

Calendula officinalis L., une ancienne médicinale très actuelle

Jean-Georges Barth
courriel : jeangeorges.barth@gmail.com

Aspects botaniques

Introduction

Calendula officinalis L. (*calendula* ou *souci* par la suite) est un polychreste¹ réputé. Utilisé en médecine depuis le Moyen Âge, il fut considéré dans certaines régions comme un attribut de Marie, la secourable, la reine de la Nature guérissante [68], d'où ses noms de Marigold en Angleterre ou de Marienrose dans les régions alémaniques. Son usage date d'un passé lointain et remonte à l'Antiquité grecque et latine ainsi qu'aux temps des anciennes cultures de l'Inde et des pays arabes [24].

Encore aujourd'hui, la médecine populaire utilise *calendula* dans de nombreuses régions du monde, notamment en Europe, en Inde [43] et au Pakistan [1]. Le *souci* est partout utilisé en applications externes pour guérir les plaies de toutes sortes, comme anti-inflammatoire, antiseptique et cicatrisant ou per os pour soigner les troubles hépatiques et gastro-intestinaux ; il sert aussi comme diaphorétique ou comme emménagogue (encadré 1). Le plus souvent les fleurs, mais aussi les feuilles ou la plante entière servent à préparer des jus frais, des tisanes ou de la pommade dont l'excipient est le saindoux [1, 7, 15, 17, 37, 39, 43, 45].

En médecine d'école la teinture de fleur de *calendula* est utilisée en usage externe pour faciliter la guérison d'inflammations cutanées, de plaies, de brûlures, d'hématomes, de coupures et pour prévenir l'extension de l'infection [58]. Aujourd'hui *calendula* est l'objet d'intenses recherches à travers le monde, dont les résultats justifient les usages anciens de la médecine populaire et ouvrent de nouvelles perspectives pharmacologiques et thérapeutiques.

Calendula a fait l'objet de nombreuses descriptions botaniques [22, 45, 60]. Le présent travail met en évidence l'interaction entre plante générative et plante végétative et l'émancipation de la plante du cycle annuel du soleil ; il tente le parallèle entre l'expression de *calendula* avec la localisation de ses principes actifs et leurs vertus thérapeutiques.

Son nom

Le mot calendrier dérive du latin classique *calendae*, les « calendes » le répertoire des premiers jours du mois chez les Romains. Le nom scientifique de *calendula* vient de cette racine latine, car elle fleurit à peu près tous les mois de l'année. Son nom pourrait aussi provenir du latin populaire « calefare », chauffer, en raison probable de sa préférence pour des stations chaudes [28]. Le mot provençal de « calen » désigne la lampe à huile ; de ce nom peut avoir dérivé le mot *calendula* dont la fleur éclaire le jardin [63]. Le nom vernaculaire « souci » vient du latin tardif *solsequia*, « tournesol » qui indique son lien avec le soleil. D'ailleurs dans le pays Welche (Vosges) on l'appelle « lo slo », le soleil [15]. En allemand elle s'appelle communément « Ringelblume », un nom qui lui vient de la forme annulaire de ses fruits [12, 64].

¹ du grec « polu » beaucoup et « chrestos » utile.

Encadré 1. Résumé de quelques indications de *calendula* en médecine populaire.

per os :

- emménagogue (règles insuffisantes et douloureuses), antispasmodique et troubles circulatoires
- en cas de troubles digestifs :
 - maladies gastro-intestinales, ulcère de l'estomac, diarrhée
 - maladies hépatiques : cholérétique, cholagogue et hépato-protecteur (ictère)
- autres utilisations : diaphorétique dans les maladies fébriles telles la grippe ; antiseptique ou antiviral.

applications externes :

- cicatrisant des plaies cutanées, des fistules, des engelures, des escarres, des furoncles, de l'impétigo
- en cas d'ecchymoses, de varices, d'ulcères variqueux, de phlébites, d'hémorroïdes, voire d'hémangiomes
- en cas de foulures, de brûlures, de conjonctivites, de tumeurs du sein
- comme bactéricide, fongicide (intertrigo, mycose vaginale) ou antiviral (herpès)
- comme antivénéneux (insectes).

Généralités botaniques

Données systématiques

Le genre *Calendula* de la tribu des Calenduleae (famille des Asteraceae), comporte une dizaine d'espèces dont la plupart habitent la région allant de la mer Caspienne aux îles Canaries. Le pourtour méditerranéen comporte quatre espèces : *C. officinalis* L., *C. suffruticosa* Vahl, *C. arvensis* L., et *C. stellata* Cav [60, 10].

L'anatomie et la physiologie florale des Calenduleae sont particulières : les fleurons tubulés du disque central sont fonctionnellement mâles bien qu'étant hermaphrodites, car leur ovaire est inopérant. Le style est globuleux au lieu d'être bifide et reste partiellement inclus dans le tube des anthères, lors du processus d'expulsion du pollen. Les akènes ne sont produits que par les fleurons rayonnants périphériques et leurs formes sont particulières, naviculaires, crochues, annulaires voire sub-sphériques [66].

Type biologique

Calendula est décrite comme une plante annuelle, parfois bisannuelle, voire vivace [2, 26]. Souvent après avoir fleuri jusqu'en automne et produit des graines, le feuillage dépérit, fane et tombe, tandis que de nouvelles pousses apparaissent à la base de sa tige ; dans d'autres cas *calendula* poursuit sa floraison durant l'hiver et les saisons suivantes. Ce caractère pérenne ne correspond à aucune forme de vie décrite habituellement pour cette plante : *calendula* s'émancipe en quelque sorte du cycle annuel du soleil.

Son milieu

Le *souci* est une plante cultivée en plaine et en moyenne montagne ; elle ne se maintient pas échappée des jardins [12]. Elle est cultivée partout en Europe, jusqu'en Finlande, mais aussi en Egypte, en Orient et en Amérique. Son origine est probablement horticole : elle dériverait de *C. arvensis* [67]. Il en existe de nombreux cultivars [50] comme l'Orange bowl, une variété très fournie en fleurs ligulées mais pauvre en fleurs tubulées.

Le berceau de cette espèce serait la région allant de la Hongrie à l'Egypte [28] ou l'Afrique du Nord, la région de l'Atlas notamment [60].

Le *souci* aime les espaces ouverts, ensoleillés et chauds ainsi que les sols riches en azote ; il est indifférent à la nature du substrat et supporte une sécheresse modérée.

Calendula et la lumière

Le *souci* est **sensible à la lumière** : ses capitules s'ouvrent et se ferment avec l'apparition et la disparition du soleil (lever et coucher du soleil, temps couvert) [26, 28]. Ce qui lui a valu le nom ancien de *Sponsa solis*, la fiancée du soleil [64]. En outre le séjour prolongé de la graine à l'obscurité lui fait perdre son pouvoir germinatif [64]. Les cotylédons adoptent des positions de veille (séparés formant un « V » largement ouvert) et de sommeil (redressés l'un à la rencontre de l'autre). Ce mouvement est observable jusqu'à l'apparition des premières feuilles.

La plante végétative

Germination

La germination des semences est rapide ; la levée est épigée, en moins d'une semaine. Souvent leur tige n'est pas érigée mais, plus ou moins prostrée (fig. 1). Les cotylédons sont un peu charnus, allongés, vert clair.



Figure 1. Jeunes plantes de *calendula* : au bout de 3 semaines, les cotylédons sont encore présents et fonctionnels ; la tige est prostrée.

La racine

Elle est pivotante, charnue, fortement ramifiée. Sa consistance est fibreuse et sa couleur écru. Son odeur agréable évoque celle de la carotte ; son goût est légèrement amer (fig. 2).

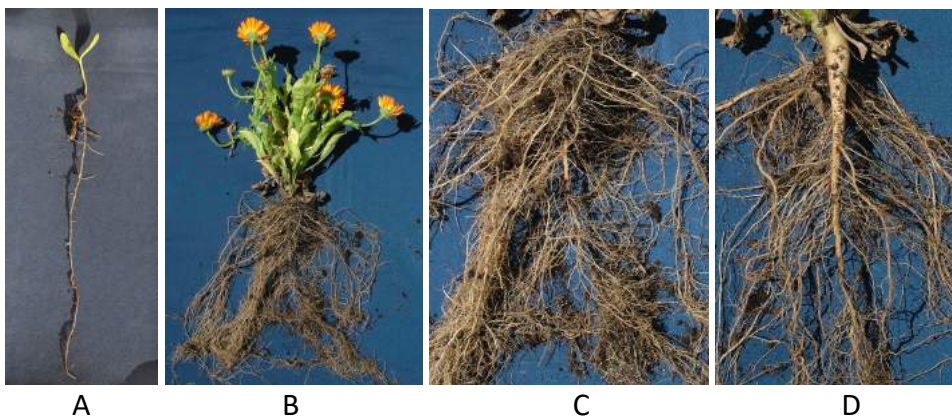


Figure 2. Racine de *calendula*. A : après germination (stade cotylédons) la racine est longue de plus de 20 cm ; B, C et D : au moment de la pleine floraison, le pivot est caché par de nombreuses racines secondaires ; il mesure 25 cm environ ; D : les racines secondaires ont été enlevées pour dégager le pivot.

Les feuilles et leur métamorphose

Elles sont fragiles, amorphes, entières, obovales, allongées, spatulées, sessiles, légèrement cordées et embrassantes ; elles manquent de structure et ne sont ni incisées, ni divisées ; leur base est décurrente ce qui donne à la tige un aspect cannelé, doucement

anguleux. Les feuilles sont pourvues de minuscules acumens rouges, répartis sur le pourtour de leur limbe, dans le prolongement des nervures principale et secondaires. Elles sont vert clair (parfois jaunâtre), fraîches et molles au toucher. Leur goût est d'abord sucré, puis secondairement rappelle celui de l'épinard.

La métamorphose du feuillage est très progressive : en allant vers le capitule terminal les feuilles sont plus petites, plus étroites, limbe et base se confondent et finalement les feuilles sont réduites à des bractées (fig. 3 et 4).



Figure 3. Séquence des feuilles présentes au moment de la récolte sur la tige principale de *calendula* disposées du bas (à gauche) vers le haut (à droite). 5 feuilles de la base ont déjà disparu et ne font donc plus partie de cet ensemble. Sur la plante étudiée, les feuilles comprises entre les 2 flèches sont axillantes de ramifications d'ordre 1 (R1).



