



**HAL**  
open science

## La mélisse (*Melissa officinalis* L.)

Nathalie Ronat

► **To cite this version:**

Nathalie Ronat. La mélisse (*Melissa officinalis* L.). Sciences pharmaceutiques. 2001. dumas-01468146

**HAL Id: dumas-01468146**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01468146v1>**

Submitted on 15 Feb 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

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

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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

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

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

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

1<sup>er</sup> exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2001

N° D'Ordre : 7021

**LA MELISSE (*MELISSA OFFICINALIS* L.)**

**THESE**

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE  
DIPLOME D'ETAT

**Prénom et Nom du candidat : Nathalie RONAT**

*[Données à caractère personnel]*

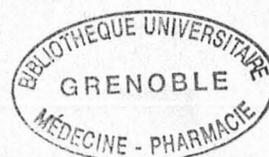
Thèse soutenue publiquement à la Faculté de Pharmacie de Grenoble le 14 mai 2001

Devant le Jury composé de

**Président du jury :** Madame le Professeur A.-M. Mariotte

**Membres :** Madame le Docteur M.-G. Dijoux-Franca

Madame le Docteur D. Ponton-Fournon



**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

**Année : 2001**

**N° D'Ordre :**

**LA MELISSE (*MELISSA OFFICINALIS L.*)**

**THESE**

**PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE  
DIPLOME D'ETAT**

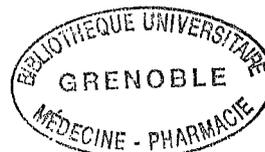
**Prénom et Nom du candidat : Nathalie RONAT**  
*[Données à caractère personnel]*

**Thèse soutenue publiquement à la Faculté de Pharmacie de Grenoble le 14 mai 2001**

**Devant le Jury composé de**

**Président du jury :** Madame le Professeur A.-M. Mariotte

**Membres :** Madame le Docteur M.-G. Dijoux-Franca  
Madame le Docteur D. Ponton-Fournon



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE  
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

PROFESSEURS DE PHARMACIE

ALARY	Josette	Chimie Analytique
BAKRI	Abdelaziz	Pharmacie Galènique
BENOIT-GUYOD	Jean-Louis	Chimie Toxicologie et Eco- toxicologie
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique et Bio- technique
CUSSAC	Max	Chimie Thérapeutique
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Générale
DEMENGE	Pierre	Physiologie/Pharmacologie
DROUET	Emmanuel	Microbiologie-Immunologie
FAVIER	Alain	Biochimie
GOULON	Chantal	Physique-Pharmacie
GRILLOT	Renée	Parasitologie
MARIOTTE	Anne-Marie	Pharmacognosie
RIBUOT	Christophe	Physiologie-Pharmacologie
ROUSSEL	Anne-Marie	Biochimie
SEIGLE-MURANDI	Françoise	Botanique et Cryptogamie
STEIMAN	Régine	Biologie Cellulaire
WOUESSIDJEWÉ	Denis	Pharmacie Galènique

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE  
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

MAITRES DE CONFÉRENCE DE PHARMACIE

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie
ALLENET	Benoît	Pharmacie Clinique
BARTOLI	Marie-Hélène	Pharmacie Clinique et Biotech.
BOUMENDJEL	Ahcène	Pharmacognosie
BURMEISTER	Wilhelm	Physique
CARON	Cécile	Biologie Moléculaire
CHARLON	Claude	Chimie Pharmacie
DELETRAZ	Martine	Droit Economie pharmaceutique
DIJOUX-FRANCA	M.-Geneviève	Pharmacognosie
DURMORT-MEUNIER	Claire	Virologie moléculaire structur
ESNAULT	Danielle	Chimie Analytique
FAURE	Patrice	Biochimie C
FAURE-JOYEUX	Marie	Physiologie-Pharmacologie.
FOUCAUD-GAMEN	Jacqueline	Bactériologie-Virologie.
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie Galénique
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique
GUIRAUD	Pascale	Biologie cellulaire
GROSSET	Catherine	Chimie analytique
HININGER-FAVIER	Isabelle	LBSO-Biochimie C
KRIVOBOK	Serge	Botanique-Cryptogamie
MORAND	Jean-Marc	Chimie thérapeutique
NICOLLE	Edwige	Chimie organique
PERA	Marie-Hélène	Chimie organique
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique Alimentaire
PINEL	Claudine	Parasitologie
RAVEL	Anne	Chimie Analytique
RIBUOT	Diane	Physio. Pharmaco
RICHARD	Jean-Michel	Chimie toxico-écotoxicologie
RIONDEL	Jacqueline	Physiologie Pharmacologie
TAILLANDIER	Georges	Chimie organique
VILLEMAIN	Danièle	Physique Pharmacie
VILLET	Annick	Chimie analytique

**LA MELISSE**

***MELISSA OFFICINALIS L.***

Je remercie Madame le Professeur Anne-Marie Mariotte pour avoir bien voulu accepter de présider cette thèse et pour toute l'attention qu'elle a accordée à ce travail.

Je remercie Madame Geneviève Dijoux-Franca qui m'a fait l'honneur de siéger pour cette thèse.

Je remercie Madame Dominique Ponton-Fournon pour le soutien et les encouragements qu'elle a su m'apporter.

# **INTRODUCTION**

Depuis plusieurs années, les médecines dites "douces" dont la phytothérapie connaissent un véritable engouement.

Ce phénomène stimule les recherches sur les plantes et les scientifiques n'hésitent plus à sonder le monde végétal à la recherche de nouveaux principes actifs.

La mélisse (*Melissa officinalis* L.), appelée aussi citronnelle, est une plante appartenant à la famille des Lamiacées. Le nectar de ses fleurs est très apprécié des abeilles et le nom même de la plante dérive du grec "melissa" (μελισσα) qui signifie abeille ou de "meli" (μελη) qui veut dire miel.

Sans doute originaire d'Asie mineure, la mélisse, plante mellifère, condimentaire et médicinales, est connue depuis la haute Antiquité. Les Grecs l'utilisaient déjà au IV<sup>ème</sup> siècle av.J.-C. pour ses propriétés sédatives et comme condiments. Fort prisée dans la médecine arabe, la mélisse jouissait déjà d'une certaine réputation comme stimulant et antispasmodique. Ce n'est qu'au début du Moyen-Age que l'espèce a été introduite dans la partie occidentale du bassin méditerranéen. Les moines et les congrégations religieuses reconnues pour leur utilisation des plantes commencèrent à produire des décoctions à base de mélisse. Du XV<sup>ème</sup> au XVIII<sup>ème</sup> siècle, on utilisait principalement les distillats (eau de mélisse), comme celui élaboré depuis 1611 par des carmélites de Paris et considéré comme particulièrement thérapeutique : c'est la célèbre Eau de Mélisse des Carmes indiquée dans la "léthargie, l'épilepsie, les vapeurs et les coliques". Pour le physicien suisse Paracelse (1493-1541), la mélisse était une herbe souveraine pour la plupart des maux et redonnait force et santé à ceux qui étaient malades ou fatigués. Pour l'usage traditionnel, elle réjouit le cœur, aide à la digestion, fortifie le cœur affaibli, apaise les palpitations et l'humeur mélancolique. Comme les vieilles recettes le prétendent, l'infusion de cette plante apporte la joie en calmant les nerfs et c'est pour cette raison que, dans le langage des fleurs, la mélisse symbolise le rire et la joie.

L'objectif de notre travail est, dans un premier temps, de définir et de caractériser la mélisse d'un point de vue botanique puis d'étudier, dans un deuxième temps, sa composition chimique.

Nous consacrerons notre troisième partie à l'étude de ses propriétés et de ses applications possibles en thérapeutique. Enfin, une dernière partie fait état de ses utilisations actuelles.

# **PREMIERE PARTIE**

# PREMIERE PARTIE

## ETUDE BOTANIQUE

### 1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET HABITAT.

La mélisse est un sous-arbrisseau en touffes, vivace. Elle est spontanée dans les bois, les bords de chemins, le long des haies et de préférence dans les endroits humides et ombragés. C'est aussi une plante cultivée.

Comme pour beaucoup d'autres Lamiacées, l'aire de dispersion de la mélisse est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes. Elle est répandue en Europe méridionale, au Proche-Orient, en Asie occidentale, en Afrique du Nord et est acclimatée en Amérique du Nord et en Argentine (7, 8, 10, 18, 19, 26, 36, 57).

### 2. PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE.

La classification de *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* L. est la suivante (40) :

- Embranchement des Spermatophytes
- Sous-embranchement des Angiospermes
- Classe des Dicotylédones
- Sous-classe des Gamopétales tétracycliques superovariées
- Ordre des Tubiflorales
- Sous-ordre des Verbénales
- Famille des Lamiaceae
- Sous-famille des Stachyoideae

- Tribu des Saturejeae
- Sous-tribu des Melissinae

La famille des Lamiacées est une grande famille comprenant 3200 à 4000 espèces réparties en 200 à 220 genres. Parmi les plus connues, on peut citer la menthe, le thym, le romarin, l'origan, la lavande, l'ortie et l'hysope.

Cette famille des Lamiacées est divisée en 8 sous-familles : Ajugoideae, Prostantheroideae, Prasioideae, Scutellarioideae, Lavanduloideae, Stachyoideae, Ocimoideae et Catoptherioideae.

Dans la sous-famille des Stachyoideae, on dénombre 12 tribus. Parmi elles, la tribu des Saturejeae, elle-même divisée en 5 sous-tribus : Melissinae, Hyssopinae, Thyminae, Menthinae et Perillinae.

Celle qui nous intéresse est la sous-tribu des Melissinae. Elle comprend les genres Satureja (*Calamintha*), Hedeoma, Amaricus et surtout le genre Melissa.

### **3. DESCRIPTION DE LA PLANTE.**

*Melissa officinalis* est plus communément appelée citronnelle ou mélisse-citronnelle, bien que la véritable citronnelle (*Cymbopogon nardus*) soit une graminée asiatique.

Les anglais la nomme lemon-balm et les allemands Zitronenmelisse ou Melissenkraut.

La mélisse est une plante vivace herbacée de 30 à 80 cm de hauteur, à port de menthe, à feuilles vert vif d'odeur citronnée (7, 10, 18, 19, 25, 26, 34, 36, 57).

#### **La partie souterraine.**

Elle est constituée de tiges souterraines, rameuses, portant des racines et produisant des bourgeons adventifs qui permettent à la plante de se perpétuer et de se multiplier.



Figure 1 : Tige de mélisse (34).

### La tige.

Elle est dressée, quadrangulaire –caractère typique des Lamiaceae-, plus ou moins velue ; peu ramifiée à la base, elle le devient fortement dans les parties hautes à la floraison. Les rameaux de la partie supérieure portent des fleurs et sont bien développés, tandis qu'ils sont courts et non fleuris dans la partie inférieure.

### La feuille.

Les feuilles de la mélisse sont simples, opposées, ovales, quelquefois légèrement cordiformes, pétiolées, largement dentées en scie, à nervation réticulée, mesurant de 5 à 8 cm sur 4 à 5 cm.

La face supérieure, de couleur vert vif foncé, est rugueuse au toucher car couverte de poils tecteurs fins et courts de couleur blanche.

Les nervures, saillantes sur la face inférieure beaucoup plus pâle et glabre, forment un réseau entre les branches duquel le limbe est soulevé ce qui donne à la face inférieure un aspect gaufré caractéristique.

Les feuilles des rameaux axillaires sont plus petites.



Figure 2 : Feuille de mélisse (61)

### La fleur.

La **floraison** a lieu de juin à septembre.

Le type d'**inflorescence** est la cyme.

Blanches, rosées, brièvement pédonculées, les fleurs sont groupées par trois ou six en verticilles axillaires unilatéraux, espacés le long de la tige et insérés à l'aisselle des feuilles supérieures et centrales.

Le **calice**, formé de cinq sépales, est bilabié, campanulé, recouvert de poils épars courts et comporte treize nervures. La lèvre supérieure est plane et tridentée tandis que la lèvre inférieure est bifide.

La **corolle**, constituée de cinq pétales blancs, forme un tube saillant arqué-ascendant et s'évase en deux lèvres dont la supérieure, dressée, concave, présente une échancrure et l'inférieure, plus grande, est divisée en trois lobes inégaux, le médian étant très élargi.

L'**androcée** est composé de quatre étamines didynames, arquées, convergentes au sommet. Le **gynécée**, disposé sur un disque nectarifère, est constitué de deux carpelles soudés, avec fausse cloison, constituant ainsi quatre loges renfermant chacune un ovule anatrope. Le style est gynobasique, terminé par un stigmate bifide.

La **formule florale** est donc la suivante :  $5S + 5P + 4E + 2C$ .

(5 Sépales + 5 Pétales + 4 Etamines + 2 Carpelles).



Fig.3 : Schéma de la fleur de mélisse et du calice

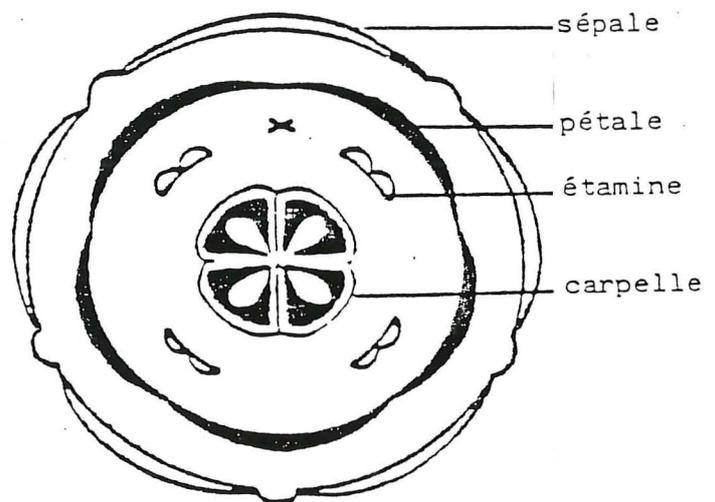


Fig. 4 : Diagramme floral de la fleur de mélisse (49)

### Le fruit

C'est un tétrakène de 1,5 à 2 mm de large, constitué de quatre petits akènes ovoïdes et lisses de couleur brun foncé.

Ils restent longtemps au fond du calice desséché.

## 4. CARACTERISATION.

La partie utilisée de la mélisse est la feuille et, de façon plus générale, les parties aériennes de la plante.

### 4.1. Caractères organoleptiques et macroscopiques.

La monographie de la mélisse, dans la X<sup>ème</sup> édition de la Pharmacopée Française (58), nous indique que la feuille a une odeur faible rappelant celle du citron. Elle présente les caractères macroscopiques décrits au § 3. **Description de la plante.**

### 4.2. Caractères microscopiques.

Une équipe allemande (77) a étudié les caractères microscopiques de la mélisse. Ils ont relevé la présence de **poils tecteurs (=trichomes non-glandulaires)** et de **poils sécréteurs (=trichomes glandulaires)** sur les feuilles de *M. officinalis*, poils que l'on retrouve également décrits dans la Pharmacopée française.

Parmi les **poils tecteurs**, on observe deux types : les premiers sont uni- ou bi-cellulaires, de 19 à 70µm de long ; coniques, courts et droits, en forme de dent, ils sont spécifiques des feuilles de mélisse. Ils sont nombreux et distribués sur les deux faces de la feuille.

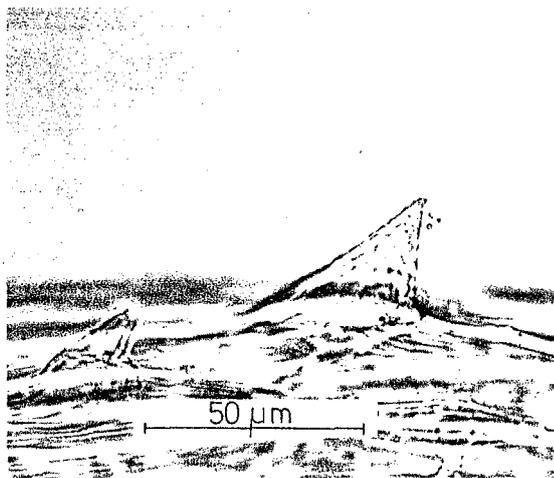


Figure 5 : Poils coniques en forme de dents sur la nervure d'une feuille (85)

Les seconds sont multicellulaires (de 3 à 8 cellules), plus longs (de 0.1 à 2 mm), unisériés, à extrémité pointue, à cuticule épaisse et bosselée (paroi verruqueuse) (Fig.6). On les trouve en

grand nombre sur les deux faces des feuilles dans la partie en fleurs de la plante, tandis que dans la partie non-fleurie, ils sont localisés exclusivement sur la face supérieure. Ces observations sont appuyées par celles de BISSET et WICHTL (85).

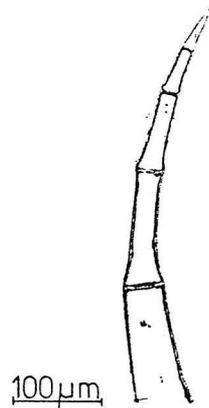


Fig. 6 : Trichome multicellulaire (85)

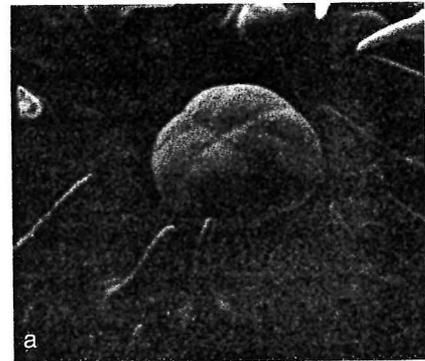


Fig. 7 : Trichome octocellulaire (poche sécrétrice)(63)

On distingue également deux groupes de **trichomes glandulaires**. Le premier est constitué de trichomes octocellulaires et sessiles (sans pied) appelées poches sécrétrices (Fig.7). Ils sont localisés exclusivement sur la face inférieure des feuilles.

La production et l'accumulation d'huile essentielle (h.e.) sont assurées par ces poches sécrétrices à huit cellules, typiques des Lamiacées. Un espace subcuticulaire, commun aux huit cellules, est formé côté apical en raison de la sécrétion d'h.e. par celles-ci. Le diamètre de la tête varie de 40 à 110  $\mu\text{m}$ .

