENVIRONNEMENT



### NUTRITION



### SANTÉ



### BIOPLASTIQUE



### COSMÉTIQUES





# Contrôle qualité des plantes



## Identification botanique

- Macroscopique
- Microscopique

## Identification phytochimique

- Profil HPTLC
- Quantification des marqueurs par HPLC

## Identification génétique

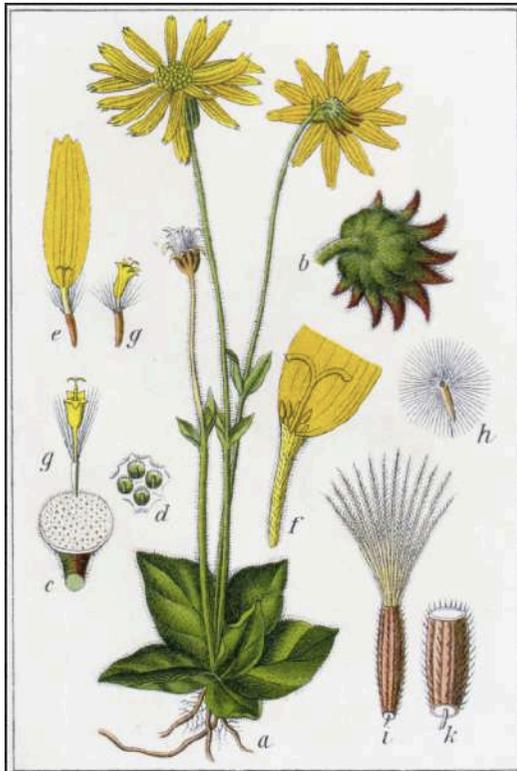
- Analyse ADN

→ Approches complémentaires



# Exemple 1 : *Arnica montana* L.

## *Arnica, Arnica montana* L., Astéracées



### Description botanique

Grand capitule de fleurs jaune orangé entouré par un involucre de bractées aigües poilues à l'extérieur

- Fleuron ligulé à 3 dents
- Fleuron tubulé à 5 lobes triangulaires

Stigmate à 2 branches incurvées vers l'extérieur

Feuille entière, oblongue, velue, en rosette



### Habitat

Plante vivace herbacée poussant en Europe, dans les prairies d'altitude

### Récolte

Fleur du milieu de l'été à l'automne  
En phase d'extinction à l'état sauvage  
A cultiver



# Exemple 1 : *Arnica montana* L.

## Composition chimique

Lactones sesquiterpéniques (hélénaline, 11,13-

dihydrohélénaline et esters) : amertume

Flavonoïdes (flavonols dérivés kaempférol, quercétine)

Acides phénols (acide chlorogénique et dérivés caféylquiniques)

Caroténoïdes : couleur

Huile essentielle (dérivés du thymol) : odeur

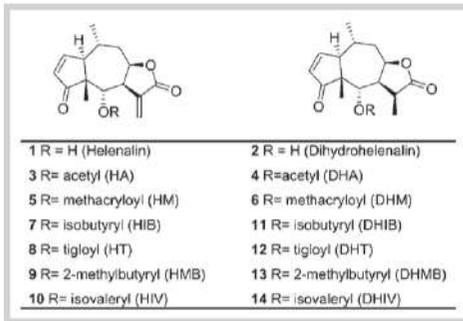
Composition variable selon l'origine géographique et l'altitude

## Propriétés pharmacologiques

Anti-inflammatoire, analgésiques, anti-ecchymotiques



Lactones sesquiterpéniques



## Toxicité

Toxique par voie orale (hélénaline)

Allergie de contact (dermite) par voie externe (Astéracées)

## Utilisations

Voie externe (sauf homéopathie) : teinture appliquée en compresse ou pommade sur les contusions, ecchymoses, entorses, foulures, douleurs musculaires



# Exemple 1 : *Arnica montana* L.

## Falsification

**Arnica mexicain,**  
*Heterotheca inuloides* Cass., Asteracées



Natif : Mexique  
Plante herbacée d'altitude  
Feuille lancéolée pubescente  
Fleur composée jaune  
Flavonoïdes, acides phénols, sesquiterpènes