Figure 4. Séquence foliaire de la ramification d'ordre 1 prélevée sur la plante de la figure 3 à l'aisselle de la 11^{ème} feuille.

La tige

La tige jeune est verte ; secondairement elle peut prendre des teintes rouges. Sa section transversale est pentagonale (cf. phyllotaxie 2/5 et décurrence). Comme on peut s'y attendre, la section transversale au niveau de l'hypocotyle et après la dernière feuille est à peu près circulaire. La tige de la plante plus âgée est dure, ligneuse.

En se redressant la tige initialement inclinée voire prostrée reste souvent flexueuse. La tige est rameuse. Ses ramifications axillaires d'ordre 1 reproduisent le schéma de la tige principale (fig. 4). Elles aussi sont souvent sinueuses. Selon l'âge de la plante on peut observer des ramifications d'ordre 4. Dans le bas et la partie moyenne de l'édifice les entrenœuds sont courts ; ils s'allongent vers sa partie supérieure, notamment sous le capitule terminal : les feuilles s'espacent progressivement. Ces particularités associées au caractère amorphe et décurent des feuilles de la tige principale et des ramifications donnent un aspect touffu et ramassé à la plante avant floraison ; il s'en dégage une impression de stase végétative.

Les trichomes

Les marges foliaires et le dos des nervures principales sont couverts de poils tecteurs blancs, courts, souples, doux et brillants. Cette pilosité se prolonge sur les angles de la tige. Le limbe est couvert sur ses 2 faces de papilles qui le font luire au soleil.

Des poils glandulaires sont observés sur les tiges et sur les deux faces des feuilles dès les premières. Leur densité augmente en allant vers l'inflorescence. Les feuilles leur doivent une odeur aromatique, légèrement camphrée, une note rappelant discrètement celle du lierre terrestre (*Glechoma hederacea*, Lamiaceae). Les tiges, les feuilles et les bractées des capitules sont collantes. Les poils glandulaires traduisent l'influence de la plante florifère.

La plante générative

Les capitules

Ils sont grands (environ 5 cm Ø) et très homogènes entre eux, du fait de l'ordonnement très strict des fleurons rayonnants. Leur couleur est jaune franc à orange soutenu, réfléchissant un peu la lumière ; leur réceptacle est constitué de 20 à 30 bractées disposées sur deux rangs, dont les extérieures sont plus longues et plus larges. Leur face externe et leur marge portent des poils tecteurs blancs accompagnés de poils glandulaires rouges dans la partie distale.

Les fleurons rayonnants

Ils sont disposés sur 3 à 4 rangs. Leurs ligules sont longues d'environ 2,5 cm, zygomorphes et terminées par 3 dents ; leurs nervures et les dents sont parfois vert clair ; les dents peuvent avoir d'autres teintes (rouge magenta ou simplement couleur plus foncée) ; la base des ligules est poilue. L'ovaire est plus ou moins courbe et bosselé et le style porte des stigmates bifides.

Les fleurons tubulés

Leur nombre est fonction de la variété : environ une douzaine le long d'un diamètre du disque central. Leur couleur est orange soutenu à violet foncé presque noir, selon les variétés. Les fleurons sont pentamères, actinomorphes et hermaphrodites, mais fonctionnellement mâles (fig. 5).

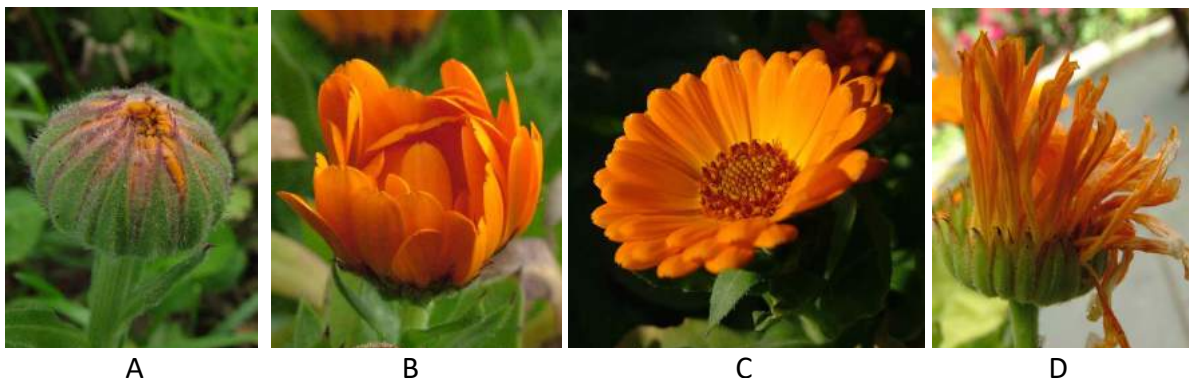


Figure 5. Différents stades de floraison de *calendula*. Les ligules fanées se redressent avant de tomber (D). La cinétique florale dans le capitule est ascendante (centripète) (C).

Cinétique florale

Sous nos latitudes (vallée du Rhin entre Vosges et Forêt-Noire) la floraison commence début mai, environ 8 semaines après la levée des semis et dure jusqu'à l'automne ou bien plus longtemps encore, selon la clémence du temps. Chez la plante jeune, le capitule terminal (FL1, fig. 7) est engoncé dans l'« entonnoir » formé par le feuillage. Il s'en extrait lentement pour fleurir (fig. 6).



Figure 6. Le capitule de la tige principale, initialement engoncé dans le feuillage, s'en extrait progressivement pour fleurir. Remarquer le caractère touffu du feuillage.

Du point de vue fonctionnel, le capitule de *calendula* est une inflorescence monoïque. Les fleurons rayonnants périphériques fleurissent avant les fleurons tubulés ; l'épanouissement de ces derniers va de la périphérie du disque central vers son centre. La cinétique florale dans le capitule est ascendante. Le caractère monoïque du capitule implique l'intervention de vecteurs. Les fleurs sont visitées par les abeilles, les bourdons, les syrphes et d'autres insectes. Les fleurons rayonnants le plus souvent fanent avant l'épanouissement de toutes les fleurs tubulées : ils se décolorent, se redressent puis tombent. Le dépérissement des ligules est la conséquence immédiate de la pollinisation.

Chaque rameau de l'édifice est terminé par un capitule. Les capitules délimitent un espace, à l'intérieur duquel se déroulent tous les développements futurs. En-dessous de FL1, on distingue plusieurs zones (fig. 7) [68] :

- la zone d'enrichissement comportant quelques rameaux dont la longueur dépasse FL1, chacun terminé par un capitule,
- une zone d'inhibition constituée de quelques rameaux courts, dont les supérieurs sont terminés par un bouton floral de très petite dimension ; les rameaux inférieurs ne portent pas de bouton visible,
- éventuellement une zone basale, faite de quelques rameaux allongés disposés serrés le long de la base de la tige et chacun limités par un capitule de même dimension que ceux de la zone d'enrichissement.

La floraison commence par le capitule de la tige principale (FL1), puis gagne, par rang d'âge, du plus âgé au plus jeune, les capitules terminaux des ramifications de la zone d'enrichissement. Dans cette partie de l'édifice la cinétique florale est descendante. On observe régulièrement que l'épanouissement des ligules d'un capitule aval (FL_{n+1}) précède d'environ 24 heures le début du processus de flétrissement des ligules du capitule amont le plus proche (FL_n). En revanche, dans la zone basale, lorsqu'elle existe, où la floraison commence 14 jours après FL1, cette cinétique est ascendante, mais les intervalles de temps entre l'épanouissement des ligules de capitules voisins sont beaucoup plus courts : entre le

capitule le plus inférieur et le dernier de cette zone basale l'écart n'est que de 8 jours (pour 5 capitules successifs), alors qu'il est de 15 jours entre le premier et le dernier de la zone d'enrichissement (pour 4 capitules successifs) (fig. 7).

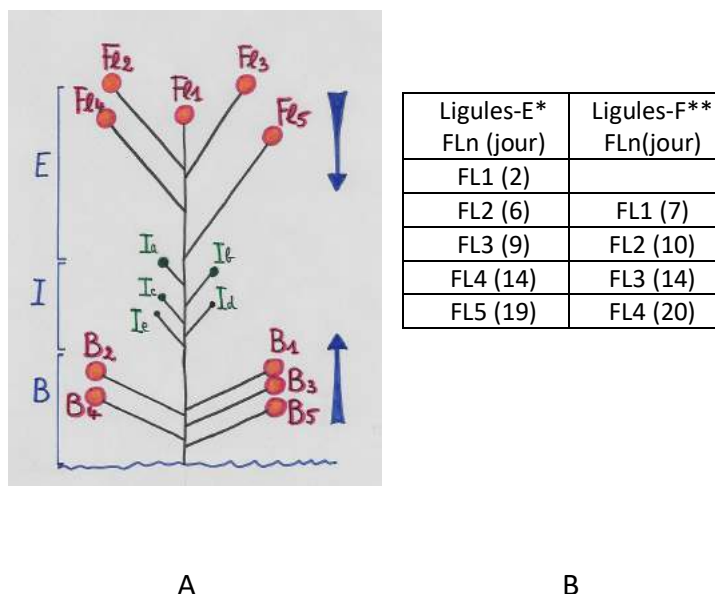


Figure 7

(A) Représentation schématique des 3 zones d'un pied de *calendula* ; on distingue la zone d'enrichissement (E) sous FL1 suivie de la zone d'inhibition (I) et de la zone basale (B) ; en rouge sont indiqués les capitules qui fleurissent selon une cinétique descendante de FL1 vers FL5 et selon une cinétique ascendante de B5 vers B1. Les boutons floraux sont petits mais visibles sur Ia, Ib et Ic, mais invisibles sur Id et Ie. La position des ramifications sur le schéma est conforme à celle observée.

(B) Tableau décrivant la séquence d'épanouissement et de flétrissement des ligules des fleurons rayonnants de FL1 et des capitules de la zone d'enrichissement, observée du 2 au 20 juin.

Le fruit

Calendula est incapable de reproduction végétative : le *souci* ne se reproduit que par voie sexuée ce qui est une propriété typique de plantes annuelles ou bisannuelles. Seuls les fleurons rayonnants périphériques produisent des fruits. Pendant le début de leur maturation ils sont protégés passagèrement par les ligules en train de faner et les bractées de l'involucre qui les recouvrent en partie. Les fruits sont des akènes, dont les formes et les dimensions sont différentes : les plus grands sont périphériques et de forme naviculaire, les plus petits sont internes et annulaires (fig. 8). L'hétérocarpie est une particularité de *calendula*. Les fruits sont cornés, échinulés ou verruqueux longitudinalement cannelés sur leur partie dorsale ; sur leur face interne, ils sont lisses et partagés longitudinalement par une lame membraneuse médiane. Celle-ci est surtout bien visible sur les fruits périphériques. Les fruits ne possèdent pas de pappus ; leur dispersion est barochore ou zoochore. Tous les fruits sont fertiles.