Le deuxième groupe de poils sécréteurs est constitué de trichomes à tête uni- ou bi-cellulaire et pédicellés, plus rares. On en distingue trois sortes (63, 85):

- Sérié : formé d'un long pied portant une tête unicellulaire surmontée d'un espace subcuticulaire de petite taille. Ceux-ci n'apparaissent que sur les nervures de la face inférieure des feuilles situées dans la partie fleurie de la plante (Fig. 8).
- Capité à long pied : tête uni- ou bi-cellulaire, pied à deux ou trois cellules( Fig.9).
- Capité à pied court : tête uni- ou bi-cellulaire, pied unicellulaire (Fig.10).

VAN DER BERG et coll. (77) ont démontré que les poils glandulaires à long pied (sériés) contenaient également de l'h.e. en faible quantité.

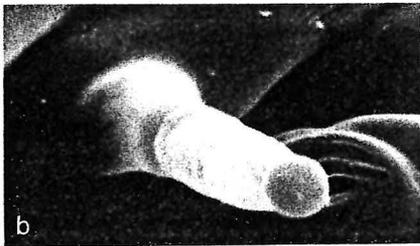


Figure 8 :  
Trichomes sérié (63)

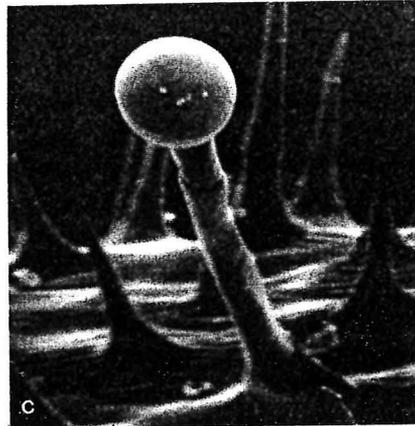


Figure 9 :  
Trichome capité à long pied (63)



Figure 10 :  
Trichome capité à pied court (63)

Des stomates de type diacytiques sont présents seulement sur la face inférieure des feuilles ; ils apparaissent tels des dômes soulevant la surface.

## **5. FALSIFICATIONS.**

L'huile essentielle de mélisse, en raison de sa présence en faible quantité dans la plante, est très chère ; c'est pourquoi on la retrouve souvent falsifiée avec d'autres huiles essentielles bon marché, ce qui altère sa qualité et par conséquent ses propriétés.

Nous allons voir ci-dessous les espèces avec lesquelles la confusion est possible et qui sont, pour certaines, utilisées comme substituts de la mélisse.

### **5.1. Autres *Melissa* :**

Il existe trois sous-espèces de *Melissa officinalis* : *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*, celle que nous étudions, *Melissa officinalis* subsp. *altissima* et *Melissa officinalis* subsp. *inodora*.

- *Melissa officinalis* subsp. *inodora* :

*M. officinalis inodora* croît dans le Sud, de la Turquie au Proche-Orient (62).

Globalement d'aspect identique (tiges hautes de 30 à 75 cm, port de menthe, fleurs blanches), cette sous-espèce *inodora* diffère par les caractéristiques suivantes : les tiges et les feuilles sont recouvertes de quelques poils, peu nombreux mais longs ; les feuilles sont tronquées à la base et présentent de nombreuses glandes ; quant aux fleurs, la dent du milieu de la lèvre supérieure du calice est nettement distincte et triangulaire.

Ses caractères microscopiques ne semblent pas avoir été étudiés jusqu'à présent.

Son huile essentielle a une odeur citronnée.

Elle a longtemps été utilisée dans la médecine populaire du Proche-Orient.

- *Melissa officinalis* subsp. *altissima* :

La distribution géographique de *M. officinalis altissima* est plus étendue (77) : elle comprend la partie Est de la région méditerranéenne (Turquie –chevauchement avec la sous-espèce *inodora*-, Grèce, Italie) et la partie Ouest (Espagne, Portugal).

Sa distribution se chevauche avec celle de *M. officinalis officinalis* depuis que celle-ci est cultivée et acclimatée à travers toute l'Europe du Sud et l'Europe Centrale.

Pour ces raisons, une falsification de la véritable Mélisse est tout à fait possible.

L'aspect de *M. officinalis altissima* est très proche de celui de la Mélisse officinale : port de menthe, tige quadrangulaire, feuilles simples, opposées, gaufrées. Ce qui l'en différencie est son parfum : le froissement de ses feuilles ne dégage pas d'odeur citronnée mais plutôt une mauvaise odeur et la composition de son huile essentielle est très différente.

Elle ne semble pas être utilisée aujourd'hui pour ses propriétés pharmaceutiques, seul un rapport de 1834 mentionnait son usage dans la médecine traditionnelle italienne.

En ce qui concerne les caractères microscopiques de *M. officinalis altissima*, on note des différences significatives par rapport à *M. officinalis officinalis* concernant le nombre, le type, la distribution des trichomes et la face d'accumulation de l'h.e. (77).

Les auteurs ont distingué des trichomes non-glandulaires et des trichomes glandulaires. Parmi les poils tecteurs, ils ont relevé la présence de trichomes coniques, unicellulaires, en moins grand nombre toutefois que chez *M. officinalis officinalis* et des trichomes multicellulaires, plus longs (2mm) et recouvrant les deux faces de toutes les feuilles, quelle que soit leur position.

Quant aux poils sécréteurs, les auteurs ont distingué deux types, tout comme chez *M.officinalis officinalis* :

- des poches sécrétrices
- des trichomes glandulaires, sériés, formé d'un long pied portant une tête unicellulaire.

Les poches sécrétrices de *M. officinalis altissima* ont la particularité d'avoir toutes des têtes à quatre cellules. Le diamètre de la tête est seulement de 30 à 60  $\mu\text{m}$  et l'espace subcuticulaire est habituellement plus petit.

Quant aux glandes unicellulaires et pédicellées, elles sont présentes sur la face inférieure de toutes les feuilles et sont distribuées de façon égale sur et entre les nervures. Rappelons que chez *M. officinalis officinalis*, elles n'apparaissent que sur les nervures de la face inférieure des feuilles, et situées dans la partie fleurie de la plante.

Le diamètre de la tête unicellulaire varie de 25 à 55  $\mu\text{m}$  avec une cavité sécrétoire bien développée de couleur jaunâtre, tandis que ce diamètre reste restreint chez *M. officinalis officinalis* (24-28  $\mu\text{m}$ ) avec un tout petit espace subcuticulaire détecté occasionnellement.

**La production et l'accumulation d'h.e.** est assurée par les poches sécrétrices chez les deux sous-espèces.

En résumé, les feuilles de la véritable mélisse ne doivent comporter que des poches sécrétrices à tête à huit cellules (et non quatre) ; les poils glandulaires sériés à long pied et tête unicellulaire ne doivent être présents que sur les nervures ( et non entre) de la face inférieure des feuilles.

## 5.2. Autres espèces à odeur de citron :

Ces espèces, produisant une h.e. d'odeur citronnée et souvent meilleur marché, permettent de faire croire à la présence d'h.e. de mélisse.

- Le genre *Cymbopogon*, famille des Poacées, compte actuellement environ 200 espèces. Ce sont de grandes herbes vivaces, spontanées dans plusieurs régions d'Asie et d'Afrique ; elles possèdent des noms et appellations multiples dans de nombreux pays. On les cultive en climat chaud et humide pour la production d'huiles essentielles. Celles-ci sont contenues dans des cellules des parties aériennes des plantes. Parmi ces espèces, quatre d'entre elles sont utilisées pour falsifier l'h.e. de mélisse en raison de leur h.e. très riche en citronnellal, citronnellol et géraniol ( Citronnelle) ou en citral ( Verveine des Indes) et donc développant une forte odeur de citron.

Sous le nom de **Citronnelle**, on range généralement deux espèces :

- *Cymbopogon nardus* (45)

Plus connue sous le nom de Citronnelle de Ceylan, son h.e. est utilisée dans le commerce dans les produits destinés à éloigner les insectes.

- *Cymbopogon winteranius* (45)

Ou Citronnelle de Java. Son h.e. est abondamment produite à Java et à Formose, en Amérique centrale et au Paraguay.

La médecine populaire leur octroie de nombreuses propriétés ce qui en fait des plantes très connues en Inde et en Afrique.

Sous le nom de **Verveine des Indes**, on trouve les espèces :

- Cymbopogon citratus* (8) et

- Cymbopogon flexuosus* (1)

Ces plantes sont cultivées en Inde, à Madagascar et aux Comores, en Amérique Centrale ( Antilles, Honduras ), au Congo et au Kenya.

Elles produisent des h.e. voisines. Leurs indications sont multiples : activité antibactérienne, hypotensive, anticatarrhale, antirhumatismale, anti-inflammatoire et en application locale contre les maux de tête.

En outre ces h.e., de faible prix de revient, sont une bonne source de citral.

- *Dracocephalum moldavicum*

Appartient à la famille des Lamiacées.

Utilisée comme succédané de la Mélisse sous le nom de Mélisse de Moldavie, c'est une herbe annuelle, à odeur citronnée et belles fleurs bleu violacé (57).

- *Litsea cubeba*

Famille des Lauracées (65).

- *Eucalyptus citriodora*

Famille des Myrtacées (65).

- *Nepeta cataria var. citriodora*

Cf § 5.3

### **5.3. Autres Lamiacées :**

- *Mentha spp.*

Le genre *Mentha* compte beaucoup d'espèces.

Les Menthes sont des plantes herbacées, vivaces, de 10 à 60cm de haut. Les tiges sont dressées, quadrangulaires et velues.

Les feuilles sont opposées, pétiolées, ovales, dentées dans la moitié supérieure, velues, d'un vert vif.

Les fleurs sont petites, régulières, à quatre pétales rosés soudés entre eux ; elles sont groupées en de nombreux verticilles axillaires compacts, écartés les uns des autres sur la tige.

La floraison a lieu de juillet à octobre.

Le fruit est formé de quatre petits akènes. (18, 19).

- *Calamintha grandiflora*

Le calament à grandes fleurs est une plante vivace de 20 à 50 cm, à poils épais, à souche stolonifère, à odeur agréable. Les feuilles sont grandes, ovales, pétiolées, fortement dentées en scie. Les fleurs sont rouge pourpre, très grandes, peu nombreuses et en verticilles écartés.

*Calamintha grandiflora* est répandue en Europe centrale et méridionale, en Asie occidentale et fleurit de juillet à septembre (18, 19).

- *Calamintha officinalis*

Le Calament officinale (*Melissa calamintha* L. ou *Mentha calamintha* L.) appartient à la famille des Lamiacées (25). Son odeur rappelle celle des Menthes. Les fleurs, bilabiées, sont rose purpurin, tachetées de violet. La lèvre inférieure est trilobée.

- *Nepeta cataria* var. *citriodora*

La cataire (ou Herbe-aux-chats ou Menthe-des-chats ou Chataire) est une plante herbacée vivace de 50cm à 1m, grisâtre, à port de menthe, aux tiges redressées, rameuses et très velues. Les feuilles sont opposées, pétiolées, ovales, en cœur à la base, fortement crénelées et dentées. Les fleurs sont blanches ponctuées de rouge, en verticilles multiflores serrés formant une grappe assez courte. Le calice et la corolle sont velus.

La floraison a lieu de juin à septembre.

La cataire est répandue dans toute l'Europe, en Asie occidentale et centrale, en Amérique. (18, 19, 25).

D'aspect analogue à la Mélisse, elle est très odorante : les feuilles de *Nepeta cataria* sbsp. *citriodora* ont une odeur de citron plus forte que les feuilles de Mélisse.

L'observation microscopique révèle des poils tecteurs, identiques à ceux de *Melissa officinalis*, et des trichomes glandulaires à tête bi-cellulaire essentiellement, bien que des trichomes à tête à quatre cellules apparaissent aussi.

Les trichomes coniques en forme de dents, caractéristiques de *Melissa officinalis*, sont absents (85).

La cataire est stomachique, carminative et emménagogue mais reste inusitée aujourd'hui.

# **DEUXIEME PARTIE**

## DEUXIEME PARTIE

# COMPOSITION CHIMIQUE

La plupart des travaux étudiant la composition chimique de *M. officinalis* sbsp. *officinalis* parus dans la littérature scientifique portent essentiellement sur l'huile essentielle et les polyphénols qu'elle contient.

La première partie de notre travail a pour but de déterminer les composés qui constituent la drogue puis nous nous pencherons sur l'analyse quantitative de l'huile essentielle. En effet, de nombreuses études mettent en évidence que les proportions des constituants de l'huile ne sont pas fixes et varient selon certains paramètres.

### A. ANALYSE QUALITATIVE DES CONSTITUANTS.

#### 1. L'huile essentielle :

D'après la Pharmacopée française, les huiles essentielles (= essences= huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux.

Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation à la vapeur d'eau de plantes à essences ou de leurs organes, et celui par expression.

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles (h.e.) sont répartis dans un nombre limité de familles, dont celle des Lamiacées à laquelle appartient la mélisse.

Les h.e. sont liquides à température ambiante, et volatiles. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels. Très peu solubles dans l'eau, elles sont entraînaibles à la vapeur d'eau.

Une importante partie des activités pharmacodynamiques de *M. officinalis* L. est attribuée à son h.e. ou à certains de ses constituants, parmi lesquels le citral est le plus souvent cité.

La teneur moyenne en huile essentielle (h.e.) des feuilles de mélisse est faible (0.15 à 0.30%) (52).

Cette teneur est plus importante dans la drogue fraîche que dans la drogue sèche.

L'h.e. est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Les principaux travaux réalisés sur la composition de l'huile essentielle de mélisse émanent de chercheurs allemands, suisses et égyptiens et s'échelonnent de 1982 à 1997 (42, 52, 63, 66,75).

Tous ont travaillé à partir des feuilles séchées de *M. officinalis* subsp. *officinalis* et ont extrait l'h.e. par entraînement à la vapeur d'eau. L'identification des composés a été faite par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Dans le tableau I ci-dessous, nous avons résumé, par familles de composés, les quantités trouvées dans chaque étude.

(*)	1	2	3	4	5
MONOTERPENES	70.40	67.20	56.30	72.77	65.55
hydrocarbures	0.20	-	3.50	2.26	5.05
alcools	4.30	-	4.00	6.85	10.41
aldéhydes	61.40	66.70	48.40	59.87	49.49
cétones	4.50	0.50	0.40	3.79	0.60
SESQUITERPENES	19.30	1.32	35.30	4.95	29.12
hydrocarbures	15.70	1.32	29.90	4.95	26.17
alcools	tr	-	5.40	-	2.95

Tableau I : Teneurs des principaux constituants de l'huile essentielle de *M. officinalis* selon :

(1) Tittel et coll.

- (2) Mulkens et coll.
- (3) Schultze et coll.
- (4) Shalaby et coll.
- (5) Hose et coll.
- (tr) traces
- (\*) quantités exprimées en % de l'h.e.

Parmi ces travaux, nous retenons l'analyse de Hose et coll.(42) qui est la plus récente et la plus complète des cinq. 60 composés ont été trouvés dont 52 identifiés(CG/SM) ce qui représente 98.8% des composés de l'h.e. De plus, ces résultats sont en accord, d'un point de vue qualitatif, avec ceux des autres études.

La liste exhaustive des composés identifiés est présentée page ci-après.

Nous allons maintenant voir plus en détails les résultats de cette étude (tous les pourcentages indiqués ci-après sont les données de Hose et coll.).

### **1.1. Terpénoïdes :**

Le mode d'extraction des h.e. étant le plus souvent l'entraînement à la vapeur d'eau, seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et sesquiterpènes.

#### ***Monoterpènes***

Ce sont des composés en C<sub>10</sub>.

A eux seuls, ils représentent 65.5 % de l'huile essentielle de mélisse.

Ce sont eux qui caractérisent l'odeur citronnée des feuilles de mélisse.

Les molécules sont présentées en annexe sous forme développée.

Composés	Teneur (%)	Composés	Teneur (%)
1. Myrcène	0.12	28. <b>GermacrèneD</b>	<b>10.46</b>
2. Limonène	tr.	29. C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.71
3. Ocimène, cis-	0.13	30. Muurolène, $\alpha$ -	tr.
4. Ocimène, trans-	4.60	31. Bicyclogermacrène	tr.
5. Octanone, 3-	tr.	32. <b>Géranial</b>	<b>16.32</b>
6. Cymène, p-	tr.	33. Farnésène, 3 <sup>E</sup> ,6 <sup>E</sup> - $\alpha$	0.37
7. <b>Méthyl-5-heptèn-2-one</b>	<b>0.60</b>	34. Géranylacétate	0.94
8. Rose oxyde, cis	0.11	35. Cadinène, $\delta$ -	1.34
9. Rose oxyde, trans	0.16	36. <b>Citronellole, <math>\beta</math>-</b>	<b>4.26</b>
11. Octan-3-ol	0.11	37. Cadinène, $\gamma$ -	{
12. Octen-3-ol, 1-	0.65	38. Cadina-1,4-diène	tr.
13. <b>Citronellal</b>	<b>22.77</b>	39. <b>Nérol</b>	<b>1.21</b>
14. Copaène, $\alpha$ -	0.55	40. Cadinène, $\alpha$ -	tr.
15. Isogéranial	0.27	41. <b>Géraniol</b>	<b>3.42</b>
16. Bourbonène, $\beta$ -	0.12	42. Farnésène, 2 <sup>Z</sup> ,4 <sup>E</sup> ,6	tr.
17. Cubebène, $\alpha$ -	0.86	43. <b>Caryophyllène oxyde (I), <math>\beta</math>-</b>	<b>tr.</b>
18. Linalool	tr.	44. <b>Caryophyllène oxyde (II), <math>\beta</math>-</b>	<b>0.17</b>
19. Méthylcitronellate	2.19	45. Humulène oxyde	tr.
20. Isopulegol	0.50	46. Germacra-1(10)E,5 <sup>E</sup> -dièn-4-ol	2.28
21. Elemène, $\beta$	0.30	47. Cadinol, T-	0.11
22. <b>Caryophyllène, <math>\beta</math>-</b>	<b>10.44</b>	48. Muurolol, T-	tr.
23. Farnésène, E- $\beta$ -	0.41	49. Cadinol, $\delta$ -	tr.
24. Humulène	0.72	50. Cadinol, $\alpha$ -	0.36
25. Guaiaène, $\beta$ -	tr.	51. Acide citronellique	tr.
26. <b>Néral</b>	<b>10.13</b>	52. Acide géranique	tr.
27. Méthylgéraniate	0.12		

Tableau II : Composés identifiés par Hose et coll. et leurs teneurs en % dans l'h.e. de la plante totale (42).