**Arnica des plaines,**  
*Arnica chamissonis* Less., Asteracées



Natif : Amérique du Nord ; Introduit :  
Autriche, Suède  
Plante herbacée cultivable en climat tempéré  
Feuille lancéolée en rosette  
Fleur composée jaune (ligule à 3 dents)  
Flavonoïdes, acides phénols, lactones  
sesquiterpéniques

**Souci,**  
*Calendula officinalis* L., Asteracées



Natif : Espagne ; Introduit : Europe,  
Asie, Australie...  
Plante herbacée cultivée  
Fleur composée jaune, rouge  
orangé (ligule à 3 dents)  
Flavonoïdes, acides phénols  
Pas de lactones sesquiterpéniques

Source : POWO, 2024 ; Bruneton, 2016 ; Rodriguez-Chavez, 2017



# Exemple 1 : *Arnica montana* L.

## Analyse botanique

### Théorie



Plante entière fraîche



### Cas concret



Lot A



Lot B

Plante sèche

**Conclusion : identification botanique macroscopique difficile**  
→ Compléter avec une autre analyse



# Exemple 1 : *Arnica montana* L.

## Analyse phytochimique HPTLC

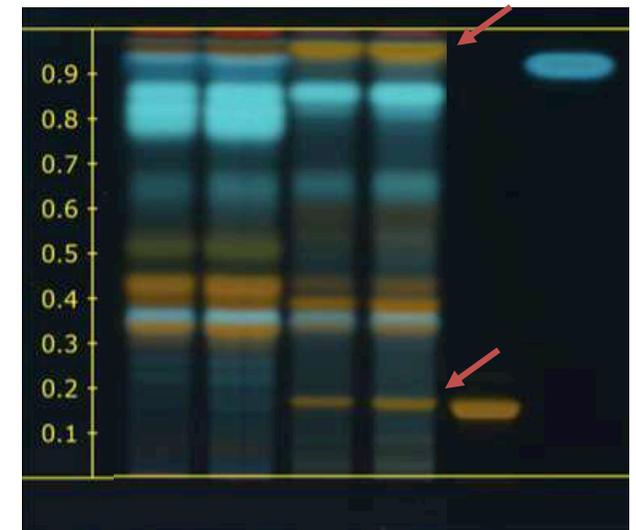
### Théorie

Haut de la plaque	
Acide caféique : une bande bleue	2-4 bandes bleues, faibles à intenses
_____	_____
_____	Une bande bleue, faible à équivalente
_____	Une bande vert-jaune, faible
_____	_____
_____	Une bande jaune ou orange, équivalente
_____	Une bande bleue, équivalente
_____	Une bande jaune ou orange, équivalente
Rutoside : une bande jaune ou orange	
<b>Solution témoin (a)</b>	<b>Solution à examiner</b>

Extraction : 2g fleur/10mL méthanol  
 Phase mobile : Acide formique, eau, acétate d'éthyle 6/9/90 V/V/V  
 Révélation Diphénylborate d'aminoéthanol  
 Observation 366 nm

Profil attendu :  
 Pas de bande de fluorescence jaune-orange en face de la bande d'acide caféique  
 Pas de bande de fluorescence jaune-orange correspondant au rutoside

### Cas concret



Lot A  
Conforme

Lot B  
Non conforme

Monographie Arnica fleur, Ph. Eur. 07/2022:1391 corrigé 11.2

**Conclusion : doute sur l'identification**  
**→ Compléter avec une autre analyse**



# Exemple 1 : *Arnica montana* L.

## Analyse génétique

### Principe

Identification moléculaire par barcoding (fragments d'ADN = marqueurs génétiques, très conservés au cours de l'évolution au sein d'une même espèce mais variables entre les espèces)  
Choix de marqueurs moléculaires spécifiques  
Confrontation des séquences génétiques avec les bases de données internationales, publiques et privées

### Etapes

Extraction de l'ADN  
Amplification de l'ADN (par technique PCR)  
Séquençage des marqueurs génétiques  
Traitement bio-informatique

### Point d'attention

Différents procédés peuvent dégrader l'ADN  
Méthode adaptée sur matière première brute, moins sur les ingrédients transformés

### Cas concret

	Marqueur 1	Marqueur 2	Marqueur 3
Lot A	<i>Arnica montana</i>	<i>Arnica montana</i>	<i>Arnica sp.</i>
Lot B	<i>Heterotheca sp.</i>	<i>Heterotheca sp.</i>	<i>Heterotheca sp.</i>

**Conclusion : confirmation des analyses phytochimiques**

→ Lot A conforme à l'espèce attendue *Arnica montana* L.