Figure 8. Les fruits de *calendula* sont des akènes de formes différentes : les fleurons fanés du disque central ont été enlevés pour montrer la courbure des fruits en formation.

Processus de dépérissement

Après la floraison, la plante dépérit de la périphérie vers le bas de l'édifice : le processus ne concerne que le segment de tige sans ramification dont le capitule terminal a fini de fleurir. On note aussi que les feuilles du bas de la tige principale et des ramifications d'ordre 1 dépérissent précocement (fig. 3). Lorsque tout semble mort et sec, de nouvelles pousses apparaissent sur le bas de la tige aux nœuds dont les feuilles sont tombées depuis longtemps (fig. 9).



Figure 9. De nouvelles pousses apparaissent sur la partie inférieure de la tige principale aux nœuds dont les feuilles sont tombées depuis longtemps, alors que l'essentiel de l'édifice printanier est sec.

Aspects pharmacologiques

La drogue et ses principaux constituants

La drogue peut être constituée par les fleurs totalement épanouies séparées du réceptacle à capitules à fleurs doubles de plantes cultivées (pharmacopée européenne-1999 ; pharmacopée anthroposophique [38]) ou de la partie aérienne de la plante fleurie (capitule épanoui avec environ 15 cm de tige feuillée) (pharmacopées française - 2005 ; HAB ; pharmacopée anthroposophique [38]).

Les constituants des capitules, les plus abondants et les plus étudiés, sont les terpénoïdes (notamment les triterpènes pentacycliques), les dérivés phénoliques (flavonoïdes et les acides phénols), les caroténoïdes (lutéine, lycopène, β -carotènes) et les polysaccharides (tableau 2).

Les extraits de capitules (fleurs) contiennent aussi des alcaloïdes isoquinoléiques comme la lycorine (narcissine) principalement rencontrés chez les Amaryllidaceae [13, 57]. Plus récemment, d'autres alcaloïdes indolo-monoterpéniques voisins de ceux de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*, Apocynaceae) ont été identifiés dans une infusion de plante ; leur teneur, exprimée en choline, est estimée à 1,3 mg pour 100 g du poids sec [32].

Variation de leur teneur

Les dérivés triterpéniques pentacycliques

Les extraits lipophiles² ne contiennent pas de saponosides ou de polysaccharides, mais des esters des alcools triterpéniques pentacycliques de divers types comme le faradiol, l'arnidiol, le calenduladiol ou le ψ -taraxastérol sous forme de mono-esters (palmitate, myristate et laurate ; fig. 11). Le réceptacle et les feuilles ne contiennent que des traces de faradiol. La teneur des ligules en esters du faradiol est environ 10 x supérieure à celle des fleurs tubuleuses et environ 100 x supérieure à celle des bractées de l'involucre et des feuilles (tableau 2). Globalement, les teneurs en alcools et en esters de dérivés triterpénoïdes sont environ 6 fois et 12 fois plus élevées, respectivement dans les capitules et les ligules par rapport à celles des feuilles et des racines [54]. Ces observations montrent que les esters des alcools triterpéniques sont les témoins substantiels de l'impulsion florale et justifient l'usage en pharmacie des capitules fleuris, voire des seuls fleurons ligulés [16, 72].

Tableau 1. Principaux constituants des fleurs et capitules de *calendula* [5, 7, 13, 28, 48, 50, 52, 54, 71].

Famille de substances	Constituants principaux de la famille de substances
Alcools triterpéniques, tricycliques et pentacycliques Saponosides (triterpènes pentacycliques)	<ul style="list-style-type: none"> • Hélianol (fig. 10) • Dérivés du lupène, de l'oléanène, des taraxènes, de l'ursène : faradiol, arnidiol, héliantriol, calenduladiol, amyrine, ursadiol (myristate, laurate, palmitate) • Mono et bidesmosides : calendulosides libres et estérifiés
Sesquiterpènes	bisabolol et chamazulène viridiflorol (fucoside ; He)
Dérivé terpénique particulier : Lactone terpénique	loliolide (produit de dégradation des caroténoïdes)
Caroténoïdes et xanthophylles	zéaxanthine, flavoxanthine, lutéine, β -carotènes, lycopène
Flavonoïdes	isorhamnétine, quercétine, kaempférol (génines) ; hétérosides très divers
Acides phénoliques	acides chlorogénique, caféique, coumarique, vanillique
Coumarines	umbelliférone, esculétole, scopolétole
Polysaccharides	PS-I, PS-II, PS-III, PSIV, PSV – rhamnogalacturonanes ; arabinogalactanes ; polysaccharides à ramifications courtes

² Dichlorométhane, hexane, acétate d'éthyle

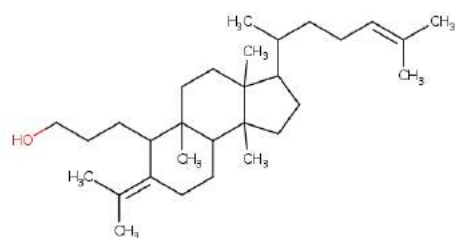


Figure 10. Structure chimique de l'hélianol, un alcool triterpénique extrait par le méthanol de fleurs de *calendula* [5].

Divers extraits par des solvants polaires³ de feuilles, de fleurs ou de plante totale de *souci* contiennent des saponosides en quantité notable et variable (2-10 %) selon la variété et la période de récolte. Il s'agit principalement des calendulosides, des dérivés de l'acide oléanolique sous forme de monodesmosides ou des dismesmosides (fig. 12). Les saponosides sont synthétisés par les feuilles et stockés dans la racine et les fleurs. La teneur des capitules (5,6 % du poids sec) est environ 12 fois supérieure à la teneur des racines (0,44 % du poids sec), mais il ne semble pas exister de corrélation générale entre la teneur en saponosides et le stade de la floraison [13, 67]. Leur production est fortement stimulée par des nanoparticules d'argent et le méthyl-jasmonate introduits dans le milieu (culture hydroponique) [28].

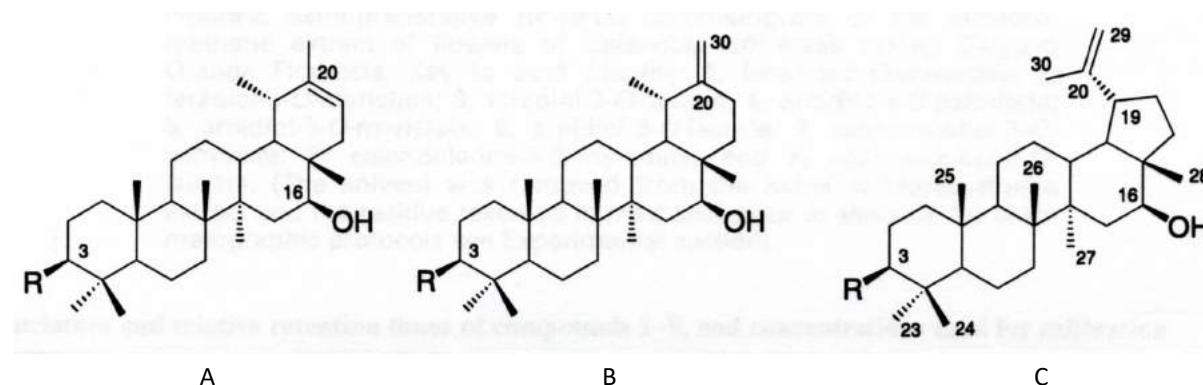


Figure 11. Parmi les principaux triterpénoïdes identifiées dans différentes variétés de *calendula* on trouve des dérivés du faradiol (A), de l'arnidiol (B) et dérivés du calenduladiol (C) ; il s'agit d'esters des acides laurique, myristique et palmitiques combinés avec la fonction alcool en C3 de la génine [7, 50].

Tableau 2. Teneurs (%) des esters du faradiol dans différents organes de *calendula* ($m \pm \sigma$) ; les valeurs avec la même lettre ne diffèrent pas significativement l'une de l'autre [72].

Organs	Faradiol laurate ^a	Faradiol myristate ^a	Faradiol palmitate ^a
Ray florets	0.206 (± 0.052) ^B	1.333 (± 0.259) ^C	1.418 (± 0.212) ^C
Disk florets	0.015 (± 0.019) ^A	0.231 (± 0.078) ^B	0.158 (± 0.069) ^B
Involucral bracts	0.003 (± 0.004) ^A	0.031 (± 0.026) ^A	0.030 (± 0.026) ^A
Leaves	0.000 (± 0.000) ^A	0.008 (± 0.003) ^A	0.015 (± 0.009) ^A

³ méthanol, éthanol, isopropanol, eau, seuls ou en mélange

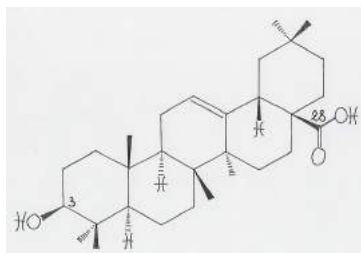


Figure 12. Les saponosides des extraits des fleurs de *calendula* sont des monodesmosides de l'acide oléanolique (liaison éther en C3 avec du glucose ou l'acide D-glucuronique seuls ou substitués formant des di- ou trisaccharides, linéaires ou ramifiés) ou des bidesmosides (liaison éther en C3 et esther en C28 avec du glucose) [13, 67].

Les flavonoïdes et les acides phénols

L'extrait par des solvants polaires de capitules de *calendula* contient des polyphénols dérivés de l'acide caféique, des flavonoïdes (principalement des hétérosides de l'isorhamnétine et de la quercétine) (fig. 13), mais aussi du gallate d'épicatéchine. La teneur des flavonoïdes est plus abondante dans les fleurs ligulées (0,88 %) que dans les fleurs tubulées (0,25 %) ou dans le réceptacle (0,33 %) ; elle est maximale au 3^{ième} jour après le début de l'ouverture du capitule. La teneur en acide phénols est la plus élevée pendant la période de floraison [6, 16, 34, 36, 48, 62, 67].