- Hydrocarbures :

Ils sont presque toujours présents dans les h.e. Chez la mélisse, nous trouvons des hydrocarbures : - acycliques : myrcène, ocimène (ce dernier présente 2 diastéréo-isomères cis et trans-ocimène.)

- monocycliques : *p*-cymène et limonène.

- Alcools :

- acycliques : nérol et géraniol, citronellol, linalol.

Le nérol et le géraniol existent également sous forme d'hétérosides du glucose (54).

- cyclique : isopulégol.

- Aldéhydes :

Ils sont principalement acycliques.

-Citral (néral + géraniol) :

Le citral est présent sous la forme de ses deux isomères que l'on nomme néral et géraniol et dont les proportions sont les suivantes : 16.3 % de géraniol et 10.1 % de néral.

Il est responsable de l'odeur citronnée.

Il est utilisé en parfumerie et en cosmétologie.

-Citronellal :

Il représente 22.8 % des monoterpénoïdes.

De structure voisine de celle du citral, il possède une double liaison en moins.

Il rentre dans la composition de savons parfumés et il peut être utilisé comme insectifuge.

- Cétones :

-méthylheptène :

Plus exactement la 6-méthyl-5-heptène-2-one.

Elle provient de la dégradation du citral (53).

## *Sesquiterpènes*

Ce sont des composés en C<sub>15</sub>.

Ils représentent 30 % de l'h.e de mélisse.

- Hydrocarbures :

- acycliques :  $\alpha$  et  $\beta$ -farnésène

- polycycliques :  $\beta$ -caryophyllène ( 10.44 %) et germacrène D ( 10.46 %), muurolène, cadinène, humulène.

Le germacrène D est un intermédiaire clé des dérivés sesquiterpéniques : son isomérisation (obtenue par traitement thermique) livre un mélange de sesquiterpènes des types muurolène et cadinène; sa photo-isomérisation produit du  $\beta$ -bourbonène. Il n'est donc pas étonnant de retrouver dans les distillats de mélisse ces composés en quantité variables (53).

Cette fraction hydrocarbonnée représente 90.3 % des sesquiterpènes.

- Alcools :

- polycycliques : muurolol, cadinol

### 1.2. Hétérosides de phénylpropanoïdes.

Ce sont des dérivés du phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Ils sont présents en général dans les h.e. sous forme libre. Dans l'huile essentielle de mélisse, on les trouve sous forme glycosylée.

Ils sont étudiés après hydrolyse enzymatique (et non hydrolyse acide) pour éviter les artefacts (6, 53).

- Eugénol glycosylé.

L'eugénol est un constituant que l'on retrouve dans d'autres h.e., notamment celle de girofle où il a été isolé la première fois.

Une équipe suisse de Genève a mis en évidence que l'eugénol est présent sous forme d'hétéroside, donc non-volatile, dans l'h.e. de mélisse (53, 54). Le sucre identifié est le glucose. La méthode utilisée est une extraction méthanolique sur drogue sèche suivie d'une élution et d'une chromatographie sur gel de silice.

Au Pays-Bas, Baerheim et coll. en 1989 (6) ont eux aussi isolé un glucoside de l'eugénol après extraction aqueuse sur plante fraîche suivie d'un entraînement à la vapeur d'eau enlevant les éventuels composés volatiles. L'extrait aqueux restant est traité par la  $\beta$ -glucosidase et les composés volatils, libérés par l'hydrolyse, sont isolés et analysés par CPG.

L'eugénylglucoside aurait des propriétés antihypertensives (54) et il est rapporté que les esters et les éthers de l'eugénol auraient une activité spasmolytique (83).

### **1.3. Hétérosides de terpènes ou assimilés.**

L'existence de monoterpènes sous forme d'hétérosides chez les végétaux a été signalée pour la première fois en 1913 par Bourquelot et Bridel (9). A partir des années 1970, quelques travaux laissent entrevoir que des hétérosides à génine entraînable à la vapeur d'eau ne sont pas produits uniquement par des plantes riches en huile essentielle.

En 1985, Mulkens et coll. (44) ont recherché dans les feuilles de mélisse la présence d'hétérosides à génine volatile, présence qui n'avait pas encore été signalée. Ils ont procédé par extraction méthanolique sur la drogue sèche suivie d'une hydrolyse enzymatique par la  $\beta$ -glucosidase et d'une identification par CPG couplée à la spectrométrie de masse. (N.B. l'hydrolyse acide des hétérosides monoterpéniques conduit à l'apparition d'artefacts).

Ils ont ainsi isolé six glucosides dont les génines sont :

- nérol
- géraniol
- acide nérique

- acide gérannique
- alcoolbenzylique :
- alcool  $\beta$ -phényléthylique

Ces deux alcools ne se trouvent pas à l'état libre dans l' h.e. de mélisse (54, 75).

La nature de ces hétérosides ne semble pas étroitement liée à l'appartenance taxonomique de l'espèce qui les produit. Les glucosides du nérol, géraniol et des deux alcools sont produits par d'autres végétaux appartenant à des familles aussi diverses qu'éloignées des Lamiacées (ex: la rose, le raisin).

D'autre part, les auteurs ont noté l'absence d'iridoïde ce qui est assez étonnant car la famille des Lamiacées compte plusieurs espèces produisant ces composés (43).

## **2. Polyphénols :**

Ces composés sont nombreux et largement représentés dans le monde végétal.

Ils sont hydrosolubles quand ils sont sous forme d'hétérosides.

Dans la mélisse, sont représentés les flavonoïdes et les acides-phénols.

### **2.1. Flavonoïdes :**

Les flavonoïdes au sens large sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Si les acides-phénols ont suscité beaucoup d'intérêt en raison de leurs propriétés, le contenu flavonoïdique de la mélisse n'a pratiquement pas été exploré. L'unique recherche concernant ces composés fait état de la présence de lutéoline-7-O-glucoside et de rhamnazine (74).

L'équipe suisse de Mulkens et coll. (51) a isolé, dans ses travaux de 1987, 4 flavonoïdes sous forme d'hétérosides :

- Lutéoline-7-O-glucoside (= cynaroside)

- Quercétine-7-O-glucoside ( = isoquercitrine )
- Apigénine-7-O-glucoside ( = cosmosiine )
- Rhamnocitrine

Les aglycones sont des flavones et des flavonols. Ils sont étudiés après extraction et séparation puis identifiés par les méthodes spectrométriques usuelles ( UV, RMN, SM); leur pureté est contrôlée par HPLC.

Le sucre, obtenu après hydrolyse, est le même pour les trois premiers composés. Il s'agit du glucose, identifié par CPG.

Les 7-O-glucosides de la lutéoline et de l'apigénine ont déjà été mis en évidence chez d'autres Lamiaceae. La présence d'isoquercitrine n'a été révélée que dans un seul cas (*Glechoma*) et la rhamnocitrine est un composé tout à fait nouveau pour les Lamiacées.

En revanche, ils ne peuvent pas confirmer la présence de rhamnazine décrite dans les travaux précédents de Thieme et coll.(74).

Plus récemment, une équipe française (38) a elle aussi mis en évidence un hétéroside de la lutéoline: lutéoline-3'-glucuronide. L'ose identifié n'est pas le glucose mais l'acide glucuronique.

## 2.2. Acides phénols :

Ce sont des dérivés hydroxycinnamiques. La Pharmacopée française (10<sup>ème</sup> éd.) indiquent que les feuilles de sèches de *M. officinalis* doivent contenir au minimum 5 % de dérivés hydroxycinnamiques totaux, exprimés en acide rosmarinique.

Les acides-phénols sont très communs. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés.

- Acide caféique :

Présent chez plusieurs Lamiacées.

Il a été isolé pour la première fois dans le grain de café.

- Acide chlorogénique :

~ C'est un ester de l'acide quinique et de l'acide caféique (22, 50).

- Acide rosmarinique :

Il est largement représenté dans la famille des Lamiacées, en particulier dans le romarin.

Il est constitué de deux unités d'acide caféique estérifiées.

Il constitue 4 à 5% de la drogue (13, 35, 47, 51, 58). On le surnomme tanin des Lamiacées.

Il est la norme de référence de la Pharmacopée pour définir la qualité de la drogue.

- Acides mélitriques :

Une équipe japonaise (1) a isolé en 1993 à partir des parties aériennes de *Melissa officinalis* L., deux nouveaux dérivés de l'acide rosmarinique, chacun étant constitué de trois sous-unités d'acide caféique. Les auteurs les ont nommés acides mélitriques A et B.

L'acide mélitrique B est l'analogue déshydraté de l'acide mélitrique A, dans lequel le groupe carboxyl en C8 est estérifié avec le groupe hydroxy-phénolique en C3.

### **3. Composés divers :**

La mélisse contient également 4 % de tanin, une résine, une cire, une substance blanche inconnue, un principe amer obtenu à l'état cristallisé et de l'acide succinique (32, 34).

## **B. VARIATION QUANTITATIVE DES CONSTITUANTS**

L'étude de la littérature révèle des différences quant à la composition qualitative et surtout quantitative de l'huile essentielle de mélisse. En effet, nous avons vu que les teneurs des différents composés sont loin d'être fixes et varient parfois beaucoup d'une étude à l'autre. Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus et d'essayer de comprendre ces variations chez *Melissa officinalis* L., plusieurs facteurs sont à prendre en considération.

On observe en effet de très fortes variations des quantités de chaque constituant en fonction :

### **1. Des conditions climatiques :**

Le climat méditerranéen semble offrir un environnement adéquat au développement de la mélisse.

ADZET et coll. en 1992 (2) ont en effet étudié la production d'h.e. de différents biotypes de *M. officinalis* subsp. *officinalis* provenant de plusieurs pays (Allemagne, Irlande, Grande-Bretagne, Suisse, Autriche, Pays-Bas, France et Grèce) et cultivés dans le delta de l'Ebre en Espagne. Tous ont présenté un taux d'h.e. supérieur à ceux obtenus dans leurs pays d'origine avec un taux moyen de 0,3%.

Les caractéristiques du delta de l'Ebre sont les suivantes :

-type du sol : alluvial

-pH du sol : 7,00

-teneur en CaCO<sub>3</sub> libre : 34,06%

-température de l'air moyenne : 17,7°C (maximale : 30,5°C de juin à août)

D'autre part, dans leurs travaux de 1988, MULKENS et coll. (52) se sont intéressés à l'influence de l'altitude sur la production et la composition de l'h.e. de *Melissa officinalis* L. portant sur deux souches de mélisse d'origines différentes (Suisse et France) et cultivées à trois altitudes (450 m, 900 m, 1400 m). Il en résulte que l'altitude ne semble pas être une condition favorable à la croissance et à la productivité de ces plantes : les plantes cultivées à 900 et 1400 m ne se sont pas acclimatées et leurs rendements en essences sont inférieurs à celui des cultures de plaine.

### **2. De l'âge de la plante :**

L'effet de l'âge se retrouve à la fois dans l'âge du plant que dans la position des feuilles (les feuilles du sommet, nouvellement formées, sont plus jeunes que celles du bas de la plante). Ainsi, il a été observé qu'en vieillissant, la mélisse produit moins d'h.e. et ceci quelle que soit l'origine du plant (1, 52). Ceci est vrai à la fois au regard du nombre de mois ou d'années de culture (52) ainsi qu'au sein d'un même plant entre les verticilles apicaux et basaux(1, 42).

En effet, HOSE et coll.1997 (42) ont remarqué que les jeunes verticilles du sommet sont plus riches en h.e. que ceux de la région médiane (huile en mg/verticille). En revanche, comme les feuilles médianes sont plus grandes, la quantité d'h.e. est ici la plus élevée(huile en mg/cm<sup>2</sup>). ADZET et coll.1992 (2) ont également constaté que, lors de deux récoltes successives en août et en novembre, les feuilles de la région médiane ou basale contenaient 0.1% d'h.e. en moins que celles de la région apicale.

En s'intéressant à la composition chimique de cette h.e., on note qu'en vieillissant la mélisse produit une h.e. plus riche en citronellal et en sesquiterpènes tandis que la quantité de citral diminue.

**Au cours du temps**, on relève en effet que, pour un même verticille de la région médiane, la teneur en citronellal croît de 1.1% à 32.2% en six semaines tandis que le citral baisse de 37.2% à 12.9% (42). En parallèle, on observe que l'acétate de géranyle disparaît complètement (10.2% à 0%) et le citronellate de méthyle apparaît (0% à 3.8%) (Figure 11).

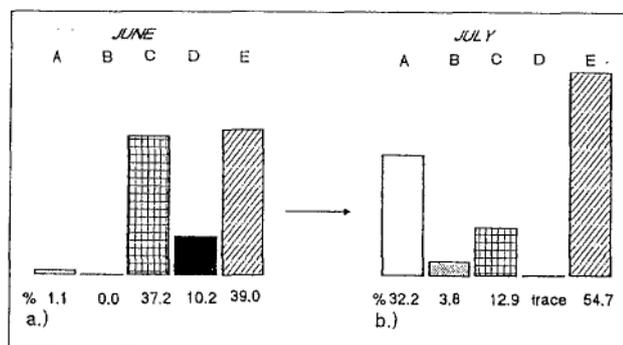


Figure 11 : Changements apparus dans la composition de l'h.e. de mélisse en six semaines pour un même verticille. (A: citronellal, B: méthylcitronellal, C: citral(néral+géranyal), D: acétate de géranyle, E: somme de tous les sesquiterpènes) d'après Hose et coll.(42).

En quatre ans de culture, l'équipe suisse de MULKENS et coll. (52) a également remarqué une diminution importante du citral en faveur des dérivés sesquiterpéniques (B-caryophyllène, germacrène D et alcools sesquiterpéniques). Ces deux groupes de composés évoluent en sens inverse au cours des récoltes successives. Cette évolution est également

observable au travers des résultats des équipes allemandes de TITTEL et coll.(75) et de SCHULTZE et coll.(63).

Les auteurs suisses précisent que les fluctuations des teneurs en citronnellal ne peuvent être rapprochées de celles du citral, bien que ces composés soient proches d'un point de vue biosynthétique.

**Du haut au bas de la plante**, HOSE et coll. ont relevé une très forte augmentation des teneurs en citronnellal (de 1.1% à 52.4%) accompagnée d'une toute aussi importante diminution en citral (de 37.2% à 0.5%) comme le montre la Figure 12. Ils ont aussi remarqué que la somme de ces composés (citral + citronnellal) restait approximativement constante. A l'inverse des résultats suisses, cette inversion des teneurs suggère aux auteurs une possible conversion de certains constituants.

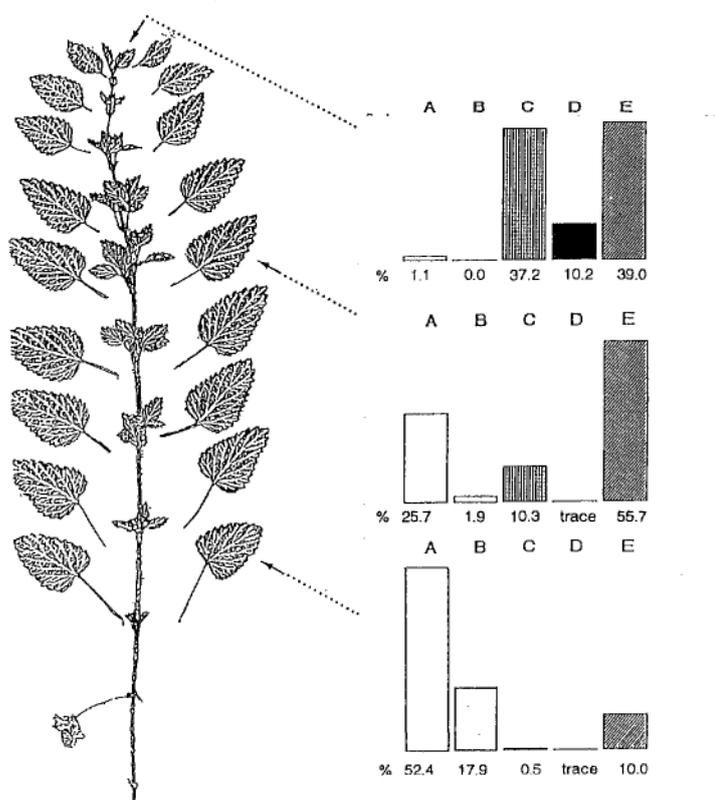


Figure 12 : Composition de l'huile essentielle de verticilles de feuilles sélectionnés à partir du sommet, de la région médiane et basale d'un même plant de mélisse, en juin. D'après Hose et coll.(42).

(A: citronnellal, B: méthylcitronnellal, C: citral(néral+géraniol), D: acétate de géranyle, E: somme de tous les sesquiterpènes)

Des variations similaires ont lieu avec l'acétate de géranyle (baisse de 10.2 % à 0% à partir du troisième verticille) et le citronellate de méthyle (hausse de 0 % à 17.9% dans la région basale).

Quant au pourcentage en sesquiterpènes, il atteint un maximum dans les verticilles médians avec une teneur de 46.0%.

ADZET et coll. (2) ont aussi noté un taux de citronellal plus élevé dans les feuilles des régions médiane et basale, soit 70% du feuillage, tandis que les jeunes feuilles sont très riches en citral (0.4% de citronellal au sommet de la plante à 2.8% à la base). Par contre, la teneur en citral ne varie pas (de 81.7 à 81.2%).

Par ailleurs, sachant que l'h.e., chez *Melissa officinalis* sbsp. *officinalis*, est exclusivement localisée dans les poches sécrétrices, HOSE et coll. se sont demandés si ces changements dans le temps étaient dus au développement de nouvelles glandes ou étaient le résultat de processus de biosynthèse ou de turnover.

Pour cela, ils ont cartographié les poches sécrétrices des feuilles et analysé leur contenu en h.e.. Un deuxième examen de ces feuilles deux mois plus tard montre qu'il n'y a pas de changement dans le nombre et l'emplacement des poches sécrétrices (pas d'apparition de nouvelles glandes, pas de glandes disparues). Cependant, de forts changements sont relevés dans la composition de l'h.e. : le citronellal passe de 0% à 69.9% pendant que le citral baisse de 91.7% à 18.1% (Figure 13).