→ Lot B non conforme, falsification par *Heterotheca sp.*



## Exemple 2 : *Grindelia* spp.

### Grindelia, *Grindelia* spp., Astéracées



*G. robusta*, bouton floral et fleur

### Description botanique

Capitule jaune vif, de juillet à octobre  
« Herbe à gomme » : résine collante qui recouvre les boutons floraux et les feuilles

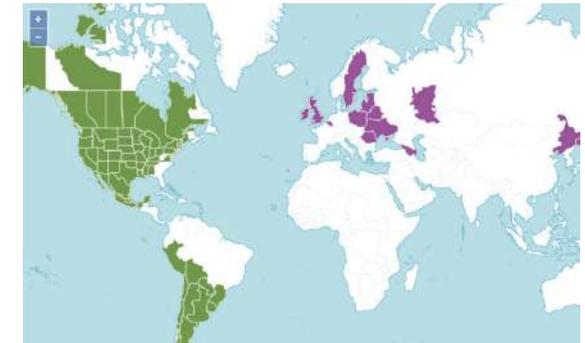
### Drogue

Sommité fleurie séchée

- *Grindelia hirsutula* Hook.&Arn. = *G. robusta* Nutt.,  
*G. humilis* Hook.&Arn., *G. camporum* Greene.
- *G. squarrosa* (Pursh) Dunal  
(Ph. Eur. 2951)

### Composition chimique

Acides diterpéniques (acide grindélique)  
Acides phénols  
Flavonoïdes



■ Native ■ Introduced

### Habitat

Plante vivace herbacée native d'Amérique

### Utilisations

Traitement symptomatique de la toux

Source : CNPMAI, 2024 ; POWO, 2024 ; Bruneton, 2016



## Exemple 2 : *Grindelia* spp.

### Analyse botanique



Fournisseur 1



Fournisseur 2



Fournisseur 3

**Conclusion : identification botanique macroscopique difficile**

**→ Compléter avec une autre analyse**



# Exemple 2 : *Grindelia* spp.

## Analyse phytochimique HPTLC

### Théorie

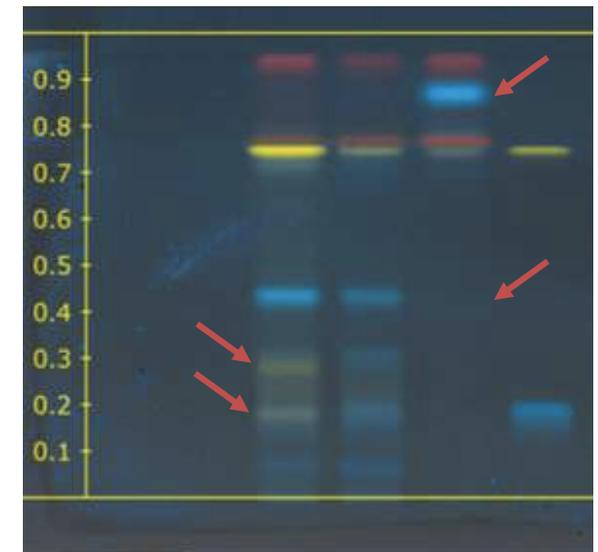
Haut de la plaque	
Quercétine : une bande orange	Une bande rouge Une bande orange (chevauchement possible avec une bande rouge au-dessus et une bande bleue en dessous)
Acide chlorogénique : une bande verdâtre	Une bande bleu-vert, intense Une bande verdâtre, faible à équivalente
	Une bande blanc-vert, faible à équivalente
Solution témoin (a)	Solution à examiner

### Observation des composés phénoliques

Extraction : 1g grindelia/10mL méthanol  
Phase mobile : Acide formique, acétone, toluène 10/45/45 V/V/V  
Révélation A : Diphénylborate d' aminoéthanol  
Observation 366 nm

Profil attendu : conforme au profil théorique  
Pas de distinction entre *G. hirsutula* et *G. squarrosa*