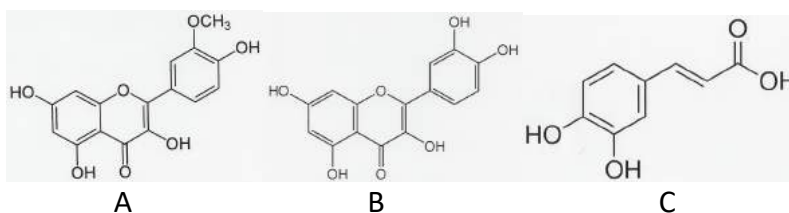


Figure 13. Structures de l'isorhamnétine (A), de la quercétine (B) et de l'acide caféique (C).

Les caroténoïdes

Les extraits de fleurs de *calendula* contiennent des carotènes et des xanthophylles, en quantités notables (0,78 g % g de poids sec de ligules ; 0,16 g % g de pollen). La lutéine, le lycopène et ses dérivés sont dominants. La composition qualitative et quantitative est fonction de la variété culturale [44]. Les feuilles et les tiges en contiennent sensiblement moins, respectivement 0,09 g % et 0,02 g % de poids sec [48, 57]. Le traitement d'une culture hydroponique de *calendula* par du méthyl-jasmonate (à la concentration de 100 μ mol) a pour effet d'augmenter la teneur en caroténoïdes [27].

L'huile essentielle

Les capitules du *souci* contiennent de l'huile essentielle (He). La teneur des ligules est plus faible que celle du capitule ; elle est maximale au moment de la pleine floraison et sensiblement plus faible avant (0,13% au lieu de 0,4 % à 0,97 %). L'He contient des dérivés monoterpéniques et sesquiterpéniques oxygénés (cadinol et dérivés). La teneur en He et sa composition sont fortement influencées par les facteurs géographiques (tableau 3). Sa composition est également influencée par les phases du cycle de la plante : après la floraison, l'He contient davantage d' α -cadinène, d' α -cadinol, de t-muurolol, de limonène et de 1,8-cinéol, mais est pauvre en p-cymène [48].

Tableau 3. Teneur des capitules de *calendula* en huile essentielle selon les régions de production.

Inde [48]	0,4 à 0,97 %
Ouzbékistan [3]	0,25 %
l'Uttar Pradesh (nord de l'Inde) [47]	1,25 %.
Europe [13, 28]	0,2 à 0,4 %

Dérivés terpéniques particuliers

L'extrait lipophile de fleurs de *calendula*, contient des glucosides sesquiterpéniques comme le viridiflorol ou les dérivés de l'eudesmol [20]. Les ligules contiennent le plus de viridiflorol, d'où l'intérêt de cultiver des plantes à fleurs « doubles ».

L'extrait au CO₂ supercritique de fleurs contient des dérivés sesquiterpéniques tels le bisabolol et le chamazulène en quantité équivalentes à celles de l'extrait de fleurs de camomille obtenu dans les mêmes conditions. Les feuilles contiennent sensiblement moins de chamazulène et ne contiennent pas de bisabolol [4]. Le loliolide est une lactone terpénique extractible par l'eau, qui résulte de la dégradation de caroténoïdes (fig. 14).

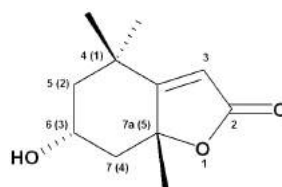


Figure 14. Représentation schématique du loliolide.

Constituants des graines

Les graines de *calendula* contiennent à maturité complète environ 20 % d'huile. Cette huile contient des acides gras insaturés en proportion élevée, parmi eux un acide gras inhabituel chez les plantes, l'acide calendique (acide trans, trans, cis $\Delta^{8,10,12}$ octadécatriénoïque). Il ne se trouve qu'à l'état de traces ailleurs dans la plante. Les acides calendique et linoléique sont majoritaires dans les triglycérides de l'huile (46 à 55 % d'acide calendique et 23 à 29 % d'acide linoléique). L'acide calendique résulte de la désaturation de l'acide linoléique (désaturase et autres mécanismes biochimiques). Les particularités de cette huile devraient trouver des applications diététiques et thérapeutiques [23].

Conclusion : Il apparaît clairement que les organes les plus riches en principes actifs sont les capitules fleuris, plus exactement les ligules et la graine, alors que la plante végétative en contient beaucoup moins. Cette observation justifie l'utilisation pharmaceutique du capitule ou de ses seules ligules.

Pharmacologie classique

Activité antioxydante : flavonoïdes, acides phénols et caroténoïdes

Les extraits polaires de fleurs de *calendula* inhibent les espèces oxygénées réactives (ROS) et les radicaux libres (NO_x, ClO⁻) produits au cours du phénomène inflammatoire par les cellules de l'immunité, les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles ainsi que les macrophages. Ces activités anti-radicalaires et anti-oxydantes ont été démontrées *in vitro* ; leur intensité est influencée par la variété de *calendula*. Elles sont corrélées avec la teneur

totale en caroténoïdes, en acides phénols et en flavonoïdes, dont les dérivés ortho-diphénol du cycle B sont les plus actifs. Les caroténoïdes sont des antioxydants actifs à très faibles concentrations [9, 16, 59].

Ces activités anti-oxydantes contribuent à réduire l'inflammation ; ce faisant elles empêchent la peroxydation lipidique des membranes et d'autres altérations. Les effets de ces substances sont démontrés *in vivo* chez l'animal et chez l'homme. Elles rétablissent la concentration de glutathion (potentiel antioxydant) et réduisent la concentration du malonyldialdéhyde, de la catalase et de la superoxydedismutase, les témoins tissulaires ou sériques du processus oxydatif (encadré 2) [6, 36, 48, 59].

Encadré 2. Résultats expérimentaux et cliniques reliés aux propriétés antioxydantes de *calendula*.

- Des rats intoxiqués par du trichloréthylène ou par du tétrachlorure de carbone présentent des signes d'atteinte hépatique et d'inflammation associés à des marqueurs du stress oxydatif. L'administration d'extraits hydro-alcooliques de fleurs de *calendula* réduit les marqueurs sériques de cytolyse et d'insuffisance hépatique (normalisation des aminotransférases et des protéines plasmatiques), diminue la stéatose, réduits les témoins tissulaires du stress oxydatif (diminution de la concentration tissulaire du malonyldialdéhyde), rétablit le potentiel antioxydant (augmentation du glutathion sérique) et réduit les concentrations des cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α). L'effet hépatoprotecteur est attribué aux acides phénols et aux flavonoïdes [6, 36, 48].
- L'extrait par l'éthanol de parties aériennes sèches et dégraissées par l'éther de pétrole de *calendula* contient des principes gastro-protecteurs dont les effets ont été observé *in vivo* chez le rat dans différents modèles expérimentaux d'ulcère gastrique. Son administration *per os* induit la diminution de l'acidité et de la sécrétion de pepsine (atténuation de l'agression) et renforce la sécrétion de mucus (facteur défensif). Ces effets sont probablement dus aux flavonoïdes, aux dérivés phénoliques (glucosides) et aux tannins [18].
- L'extrait hydro-alcoolique (éthanol 50%) de fleurs de *calendula* administré *per os* à des souris protège contre les lésions inflammatoires cutanées induites par l'irradiation aux UV-B. L'extrait agit comme un antioxydant puissant ; son effet est mesuré par la concentration tissulaire de glutathion (GSH) qui en présence d'extrait n'est que peu influencée par l'irradiation [25].
- La teinture mère de capitule (extrait hydro-alcoolique) dilué dans un excipient approprié réduit les inflammations muqueuses de l'oropharynx, induites par la radiothérapie des cancers de la tête et du cou. Cet effet est en partie expliqué par les propriétés anti-oxydantes des extraits, notamment par leur teneur en acides phénols et en flavonoïdes [8].
- L'extrait lipophile de fleurs de *calendula*, utilisé en application externe sous forme de crème, est plus efficace que la trolamine pour prévenir les dermites aiguës induites par la radiothérapie postopératoire du cancer du sein [56].
- Le diabète est associé à un faible potentiel de compensation des ROS. Il est admis que l'effet hypoglycémiant de *calendula*, constaté en médecine populaire, est à rapporter aux constituants antioxydants [6].
- Les caroténoïdes, comme le lycopène, la lutéine et l' α -carotène, protègent de la formation de foyers de cryptes aberrantes, considérés comme des marqueurs de cancer du côlon chez le rat. Ils agissent par leur pouvoir antioxydant et anti-radicalaire vis-à-vis d'espèces oxygénées réactives et de radicaux libres, considérés comme des promoteurs de carcinogénèse [49].

Activité anti-inflammatoire et cicatrisante

Les extraits de fleurs de *calendula* ont des propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes importantes, aussi bien dans le cas de situations aiguës que chroniques, quelle que soit l'origine de l'inflammation. Leurs effets concernent différentes phases des phénomènes de la cicatrisation : hémostasie primaire, œdème, épithélialisation, angiogénèse

et reconstitution de la substance fondamentale. Dans l'inflammation expérimentale animale, ils produisent la diminution des médiateurs de l'inflammation (cytokines pro-inflammatoires comme le NF- κ B⁴, les interleukines IL-1 β , IL-6, IL-8, le TNF- α ⁵), de la CRP⁶, de l'interféron (IFN- γ) et de l'expression des gènes de la cyclo-oxygénase [7, 9, 14, 19, 55, 58].

Il est montré que les extraits alcooliques augmentent la production d'ARNm⁷ et de l'interleukine 8 (IL-8) qui, en dehors de son activité pro-inflammatoire, stimule la migration et la prolifération des kératinocytes. Mais le faradiol et l'arnidiol purifiés n'induisent pas l'augmentation de l'interleukine-8 : ces effets sont donc probablement dus à d'autres constituants que les esters triterpéniques [52]. A cela s'ajoute que les effets sur l'inflammation et la cicatrisation des extraits de *calendula* (fleurs) sont observés aussi bien avec l'huile qu'avec la teinture mère (eau/éthanol, titre alcoolique : 50 à 55 %) ; ils sont par conséquent dus à des constituants appartenant à diverses classes chimiques (encadré 3).

Remarque : Il est démontré *in vitro* qu'un mélange homéopathique du commerce réunissant la TM de *calendula diluée et dynamisée* (D4) associée à *Arnica montana* (D4), *Hypericum perforatum* (D4) et *Symphytum officinale* (D6) favorise la migration des fibroblastes et la cicatrisation d'une plaie expérimentale. L'effet ne concerne pas la croissance cellulaire mais seulement la migration des fibroblastes [35].