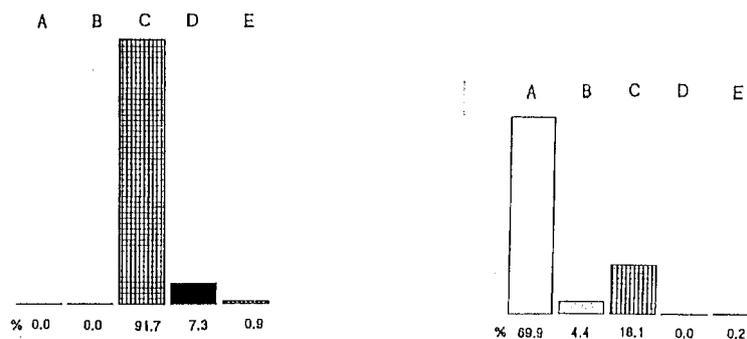


Figure 13 : Changements de la composition de l'h.e. contenue dans les poches sécrétrices des feuilles de mélisse en deux mois. (A: citronellal, B: méthylcitronellal, C: citral(néral+géraniol), D: acétate de géranyle, E: somme de tous les sesquiterpènes) d'après Hose et coll.(42).

Donc, elles ne peuvent être attribuées à une modification du type de glandes mais à une modification du contenu de celles-ci. De plus, les plantes de l'expérience ayant poussées sous serres, ces variations ne peuvent être induites par un changement de l'environnement et doivent donc probablement être contrôlées par des facteurs endogènes.

### **3. De la période de récolte :**

Les données de la littérature diffèrent à ce sujet. ENJALBERT et coll. (28) et CHEVALLIER (14) préconisent une récolte au mois de juillet, juste avant la floraison, au moment où l'huile et ses composés volatiles seraient à leur maximum.

De leur côté, ADZET et coll.(2) ont testé plusieurs périodes (mai/juin, juillet/août, septembre, octobre/novembre) et plusieurs moments durant la journée ( le matin, dans la journée avec un traitement à l'eau pour stopper l'évaporation, dans la journée sans traitement, le soir).

Le meilleur mois semble être en septembre où ils ont recueilli le maximum d'h.e. (0.4%).

Quant au meilleur moment de la journée, c'est le matin que la quantité d'h.e. est la plus importante.

Le traitement à l'eau semble être bénéfique : un arrosage léger et régulier permet un dessèchement plus lent ce qui semble limiter l'évaporation d'h.e.

### **4. De la dessiccation :**

La dessiccation favorise la perte d'huile essentielle : les feuilles sèches de *M. officinalis* ont un rendement plus faible en h.e. que les feuilles fraîches (47, 66).

D'autre part, la teneur en citral diminue tandis que les quantités de dérivés sesquiterpéniques et de citronellal augmentent. SHALABY et coll. (66) ont en effet relevé que la drogue sèche possède des concentrations plus faibles en néral, géraniol, acétate de géranyl et de néryle et des concentrations plus élevées en citronellal,  $\beta$ -caryophyllène et oxyde de  $\beta$ -caryophyllène en comparaison de la drogue fraîche. Les résultats sont reportés dans le tableau III.

Composés	Feuilles		Composés	Feuilles	
	sèches (%)	fraîches (%)		sèches(%)	fraîches (%)
$\alpha$ -pinène	0.05	tr.	terpinèn-1-ol	0.25	0.37
camphène	0.12	0.03	citronellol	13.32	4.47
$\beta$ -pinène	0.09	tr.	$\beta$ -caryophyllène	4.95	0.25
myrcène	0.15	0.04	néral	19.75	26.08
limonène	0.74	0.02	$\alpha$ -terpinéol	1.44	0.82
$\gamma$ -terpinène	0.40	0.11	géraniol	26.80	38.32
p-cymène	0.83	0.19	acétate de géranyle	1.76	3.28
octanal	0.12	0.03	acétate de néryle	1.45	3.99
6-méthyl-5-			géraniol	4.23	8.13
heptèn-2-one	3.79	0.39	nérol	0.64	1.34
linalool	0.25	0.37	oxyde de		
			caryophyllène	9.99	5.49

Tableau III : Composition chimique comparative de l'h.e. produite à partir de feuilles sèches et fraîches de *M. officinalis* cultivée en Egypte.

Analyse faite par CG/SM. (tr. = trace). D'après Shalaby et coll.(66).

Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de MULKENS et coll.(52) qui ont noté, après analyse par CG/SM relié à un intégrateur, que les feuilles sèches de mélisse étaient plus riches en citral (néral + géraniol), et avaient des teneurs plus faibles en  $\beta$ -caryophyllène, germacrène D et en alcools sesquiterpéniques. Il n'y a que l'oxyde de  $\beta$ -caryophyllène que les deux équipes retrouvent toutes deux en quantité plus importante dans la drogue sèche.

Ces différences nettes entre les h.e. obtenus à partir des plantes fraîches et séchées sont en contradiction avec les résultats obtenus par ENJALBERT et coll. (28) qui estiment que les différences de teneurs ne sont pas significatives.

D'autre part, des taux de cis et trans-ocimène nettement inférieurs (toujours inférieurs à 0.5%) ont été relevés dans les essences de plantes séchées par rapport aux essences de plantes fraîches. La majorité de ces composés serait donc perdue lors de la dessiccation (52).

LAMAISON et coll. (47) ont également observé une perte d'acide rosmarinique.

### **5. De la conservation de la plante :**

On observe, au cours de la conservation de la plante, une perte d'huile essentielle. En effet, la teneur en h.e. de la drogue, dans des conditions normales de conservation (température ambiante, absence de lumière), peut perdre jusqu'à 30% de sa teneur initiale en trois mois (52, 85).

De plus, l'essence elle-même présente une certaine instabilité due à la tendance du citronellal à se cycliser (52)

On note également la formation d'oxyde de  $\beta$ -caryophyllène (55). Cet oxyde se forme par oxydation de la double liaison du  $\beta$ -caryophyllène.

La quantité de cet oxyde augmente de 0% à 17% pendant un stockage de dix mois de l'h.e. de *Melissa officinalis* L. à température ambiante. D'ailleurs, la présence d'oxyde de  $\beta$ -caryophyllène indique une h.e. de qualité mineure.

L'étude de SHALABY et coll. (66) est en contradiction avec ces résultats. Sous plusieurs conditions de conservation (température, lumière), ils notent la diminution des teneurs de citronellal, d'acétate de géranyle, d'acétate de néryle et notamment de  $\beta$ -caryophyllène et de son oxyde, tandis que les quantités de néral, géraniol, et géraniol augmentent.

La teneur en méthylhepténone des essences analysées par l'équipe suisse de MULKENS et coll. (52) est toujours inférieure à 0.5%, alors que TITTEL et coll. (75) rapportent des teneurs allant jusqu'à 8.6%. Selon les chercheurs suisses, ces valeurs trop élevées résultent très probablement de la conservation trop longue de la drogue, période pendant laquelle le citral est dégradé en cette cétone.

ORTH et coll. (55) ont remarqué que l'incubation du  $\beta$ -caryophyllène à l'air et à des températures variables n'a jamais atteint des quantités détectables d'oxyde de  $\beta$ -caryophyllène. Ils supposent donc que la formation de l'oxyde ne dépend pas exclusivement de la présence de molécules d'oxygène. De plus, ils ont trouvé que les

aldéhydes de l'h.e. de mélisse, incubés à 20°C et à l'air, peuvent conduire à la production de  $\beta$ -caryophyllène dont la teneur s'élève à 46.7% à 42°C. Chez *Melissa officinalis* L., le citral en présence d'oxygène semble être responsable de la formation d'oxyde de  $\beta$ -caryophyllène (19.7% de conversion à 48°C dans l'expérience).

Ceci pourrait être une des explications de l'augmentation des taux de sesquiterpènes au dépend des monoterpènes lors du vieillissement de la plante.

### **6. Constance du rapport néral/géranial.**

Les teneurs en citral et citronellal varient au sein de la plante mais il a été observé que les deux isomères du citral (néral et géranial) ont un rapport singulièrement constant et sensiblement égal à 3/4.

En effet, dès 1982, TITTEL et coll.(75) avaient signalé la corrélation entre ces deux aldéhydes de la mélisse dont le rapport était égal à 3/4. Fort de cette information, MULKENS et coll. (52) ont analysé statistiquement différents lots de feuilles de mélisse. Les tests montrent une corrélation nette entre les deux composés, et similaires pour les deux souches étudiées.

Le rapport néral/géranial est égal à 0,7577 ce qui n'est statistiquement pas différent du rapport 3/4 signalé par TITTEL et coll.

Le rapport néral/géranial est également préservé dans les essences de plantes fraîches et s'inscrit dans les limites de tolérance définies pour les essences de plantes séchées, ce qui renforce encore le caractère spécifique de cette relation.

### **7. Chimiotype :**

ENJALBERT et coll. (28) indiquent la possibilité de différents chimiotypes car ils trouvent que les plants français de mélisse, utilisés pour l'étude, sont riches en citral, tandis que les plants allemands sont caractérisés par une quantité élevée de citronellal.

Après ce que nous venons de voir au paragraphe 2.2., ces différences sont peut-être la conséquence de l'âge des plants utilisés ou des verticilles cueillis pour l'étude.

MULKENS et coll.(52) dénie l'existence de chimiotypes : les comportements des deux souches française et suisse de l'étude, dans différentes conditions de culture, sont tout à fait comparables. Ils n'ont pas non plus constaté de variation du rendement en h.e. en fonction de l'origine des plantes, comme le souligne également les travaux de TITTEL et coll.(75). Ceci leur permet d'affirmer que la composition chimique de l'h.e. de mélisse est dans une large mesure indépendante de l'origine des plantes et des conditions climatiques. L'espèce *Melissa officinalis* L. ne présenterait donc pas de races chimiques. En revanche, comme nous l'avons vu, la composition quantitative est, elle, fortement influencée par les facteurs climatiques.

### **8. Sélection et hybridation des plants :**

Après une évaluation morphologique et analytique, ADZET et coll.(2) proposent de sélectionner les meilleurs plants en renouvelant cette sélection à chaque lignée pendant quatre ans. Ils ont ainsi obtenu une augmentation du rendement en h.e. de leurs plants de mélisse cultivés en Espagne de 0.28-0.31% à 0.68-0.80%. L'obtention de telles teneurs, très supérieures à la moyenne, font de la sélection un procédé avantageux. Les travaux de STAHN T. et BOMME U. (71) sur des plants de mélisse cultivés et sélectionnés dans le sud de l'Allemagne confirment ces résultats. D'autre part, ADZET et coll. ont constaté que le rendement en h.e. était plus faible si la croissance de la plante était trop rapide et si la densité de son feuillage était trop importante.

### **9. Cultures de cals :**

Les cultures de tissus ou de cellules de plantes sont recherchées comme une source alternative pour la production d'un certain nombre de substances secondaires utiles.

Des cultures de cellules et de tissus ont été établies à partir de feuilles stériles de *M. officinalis* (64). Les cultures ont produit de faibles quantités d'un mélange complexe de composés volatiles dont plus de cinquante constituants ont été identifiés. Ils appartiennent à 0.2% aux monoterpénoïdes, 14.4% aux sesquiterpénoïdes et 85.4% à des mélanges.

L'étude de cultures de cals de *Melissa officinalis* (33) décrit l'accumulation, sous différentes conditions de cultures, de faibles taux d'hydrocarbures de monoterpènes.

L'incapacité des cultures de la mélisse à synthétiser et accumuler des quantités détectables de monoterpènes typiques de la plante peut être attribuée à une possible dégradation oxydative de tels composés.

Cependant, ces cals ont été capables d'accumuler des substances volatiles non-terpéniques qui sont principalement le furfural, l'acide hexanoïque et l'acide octanoïque et qui ne sont pas du tout caractéristiques de la plante parent.

Ce type de cultures ne semble donc pas indiqué si l'on veut obtenir une source de citral importante ou produire de l'h.e. de mélisse à grande échelle.

---

Nous venons donc de voir que beaucoup de facteurs sont à prendre en compte si l'on veut définir au mieux la composition d'une plante.

Dans le cas de *Melissa officinalis* L., si nous voulons obtenir un matériel de qualité, retenons que le contenu en h.e. doit être aussi élevé que possible (un minimum raisonnable est de 0.05-0.10% (v/m) ) et que le néral et le géraniol (=citral) doivent faire partie des composés majoritaires.

Pour cela, les données de la littérature nous conseillent :

- de cultiver la mélisse sous un climat méditerranéen,
- de préférer les plants jeunes (en vieillissant la plante produit plus de sesquiterpènes au dépend des monoterpènes; et parmi les monoterpènes, plus de citronellal au dépend du citral),
- d'utiliser les jeunes verticilles qui sont plus riches en citral (bien que restreindre la cueillette à cette petite fraction de la plante n'est pas une solution économique; le meilleur compromis est la récolte des larges feuilles de la région médiane, lorsqu'elles ont atteint leur taille finale et juste avant la floraison),
- de récolter les feuilles en août ou en septembre et de préférence le matin,

- d'utiliser si possible les feuilles fraîches,
- d'éviter une conservation trop longue,
- de sélectionner les plants ayant le meilleur rendement en h.c.

## **C. CONTROLE DE QUALITE**

### **1. Normes de la Pharmacopée**

La drogue est constituée par la feuille séchée de *Melissa officinalis* sbsp. *officinalis*.

Les feuilles séchées de mélisse (Pharmacopée française, 10<sup>ème</sup> éd.) (58) contiennent au minimum 5% de dérivés hydroxycinnamiques totaux exprimés en acide rosmarinique. Ce n'est pas l'huile essentielle qui est le traceur.

L'identification chimique se fait par chromatographie sur couche mince. Les solutions témoins sont des solutions d'acide rosmarinique, d'acide caféique et d'acide chlorogénique à 0.1% m/V dans le méthanol R. En lumière ultraviolette à 365nm, le chromatogramme obtenu présente des bandes de fluorescence bleue semblables quant à leur position et leur fluorescence à celles obtenues avec les solutions témoins. La bande principale est celle obtenues avec la solution témoin d'acide rosmarinique.

(Le protocole d'identification est décrit dans la pharmacopée française à la monographie de la mélisse).

Le taux des éléments étrangers n'est pas supérieur à 12.0%, dont pas plus de 10.0% de tiges de section égale ou supérieure à 1 mm.

Déterminée à l'étuve à 100-105°C sur 1,000g de feuille de mélisse pulvérisée, la perte à la dessiccation et le taux de cendres totales ne sont pas supérieurs à 12.0%.

## 2. Critères chimiques de différenciation des sous-espèces de *M. officinalis*.

L'espèce *M. officinalis* comporte trois sous-espèces identifiées :

- *M. officinalis* sbsp. *officinalis*
- *M. officinalis* sbsp. *inodora*
- *M. officinalis* sbsp. *altissima*

Quand l'observation des critères botaniques macro et microscopiques est insuffisante ou difficile à réaliser, il est parfois nécessaire de compléter l'étude par la recherche de caractères chimiques spécifiques afin de déterminer si l'h.e. est frelatée ou non.

- *Melissa officinalis* sbsp. *inodora* :

L'analyse de l'huile essentielle de plants de *Melissa officinalis* sbsp. *inodora* (62) met en évidence une composition différente de celle de *Melissa officinalis* sbsp. *officinalis*.

Les auteurs ont identifié et quantifié vingt-cinq composés dont les résultats sont indiqués dans le tableau IV.

Les composés principaux sont :

- le  $\beta$ -cubebène (15.41% de l'h.e. totale)
- le  $\beta$ -caryophyllène (14.24%)
- un alcool sesquiterpénique  $C_{15}H_{26}O$  (7.39%)
- l' $\alpha$ -cadinol (7.19%)
- géraniol (6.62%) + néral (5.82%) soit 12.44% de citral seulement.

A la vue de ces résultats, il apparaît donc que, chez *M. officinalis* sbsp. *inodora*, les composés principaux sont essentiellement des sesquiterpènes ( $\beta$ -cubebène et  $\beta$ -caryophyllène) contrairement à *M. officinalis* sbsp. *officinalis* où le citral et le citronnellal (monoterpènes) prédominent. On remarque que les composés principaux de *M. officinalis* sbsp. *officinalis*

Composés	%	Composés	%
heptèn-3-ol	0.50	$\alpha$ -cubébène	1.27
méthyl-5-heptèn-2-ol	0.42	$\beta$ -élémente	0.89
ocimène, cis-	0.37	$\beta$ -caryophyllène	14.24
ocimène, trans-	3.96	$\alpha$ -bisabolène	2.51
linalool	1.32	$\beta$ -cubébène	15.41
nonanal	2.34	$\gamma$ -élémente	1.70
citronellal	2.92	$\beta$ -cédrène	2.53
néral	5.82	calarène	2.12
géraniol	0.38	$\beta$ -cadinène	3.62
pinocamphone	1.34	alcool sesquiterpénique	7.39
géraniol	6.62	nérolidol	2.36
$\alpha$ -copaène	2.26	cadinol isomère	3.96
		$\alpha$ -cadinol	7.18
		identifiés	93.44%
		non identifiés	6.56%

Tableau IV : Composition en % des composés identifiés de l'h.e. de *Melissa officinalis* sbsp. *inodora*. D'après Sarer et Kökdil (62).

sont également présents chez *M. officinalis* sbsp. *inodora*, mais dans d'autres proportions. Dans cette étude, le rendement en h.e. de *M. officinalis* sbsp. *inodora* est de 0.099%, ce qui est inférieur à celui de *M. officinalis* sbsp. *officinalis*.

L'analyse de l'h.e. semble être un point de départ pour la détection d'une substitution possible de *M. officinalis* sbsp. *officinalis* par *M. officinalis* sbsp. *inodora*, en mettant en évidence par exemple, un taux trop faible de citral. Mais ceci reste insuffisant et d'autres méthodes seraient utiles pour compléter et affiner le jugement.

- *Melissa officinalis* subsp. *altissima* :

L'analyse de la composition de l'h.e. de *M. officinalis* subsp. *altissima* par S.W.DAWSON et coll. (21) diffère fortement de celle de *M. officinalis* subsp. *officinalis*. Elle est caractérisée par une note verte et boisée, et elle contient, entre autre, du  $\beta$ -cubebène, du terpinolène, du 3-carène, du  $\gamma$ -terpinène, du  $\beta$ -caryophyllène, du T-muurolol. On notera surtout l'absence de citral.

Les travaux des allemands VAN DER BERG et coll.(77) mettent en évidence chez *M. officinalis* subsp. *altissima* des très faibles taux de citronellal (<0.5%) et seulement des traces de citral (<0.001%) alors qu'ils relèvent des taux élevés de germacrène D et de  $\beta$ -caryophyllène (42.69 à 76.57% à eux deux). Le ratio monoterpènes /sesquiterpènes varie donc de 0.2 :100 à 5.2 :100, ce qui est très loin de celui de *M. officinalis* subsp. *officinalis* (90 : 100).