### Cas concret



Lot A Lot B Lot C  
Conforme ? Conforme Non conforme

Monographie Grindelia, Ph. Eur. 04/2024:2951

**Conclusion : doute sur l'identification**  
→ Compléter avec une autre analyse



# Exemple 2 : *Grindelia* spp.

## Analyse phytochimique HPTLC

### Théorie

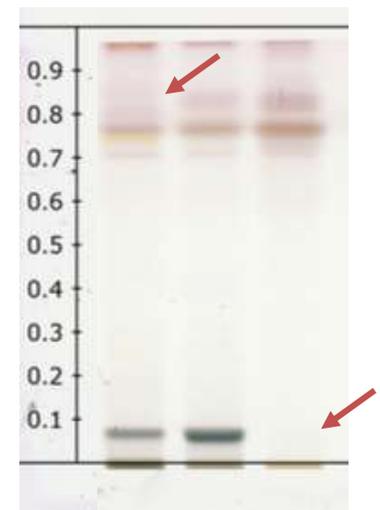
Haut de la plaque	
Acide grindélique : une bande violette	Une bande violette, faible à équivalente
Quercétine : une bande jaune foncé	Un groupe de bandes violet-brun non résolues
_____	_____
_____	_____
	Une bande brun-vert
<b>Solution témoin (a)</b>	<b>Solution à examiner</b>

### Observation des composés terpéniques

Extraction : 1g grindelia/10mL méthanol  
 Phase mobile : Acide formique, acétone, toluène 10/45/45 V/V/V  
 Révélation B : Aldéhyde anisique  
 Observation lumière du jour

Profil attendu : conforme au profil théorique  
 Pas de distinction entre *G. hirsutula* et *G. squarrosa*

### Cas concret



Lot A      Lot B      Lot C  
 Conforme ?    Conforme    Non conforme

Monographie Grindelia, Ph. Eur. 04/2024:2951

**Conclusion : doute sur l'identification**  
**→ Compléter avec une autre analyse**



## Exemple 2 : *Grindelia* spp.

### Analyse génétique

	Marqueur 1	Marqueur 2	Marqueur 3	Marqueur 4	Conclusion
Lot A	<i>Grindelia squarrosa</i> Pas de référence dans les bases pour <i>G. ciliata</i>	<i>Grindelia</i> sp. Pas de référence dans les bases pour <i>G. ciliata</i>	<i>Grindelia ciliata</i>	<i>Grindelia ciliata</i>	<i>Grindelia ciliata</i>
Lot B	<i>Grindelia</i> sp.	/ Séquence inexploitable	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia integrifolia</i>	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia squarrosa</i>	<i>Grindelia hirsutula</i>
Lot C	<i>Grindelia</i> sp. Pas de référence dans les bases pour <i>G. stricta</i> et <i>G. procera</i>	<i>Grindelia</i> sp. Pas de référence dans les bases pour <i>G. stricta</i> et <i>G. procera</i>	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia stricta</i> ou <i>Grindelia procera</i>	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia stricta</i> ou <i>Grindelia procera</i>	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia stricta</i> ou <i>Grindelia procera</i>

Conclusion : Il est nécessaire d'avoir plusieurs marqueurs pour identifier l'espèce de *Grindelia*

→ Il faudrait sourcer des échantillons authentifiés des autres espèces et séquencer les génomes pour compléter l'étude et éventuellement créer de nouveaux marqueurs spécifiques



## Exemple 2 : *Grindelia* spp.

### Conclusion

	HPTLC A	HPTLC B	Analyse ADN	Conclusion
Lot A	<i>Profil légèrement différent</i>	<i>Profil légèrement différent</i>	<i>Grindelia ciliata</i>	<i>Grindelia ciliata</i>
Lot B	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia squarrosa</i>	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia squarrosa</i>	<i>Grindelia hirsutula</i>	<i>Grindelia hirsutula</i>
Lot C	<i>Non conforme</i>	<i>Non conforme mais présence acide grindélique</i>	<i>Grindelia hirsutula</i> ou <i>Grindelia stricta</i> ou <i>Grindelia procera</i>	<i>Grindelia stricta</i> ou <i>Grindelia procera</i>