Encadré 3. Contribution de constituants de différentes classes de principes actifs à l'activité anti-inflammatoire.

- L'activité anti-inflammatoire de l'hélianoliol ou des alcools triterpéniques pentacycliques et de leurs esters sur l'œdème expérimental chez l'animal est équivalente à celle des anti-inflammatoires non stéroïdiens. L'activité anti-oedémateuse est corrélée avec leur polarité : l'aglycone (héliantriol, faradiol) est plus active que les esters correspondants (dérivés moins polaires) [5, 51, 71].
- Ces constituants sont actifs sur la transcription dirigée par le NF- κ B des cellules de l'adénocarcinome gastrique humain (lignée cellulaire AGS), mais inactifs sur la translocation du NF- κ B ; le faradiol est le plus efficace.
- D'autres constituants ont une activité anti-inflammatoire, comme le β -eudesmol, sous forme d'acétyl-fucopyranoside ou le loliolide. Mais ce dernier n'est responsable que de 10 % de l'activité inhibitrice de la transcription par le NF- κ B par rapport à celle du β -eudesmol [19].
- Les cellules sont différemment sensibles aux effets des extraits de *calendula*. Ainsi, sur les kératocytes, les extraits lipophiles et éthanoliques augmentent l'activité de liaison du NF- κ B, mais pas sur les fibroblastes [52].
- Les extraits par l'éthanol inhibent les gélatinases (MMPs : métallo-protéinases matricielles) et favorisent la production de collagène ce qui probablement influence la formation du tissu granuleux. Les saponosides et les flavonoïdes favorisent *in vitro* la synthèse du collagène par les fibroblastes. D'autres constituants impliqués pourraient être l'acide rétinoïque, un produit de dégradation des carotènes possédant un

⁴ NF- κ B : nuclear factor-kappa B ; il s'agit d'une protéine de la superfamille des facteurs de transcription impliquée dans la réponse immunitaire et la réponse au stress cellulaire.

⁵ TNF- α : facteur de nécrose tumorale ; il s'agit d'une importante cytokine impliquée dans les phénomènes inflammatoires et dans la réaction de la phase aiguë.

⁶ CRP : protéine C réactive ; il s'agit d'une protéine, dont la concentration plasmatique augmente lors la phase aiguë de l'inflammation.

⁷ ARNm : acide ribonucléique messenger

groupement β -ionone (comme les α -, β -, et γ -carotènes) ou des produits de dégradation des xanthophylles [52]. Ceci s'ajoute aux observations déjà anciennes du rôle anti-inflammatoire des caroténoïdes comme le lycopène qui réduit sensiblement le niveau de transcription de médiateurs pro-inflammatoires (cytokines et prostaglandines).

- Le ψ -taraxastérol et l'arnidiol (3-O-myristate) ont également des propriétés antioxydantes constatées *in vitro* avec des cellules humaines du cancer du colon (lignée Caco-2). Mais ces activités sont faibles comparées à celles de la N-acétyl-cystéine ou à celles de l'acide 3-O-acétyl-11-cétoboswellique (AKBA), un ester triterpénique pentacyclique produit par l'arbre à encens (*Boswellia serrata*, Burseraceae), choisi comme élément de comparaison [21].

Activités anti-tumorale et anti-métastase

Généralités

Des effets cytotoxiques ou stimulants d'extraits de fleurs⁸ de *calendula* ont été observés *in vitro* sur des lignées cellulaires normales ou tumorales murines et humaines très diverses (encadré 4). Pour une même méthode d'extraction ces effets sont fonctions du type de cellule et de la dose mise en jeu [40, 59]. L'augmentation des effets cytotoxiques *in vitro* sur les cellules HeLa⁹ est corrélée avec celle de la teneur en saponosides, parmi lesquels surtout les dérivés F et G (tableau 4) [27]. Ces substances manifestent *in vivo* des activités antitumorales sur le carcinome d'Ehrlich de la souris [48].

La cytotoxicité des extraits est similaire pour les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine et pour les cellules du mélanome (lignée cellulaire B16F-10) [59]. En revanche pour la même dose d'extrait mise en jeu, on observe sur les fibroblastes de souris (lignée cellulaire L929) seulement 22 % d'inhibition alors que sur les cellules de l'hépatome humain (lignée cellulaire HepG2) elle est de 84 à 93%. En outre l'extrait de *calendula* à concentration faible stimule la croissance du fibroblaste de souris (lignée cellulaire L929), mais pas celle des cellules de l'hépatome (HepG2) [25]. La prolifération des lymphocytes U937 (provenant d'un lymphome humain à histiocytes) est faiblement influencée par l'extrait de *calendula* ; celle des lymphocytes humains NK¹⁰ est au contraire augmentée [40]. Ces faits mettent en évidence une dualité d'action des extraits de *calendula*, en fonction du type cellulaire.

Lorsqu'ils sont cytotoxiques, ces extraits agissent en arrêtant le cycle cellulaire au stade G0/G1 (début du cycle) et en activant l'apoptose induite par la caspase-3. En revanche, ils stimulent l'immunité humorale et cellulaire par leur action sur les lymphocytes humains du sang périphérique et sur les lymphocytes NK humains. Ce faisant, ils favorisent la prolifération et l'activation des B-lymphocytes, soit directement soit par l'intermédiaire de l'activation des lymphocytes T-CD4⁺ (11). De même ils favorisent la prolifération et l'activation des lymphocytes T qui agissent contre les cellules reconnues comme étrangères, notamment

⁸ Infusion dans l'eau chaude ou extrait aqueux activé par laser (LACE) ou encore fraction soluble dans l'acétate d'éthyle de l'extrait au méthanol.

⁹ Lignée de cellules obtenues d'une patiente morte du cancer de l'utérus.

¹⁰ NK : Cellules tueuses naturelles ; elles représentent environ 5 à 16 % des lymphocytes humains et appartiennent au système immunitaire inné (Wikipedia).

¹¹ Les lymphocytes T-CD4⁺ sont encore appelés T-lymphocytes auxiliaires et activent d'autres cellules de l'immunité lorsqu'ils sont liés à des antigènes pathogènes particuliers.

cancéreuses ; ils activent aussi les lymphocytes NKT¹² au rôle fondamental dans la libération rapide de diverses cytokines pro-inflammatoires (IL-2 et IL-4, TNF- α et GM-CSF¹³) dans différents phénomènes pathologiques (infection, allergies, maladies auto-immune et cancer) [48].

L'administration *per os*, pendant 10 jours, d'extrait de fleur de *calendula*¹⁴ à la dose de 250 mg/kg de poids corporel à des souris auxquelles ont été injectées des cellules du mélanome (lignée cellulaire B16F-10), réduit significativement la masse tumorale, réduit de 74% le nombre de nodules métastatiques pulmonaires et augmente significativement la durée de vie de souris porteuses de tumeurs (+ 43 %). L'analyse de divers indicateurs biochimiques, sériques et histo-pathologiques confirme le **potentiel anti-tumoral et anti-métastatique** de calendula (tableau 5 ; encadré 3) [59].

Encadré 4. Activité d'extraits aqueux de capitules de *calendula* sur diverses cellules cancéreuses.

L'infusion dans l'eau chaude a une action inhibitrice (25% d'inhibition à la dose de 2 mg/ml) sur 5 lignées cellulaires de cellules cancéreuses du foie : HepG2/C3A, SK-HEP-1, HA22T/VGH, Hep3B et PLC/PRF/5 [48]. L'extrait aqueux activé par laser (LACE) inhibe *in vitro* la prolifération (72 à 100 % d'inhibition) de cellules malignes humaines : celles du mélanome (ANDO-2), du cancer pulmonaire (MDA-MB231 ; A-549) du cancer gastrique (AGS), du cancer du pancréas (IMIN-PC-1), du cancer du colon (DLD1), du cancer de la prostate (DU-145) et de métastase du cancer du col de l'utérus (HeLa) [40].

Tableau 4. Activité *in vitro* des calendulosides F et G sur différentes lignées de cellules malignes observées avec la fraction soluble dans l'acétate d'éthyle d'un extrait au méthanol de fleurs de *calendula* ; GI₅₀ : concentration inhibitrice permettant de réduire de 50% la prolifération cellulaire [48].

	Calenduloside F	Calenduloside G
Lignée de cellules malignes	GI ₅₀ (μ mol)	GI ₅₀ (μ mol)
Leucémie MOLT-4 et RPMI- 8226	0,77-0,99	\leq à 20
Leucémie CCRF-CEM	23,1	\leq à 20
Mélanome LOXIMVI, SK-MEL-5, UACC-62	0,77-0,99	\leq à 20
Cancer rénal UO-31	12,7	33
Cancer rénal AK-1	17,2	\leq à 20
Cancer du poumon NCI/ADR-RES	> 50	\leq à 20
Cancer de l'ovaire IGROVI		20

¹² Natural killer T ou tueur naturel T (NKT)

¹³ Interleukines 2 et 4 (IL-2, IL-4) facteur de nécrose tissulaire α (TNF- α), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF).

¹⁴ L'extrait sec obtenu par macération hydro-alcoolique de fleurs est repris par de l'eau distillée, pour obtenir une solution de concentration normalisée.

Tableau 5. Effets d'extraits de fleurs de *calendula* sur la prolifération cellulaire et sur le processus métastatique chez la souris porteuse d'un mélanome (lignée cellulaire B16F-10) [59].

Marqueurs	Tissulaire (T) ou Sérique (S)	Paramètre biochimique	Effet du traitement par <i>calendula</i>
Fibrose pulmonaire	T	Acide uronique, Hexosamine, Hydroxyproline (µg / mg de protéine)	Diminution significative
Prolifération cellulaire	S	γ-GT, Acide sialique	Diminution significative
Néoangiogenèse	S	VEGF	Diminution significative
Inhibition des Métalloprotéases	S	TIM-1, TIM-2	Augmentation vers les valeurs normales
Promotion de l'inflammation	S	Cytokines : IL-1β, IL-6, TNF-α, GM-CSF	Diminution significative

Autres constituants actifs

Les caroténoïdes, les acides gras des graines et d'autres substances influencent la croissance des tumeurs

Les caroténoïdes de fleurs de *calendula*, carotènes ou xanthophylles, agissent par leur pouvoir antioxydant (cf. ci-dessus). D'autres effets sont observés. La lutéine (xanthophylle) a des propriétés sur la croissance des tumeurs mammaires : elle augmente la latence des tumeurs et améliore la prolifération des lymphocytes chez la souris. Les β-carotènes sont dotés de propriétés antimétastatiques sur les cellules B16F-10 du mélanome [59].