Donc, l'h.e. de *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* doit contenir une certaine quantité de citral et/ou citronellal et non quelques traces. Bien sûr, une quantité suffisante de citral n'exclut pas une substitution minuscule avec *Melissa officinalis* subsp. *altissima* mais peut aider à définir une qualité minimum de l'h.e.

Une combinaison des données morphologiques et chimiques devrait conduire à un contrôle d'authenticité valable.

### **3. Méthodes permettant de détecter une substitution de *M.officinalis* subsp. *officinalis*.**

L'h.e. de mélisse est l'un des produits naturels le plus cher. C'est pourquoi le contrôle de son authenticité est d'un intérêt fondamental pour garantir sa qualité.

Plusieurs équipes se sont intéressées à ce problème et voyons ci-dessous les différentes méthodes qu'elles proposent.

Dans un premier temps, étant donné la constance du rapport néral/géranial, MULKENS et coll. (52) proposent de le considérer comme caractéristique de l'essence de mélisse. En 1982, TITTEL et coll.(75) ont en effet montré que le rapport de ces mêmes composés dans l'essence de *Nepeta cataria* sbsp. *citriodora* (Lamiaceae), utilisée comme falsification de la mélisse, n'est que d'environ 3/10, alors que celui de la mélisse est de 3/4.

D'autre part, des équipes allemandes proposent d'étudier les composés chiraux de l'h.e. La première séparation d'énantiomères du citronellol contenu dans l'h.e. de mélisse fut faite en 1989 (44).

Zivanovic et coll. (87) propose une méthode densitométrique pour la détermination des monoterpènes des extraits de mélisse.

Plus récemment, KRUGER et coll. (46) présente le (R)(+)-citronellal, qui a une haute pureté énantiomérique, comme composé caractéristique de l'h.e. de mélisse.

En 1994, KREIS et MOSANDL (45) utilisent la chromatographie gazeuse multidimensionnelle énantiosélective pour stéréoanalyser les monoterpènes chiraux les plus importants de l'h.e. de *Melissa officinalis* L., à savoir: citronellol, linalool, citronellal, oct-1-en-3-ol, octan-3-ol et cis/trans-rose oxydes. Ils sont en paire énantiomérique dont on peut déterminer le ratio.

Une haute pureté énantiomérique en faveur de l'énantiomère de configuration (R)(+) a été détectée dans le cas du citronellal et du citronellol. Les oct-1-en-3-ol et octan-3-ol sont présents en très faibles quantités mais avec également une haute pureté énantiomérique favorisant les énantiomères (S)(+) octan-3-ol et (R)(-) oct-1-en-3-ol.

Excepté le linalool qui semble affecté durant la production d'h.e., tous les composés chiraux ont des caractéristiques énantiomériques. Ceci permet de détecter une altération de l'h.e. de *Melissa officinalis* L. par addition de composés ayant une faible pureté énantiomérique. Les diastéréoisomères (+)cis et (+)trans rose oxyde aussi bien que le (R)(+) citronellal sont de haute pureté énantiomérique (>95%) et ont prouvé qu'ils pouvaient servir d'indicateurs d'authenticité.

Les recherches de SCHULTZE et coll.(65) sur le sujet montrent que la composition énantiomérique du citronellal chez *Melissa officinalis* L. est presque toujours constante et est comprise entre 1,8 et 2,1% pour la forme (-), et 97,9 et 98,2% pour la forme (+).

Pour comparaison, ils ont également étudié le rapport des énantiomères du citronellal dans des huiles citronnées disponibles dans le commerce, et qui peuvent être utilisées frauduleusement comme substitut de l'huile de mélisse. Les résultats sont résumés dans le tableau V.

	CITRONELLAL ENANTIOMERE (-)	CITRONELLAL ENANTIOMERE (+)
<i>Melissa officinalis</i>	1,8-2,1%	97,9-98,2%
<i>Cymbopogon winterianus</i>	11-14%	86-89%
<i>Cymbopogon nardus</i>		
<i>Cymbopogon flexuosus</i>	46-55%	45-54%
<i>Cymbopogon citratus*</i>		
<i>Litsea cubeba</i>	47-67%	33-53%
<i>Eucalyptus citriodora.</i>	40,8-42,1%	57,9-59,2%

\*Citronnelle ou Lemon grass

Tableau V : Teneur en citronellal (+) et (-) de 7 huiles essentielles citronnées du commerce.

Sur les douze échantillons d'h.e. de mélisse du commerce que les auteurs ont examinés, seulement sept ont prouvé leur authenticité ; l'une présentait un ratio de citronellal correspondant à une huile de citronnelle et les quatre autres étaient caractérisées par une trop forte proportion d'énantiomère(-) (37 à 45%).

L'analyse énantiosélective des monoterpènes chiraux de *Melissa officinalis* L. n'est pas suffisante pour juger de façon concluante si l'h.e. de *Melissa officinalis* L. a été mélangée ou non à d'autres huiles.

L'équipe allemande de HENER et coll.(39) propose de compléter ces caractéristiques par une autre méthode : une chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse ratio isotope (GC/IRMS).

D'autre part, sachant que *Melissa officinalis* L. est une plante en C<sub>3</sub> et que *Cymbopogon* en C<sub>4</sub>, SCHULTZE et coll. (65) proposent d'étudier par IRMS seule le ratio <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C qui est de δ<sup>13</sup>C 29,5 à 26 ‰ pour *Melissa officinalis* L. et de 9,5 à 9,1 ‰ pour les espèces du genre *Cymbopogon*. L'addition d'huile des différentes citronnelles sera facilement détectée. Malheureusement, l'IRMS seule est limitée car de nombreuses plantes cultivées appartiennent au groupe des plantes en C<sub>3</sub> et il se peut qu'il y ait addition frauduleuse de composés synthétiques non chiraux tels le néral ou le géraniol.

En fait, une combinaison de toutes ces méthodes semble correcte pour déterminer l'authenticité de l'huile de *Melissa officinalis* L, ce qui reviendrait à faire une analyse énantiométrique suivie d'une IRMS intégrée et de la quantification des composés analysés.

#### **4. Pesticides :**

Les traitements aux herbicides ne doivent pas influencer la composition de la drogue ; de même, la quantité de résidus d'herbicides restant dans la plante, après l'intervalle de temps de sécurité précédant la récolte, doit être en dessous de la limite de résidus maximale (MRL : Maximum Residue Limit). Cette limite est de 0.1 mg/kg.

Les agents herbicides les plus fréquemment employés sont des dérivés d'uracile ou de phénylurée tels que le bromacile, le lenacile et le terbacile.

Une sélection de méthodes permettant la détermination de ces résidus uracile chez *Melissa officinalis* L. (73) a mis en avant une méthode simple et rapide, permettant l'évaluation de routine de résidus d'herbicides à des niveaux proches de la MRL. Cette méthode est basée sur une séparation par CCM (Chromatographie sur Couche Mince) sur gel de silice et d'une évaluation quantitative utilisant une détection biochimique permettant de sélectionner les herbicides inhibant la réaction de Hill (une des étapes de la photosynthèse - environ 40% des herbicides (uracils, phényl-urées, triazines, et autres) ont leurs effets basés sur cette capacité à inhiber cette réaction).

La limite de quantification de la méthode proposée est de 0.01 mg/kg et sa limite de détection est de 0.005 mg/kg, ce qui correspond aux normes exigées pour les plantes médicinales.

Cette méthode a été appliquée pour l'analyse de plants de *Melissa officinalis* L. traités par une formulation herbicide à base de terbacile pendant la culture. De faibles teneurs en terbacile (0.005 à 0.01 mg/kg) ont été trouvées, respectant ainsi les normes.

VAVERKOVA et coll. (80) se sont intéressés à la qualité et au contenu de l'h.e., preuves de qualité, provenant de plants de mélisse traités au Basagran® dont la substance active est la bentazone, à différentes phases de leur croissance et de leur développement.

Ils ont démontré que l'application de bentazone ne causait pas d'effet sur le métabolisme des plantes : la qualité et la quantité de l'h.e. des plants traités et non traités sont équivalentes.

La concentration totale d'h.e. obtenue dans les plants traités est de 0.09 à 0.23% (v/m), valeurs en accord avec les normes européennes ; de même, les concentrations en citral et citronellal sont du même ordre que dans les plants non traités et évoluent dans le temps de la même manière.

---

Il est important de connaître et si possible de maîtriser dans une certaine mesure ces fortes variations de composition de l'h.e. de *Melissa officinalis* L. car c'est de la composition d'une plante que découlent ses propriétés. De même, l'authenticité de la drogue permet d'en garantir sa qualité et par conséquent son efficacité.

# **TROISIEME PARTIE**

## TROISIEME PARTIE

# ANALYSE BIOCHIMIQUE

*Melissa officinalis* L. est une herbe officinale de longue tradition et d'une grande variété d'utilisations. Les feuilles de mélisse ont été utilisées traditionnellement depuis Théophraste et Hippocrate, puis au XV ème siècle par Paracelse, pour améliorer les fonctions digestives et les états de nervosité.

En France, elle est utilisée en médecine populaire contre les troubles digestifs( douleurs gastriques, digestion difficile, coliques flatulentes, nausées dues à la grossesse), contre les troubles nerveux (mélancolie, insomnie, nervosité, vertiges), contre les douleurs (dentaires, auriculaires, abdominales, céphalées, dysménorrhées) et enfin contre des troubles divers (syncope, faiblesse du cœur, bourdonnement d'oreilles, asthme).

La plupart de ses effets thérapeutiques sont attribués à son huile essentielle.

La réputation de la mélisse n'est pas démentie par les travaux les plus récents qui confirment d'intéressantes propriétés.

### 1. ACTIVITE SPASMOLYTIQUE.

La mélisse est inscrite à la Pharmacopée Française et son emploi est reconnu dans le cahier n°3 de l'agence en ces termes : "La mélisse est traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulence et comme traitement adjuvant de la composante douloureuse des troubles fonctionnels digestifs".

La littérature scientifique cite souvent les propriétés sédatives et antispasmodiques de la mélisse, les considérant même comme étant ses principales activités, or peu d'articles font état d'études à ce sujet. Les travaux mettant en évidence ces propriétés remontent aux années 1970 (11).

Plus récemment, seule la thèse de Soulimani R. (67) soutenue en 1991, ainsi que deux articles parus en 1991 et en 1993 faisant état de ses recherches en collaboration avec une équipe française, tentent de démontrer ces propriétés.

Dans ce but, il a étudié l'effet de l'extrait hydroalcoolique de *M. officinalis* sur le péristaltisme et le transit intestinal (67).

Pour cela, il a choisi d'évaluer dans un premier temps l'action de la mélisse sur le transit intestinal de la souris *in vivo*. Les résultats de l'expérience montrent que l'extrait de *M. officinalis* induit une inhibition du transit statistiquement significative aux doses de 200 et 400 mg/kg. Le loperamide, pris comme produit de référence, a montré une activité inhibitrice du transit intestinal statistiquement significative à la dose de 1 mg/kg.

Dans un deuxième temps, l'auteur a mis en évidence une action spasmolytique de la mélisse sur le péristaltisme de l'iléon de cobaye et duodénum de rat *in vitro*. Ces parties ont été choisies en raison de leur richesse en plusieurs types de récepteurs : les récepteurs cholinergiques, histaminiques et opiacés impliqués dans la régulation de la contraction du muscle lisse intestinal et du péristaltisme de base.

Cette méthode permet à la fois d'évaluer l'influence de la mélisse sur le péristaltisme de base et de tenter d'approcher son mécanisme d'action en étudiant sa relation avec ces trois types de récepteurs.

En effet, nous rappelons que :

- les récepteurs cholinergiques sont impliqués dans la régulation des contractions du muscle lisse intestinal donc dans l'activité analgésique périphérique de type antispasmodique ou dans l'activité spasmolytique ;
- les récepteurs histaminiques sont impliqués aussi bien dans la sédation au niveau du système nerveux central ( récepteurs H1) qu'au niveau de la régulation des contractions intestinales et de l'acidité gastrique (récepteurs H2) ;
- et enfin les récepteurs opiacés sont impliqués dans l'analgésie centrale et la régulation des contractions intestinales et du transit.

Les résultats de cette expérience *in vitro* montrent que l'extrait de mélisse induit une inhibition complète du péristaltisme intestinal de base à la dose de 10 mg/cuve, bien que cette inhibition n'apparaisse qu'à partir de la dose de 5 mg/cuve.

Afin de déterminer l'influence de *M. officinalis* sur les récepteurs cholinergiques, Soulimani a testé l'extrait hydroalcoolique sur la contraction duodénale induite par la carbaminoylcholine, antagoniste de l'acétylcholine (technique *in vitro* du duodénum de rat isolé).

L'atropine, antagoniste de référence, a montré à la fois une activité inhibitrice et une activité antagoniste compétitive vis à vis de la carbaminoylcholine.

La mélisse, testée aux doses de 100 à 1000 mg/cuve n'a montré aucune activité inhibitrice. Elle n'a donc aucune action vis à vis des récepteurs cholinergiques (67).

En ce qui concerne son influence sur les récepteurs histaminiques, les différentes doses de l'extrait de *M. officinalis* testées n'ont manifesté aucun effet sur les contractions de l'iléon induites par l'histamine.

Les deux produits de référence, la dexchlorphéniramine ( Polaramine®) et la prométhazine ( Phénergan®), ont induit une activité inhibitrice spécifique et compétitive dans les mêmes conditions expérimentales.

De même, l'extrait hydroalcoolique de *M. officinalis* n'a montré aucun effet sur les récepteurs opiacés, le produit de référence étant la morphine à 0,001 mg.

Ces études mettent en évidence l'effet inhibiteur de l'extrait hydroalcoolique de *M. officinalis* sur le péristaltisme intestinal *in vitro* à la dose de 10 mg/cuve, corrélé à un effet inhibiteur du transit intestinal *in vivo* à partir de la dose de 100 mg/kg.

Ces résultats peuvent expliquer en partie l'attribution d'une activité antispasmodique à la mélisse et justifier son utilisation traditionnelle. Cependant, en raison de l'absence d'effet vis à vis des récepteurs cholinergiques, histaminiques et opiacés, cette activité spasmolytique est donc liée à un autre mécanisme d'action.

## 2. ACTIVITE NEUROTROPE.

La réputation de plante sédatrice de la mélisse n'est plus à faire (7, 10, 14, 19, 26, 57, 78, 85). Depuis le Moyen-Age, les praticiens l'utilisent et la prescrivent pour soulager les insomnies de même que la mélancolie et le surmenage léger (78). Elle apaise les palpitations et redonne force et santé au cœur affaibli (49).

Le Cahier n°3 de l'Agence indique que la mélisse est "traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil".

### 2.1. Sédatrice.

Jusqu'à présent, les recherches sur l'activité sédatrice de la mélisse reposaient sur l'étude de son huile essentielle. Ces propriétés sont liées à la présence des terpènes dans l'h.e. L'absorption de 2 g d'essence provoque engourdissement et sommeil avec ralentissement de la respiration, diminution du rythme cardiaque et baisse de la tension artérielle (78).

Plus récemment, c'est l'extrait hydroalcoolique qui a été l'objet d'étude de Soulimani et coll. (68). Ils ont en effet observé le comportement de souris confrontées à deux situations expérimentales après avoir reçu une injection intra-parentérale (I.P.) d'un extrait hydroalcoolique de *M. officinalis*.

La première situation est le "test des deux compartiments" ou "test du milieu nouveau" qui permet d'étudier l'effet de *M. officinalis* sur le comportement explorateur de la souris dans un environnement familier et dans un environnement nouveau, trente minutes après l'injection I.P. de l'extrait aux doses de 3 à 100 mg/kg.

Les résultats de cette expérience mettent en évidence une diminution significative de la locomotion et des redressements des souris traitées aux doses de 6-12,5-25-50 et 100mg/kg avec un effet maximal à la dose de 25 mg/kg.

La seconde situation est "le test de l'escalier" : dans une enceinte en plexiglas, l'animal est déposé en bas d'un escalier, le dos tourné par rapport à celui-ci. L'extrait de *M. officinalis* est administré en I.P. trente minutes avant l'expérience aux doses de 3 à 800 mg/kg.

Les résultats montrent une diminution significative du nombre de redressements et des marches montées, l'effet maximal étant obtenu à la dose de 25 mg/kg.

Le clorzépaté dipotassique (TRANXENE®) pris comme produit de référence présente une diminution significative du nombre de redressements et des marches montées aux doses de 5 et 10 mg/kg.

Les propriétés sédatives attribuées à la mélisse par la tradition sont confirmées pour son extrait hydroalcoolique.

Par contre, il est étonnant de constater que l'huile essentielle administrée aux doses de 3 à 100 µl/kg (correspondant à la quantité contenue dans 3 à 100 mg/kg de plante sèche) n'a montré aucune incidence sur ces paramètres.

Afin de d'isoler le support chimique de cette activité, l'équipe française a préparé un extrait hydroalcoolique à partir d'un cryobroyat de plantes fraîches de *Melissa officinalis* L. et réalisé des fractions méthanoliques de cet extrait par chromatographie sur colonne et élution au méthanol (69). Ils ont ainsi obtenu sept fractions désignées par des lettres de A à G.

Ces fractions sont injectées à des souris que l'on soumet au "test de l'escalier".

L'équipe tente ainsi d'évaluer l'activité biologique de ces fractions isolées ou associées entre elles afin de définir un principe actif responsable de cette activité.

Les fractions prises individuellement ne montrent aucune modification des redressements et des marches montées.

Les fractions associées par deux montrent soit une diminution non significative des deux paramètres étudiés, soit une diminution significative pour l'un et non pour l'autre, mais aucune association de fractions n'a pu montrer une action significative pour les deux.

Seule l'association de l'ensemble des fractions permet de restaurer l'activité obtenue avec l'extrait total.

Le fractionnement de l'extrait total n'a donc pas permis la mise en évidence de l'activité biologique neurotrophe déjà montrée en 1991 sur l'extrait total.

Cette activité est donc probablement liée à un mécanisme de synergie de l'ensemble des fractions.

D'autre part, l'absence d'activité de *M. officinalis* sur les récepteurs cholinergiques, histaminiques et opiacés permet d'avancer que la mélisse a des propriétés sédatives propres (et non des effets secondaires de l'activité de ces récepteurs) et qui sont liées à un autre mécanisme d'action.