**Conclusion :** Il est nécessaire de combiner plusieurs méthodes d'analyse pour identifier l'espèce de *Grindelia*  
→ Un profil HPTLC conforme ne permet pas de distinguer les 2 espèces *G. hirsutula* et *G. squarrosa*, et peut éventuellement correspondre à une autre espèce de *Grindelia* (profil proche pour *G. ciliata*)



## Exemple 3 : *Polygala* spp.

### *Polygala*, *Polygala* spp., Polygalacées



*P. tenuifolia*, fleur

### Drogue

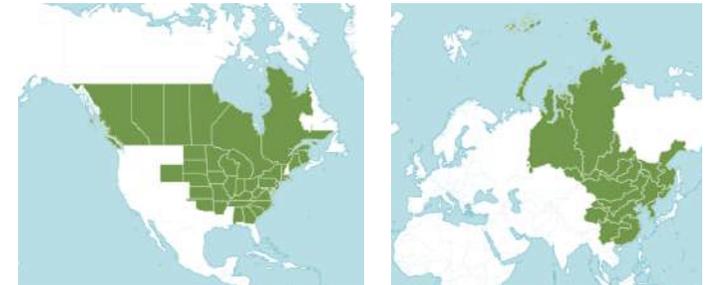
Racine séchée

- *Polygala senega* L. : Polygala de Virginie
  - *Polygala tenuifolia* Willd.
- (Ph. Eur. 0202)

### Composition chimique

Acides phénols

Saponosides triterpéniques



### Habitat

■ Native

Plante vivace herbacée

- *P. senega* : endémique des prairie et forêt d'Amérique du Nord
- *P. tenuifolia* : sol sableux en zone tempérée asiatique

### Utilisations

Traitement symptomatique de la toux  
(sirop)



## Exemple 3 : *Polygala* spp.

### Falsification

Racines d'aspect analogue d'autres espèces (coût élevé de la racine de *Polygala senega*)

#### Substitution par d'autres *Polygalas* :

*Polygala alba* Nutt.

*Polygala boykini* Nutt.

Du Sud des USA

Considérés comme moins actifs

*Polygala sibirica* L. (Ph. Chinoise)

En Chine



#### Falsification proprement dite provenant de genres et familles différents Confusion d'appellation courante

« Polygala de Syrie », *Spergularia marginata* Kitt., Caryophyllacées

« Polygala du Pakistan », *Andrachne aspera* L., Euphorbiacées

« Polygala d'Inde », *Glinus oppositifolius* L., Ficoïdées



*Andrachne aspera*



## Exemple 3 : *Polygala* spp.

### Analyse botanique



Fournisseur A



Fournisseur B

**Conclusion : identification botanique macroscopique difficile**  
→ Compléter avec une autre analyse



# Exemple 3 : *Polygala* spp.

## Analyse phytochimique HPTLC

### Théorie

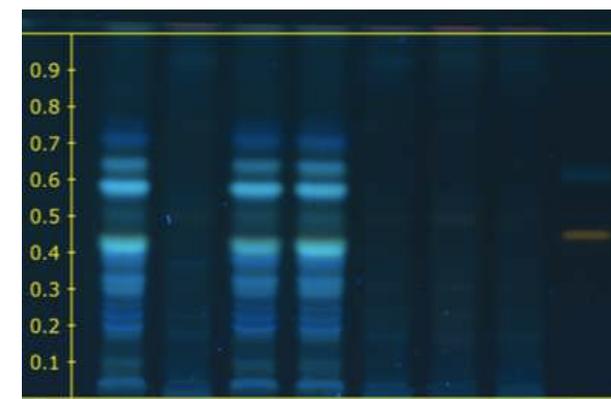
Haut de la plaque		
<p>—</p> <p>Puérarine : une bande bleue</p> <p>Rutoside : une bande orange</p> <p>—</p>	<p>—</p> <p>Une bande bleue</p> <p>Une bande bleue</p> <p>Une bande orange, faible</p> <p>—</p> <p>Une bande bleu-blanc</p> <p>3 bandes bleuâtres</p>	<p>—</p> <p>Une bande bleue</p> <p>Une bande bleue</p> <p>Une bande bleue</p> <p>Une bande grisâtre, faible</p> <p>—</p> <p>Une bande bleu-vert (à la frontière entre le tiers médian et le tiers inférieur)</p> <p>—</p> <p>Une bande bleuâtre</p>
Solution témoin (a)	Solution à examiner ( <i>Polygala senega</i> )	Solution à examiner ( <i>Polygala tenuifolia</i> )