Les **acides gras** à doubles liaisons conjuguées des graines (acide calendique) ont des effets anti-cancéreux par l'activation de l'apoptose de nombreuses cellules tumorales comme les cellules de leucémie humaine (U-937) et du cancer du côlon (Caco-2) [23].

Le loliolide, une substance identifiée dans de nombreuses autres plantes, a des propriétés inhibitrices de la germination, antitumorales et immunosuppressives [31]. Jusqu'à présent ces propriétés antitumorales n'ont pas été confirmées.

Effets sur le système digestif

L'infusion de *calendula* (99p eau 100°C, partie aérienne de la plante 1p, 15min) réduit le poids corporel, diminue le taux des lipoprotéines de faible densité, des triglycérides et du cholestérol sériques ainsi que celui de la CRP plasmatique des rats soumis à une diète obésogénique riche en fructose et en lipides. Ces effets sont dus à l'inhibition de la lipase pancréatique ; ils sont corrélés avec les teneurs en flavonoïdes, phytostérols et en alcaloïdes [32].

Chez le rat, les fractions riches en saponosides (dérivés D et F notamment) d'un

extrait par le méthanol de fleurs de *calendula* inhibent la vidange gastrique et ce faisant réduisent la glycémie maximale dans des épreuves de charge *per os* en glucose. Ces mêmes dérivés ont des propriétés protectrices contre l'induction de lésion de la muqueuse gastrique par l'indométhacine ou par l'éthanol; dans ce dernier cas les effets sont supérieurs à ceux de l'oméprazole, le médicament de référence (Yoshikawa et al., 2001). L'activité anti-ulcéreuse d'extraits de *calendula* est équivalente à celle de la ranitidine sur la muqueuse de l'estomac du rat [18].

Dans la gastrite non traitée, l'épithélium de l'estomac sécrète de nombreuses chimiokines et cytokines dont le NF- κ B. Ce dernier joue un rôle crucial dans le développement et le maintien de l'inflammation. Il est montré *in vitro*, sur des cellules de l'adénocarcinome gastrique humain (AGS ECACC 89090402), que le système NF- κ B est inhibé de manière dose-dépendante par certaines fractions d'extraits lipophiles de capitules de *calendula*. Les effets observés sont rapportés à des sesquiterpènes (β -eudesmol, viridiflorol), au loliolide et à des alcools triterpéniques et leurs esters (principalement le 3O-myristate), dont le plus actif est le faradiol. Ces substances ne sont pas toxiques et seraient par conséquent utilisables pour la préparation de médicaments de la gastrite dont la prévalence mondiale est importante [19].

De même, l'extrait hydro-alcoolique (teinture mère TM) de capitules de *calendula*, associés aux extraits de rhizome de gingembre et des parties aériennes de romarin améliore significativement les gingivites. Cette amélioration est évaluée par la réduction des indices de l'inflammation (modified gingival index = MGI), du saignement (modified bleeding index = MBI) et de la réduction de la plaque dentaire (MQH); l'efficacité du traitement est semblable à celui utilisant la chlorhexidine [46].

In vitro, la dilution homéopathique de *calendula* (C10, à partir de TM de ligules, dans l'éthanol à 43% selon les prescriptions de la Pharmacopée européenne) module l'expression du gène de HB-EGF¹⁵ stimulée par *Helicobacter pylori* [33].

Activités « antibiotiques »

Activité antivirale

La TM de fleurs (extrait hydro-alcoolique) empêche la réplication du virus herpétique et de certains virus de la grippe (influenza A2 et influenza APR-8) et supprime *in vitro* la réplication du virus herpétique (Herpes simplex).

¹⁵ HB-EGF (heparine binding epithelial growth factor) est une protéine produite à partir d'un précurseur transmembranaire, clivé au niveau de la membrane plasmique en HB-EGF soluble. Cette protéine est produite par le monocyte. HB-EGF est présente dans de nombreux tissus, comme la peau, le rein, le cœur, le cerveau, les tissus reproducteurs, la rate, le lymphocyte. Cette protéine se lie à des récepteurs membranaires spécifiques de différentes cellules et suscite leur réponse mitogène. Ces aspects laissent supposer de nombreuses fonctions de HB-EGF, prédominantes notamment dans la phase de cicatrisation (épithélialisation) des plaies cutanées où ce facteur exerce un effet mitogène, induit la migration cellulaire (kératocytes, fibroblastes) et favorise l'angiogénèse.

HB-EGF joue un rôle important dans le renouvellement des cellules du tractus gastro-intestinal et le maintien de l'intégrité de la muqueuse. Ce processus concerne la prolifération, la migration et la perte des cellules gastro-intestinales. HB-EGF est synthétisée par les cellules pariétales et les cellules à gastrine : elle régule la prolifération et la différenciation des cellules muqueuses gastriques. La guérison de lésions profondes de la muqueuse ou d'ulcère, nécessite la migration et la prolifération de cellules épithéliales (ré-épithélialisation). *Helicobacter pylori* est associé à l'ulcération de la muqueuse gastrique et retarde la guérison des ulcères (caractère chronique) ce qui entraîne la surexpression de HB-EGF.

Un extrait obtenu avec un mélange de dichlorométhane-méthanol contient des constituants (probablement des glucosides de flavonols) capables d'inhiber des étapes précoces du cycle de réplication du virus HIV-1 à des concentrations dépourvues de tout effet cytotoxique (encadré 5) [41].

Encadré 5. Activité de la TM de fleurs de *calendula* sur les étapes précoces de la réplication du HIV-1.

L'extrait de fleurs de calendula assure la protection des cellules contre la cytopathogénicité de HIV-1 (90% à des concentrations de 10 à 30 µg / ml) :

- en inhibant la réplication du virus.
- en inhibant totalement la fusion cellulaire pendant 24 heures, probablement en bloquant l'adsorption ou l'internalisation du virus à un stade précoce de son cycle (inhibition ou enrobage des sites de liaison).
- en inhibant la reverse transcriptase ; cet effet est fonction du temps pour une dose donnée d'extrait.

La reverse transcriptase est une enzyme virale qui transcrit l'ARN viral en ADN, incorporé secondairement dans le génome de la cellule hôte. Cette enzyme possède 3 domaines d'activité : une ADN polymérase ARN dépendante, une ribonucléase et une ADN polymérase dépendante de l'ADN. La transcription se fait en trois étapes : a) formation à partir d'un ARN monocaténaire d'un hybride ARN-ADN bicaténaire, b) élimination de l'ARN puis c) formation d'un ADN bicaténaire lequel est intégré dans l'ADN de la cellule hôte (provirus) et se multiplie avec la cellule hôte (infection à long terme) ; une ARN polymérase transforme le provirus (ADN) en virus à ARN (virion libres).

Activité antimicrobienne et antiparasitaire

L'extrait méthanolique et le décocté de fleurs ont une action inhibitrice sur toutes les bactéries parodontales anaérobies et aérobies facultatives. L'activité inhibitrice sur des bactéries (Entérobactéries, Bacillus, Pseudomonas, Staphylocoque doré) est supérieure à celle de l'extrait éthanolique. Elle est rapportée aux flavonoïdes [16]. L'extrait hydro-alcoolique de capitule de *calendula* est peu actif sur *Helicobacter pylori*, mais inhibe complètement *Campylobacter jejuni* [28].

In vitro, les extraits méthanoliques de fleurs de *calendula* sont inhibiteurs des formes extracellulaires de *Leishmania major* (IC₅₀ = 108 µg.ml⁻¹ comparé à IC₅₀ = 5,3 µg.ml⁻¹ avec la miltefosine, le médicament de référence de la leishmaniose) et manifestent une activité significative sur les formes intracellulaires des macrophages infectés (réduction de 67 % du nombre d'amastigotes dans 100 macrophages contre 77 % avec la miltefosine). Les extraits de *calendula* produisent moins d'effets secondaires (cytotoxicité pour le macrophage seulement de 10 % contre 20 % avec la miltefosine) [53].

L'He exerce une action antifongique notable. Des extraits par le méthanol et l'éthanol de ligules de *calendula* ont des propriétés inhibitrices sur des champignons du genre *Candida*, *Aspergillus* et *Exophiala*. L'He des capitules est également bactériostatique (sur *Bacillus* sp, sur des *Enterobacteriaceae*, des *Pseudomonas* sp. et des *Staphylococcus* sp.) et antiparasitaire (sur *Trichomonas vaginalis*) [24, 28].

Activité insecticide

Muley et al. [48] rapporte des effets insecticides observés par Alexenizor (2007) sur *Oncopeltus fasciatus*, un insecte herbivore (Hémiptère, Lygaeidae) de différentes Asclepiadaceae et d'autres espèces comme *Nerium oleander* (Apocynaceae).

Les extraits alcooliques et aqueux de fleurs de *calendula* ont un effet acaricide sur *Rhipicephalus microplus*, la tique bleue asiatique : ils sont mis en évidence *in vitro* sur des tiques résistantes aux pyréthrinoides (insecticide neurotoxiques). Cette toxicité s'exprime par l'augmentation de la mortalité des adultes et des larves (fonction de la dose), par la

diminution de la masse d'œufs produits et par la diminution, voire l'annulation de leur taux d'éclosion. Ces effets sont rapportés à la teneur en acides phénols, en flavonoïdes et en tannins ; l'extrait par l'éthanol et sensiblement plus actif que l'extrait aqueux [29].

Propriétés immunostimulantes et photoprotectrices

Les **polysaccharides** activent *in vitro* la phagocytose des granulocytes et des macrophages à des concentrations de 10^{-5} à 10^{-6} mg/ml. Les PS-III sont deux fois plus actifs que les PS-I et les PS-II. Les PS contribuent à la soudure des tissus et contrôlent la perméabilité cellulaire. Des polysaccharides analogues sont décrits chez d'autres Astéraceae [42].

L'huile essentielle des ligules a un effet **photo-protecteur**. L'index calculé *in vitro* est voisin de 15 pour des radiations du domaine des UV-B (290 – 320 nm) [47].