## **2.2. Hypnotique.**

Plus récemment, une équipe française (68) a mis en évidence une activité hypnotique de l'extrait hydroalcoolique de *M. officinalis*.

Les résultats de ces expériences montrent en effet que l'extrait hydroalcoolique, administré aux doses de 3 à 10 mg/kg à des souris par voie I.P. trente minutes avant l'injection d'une dose infra-hypnotique de pentobarbital sodique (25 mg/kg), induit significativement le sommeil aux doses de 3,12 et 6,25 mg/kg ( respectivement 70% et 60% de souris endormies).

Et ce même extrait, administré à des souris ayant reçues une dose hypnotique de pentobarbital (40 mg/kg) potentialise le sommeil barbiturique. On obtient une augmentation significative du temps de sommeil des souris aux doses de 6 et 50 mg/kg, où il est prolongé d'environ 25 minutes. Cet effet n'apparaît pas aux doses de 200 et 400 mg/kg.

La recherche d'une interaction vis à vis du sommeil induit par le pentobarbital appartient aux tests classiquement utilisés dans les recherches pharmacologiques de substances actives sur le système nerveux central comme les sédatifs, les anxiolytiques, les antidépresseurs ou les psychostimulants.

Il en est de même pour l'huile essentielle de *M. officinalis* qui est testée aux doses de 3 à 10 µl/kg.

En revanche, dans les deux cas, l'huile essentielle n'a montré aucun effet inducteur ou potentialisateur du sommeil.

Ceci n'est pas en accord avec des publications plus anciennes qui présentent les propriétés sédatives de l'huile essentielle (8, 61,78).

Ces résultats méritent d'être complétés par d'autres études.

### 2.3. Analgésique.

Dans ses travaux de thèse de 1991 (67) ainsi que dans l'article paru dans *Planta Medica* la même année, Soulimani et coll. ont porté leurs recherches sur les propriétés analgésiques centrales ou périphériques de *M. officinalis* (68, 69).

Les analgésiques centraux sont capables d'exercer leur activité vis à vis de stimuli algogènes de nature électrique, chimique ou thermique, tandis que les analgésiques périphériques ne sont efficaces que lors de l'injection de substances chimiques nociceptives.

Pour cela, il a sélectionné deux tests pharmacologiques permettant de dissocier ces deux types d'effets :

- le test du writhing, basé sur l'induction de la douleur par injection I.P. d'acide acétique, qui induit chez l'animal des contorsions et des contractions abdominales. Ce test met en jeu une douleur et son observation au niveau périphérique, ce qui permet de mettre en évidence l'activité analgésique de type périphérique.
- le test de la plaque chauffante qui permet de quantifier l'effet analgésique de la substance étudiée, vis à vis d'une douleur occasionnée par la chaleur. Ce test met en jeu une douleur périphérique et sa transmission au niveau central, ce qui permet de mettre en évidence une activité analgésique de type centrale.

Dans le test du writhing, l'extrait hydroalcoolique de *M. officinalis* (25 à 1600 mg/kg) est administré à des souris par voie I.P., trente minutes avant l'agent algique (acide acétique à 1,2%). Les résultats de ce test montrent que *M. officinalis* réduit significativement le nombre de contorsions et d'étirements induits par l'injection d'acide acétique, dès la dose de 400 mg/kg, cet effet est dose-dépendant jusqu'à la dose de 1600 mg/kg avec un maximum de protection de 70%. Cette activité est comparable à celle obtenue avec l'acétylsalicylate de lysine(KARDEGIC®), actif à la dose de 68 mg/kg.

Dans le test de la plaque chauffante, la souris est déposée dans un récipient chauffé à 56°C par bain-marie. L'extrait de *M. officinalis*, administré aux doses de 6 à 1600 mg/kg, ne modifie pas le temps de réaction de la souris caractérisé par le léchage des pattes antérieures ou par un saut de l'animal pour tenter de s'échapper, alors que le sulfate de morphine, pris comme substance de référence, exerce une action protectrice significative à la dose de 10 mg/kg.

Les résultats obtenus n'ont donc montré aucun effet protecteur de *M. officinalis* vis à vis de la douleur induite par la chaleur et ceci à aucune dose.

L'évaluation de l'activité analgésique au travers de ces deux tests nous permet de constater que l'extrait hydroalcoolique de *M. officinalis* possède des propriétés analgésiques de type périphérique seulement, et à forte dose (800 à 1600 mg/kg).

### **3. ACTIVITE ANTI-OXYDANTE.**

Une étude hongroise récente (41) a évalué la capacité antioxydante des extraits hydroalcooliques de trois Lamiacées : *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis* et *Lavendula angustifolia*, ainsi que leurs principaux constituants (acide rosmarinique, acide caféique, lutéoline, lutéoline-7-O-glucoside, méthylcamphosate) sur deux systèmes biologiques de peroxydation des lipides différents : enzyme dépendant et enzyme-indépendant.

Tous les extraits montrent une forte inhibition de la peroxydation des lipides sur les deux systèmes mais l'effet est encore plus prononcé sur le système enzyme-dépendant. De plus, tous présentent une activité plus forte que la vitamine E, pris comme antioxydant de référence.

Les auteurs ont relevé une relation entre le pouvoir antioxydant et le contenu en acides hydroxycinnamiques totaux mais pas avec celui en flavonoïdes totaux. Seul l'acide rosmarinique contribue de façon significative à l'activité antioxydante de ces plantes.

D'autre part, l'extrait hydro-alcoolique de *M. officinalis* a montré une activité antioxydante importante (47), par réduction du radical libre DPPH\*, comparée à celles d'extraits de *Rosmarinus officinalis* et de *Salvia officinalis*. Cette activité est en partie liée aux teneurs en acide rosmarinique et en dérivés hydroxycinnamiques totaux.

En effet, les résultats de cette équipe française (47) ont montré la richesse en acide rosmarinique et dérivés hydroxycinnamiques de la mélisse et de trois autres Lamiacées (Tableau VI).

Plantes	Acide rosmarinique % (m/m)	Dérivés hydroxycinnamiques % (m/m)	Activité antioxydante CE50 (µg/ml)
<i>Melissa officinalis</i>	4.7	6.8	20.0
<i>Lycopus europaeus</i>	3.7	6.3	23.1
<i>Origanum vulgare</i>	5.0	7.1	16.2
<i>Prunella vulgaris</i>	6.1	7.0	21.5
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2.5	3.5	40.0
<i>Salvia officinalis</i>	3.3	3.5	41.3

Tableau VI : Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante des Lamiacées étudiées.

CE50 =

\*DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

L'acide rosmarinique est dosé par HPLC et les dérivés hydroxycinnamiques totaux par colorimétrie.

Les quatre Lamiacées les plus riches en acide rosmarinique et en dérivés hydroxycinnamiques totaux présentent les activités antioxydantes les plus élevées, près de deux fois supérieures à celle de la Sauge et du Romarin.

Les auteurs ont noté que la part des dérivés hydroxycinnamiques dans l'activité antioxydante des plantes étudiées est de l'ordre de 60% et soulignent que d'autres constituants interviendraient de manière non négligeable tels que les flavones et les tanins chez la mélisse. Le reflet de l'activité antioxydante des espèces étudiées n'est donc pas uniquement le fait de présence des dérivés hydroxycinnamiques, dont l'acide rosmarinique.

En raison de son intérêt pharmaceutique en tant qu'antioxydant, antibactérien, antiviral et anti-inflammatoire (43) de nouvelles sources d'acide rosmarinique sont activement recherchées.

En raison des teneurs élevées trouvées chez *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare* et *Prunella vulgaris*, ces trois plantes pourraient donc constituer des matières premières pour la préparation d'acide rosmarinique ou d'extraits titrés en acide rosmarinique.

#### **4. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIFONGIQUE.**

Beaucoup d'h.e., surtout issues des Lamiacées, ont des propriétés bactériostatiques, voire bactéricides. La mélisse en fait partie et de nombreux ouvrages citent ces propriétés (8, 10). Les investigations d'une équipe espagnole (48) ont porté sur l'huile essentielle de plusieurs Lamiacées dont la mélisse, obtenue par distillation des parties aériennes. La liste des micro-organismes testés est reportée dans le tableau VII.

Les milieux de culture utilisés sont le TSA ( Trypticase Soy Agar) pour la croissance des bactéries et la gélose glucose de Sabouraud pour celle des champignons filamenteux.

L'huile essentielle à la quantité de 0.01 ml est déposée au centre de la boîte de Pétri sur un disque de papier filtre stérilisé de 6 mm de diamètre. Après incubation, la lecture des résultats s'obtient par mesure de l'inhibition de la croissance des micro-organismes, exprimée en extension de l'aire d'inhibition; tandis que pour les champignons filamenteux, ce sont les retards d'apparition de la sporulation par rapport aux cultures de contrôle qui sont pris en compte.

Les résultats sont reportés dans le tableau VII. *M. officinalis* présente donc 100% d'inhibition sur les levures *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*. Les auteurs ont également relevé 75 % d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, 60 % pour *Mycobacterium semgmatis*, un retard de développement pour *Pseudomonas putida*, *Micrococcus luteus* et *Micrococcus lysodeikticus*. Parmi les entérobactéries, *Proteus vulgaris* et *Shigella sonnei* ont montré une sensibilité à la présence de l'huile essentielle tandis que celle-ci a une action inhibitrice sur les colonies de *Escherichia coli*.

MICRO-ORGANISMES	% D'INHIBITION OBSERVE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75
<i>Pseudomonas putida</i>	Retard de développement
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	75
<i>Micrococcus luteus</i>	Retard de développement
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	Retard de développement
<i>Mycobacterium semgmatis</i>	60
<i>Proteus vulgaris</i>	Retard de développement
<i>Shigella sonnei</i>	Retard de développement
<i>Escherichia coli</i>	Retard de développement
<i>Candida albicans</i>	100
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100
<i>Aspergillus fumigatus</i>	75
<i>Aspergillus niger</i>	0
<i>Cladosporium herbarum</i>	0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0

Tableau VII : Inhibition de la croissance de micro-organismes par l'h.e. de *Melissa officinalis*, exprimé en %.

D'autre part, une équipe israélienne (72) s'est penchée sur l'influence de l'extrait aqueux et de l'extrait alcoolique de *M. officinalis* sur la croissance de colonies d'*Helicobacter pylori*, bactérie Gram-négatif qui est responsable chez l'homme de gastrite chronique, d'ulcération et de cancers gastriques.

La mélisse a montré une activité inhibitrice significative envers *Helicobacter pylori* : la zone d'inhibition de l'extrait aqueux est de 18 mm et celle de l'extrait alcoolique est de 14 mm, donc l'extrait aqueux est plus actif. On note que ces valeurs sont plus faibles que celles obtenues pour le thym ( respectivement 24 et 19 mm).

Dans le but de combattre les infections fongiques, une équipe indienne (23) a recherché les propriétés anti-fongiques de 28 plantes dont la mélisse.

Ils ont étudié l'action de l'huile essentielle extraite par distillation des parties aériennes de ces plantes envers trois micro-organismes : *Microsporium gypseum*, *Trichophyton equinum* et *Trichophyton rubrum*.

L'huile essentielle est solubilisée dans 5 % d'acétone et incorporée dans le milieu de culture sur lequel on dépose un disque de 5 mm de diamètre de mycélium, prélevé dans la périphérie d'une culture de sept jours. Après incubation, on définit le pourcentage d'inhibition du mycélium par rapport au témoin. De plus, les auteurs ont testé les activités fongistatique/fongicide de ces végétaux en ré-inoculant les disques inhibés dans la gélose dextrose de Sabouraud. La croissance du mycélium après sept jours d'incubation indique une activité fongistatique tandis que l'absence de développement dénote une action fongicide. Les résultats de *M. officinalis* montrent 100 % d'inhibition avec un effet fongicide sur les trois espèces de champignons testées.

Seulement quatre autres huiles essentielles sur vingt-huit obtiennent les mêmes résultats (*Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon winterianus*, *Trachyspermum ammi* et *Vetiveria zizanioides*).

Ces différentes investigations nous permettent d'affirmer l'attribution d'une activité anti-microbienne et anti-fongique à la mélisse.

De plus, une récente étude germanique (49) a étudié l'activité antiparasitaire de douze h.e. et de huit mono- et sesquiterpènes sur *Trypanosoma brucei* et *Leishmania major*. Ce sont des protozoaires qui affectent des milliers de personnes à travers le monde; *T. brucei* est responsable de la maladie du sommeil chez l'humain et qui peut s'avérer fatale en l'absence de traitement. *L. major* est l'agent pathogène de la leishmaniose.

Sur les douze h.e. testées, seulement trois (*Melissa officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Melaleuca alternifolia*) ont montré une activité 50 à 80 fois plus toxique pour *T. brucei* que les cellules humaines HL-60 *in vitro*.

Le terpinèn-4-ol, constituant principal de l'huile du théier australien (*Melaleuca alternifolia*) s'est montré 1000 fois plus toxique sur le trypanosome que les cellules humaines.

Cependant, aucune des h.e. ni des terpènes n'a montré d'effets plus toxique sur *L. major* que les cellules HL-60.

Actuellement, seulement quelques principes actifs avec de sérieux effets secondaires sont disponibles pour traiter les infections à *T. brucei* et à *L. major*, et l'efficacité de ces drogues diminue. C'est pourquoi il est urgent de rechercher de nouveaux agents anti-protozoaires.

## **5. ACTIVITE ANTI-VIRALE.**

Les premières investigations portant sur l'activité antivirale des extraits aqueux de *Melissa officinalis* démontrent dès 1967 (41) leur capacité à inhiber le développement de plusieurs types de virus. Dans les années qui ont suivi, de nombreuses études ont confirmé ces résultats (8, 10, 14, 43, 84).

Plus récemment, l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* a montré des propriétés antivirales contre les virus de l'herpès, Influenza et Vaccinia. (24, 79). Il contient une variété de substances polyphénoliques dont des produits d'oxydation des acides caféique et rosmarinique qui ont montré une activité antivirale. Le produit d'oxydation de l'acide caféique inhibe à la fois l'herpes simplex 1 (responsable de lésions buccales) et l'herpes simplex 2 (responsable de lésions génitales) (24, 76). Ces composants agiraient en formant un complexe avec le virus ou la membrane de la cellule hôte de façon à empêcher l'adsorption du virus.

Une équipe bulgare (24) a isolé la fraction active de divers extraits de mélisse (éthanolique, hydroalcoolique, aqueux). Tous les extraits montrent un effet virucide *in vitro* en 3 à 6 heures mais seul l'extrait aqueux total présente une activité antivirale *in vivo*.

D'autre part, une étude allemande de 1994 (86) a démontré l'action de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* en utilisation topique sur des sujets atteints d'herpès labial. A raison de cinq applications par jour d'une crème contenant 70% d'extrait aqueux de mélisse, ils ont observé une disparition des lésions chez 96% des patients en 8 jours, 87% en 6 jours et 60% en 4 jours. Le rétablissement naturel des infections herpétiques apparaît habituellement en 10 à 14 jours.

De plus, cette émulsion est significativement plus active que le placebo alors qu'une étude américaine antérieure, selon les auteurs, n'a pas révélé d'effet bénéfique pour l'Acyclovir® par rapport au placebo.

Récemment, une équipe japonaise (86') a étudié l'activité anti-HIV de 46 plantes dont la mélisse. Sept des 46 extraits aqueux montrent une remarquable activité anti-HIV (*Melissa officinalis*, 2 variétés de *Mentha piperata*, *Ocimum basilicum*, *Perilla frutescens*, *Prunella vulgaris*, *Satureja montana*).

C'est la mélisse qui montre la plus puissante inhibition sur la réplication du virus à la dose effective de 16 µg/ml *in vitro*, ainsi que le plus puissant effet inhibiteur sur la réplication de virus HIV-1 isolés de patients infectés à la dose de 62 µg/ml.

Les extraits montrent une activité inhibitrice sur la transcriptase reverse mais à des doses supérieures à celles où l'on observe l'action anti-virale. Les auteurs pensent que les extraits n'agissent pas sur cette enzyme mais en bloquant la liaison ou la fusion du virus à la cellule-hôte. Les principes actifs de ces extraits sont des substances polaires hydrosolubles, et non des composés apolaires tels que contiennent les huiles essentielles). L'acide caféique et l'acide quinique ne sont pas solubles dans l'eau mais leurs dérivés ( polymères ou sels) le sont. Les quantités de métaux comme le calcium, le magnésium et le fer sont en quantité plus importante chez les Lamiacées que dans les autres familles de plantes. *Melissa officinalis*, *Ocimum basilicum* et *Prunella vulgaris* contiennent de 1000 à 2500 ppm de fer et de 7000 à 10 000 ppm de magnésium ce qui fait suggérer aux auteurs que les métaux pourraient avoir une influence sur l'activité anti-HIV.

Les antiviraux disponibles actuellement sont très chers et causent de sérieux effets secondaires, par inhibition des fonctions hématopoïétiques entre autres, et des résistances contre ces traitements apparaissent. C'est pourquoi la recherche de nouveaux principes actifs efficaces avec moins d'effets secondaires est une nécessité.

## **6. ACTIVITE SUR LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE.**

La synthèse protéique est un processus biochimique fondamental dans les cellules de tout organisme. Ce processus peut être régulé, stimulé ou inhibé par diverses substances. Un certain nombre d'extraits de plantes sont connus depuis longtemps comme inhibiteurs de la croissance des cellules. Il y a peu d'information en ce qui concerne leur effet sur la

biosynthèse des protéines, qui est un processus très rapide dans les cellules tumorales en développement.

Une équipe polonaise (17) a mis en évidence dans un premier temps que l'extrait aqueux de *M. officinalis* inhibait la synthèse protéique dans des cultures de cellules d'hépatocytes, et que des substances non tanniques de cet extrait en semblaient responsables.

Deux ans plus tard, ils distinguent deux composés présents dans cet extrait aqueux sans tanin, inhibant ce processus de biosynthèse (15).

Il s'agirait : - de l'acide caféique  
- d'un glycoside non-identifié.

De façon à approfondir les recherches, les auteurs ont testé, d'une part, l'effet de la fraction glycosidique sur l'incorporation in vitro de leucine radioactive ([<sup>14</sup>C]leucine) dans les protéines. Les résultats montrent un effet inhibiteur de cette fraction similaire à celui de l'extrait aqueux total de *M. officinalis*. Par analyse chromatographique de cette fraction, deux composés sont isolés.