### Observation des composés phénoliques

Extraction : 0,5g racine/5mL éthanol 70%V/V  
 Phase mobile : Acide formique, acide acétique, eau, acétate d'éthyle 11/11/26/100 V/V/V/V  
 Révélation A : Diphénylborate d' aminoéthanol  
 Observation 366 nm

Profil attendu : conforme au profil théorique, différent entre *P. senega* et *P. tenuifolia*

### Cas concret



Fournisseur A  
 Profils conformes  
 (*P. tenuifolia*)

Fournisseur B  
 Profils non conformes

Monographie Polygala racine, Ph. Eur. 07/2019:0202

**Conclusion : doute sur l'identification**  
 → Compléter avec une autre analyse



## Exemple 3 : *Polygala* spp.

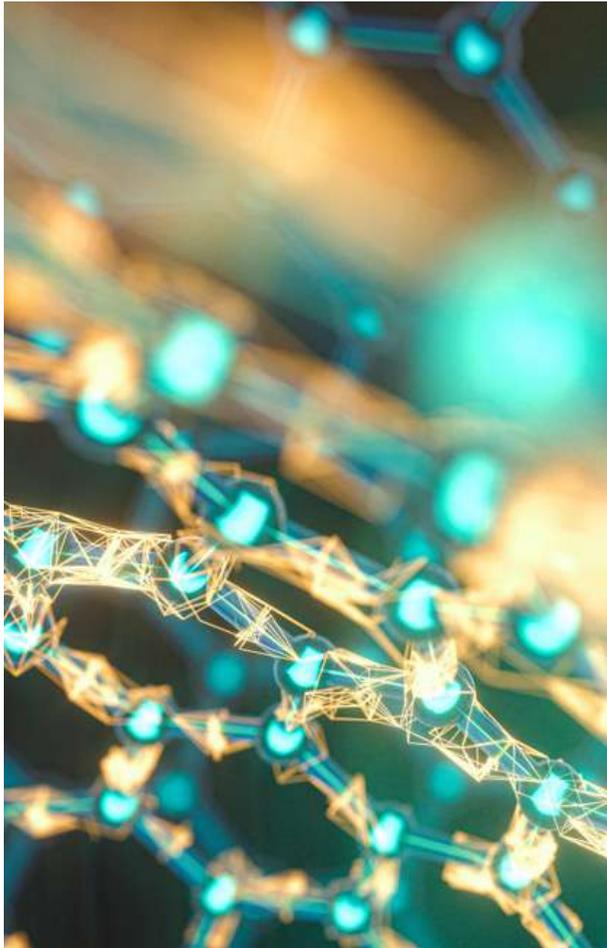
### Analyse génétique

	Marqueur 1	Marqueur 2	Marqueur 3	Conclusion
Lot A-2	/ Séquence inexploitable	<i>Polygala</i> sp. ( <i>Polygala senega</i> exclu)	<i>Polygala tenuifolia</i>	<i>Polygala tenuifolia</i>
Lot B-3	<i>Glinus oppositifolius</i>	/ Séquence inexploitable	<i>Glinus</i> sp.	<i>Glinus oppositifolius</i>
Lot B-4	<i>Glinus oppositifolius</i>	/ Séquence inexploitable	<i>Glinus oppositifolius</i>	<i>Glinus oppositifolius</i>

**Conclusion :** l'analyse génétique confirme l'analyse phytochimique et permet d'identifier l'espèce présente (sur la base des hypothèses de falsification)



# Conclusion



## Identification des plantes

### Préparation : données bibliographiques

- Origine géographique
- Habitat
- Composition chimique
- Falsification

### Pratique : analyses

- Botanique
- Phytochimique
- Génétique

→ Complémentarité des méthodes



**MERCI**  
DE VOTRE ATTENTION

Biopôle Clermont-Limagne 63360 Saint-Beauzire France  
Tél.: +33 (0)4 73 33 99 00 – Mail: [greentech@greentech.fr](mailto:greentech@greentech.fr)  
[www.greentech.fr](http://www.greentech.fr)