Toxicité

La plante n'est pas toxique. En effet, l'administration *per os* d'un extrait hydro-alcoolique de fleurs de *calendula* à des rongeurs ne produit aucun symptôme de toxicité aiguë jusqu'à des doses de 5 g/kg, ni de toxicité à court terme (dose de 1g/kg pendant 30 jours) ; aucune toxicité hématologique n'a été observée pour des doses de 0,025 à 1 g/kg, mais les résultats ont parfois montré des signes de surcharge rénale (augmentation de l'urée) et hépatique (augmentation de l'alanine transaminase) [13, 48]. Chez l'homme aucun accident toxique ni aucune allergie n'ont été décrits.

Conclusion

Les propriétés remarquables de la plante

La métamorphose des feuilles de *calendula* est très discrète et progressive et s'exprime principalement par la réduction de la taille des feuilles. Celles-ci échappent aux influences structurantes de l'impulsion florale ; elles restent amorphes comme le sont habituellement les premières feuilles basales des plantes influencées par la proximité humide du sol [30, 65]. La plante avant floraison présente un aspect touffu renforcé par l'engoncement dans le feuillage du capitule de la tige principale ; celui-ci en émerge tout juste avant de s'épanouir. Simonis [64] parle de stase éthérique (stase végétative) pour caractériser cette situation. Mais malgré une certaine exubérance de la plante végétative *calendula* est incapable de reproduction non sexuée.

La teneur en eau des feuilles et des tiges est comprise entre 85 et 90 % [34] ; l'importance de l'eau chez cette plante est soulignée par le fait que la TM préparée à partir des capitules frais, doit l'être au 1/20^{ième} (et non au 1/10^{ième} comme généralement) pour obtenir un titre alcoolique suffisant, conforme aux prescriptions du Codex (Pharmacopée française, 2005). L'importance de l'eau chez *calendula* est concordante avec la notion de stase éthérique.

Le contraste entre les caractéristiques de la plante végétative et la plante florifère est évident : l'impulsion florale limite l'espace, suscite des ramifications et coordonne avec une précision métronomique les séquences de floraison. L'ordonnement des capitules est très strict. Le capitule de la tige principale s'extrait lentement de la plante végétative, prend ses distances par rapport à elle, puis la domine. Finalement le processus de dépérissement s'installe. Mais souvent, la plante ne meurt pas à maturité des graines comme le ferait une plante annuelle lorsque le processus floral est achevé ; selon la clémence de l'hiver, *calendula* continue de produire des rameaux florifères et de nouvelles pousses tardives sur

la partie inférieure de la tige après que les feuilles de la plante défleurie soient tombées. Ce caractère pérennant indique que *calendula* s'émancipe partiellement des influences limitantes de la plante générative.

Du point de vue fonctionnel le capitule est monoïque. Cette dissociation des sexes dans l'espace est corrélée avec des teneurs en principes actifs différentes entre ligules et tubules (cf. supra) : les fleurons ligulés femelles, les seuls fructifères en sont nettement plus riches. Ce fait est à rapprocher de ce que l'on observe chez les plantes dioïques, comme le chanvre (*Cannabis sativa* L., Cannabaceae) ou le houblon (*Humulus lupulus* L., Cannabaceae) dont les pieds femelles fructifères fournissent respectivement des fibres de bonne qualité et de la résine riche en tétrahydrocannabinol (THC) ou des principes amers et aromatiques (strobiles fructifères), alors que les pieds mâles correspondants sont moins intéressants de ce point de vue [13, 61].

Correspondances avec les propriétés médicinales

Les études pharmacologiques montrent que *calendula* produit un grand nombre d'effets (pléiotropie). Ils sont principalement rapportés aux dérivés terpéniques (mono et sesquiterpènes, alcools triterpéniques et leurs dérivés, saponosides) ainsi qu'aux caroténoïdes, aux acides phénols et aux flavonoïdes. Les principes actifs d'une seule catégorie chimique n'expliquent pas à eux seuls les effets observés. C'est ainsi que les propriétés anti-inflammatoires sont rapportées aussi bien aux propriétés anti-oxydantes des caroténoïdes, des acides phénols et des flavonoïdes qu'aux activités des alcools triterpéniques (faradiol), que complètent celles des saponosides et du β -eudesmol. *Calendula* est anti-inflammatoire et cicatrisante en agissant à différents niveaux des phénomènes.

Or l'inflammation aiguë ou chronique accompagne de nombreuses maladies, articulaires, ulcéreuses digestives, hépatiques, diabétiques, athéromateuses, cancéreuses ou neurodégénératives ; ceci explique les effets bénéfiques de *calendula* dans de nombreuses circonstances pathologiques.

Calendula est également cytotoxique pour des cellules cancéreuses et s'oppose au développement de métastases, auxquelles s'ajoutent des propriétés antivirales, antibactériennes, antiparasitaires et insecticides. *Calendula* contrôle les processus prolifératifs et de virulence.

Il est important de noter que les principes actifs sont les plus concentrés dans les capitules, notamment dans les ligules et non dans la plante végétative : l'impulsion florale (astralité) apporte avec elle les substances actives du point de vue pharmacologique, ce qui justifie l'usage en pharmacie des capitules fleuris voire des seuls fleurons ligulés. Les constituants des extraits de fleur de *calendula* sont aux processus prolifératifs ou de virulence des phénomènes pathologiques ce que l'impulsion florale est à la plante végétative. Autrement dit, la stase végétative de la plante (éthérique), son lien particulier avec l'eau évoque les phénomènes œdémateux et prolifératifs de la phase initiale de l'inflammation, tandis que le processus floral trouve sa correspondance dans la phase de détersion, de régénération et de restructuration tissulaire.

Références de littérature

1. **Abbasi AM, Khan MA, Ahmad M, Zafar M, Jahan S, Sultana S** (2014) Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province, Pakistan. *Journal of ethnopharmacology*, 128, 322-335.
2. **Aeschimann D, Lauber K, Moser DM, Theurillat JP** (2004) *Flora alpina*. Haupt Verlag, Bern.
3. **Abdullabekova V, Juraeva A, Azizov O, Yunusxodjaeva N** (2014) Essential oil of *Calendula officinalis*. *European Medical Health and Pharmaceutical Journal*, Vol 7, 2, 34-37.
4. **Agatonovic-Kustrin S, Ortakand DB, Morton DW, Yusof Ap** (2015) Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in calendula, feverfew and german chamomilla extracts. *Journal of Chromatography A*. 1385, 103-110.
5. **Akihisa T, Yasukawa K, Oinuma H, Kasahara Y, Yamanouchi S, Takido M, Kumaki K, Tamura T** (1996) Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry* 43, N°6, 1255-1260.
6. **Anupam S, Kshitij A, Prem S, Jangra M** (2014) In vitro antioxidant activity of different extracts of *Calendula officinalis* leaves. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 4(4), 74-76.
7. **Arora D, Rani A, Sharma A** (2013) A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula*. *Pharmacogn. Rev.* 7(14), 179-187.
8. **Babae N, Moslemi D, Khalilpour M, Vejdani F, Moghadamnia Y, Bijani A, Baradaran M, Kazemi MT, Khalilpour A, Pouramir M, Moghadamnia AA** (2013) Antioxidant capacity of *Calendula officinalis* flowers extract and prevention of radiation induced oropharyngeal mucositis in patients with head and neck cancers : a randomized controlled clinical study. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 21, 18.
9. **Bahramsoltani R, FarzaeiMH, Rahimi R** (2014) Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds : an integrative review. *Arch Dermatol Res* 306, 601-617.
10. **Blamey M, Grey-Wilson C** (2000) *Toutes les fleurs de Méditerranée*. Delachaux et Niestlé, Lausanne, Suisse.
11. **Blaschek W, Hänsel R, Keller K, Reichling J, Rimpler H, Schneider G. (Hrsg.)** (1992) *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, Band 4. Springer Verlag, 5. Auflage, 346-352.
12. **Bonnier G, Douin R** (1934) *Flore complète de France, Suisse et Belgique*. Librairie Générale de l'Enseignement, Paris.
13. **Bruneton J** (2009) *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Lavoisier.
14. **Budovsky A, Yarmolinsky L, Ben-Shabat S** (2015) Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Rep Reg* 23, 171-183.
15. **Busser C, Busser E** (2005) *Les plantes des Vosges. Médecine et traditions populaires*. La Nuée Bleue, Strasbourg.
16. **Butnariu M, Coradini CZ** (2012) Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry. *Chemistry Central Journal* 6 : 35, 1-7.
17. **Cas LD, Pagni F, Fico G** (2015) Tradition of use on medicinal species in Valfurva (Sondrio, Italy). *Journal of Ethnopharmacology* 163, 113-134.
18. **Chandra P, Kishore K, Ghosh AK** (2015) Evaluation of antiacid capacity and antiulcer activity of *Calendula officinalis* L. in experimental rats. *Orient Pharm Ex Med* 15, 277-285.
19. **Colombo E, Sangiovanni E, D'Ambrosio M, Bosisio E, Ciocarlan A, Fumagalli M, Guerriero A, Harghel P, Dell'Agli M** (2015) Abio-guided fractionation to assess the inhibitory activity of *Calendula officinalis* L. on the NF- κ B driven transcription in human gastric epithelial cells. *Evidence-based Complementary and alternative medicine*, article ID 727342.
20. **D'Ambrosio M, Ciocarlan A, Colombo E, Guerriero A, Pizza C, Sangiovanni E, Dell'Agli M** (2015) Structure and cytotoxic activity of sesquiterpene glycosides esters from *Calendula officinalis* L.: studies on the conformation of viridiflorol. *Phytochemistry* 117, 1-9.
21. **Dall'Acqua S, Catanzaro D, Cocetta V, Igl N, Ragazzi E, Giron MC, Cecconello L, Montopoli M** (2016) Protective effects of ψ -taraxasterol 3-O-myristate and arnidol 3-O-myristate isolated from *Calendula officinalis* on epithelial intestinal barrier. *Fitoterapia* 109, 230-235.
22. **Diederich K, Riggers U** (2006) *Die Calendula*. *Der Merkurstab*, 1, 47-55.
23. **Dulf FV, Pamfil D, Baci AD, Pintea A** (2013) Fatty acid composition of lipids in pot marigold (*Calendula officinalis* L.) seed genotypes. *Chemistry Central Journal*, 7(8), 1-11.
24. **Efstratiou E, Hussain AI, Nigam PS, Moore JE** (2012) Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as gram-negative and gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 18, 173-176.