L'un est testé sur l'incorporation in-vitro de [<sup>14</sup>C]leucine dans les protéines. Il a présenté un effet inhibiteur significatif. Ce composé semble donc responsable de l'effet inhibiteur de la fraction glycosidique.

Cependant, ce composant de la fraction glycosidique n'affectent pas les ribosomes qui, après incubation avec ce composé, conservent leur activité.

Les recherches menées en Pologne entre 1969 et 1993 par Galasinski et son équipe sur la synthèse protéiques ont permis de démontrer l'existence de deux facteurs d'élongation EF-1 et EF-2, isolés à partir de cellules de l'épithélium de Guérin et d'hépatocytes de rat (15, 16 17, 31).

Dans le processus d'élongation, EF-1 est responsable de la liaison ARNt-aminoacyl au site accepteur A du ribosome, tandis que EF-2 catalyse la translocation de l'ARNt-peptidyl du site A au site P du ribosome (Figure 14).

En 1993, les auteurs ont remarqué que le facteur EF-2 issu de cellules tumorales était moins sensible à la dégradation par la carboxypeptidase que celui issu de cellules normales (30). Or EF-2, digéré par cette enzyme, perd sa capacité à se lier aux ribosomes; ce qui signifie que,

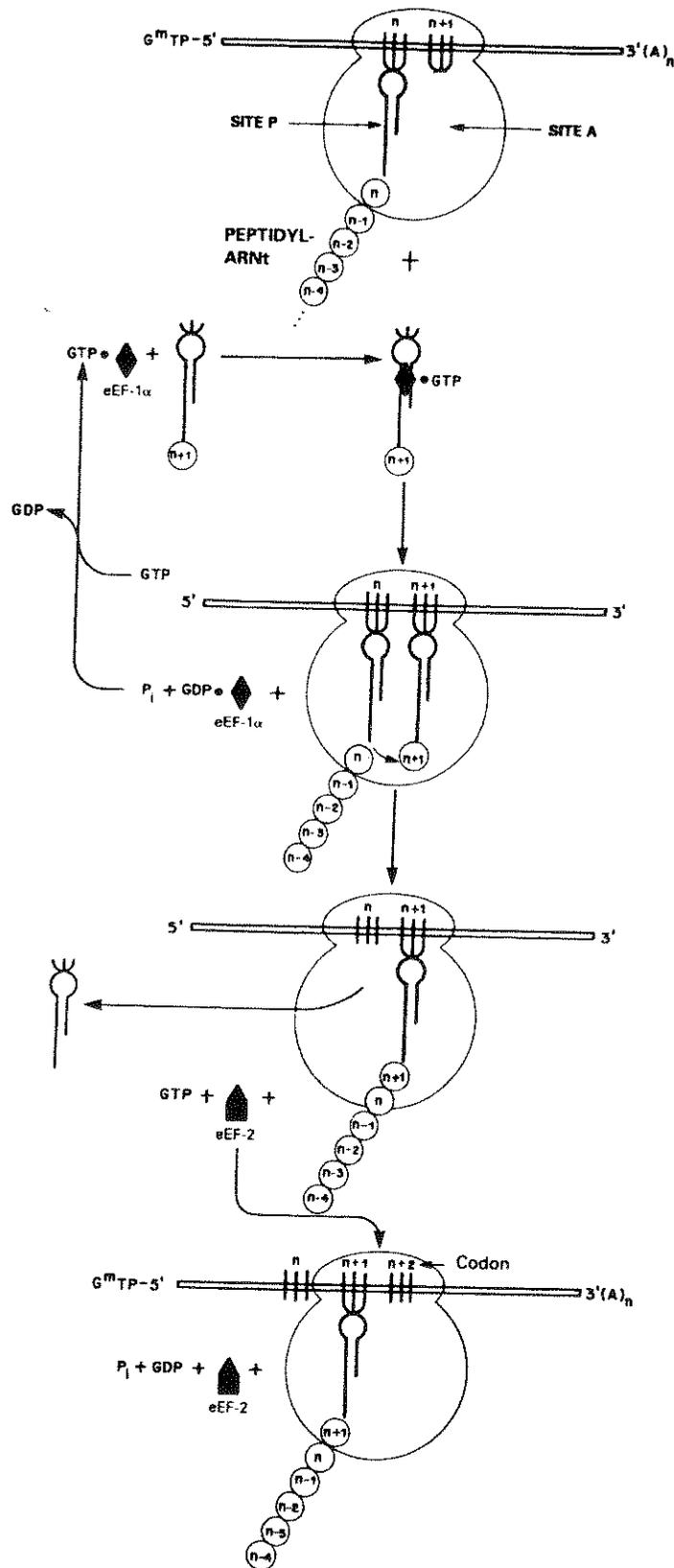


Figure 14 : Processus d'élongation des chaînes peptidiques au cours de la synthèse protéique. n-1, n, n+1 représentent les acides aminés de la protéine en formation. eEF-1 eEF-2 sont les facteurs d'élongation 1 et 2. Les sites P et A représentent respectivement les sites peptidyl-ARNt et aminoacyl-ARNt sur le ribosome.

dans les cellules tumorales, la synthèse protéique est moins facilement interrompue.

Cette substance isolée de la fraction glycosidique a montré un effet inhibiteur de 80% sur l'activité du facteur d'élongation EF-2. Cette observation est vérifiée par la méthode de Hobden.

De plus, ce composé diminue la quantité d'ARNt-peptidyl dans le site donneur des ribosomes. Ceci peut être le résultat soit de l'inhibition de l'enzyme peptidyltransférase, soit de l'inhibition de l'étape de translocation.

Or l'ajout de puromycine au mélange d'incubation donne la formation d'un complexe puromycine-peptide catalysé par l'enzyme. Ceci permet de mettre en évidence que la peptidyltransférase conserve son activité et donc que la substance isolée de la fraction glycosidique de *M. officinalis* n'affecte pas l'enzyme (30).

D'autre part, l'ajout de cycloheximide, un inhibiteur spécifique de la translocation, dans l'extrait de *M. officinalis* n'en améliore pas l'effet inhibiteur.

Nous pouvons alors suggérer que la substance présente dans l'extrait inhibe l'étape de translocation dans la chaîne d'élongation peptidique.

Afin de déterminer la cible de ce composé inhibiteur, l'extrait de mélisse est ajouté dans une expérience impliquant la formation d'un complexe EF-2—ribosome. Les résultats montrent de façon convaincante que l'extrait de mélisse bloque la liaison EF-2 aux ribosomes. Donc, l'étape de translocation est suspendue et l'élongation peptidique arrêtée.

D'autre part, ils ont observé que l'acide caféique inhibait lui aussi la synthèse protéique in-vitro et que cet effet augmentait lors de la conservation de la plante : les solutions d'acide caféique conservées pendant plusieurs jours à une température ambiante de 20°C montraient une activité inhibitrice plus importante que celles fraîchement préparées. Les auteurs en ont déduit que des dérivés de l'acide caféique devaient se former et venir renforcer l'activité inhibitrice de ce dernier.

L'analyse de la solution conservée par CCM permet la séparation de deux composés fluorescents sous lumière ultraviolette et présentant une tâche bleue à 1% de FeCl<sub>3</sub> (30).

Ce composé nouvellement formé est plus actif que la solution d'acide caféique fraîchement préparée. Cette substance, soumise au même test que la fraction glycosidique, inhibe l'étape de translocation de façon similaire au composé.

Il se peut donc que le glycoside non identifié soit un dérivé de l'acide caféique.

Quant à l'acide chlorogénique, présent également dans l'extrait de *M. officinalis*, il n'a pas montré d'influence sur l'incorporation de leucine dans les protéines.

Pour conclure, nous pouvons dire qu'un composant glycosidique de *M. officinalis* inhibe la synthèse protéique par interaction directe sur le facteur d'élongation EF-2 qui a pour effet d'empêcher sa liaison aux ribosomes.

## **7. ACTIVITE ANTI INFLAMMATOIRE.**

Les signes cliniques de l'inflammation sont rougeur, chaleur, douleur, œdème. L'inflammation est un phénomène complexe mettant en jeu plusieurs facteurs. Parmi eux, le complément joue un rôle principal. C'est un système constitué d'une vingtaine de protéines plasmatiques. L'activation des différents composants du complément se fait en cascade produisant une amplification aboutissant à la lyse cellulaire. En raison de la complexité de ce système, on distingue la voie classique, la voie alterne et la voie effectrice commune ( Figure 15). La voie classique est activée par certains anticorps liés à leur antigène spécifique. La voie alterne est activée directement par certains polysaccharides bactériens en l'absence d'anticorps. Ces deux cascades reliées entre elles aboutissent au clivage du C3, événement clé du système complémentaire : un troisième groupe de protéines plasmatiques s'assemblent alors (voie effectrice commune) entraînant des lésions lytiques des doubles couches lipidiques membranaire.

Le C3 est le composant du complément le plus fortement représenté dans le sérum et son activation est le pivot sur lequel s'articulent les deux voies d'activation classique et alterne.

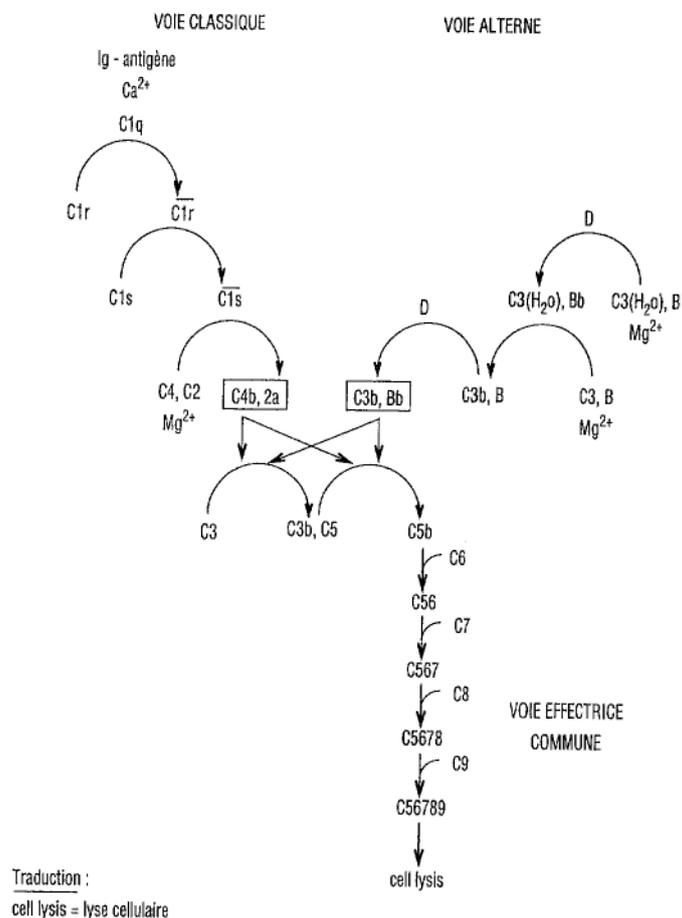


Figure 15 : Les voies d'activation du complément. D'après *Immunologie* de J.-F. Bach.

La liaison de C2 au C4b donne le complexe enzymatique C4b2a qui a pour substrat spécifique le C3 et le C5 : c'est la C3/C5 convertase classique.

Quatre protéines sont impliquées dans la formation de la C3 convertase alterne : C3b, les facteurs B et D et la properdine (P).

Les deux convertases (classique et alterne) clivent le C3 en C3a et C3b. Ceci active la séquence terminale (voie effectrice).

En immunologie, l'activation du système du complément peut entraîner : une augmentation de la vasoperméabilité et la formation d'œdèmes, une stimulation de la chimiotaxie des leucocytes, une libération d'enzymes lysosomiales, une stimulation de la libération des plaquettes suivie de l'agrégation plaquettaire et la génération de prostaglandines à partir des macrophages. Ces différents processus conduisent à une réaction inflammatoire.

Dans la littérature scientifique, des propriétés anti-inflammatoires sont attribuées à l'acide rosmarinique, composé naturellement présent chez *Melissa officinalis* L. et *Rosmarinus officinalis* L.

une étude *in vivo* (27) montre que l'acide rosmarinique inhibe plusieurs processus inflammatoires complément-dépendant.

Dans un premier temps, ces chercheurs allemands ont mis en évidence une inhibition du complément en présence d'acide rosmarinique en concentration de 0.1 à 100 µmol/l par diminution de l'activité hémolytique de l'enzyme C3 convertase de la voie classique. La concentration optimale d'acide rosmarinique est de l'ordre de 5 à 10 µmol/l pour lesquels on obtient 70% d'inhibition de l'hémolyse.

Cependant, les auteurs ont remarqué que des concentrations plus fortes d'acide rosmarinique induisaient au contraire une inhibition moins prononcée de l'enzyme. La raison de cette perte d'activité inhibitrice est inconnue.

Dans un deuxième temps, afin de mieux examiner l'effet de l'acide rosmarinique sur l'activation du complément *in vivo*, l'inhibition de la réaction anaphylactique cutanée passive est choisie comme modèle, par la formation de complexes immuns dans la voie classique. Les rats de l'expérience ont reçu une injection intra-cutanée de sérum d'anti-ovalbumine. De 1 à 100mg/kg d'acide rosmarinique ont été donnés oralement aux rats, trois heures avant l'administration intraveineuse d'ovalbumine. On observe une diminution significative de l'œdème par rapport au groupe témoin (42% d'inhibition pour 10mg/kg d'acide rosmarinique; 76% pour 100mg/kg), donc une inhibition de la réaction anaphylactique. La valeur ID<sub>50</sub> est d'environ 20-30mg/kg d'acide rosmarinique.

Dans un troisième temps, les auteurs ont administré de l'acide rosmarinique en intramusculaire à des rats chez qui on a provoqué un œdème des pattes par injection de venin de cobra. Le venin de cobra active l'enzyme C3 convertase de la voie alterne. L'acide rosmarinique est donné de façon préventive une demi-heure avant l'injection de venin et les mesures sont faites trois heures après. Les résultats du tableau VIII montre une diminution de 35 à 40% du volume de l'œdème en fonction de la dose administrée d'acide rosmarinique par rapport au témoin.

Tableau VIII. Inhibition, par administration en intramusculaire d'acide rosmarinique, de l'œdème de la patte de rat induit par l'injection locale de venin de cobra.

DOSE D'ACIDE ROSMARINIQUE (mg/kg)	VOLUME DE L'OEDEME (ml)	INHIBITION (%)
—	0.40 +/- 0.01	
0.316	0.24 +/- 0.02*	40
1.0	0.25 +/- 0.02*	38
3.16	0.26 +/- 0.01*	35

(\*) indique une inhibition significative ( $P < 0.05$ ).

Le groupe de rats témoin a reçu une injection de placebo à la place de l'acide rosmarinique ; l'œdème qui s'ensuit provoqué par le venin est pris comme valeur de référence (100%).

Nous pouvons donc en déduire que l'acide rosmarinique agit également sur la convertase de la voie alterne.

Il est à noter que l'acide rosmarinique (0.1 -10mg/kg en I.M.) n'inhibe pas l'œdème de la patte induit par le t-butyl hydroperoxyde chez le rat. Ceci indique sa sélectivité pour le processus complément-dépendant.

Ces résultats sont appuyés et complétés par les travaux de Peak et coll.(56). Cette équipe australienne a en effet observé une inhibition de l'hémolyse induite par l'acide rosmarinique et ceci de façon plus importante pour la voie classique que pour la voie alterne.

Cet effet est dose-dépendant avec un maximum d'inhibition de la voie classique observé à 2.6mmol/l d'acide rosmarinique.

Par contre, ils n'ont trouvé qu'un faible effet sur la protéine C1q ( une des cinq protéines responsable de l'assemblage de la C3 convertase classique) et sur les convertases des deux voies.

Cependant, ils ont relevé une inhibition très significative de l'hémolyse de cellules préformées accompagnant l'inhibition de la génération de C5a.

D'où la conclusion que l'acide rosmarinique a une action sur la C5 convertase.

L'ensemble de ces résultats indique que l'acide rosmarinique exerce un effet inhibiteur marqué sur l'activation du complément.

En effet, l'inhibition de la voie classique est mise en évidence *in vitro* par une diminution de l'hémolyse (expérience classique testant la capacité du sérum à lyser des globules rouges de mouton recouverts d'anticorps de lapin anti-globules rouges de mouton). D'autre part, les expériences *in vivo* démontrent que l'inhibition est en fait partiellement due au blocage de la C3 convertase de la voie classique.

L'inhibition n'est peut être pas spécifique de la C3 convertase depuis qu'une autre protéase à sérine, l'élastase, est aussi inhibée, faiblement, par l'acide rosmarinique *in vitro*. Engleberger et coll. (27) ont également remarqué qu'aux concentrations de 6.25, 12.5 et 25 mmol/l., l'acide rosmarinique produit 36%, 32% et 30% d'inhibition de l'élastase, une autre protéase à sérine. Les auteurs émettent l'hypothèse que l'inhibition de la C3 convertase est peut être le reflet de l'action inhibitrice de l'acide rosmarinique sur les protéases à sérine en général.

Les recherches de Bult et coll. (12) et de Rampart et coll. (59) ont montré que l'acide rosmarinique inhibait la synthèse des prostacyclines or la synthèse des prostacyclines est induite par l'activation du complément, ce qui vient soutenir les résultats de Engleberger et coll et de Peake et coll.

Tandis que plusieurs inhibiteurs de protéases ont montré leur capacité à bloquer l'activation du complément, l'acide rosmarinique, isolé de *Melissa officinalis* L., semble être une substance très intéressante car elle a non seulement une activité inhibitrice *in vitro* sur la lyse induite par le complément mais aussi une activité inhibitrice *in vivo* sur les réactions inflammatoires. De plus, la non-toxicité de l'acide rosmarinique contraste avec les autres composés disponibles pour inhiber le complément.

## **8. ACTIVITE ANTI-THYROIDIENNE.**

Sourgens et coll. (70) ont administré des extraits secs de trois Lamiacées (mélisse, thym, lycopus) et d'une Boraginacée (*Lithospermum*) à des rats euthyroïdiens et hypothyroïdiens.

- L'administration aiguë des extraits de plantes en IV chez les rats euthyroïdiens (fonction thyroïdienne normale) provoque à la fois une diminution des taux de TSH sérique et hypophysaire. La concentration de TSH sérique est en effet réduite de moitié de sa valeur basale en moins de trois heures après injection ( 2.5 mg d'extrait /100mg ). Tous les extraits diminuent fortement la concentration de TSH hypophysaire, et *M. officinalis* et *Lithospermum officinale* sont les plus efficaces (baisse de 700 à 200 µg TSH pour la mélisse). En revanche, les taux des hormones thyroïdiennes (T3 et T4) restent inchangés trois heures après l'injection.