25. **Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FTMC, Nomizo A, Gerlach RF, Viera Fonseca MJ** (2010) Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin : Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinases secretion. *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 596-601.
26. **Fournier P** (1997) Les quatre flores de France. Editions Lechevallier, Paris.
27. **Ghanati F, Bakhtiarian S** (2014) Effect of methyl jasmonate and silver nanoparticles on production of secondary metabolites by *Calendula officinalis* L (Asteraceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical research* 13 (11), 1783-1789.
28. **Ghédira K, Goetz P** (2016) *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) : souci. *Phytothérapie* 14, 62-67.
29. **Godara R, Katoch R, Yadav A, Ahanger RR, Bhutyal ADS, Verma PK, Katoch M, Dutta S, Nisa F, Singh NK** (2015) In vitro acaricidal activity of ethanolic and aqueous floral extracts of *Calendula officinalis* against synthetic pyrethroid resistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Exp Appl Acorol* 67, 147-157.
30. **Göbel T** (1988) Die Pflanzenidee als Organon. Tycho Brahe-Verlag, D-Niefern-Öschelbronn.
31. **Grabarczyk M, Wińska K, Mączka W, Potaniec B, Anioł M** (2015) Loliolide - the most ubiquitous lactone. *Folia Biologica et Oecologica* 11: 1–8.
32. **Hernandez-Saavedra D, Pérez-Ramirez I, Ramos-Gomez M, Mendoza-Diaz S, Loarca-Pina G, Reynoso-Camacho R** (2016) Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum* and *Salvia officinalis* infusions on obesity-associated cardiovascular risk. *Med Chem Res* 25, 163-172.
33. **Hofbauer R, Pasching E, Moser D, Frass M** (2010) Heparin-binding epidermal growth factor expression in KATO-III cells after *Helicobacter pylori* stimulation under the influence of *Strychnos nux vomica* and *Calendula officinalis*. *Homeopathy* 99, 177-182.
34. **Honório ICG, Bonfim FPG, Montoya SG, Wagner Dias Casali V, Leite JPV, Cecon PR** (2016) Growth, development and content of flavonoids in calendula (*Calendula officinalis* L.). *Acta Scientiarum Agronomy Maringa*, 38 (1), 69-75.
35. **Hostanska K, Rostock M, Melzer J, Baumgartner S, Saller R** (2012) A homeopathic remedy from arnica, marigold, St. John's wort and comfrey accelerates *in vitro* wound scratch closure of NIH 3T3 fibroblasts. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 22 (100), 1-9.
36. **Ibrahim NA, Elwakkad AS, Khedre ME, Mourad HH, Sibaii H** (2014) Amelioration of trichloroethylene – induced hepatic inflammatory response and oxidative stress by *Calendula officinalis* in rats. *International Journal of Academic Research Part A*, 6 (5), 36-40.
37. **Idolo M, Motti R, Mazzoleni S** (2010) Ethnobotanical and phytomedicinal knowledge in a long-history protected area, the Abruzzo, Lazio and Molise National Park (Italian Apennines). *Journal of Ethnopharmacology* 127, 379-395.
38. **IAAP-International Association of Anthroposophic Pharmacists** (2013) *Anthroposophic Pharmaceutical Codex*. MedPharm Scientific Publishers, Stuttgart.
39. **Jaric S, Macukanovic-Jocic M, Djurdjevic L, Mitrovic M, Kostic O, Karadzic B, Pavlovic P** (2015) An ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suva Planina Mountain (south-eastern Serbia). *Journal of Ethnopharmacology* 175, 93-108.
40. **Jiménez-Medina E, García-Lora A, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido F** (2006) A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual in vitro effect : cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. *BMC Cancer*, 6 (119), 1-14.
41. **Kalvathev Z, Walder R, Garzaro D** (1997) Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomed. & Pharmacother.* 51, 176-180.
42. **Kennedy JF, Stevenson DL, White CA, Lombard A, Buffa M** (1988) Analysis of the oligosaccharides from the roots of *Arnica montana* L., *Artemisia absinthium* L., and *Artemisia dracuncula* L. *Carbohydrate Polymers* vol. 9 (4), 277-285.
43. **Khare CP** (2004) *Indian Herbal Remedies. Rational Western Therapy, Ayurvedic and other Traditional Usage*, Botany. Springer.
44. **Kishimoto S, Maoka T, Sumitomo K, Ohmiya A** (2005) Analysis of carotenoid composition in petals of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Biosc. Biotechnol. Biochem*, 69 (11), 2122-2128.
45. **Lieutaghi P** (1966) *Le livre des bonnes herbes*. Robert Morel éditeur, Forcalquier.
46. **Mahyari S, Mahyari B, Emami SA, Malaekheh-Nikouei B, Jahanbakhsh SP, Mohammadpour AH, Sahebkar A** (2015) Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts in patients with gingivitis : a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, doi : 10.1016/j.ctcp.2015.12.001.
47. **Mishra AK, Mishra A, Chattopadhyay P** (2012) Assessment of *in vitro* sun protection factor of *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) essential oil formulation. *Journal of Young Pharmacists* 4 (1), 17-21.

48. Muley Bp, Khadabadi SS, Banarase NB (2009) Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) : a review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8 (5), 455-465.
49. Narisawa T, Fukaura Y, Hasebe M, Ito M, Aizawa R, Murakoshi M, Uemura S, Khachik F, Nishino H (1996) Inhibitory effects of natural carotenoids, α -carotene, β -carotene, lycopene and lutein on colonic aberrant crypt foci formation in rats. Cancer Letters 107, 137-142.
50. Neukirch H, D'Ambrosio M, Dalla Via J, Guerriero A (2004) Simultaneous quantitative determination of eight triterpenoid monoesters from flowers of 10 varieties of *Calendula officinalis* L. and characterization of a new triterpenoid monoester. Phytochemical Analysis 15, 30-35.
51. Neukirch H, D'Ambrosio M, Sosa S, Altinier G, Della Loggia R, Guerriero A (2005) Improved anti-inflammatory activity of three new terpenoids derived by systematic chemical modifications from abundant triterpenes of the flowery plant *Calendula officinalis*. Chemistry and Biodiversity, Vol 2, 657-671.
52. Nicolaus C, Junghanns S, Hartmann A, Murillo R, Ganzera M, Merfort I (2017) *In vitro* studies to evaluate the wound healing properties of *Calendula officinalis* extracts. Journal of Ethnopharmacology 196, 94-103.
53. Nikmehr B, Ghaznavi H, Rahbar A, Sadr S, Mehrzadi S (2014) *In vitro* anti-leishmanial activity of methanolic extracts of *Calendula officinalis* flowers, *Datura stramonium* seeds and *Salvia officinalis* leaves. Chinese Journal of Natural Medicines 12(6), 423-427.
54. Nizynski B, Alsoufi ASM, Paczkowski C, Dlugosz M, Szakiel A (2015) The content of free and esterified triterpenoids of the native marigold (*Calendula officinalis*) plant and its modifications in *in vitro* cultures. Phytochemistry Letters 11, 410-417.
55. Pazyar N, Yaghoobi R, Rafiee E, Mehrabian A, Feily A (2014) Skin wound healing and phytomedicine : a review. Skin Pharmacol Physiol 4 (27), 303-310.
56. Pommier P, Gomez F, Sunyach MP, D'Hombres A, Carrie C, Montbardon X (2004) Phase III randomized trial of *Calendula officinalis* compared with trolamine for the prevention of acute dermatitis during irradiation for breast cancer. Journal of Clinical Oncology 22 (8), 1447-1453.
57. Preethi KC, Kuttan G, Kuttan R (2006) Antioxidant potential of an extract of *Calendula officinalis* flowers *in vitro* and *in vivo*. Pharmaceutical Biology 44, N°9, 691-697.
58. Preethi KC, Kuttan G, Kuttan R (2008) Anti-inflammatory activity of flower extract of *Calendula officinalis* L. and its possible mechanism of action. Indian Journal of Experimental Biology, vol 47, 113-120.
59. Preethi KC, Siveen KS, Kuttan R, Kuttan G (2010) Inhibition of metastasis of B16F-10 melanoma cells in C57BL/6 mice by an extract of *Calendula officinalis* L. flowers. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, vol 11, 1773-1779.
60. Richter R (2016) Die Calendula – Eine traditionell verwendete Arzneipflanze in der anthroposophischen Medizin. In Meyer U, Pedersen PA. Anthroposophische Pharmazie : Grundlagen, Herstellprozesse, Arzneimittel. Salumed Verlag, Berlin.
61. Rispens JA (1992) Substanzbildung in Hanf, Brennessel und Hopfen in Bezug auf deren Zweihäusigkeit. Elemente der Naturwissenschaft N°56, 48-70.
62. Ross J (2010) Matière Médicale à usage clinique. Editions PHU-XUAN, Paris.
63. Segur-Fantino N (2016) Etymologie provençale de calendula. Communication personnelle.
64. Simonis W C (1955) Die unbekannte Heilpflanze. Vittorio Klostermann, Frankfurt am Main.
65. Suchantke A (2002) Metamorphose, Kunstgriff der Evolution. Verlag Freies Geistesleben, Stuttgart.
66. Tison JM et de Foucault B (coords) (2014) Flora Gallica. Flore de France. Biotope, Mèze, XX + 1196p.
67. Vidal-Ollivier E (1988) Contribution à l'étude des saponosides de *Calendula officinalis* L. et de *Calendula arvensis* L. ; et des hétérosides flavoniques de *Calendula officinalis* L. Thèse de doctorat en Sciences, Marseille.
68. Weberling F (1981) Morphologie der Blüten und der Blütenstände. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
69. Yoshikawa M, Murakami T, Kishi A, Kageura T, Matsuda H (2001) Medicinal flowers. III. Marigold. (1) : hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective and new oleanane-type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C and D, from egyptian *Calendula officinalis*. Chem. Pharm. Bull. 49 (7), 863-870.
70. Zerling C (2007) Lexikon der Pflanzensymbolik. AT-Verlag.
71. Zitterl-Eglseer K, Sosa S, Jurenitsch J, Schnert-Zsilavec M, Della Loggia R, Tubaro A, Bertoldi M, Franz C (1997) Anti-oedematous activities of the main triterpenoid esters of marigold (*Calendula officinalis* L.) Journal of ethnopharmacology 57, 139-144.
72. Zitterl-Eglseer K, Reznicek G, Jurenitsch J, Novak J, Zitterl W, Franz C (2001) Morphogenetic variability of faradiol-monoesters in marigold *Calendula officinalis* L. Phytochemical analysis 12, 199-201.