- L'administration IV des extraits des Lamiacées chez le rat hypothyroïdien, présentant un goitre par déficit en iode, est sans effet. Seule *Lithospermum off.* supprime le taux de TSH et le goitre correspondant.

Ces résultats sont complétés par des recherches allemandes (4, 5) qui mettent en évidence la capacité d'extraits végétaux, dont la mélisse, à inhiber la liaison de la TSH aux cellules thyroïdiennes humaines *in vitro* et à inhiber la capacité de celle-ci à activer l'adénylate cyclase. En effet, des doses de 10 à 30µg/ml d'extrait suffisent pour obtenir un maximum d'inhibition de la liaison de la TSH.

D'autre part, à 20-40µg/ml les extraits végétaux n'ont pas d'effet sur les concentrations basales d'AMPc mais inhibent l'augmentation des concentrations d'AMPc induites par la TSH ( 26 à 40% d'inhibition observée).

En revanche, à 200µg/ml, les extraits inhibent fortement ( 80%) l'accumulation à la fois de l'AMPc basal et de l'AMPc stimulé par la TSH.

De plus, les auteurs démontrent que l'inhibition de la liaison de la TSH aux cellules thyroïdiennes induite par les extraits de plantes n'est pas due à une dénaturation des récepteurs, ni à une liaison irréversible des extraits aux récepteurs.

Les composants des extraits agissent en formant un complexe avec la TSH ce qui augmente son poids moléculaire et ce qui réduit fortement sa capacité à se lier ses récepteurs présents à la surface des cellules thyroïdiennes.

L'année suivante, les auteurs montrent que les acides caféique, rosmarinique et chlorogénique présents chez *Melissa officinalis* sont inactifs sur la TSH quand ils sont testés directement mais deviennent actifs après oxydation (4). En effet, les produits d'oxydation des acides caféique et rosmarinique diminuent fortement l'activité de la TSH chez la souris.

Ils mettent en évidence également que certaines orthoquinones, produits d'oxydation des dérivés de l'acide 3,4-dihydroxycinnamique ont une activité antithyrotropique similaire à celle des extraits de *Melissa officinalis*.

Les quinones sont connus pour se combiner à certains résidus acides aminés des protéines. La TSH étant une glycoprotéine, les auteurs suggèrent que les orthoquinones dérivées de l'acide 3,4-dihydroxycinnamique forment un complexe avec la protéine plutôt qu'avec sa moitié glucidique, modifiant ainsi sa structure et l'empêchant de se lier à ses récepteurs.

D'autre part, les taux de prolactine sérique et hypophysaire sont réduits par les extraits de plantes, dont la mélisse (70). Par contre, les faibles doses d'extraits qui sont suffisantes pour abaisser les taux de TSH ne le sont pas pour abaisser les taux de prolactine sérique. La dose de 40 mg/100g de poids est nécessaire pour conduire à une réduction significative des taux de prolactine sérique

Pour Sourgens et coll., en raison de l'influence de la thyroïde sur la sécrétion de prolactine, cet effet des extraits végétaux peut être dû à une action hormone thyroïdienne-like au niveau hypothalamique, initiant les réactions dopaminergiques responsables à la fois de la diminution des taux de prolactine et de TSH.

## **9. ACTIVITE ANTI-GONADOTROPE.**

Aufkolke et coll.(5) ont mis en évidence une inhibition prononcée de la liaison de la hCG (gonadotrophine chorionique) à son récepteur par l'extrait sec de *Melissa officinalis* chez le rat. Le maximum d'inhibition à 50% est obtenu pour les doses de 10 à 50µg d'extraits/ml de solution testée.

## 10. TOXICITE.

Il n'existe pas de données sur la toxicité aiguë ou chronique de la mélisse.

La mélisse ne présente ni toxicité ni effet secondaire et est "sans danger" (78). Aucun effet secondaire, ni interaction médicamenteuse, ni contre-indication n'est connu (85).

Quant aux constituants de l'huile essentielle, un article paru dans *Fitoterapia* en 1995 discutent de la toxicité relative du citral (22). L'administration de citral à des rats pendant treize semaines aux doses de 1000 - 2500 et 10 000 ppm dans leur ration alimentaire n'a pas causé de modifications macroscopiques. Cependant dans une autre expérience, des rats traités au citral présentent une hépatomégalie accompagnée d'une distribution altérée des lipides et du glycogène dans le foie.

Une étude menée en 1996 (60) a pour objectif de rechercher une activité génotoxique sur les extraits aqueux et alcooliques de plusieurs plantes médicinales dont la mélisse. Pour cela, l'équipe cubaine recherche la présence de ségrégations somatiques sur des colonies d'*Aspergillus nidulans* marquées portant quatre mutations récessives donnant des conidies colorées, ce qui permet une détection visuelle directe des ségréants. Ce type d'essai fait partie de la batterie de tests de génotoxicité promu au Programme Européen de Mutation du Génome. Les résultats de l'expérience ne montrent aucun effet génotoxique, ni d'effet toxique sur la croissance des colonies d'*Aspergillus nidulans* pour *M. officinalis*.

# QUATRIEME PARTIE

# QUATRIEME PARTIE

## UTILISATIONS

### 1. UTILISATIONS PHARMACEUTIQUES.

#### 1.1. Infusion

Verser de l'eau bouillante sur 1,5 à 4 g de feuilles finement coupées, laisser reposer 5-10 min, puis filtrer (ne cuillère à café = environ 1g).

Dans le commerce, les feuilles de mélisse sont proposées sous forme de tisanes en sachets-dose (Extranc®, Vitaflor®, Boribel ® n°3, 6 et 13) et entrent dans la composition de tisanes en mélange à visée sédatives et gastro-intestinales (Médiflor® n°12 et n°14, Cisbey®, Santane D5®, Boldoflorine®, Herbesan®, Hépatoflorine®, Tisane des Familles®, Calmotisan®, Tisane Santé de Lehning®), mais aussi comme aromatisant.

#### 1.2. Alcoolats

Préparé à partir de plantes fraîches, l'alcoolat de mélisse peut être simple ou composé. L'alcoolat de mélisse composé, spécialisé dans l'appellation "Eau de Mélisse des Carmes", est une forme ancienne très populaire. Il est obtenu par distillation des feuilles et sommités fleuries de mélisse, additionnées de zestes frais de citron, cannelle, girofle, muscade, coriandre et racine d'angélique.

#### 1.3. Teintures-mères

Les teintures-mères sont obtenues par macération hydro-alcoolique des parties aériennes fraîches de *Melissa officinalis*. C'est un liquide de couleur brun-vert, d'odeur aromatique.

Dans le commerce, elles sont disponibles chez les Laboratoires Boiron, Dolisos, Lehning et Ferrier. Prendre 50 gouttes dans un verre d'eau le soir au coucher pour favoriser le sommeil, dans la journée pour détendre et calmer, après les repas pour faciliter la digestion.

#### 1.4. Spécialités utilisant la mélisse

Arkogélules® commercialise des gélules de feuilles de mélisse, séchées et broyées.

Les extraits de mélisse entrent dans la composition de l'Elixir Bonjean®, suspension buvable à visée digestive, et de comprimés à visée anxiolytique et sédatif (Vagostabyl®).

### 1.5. Homéopathie

Melissa officinalis est utilisée en 3 DH pour les retards d'apparition des règles, en 4 CH dans le cas de règles peu abondantes et courtes, en 5CH dans les cas d'impissance et de frigidité (81).

### 1.6. Utilisation topique

En Allemagne, les extraits de feuilles entrent comme composant unique dans la composition d'un baume contre le virus de l'herpès.

L'huile essentielle est un très bon insectifuge, notamment contre les moustiques. Certains préconisent même les feuilles fraîches de mélisse écrasées posées en cataplasme pour calmer la douleur causée par les piqûres d'insectes. D'autres utilisent ces feuilles fraîches broyées en application directe sur les blessures pour en prévenir l'infection.

## 2. UTILISATIONS CULINAIRES.

Les jeunes pousses de mélisse peuvent être ajoutées en quantité aux salades qu'elles parfument remarquablement en y apportant leur note citronnée et aromatique. Elles sont également très bonnes cuites à la vapeur avec d'autres légumes. Elles peuvent également être incorporées dans les salades de fruits, les marmelades, les gelées mais aussi les plats de poissons, de viande et de volailles, les sauces aux fines herbes et les marinades.

# CONCLUSION

THESE SOUTENUE PAR : NATHALIE RONAT

TITRE : LA MELISSE (*MELISSA OFFICINALIS* L.)

## CONCLUSION

Connue depuis des millénaires, la mélisse demeure donc une plante très intéressante dans la phytothérapie moderne.

Nous avons vu dans un premier temps ses caractéristiques botaniques et analytiques qui se révèlent être très utiles pour éviter une confusion mais surtout pour mettre en évidence une substitution possible de la véritable huile essentielle de mélisse qui, compte tenu des très faibles rendements lors de sa préparation, est en fait très onéreuse.

L'étude analytique de son huile essentielle et de l'extrait aqueux, dans un deuxième temps, permettent de définir sa composition chimique et de s'apercevoir qu'au sein de l'huile essentielle, la proportion de chaque composé est influencée par beaucoup de paramètres tels que l'âge de la plante, la période de récolte, les conditions de séchage et de conservation. Quant à la réputation traditionnelle de la mélisse, elle n'est pas démentie par des travaux récents qui mettent en évidence les propriétés sédatives et antispasmodiques de son huile essentielle mais aussi de l'extrait aqueux. A l'heure actuelle, la plante est donc utilisée pour traiter les troubles mineurs liés à un état neurotonique : troubles gastriques d'origine nerveuse (ballonnements, flatulences...), douleurs des colites spasmodiques, nervosité, troubles légers du sommeil. Les propriétés antioxydante, antibactérienne et antivirale de l'extrait aqueux de mélisse, déjà démontrées auparavant et liées à la présence de composés polyphénoliques dont l'acide rosmarinique, sont appuyées et complétées par les études récentes.

Des travaux récents ont mis à jour d'intéressantes propriétés telles des activités antithyroïdienne et antigonadotrope, mais aussi des propriétés antiinflammatoire et inhibitrice de la synthèse protéique. Ces dernières découvertes pourraient donner naissance à de nouvelles applications de la mélisse.

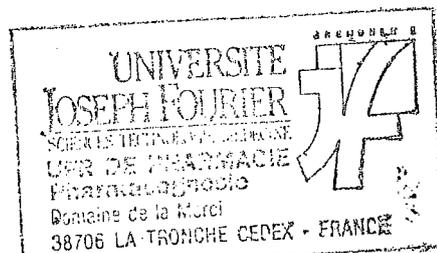
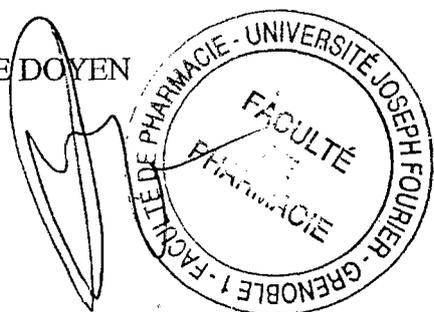
D'autre part, en raison de sa forte teneur en acide rosmarinique, la mélisse pourrait constituer une source d'acide rosmarinique, composé qui est de plus en plus utilisé et recherché pour ses propriété antibactérienne et antioxydante entre autres.

Il est intéressant de souligner que l'activité antivirale de l'extrait aqueux de mélisse pourrait être mis à profit en usage externe comme c'est déjà le cas en Allemagne où un baume contenant cet extrait est déjà commercialisé et offre d'excellents résultats dans le traitement de l'herpès labial ainsi que la prévention des rechutes.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 17/04/2001

LE DOYEN



LE PRESIDENT DE LA THESE

Marotte

---

# **BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE

1. **Adzet T., Ponz R., Wolf E., Schulte E.** Genetic variability of the essential oil content of *Melissa officinalis*.  
*Planta Medica*, 1992, **58** : 558-561.
2. **Adzet T., Ponz R., Wolf E., Schulte E.** Content and composition of *M.officinalis* oil in relation to leaf position and harvest time.  
*Planta Medica*, 1992, **58** : 562-564.
3. **Agata I., Kusakabe H., Hatano T., Nishibe S., Okuda T.** Melitric acids A and B, new trimeric caffeic acid derivatives from *Melissa officinalis*.  
*Chem. Pharm. Bull.*, 1993, **41(9)** : 1608-1611.
4. **Auf'mkolk M., Amir S.M., Kubota K., Ingbar S.** The active principes of plant extracts with antithyrotropic activity : oxidation products of derivatives of 3,4-dihydroxycinnamic acid.  
*Endocrinology*, 1985, **116(5)** : 1677-1686.
5. **Auf'mkolk M., Ingbar J.C., Amir S.M., Winterhoff H., Sourgens H., Hesch R.D., Ingbar S.** Inhibition by certain plant extracts of the binding and adenylate cyclase stimulatory effect of bovine thyrotropin in human thyroid membranes.  
*Endocrinology*, 1984, **115(2)** : 527-534.
6. **Baerheim Svendsen A., Merckx I.J.M.** A simple method for screening of fresh plant material for glycosidic bound volatile compounds.  
*Planta Medica* , 1989, **55** : 38-40.
7. **Bärtels A.** *Guide des plantes du bassin méditerranéen*, Editions Eugen Ulmer, 1986.
8. **Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., Trotin F.** *Plantes Médicinales des Régions Tempérées*, Maloine S.A., Paris, 1980.
9. **Bourquelot E., Bridel M.**, *C.R. Académie des Sciences*, Paris, 1913.
10. **Bruneton J.**, *Pharmacognosie Phytochimie et Plantes Médicinales*, 3<sup>ème</sup> éd., Paris, 1999.
11. **Buchner K.H., Melling H., Huber M., Peukert e., Späth L., Deininger R.** *Med.Klin.* 1974, **69** : 1032-1036.
12. **Bult H., Herman A.G., Rampart M.** Modification of endotoxin-induced haemodynamic and haematological changes in the rabbit by methylprednisolone, F(ab') fragment and rosmarinic acid. *Br. J. Pharmac.* 1985, **84** : 317-327.

13. **Carnat A.P., Carnat A., Fraisse D., Lamaison J.L.** The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1998, **72** : 301-305.
14. **Chevallier A.** *The Encyclopedia of Medicinal Plants*, D.K. éd., New York, 1996.
15. **Chlabicz J., Galasinski W.** The components of *Melissa officinalis* L. that influence protein biosynthesis in-vitro. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1986, **38** : 791-794.
16. **Chlabicz J., Paskiewicz-Gadek A., Grochowska K., Galasinski W.** Substance of plant origin with anticipated cyto- and oncostatic activity inhibit protein biosynthesis. *Herba Hungaria*, 1991, **30** : 61-71.
17. **Chlabicz J., Rozanski A., Galasinski W.** Studies on substances of plant origin with anticipated cyto- and oncostatic activity. Part 1 : The influence of water extracts from *Melissa officinalis* L. on the protein biosynthesis in vitro. *Pharmazie*, 1984, **39** (11) : 770.
18. **Coste H.**, *Flora descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes*, Librairie scientifique et technique Albert Blanchard, Paris, 1985.
19. **Couplan F.**, *Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques*, Delachaux et Niestlé, Paris, 1994.
20. **Craker L.E., Simon J.E.** *Herbs, Spices and Medicinal Plants*, Food Products Press, New York, 1986.
21. **Dawson, Franich, Meder.** Essential oil of *M.officinalis* subsp. *altissima*. *Flavour and Fragrance Journal*, 1988, **3** : 167-170
22. **De Vincenzi M., Maialetti F., Dessi M.R.** Monographs on botanical flavouring substances used in foods. Part IV. *Fitoterapia*, 1995, **66**(3) : 203-210.
23. **Dikshit A., Husain A.** Antifungal action of some essential oils against animal pathogens. *Fitoterapia*, 1984, **55**(3) : 171-176.
24. **Dimitrova Z., Dimov B., Manolova N., Pancheva S., Ilieva D., Shishkov S.** Antiherpes effect of *Melissa officinalis* L. extracts. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 1993, **29** : 65-72.
25. **Dorvault F.**, *L'officine*, 23<sup>ème</sup> édition, Vigot, Paris, 1995.
26. *Encyclopédie du Monde Végétal*, Tome I, Quillet, Paris, 1964, p.534.
27. **Englberger W., Hadding U., Etschenberg E., Graf E., Leyck S., Winkelmann J. et al.** Rosmarinic acid : a new inhibitor of complement C3-convertase with anti-inflammatory activity. *Int. J. Immunopharmac.*, 1988, **10**(6) : 729-737.

28. Enjalbert F., Bessiere J.M., Pellecuer J., Privat G., Doucet G. Analyse des essences de Mélisse.  
*Fitoterapia*, 1983, **54** : 59-65.
29. Evans W.E. *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 13<sup>ème</sup> éd., Baillière Tindall, London, 1989.
30. Galasinski W., Chlabicz J., Paszkiewicz-Gadek A., Marcinkiewicz C., Gindzienski A. The substances of plant origin that inhibit protein biosynthesis.  
*Acta Poloniae Pharmaceutica*, 1996, **53(5)** : 311-318.
31. Galasinski W., Marcinkiewicz C., Gajko A., Sredzinska K., Telejko E. *Acta Biochim. Polon.* 1993, **40** : 433.
32. Garnier G., Bézanger-Beauquesne L., Debraux G. *Ressources médicinales de la flore française*, tome II, Vigot Frères Editeurs, Paris, 1961.
33. Gbolade A.A., Lockwood G.B. Growth and production of volatile substances by *Melissa officinalis* and *Petroselinum crispum* cultures.  
*Fitoterapia*, 1991, **62(3)** : 237-242.
34. Girre L., *Nouveau Guide des Vieux Remèdes Naturels*, Ouest France, Rennes, 1985.
35. Gracza, Ruff. Rosmarinic acid in drugs of pharmacopeus and its determination by HPLC.  
*Arch. Pharm.*, 1984, **317** :339-345.
36. Guignard J.-L., *Abrégé de botanique*, Masson, Paris, 1996.
37. Hänsel, Keller, Rimpler, Schneider. *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, vol.5, Drogen Springer Verlag, Berlin.
38. Heitz A., Carnat A., Fraisse D., Carnat A.-P., Lamaison J.-L. Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*.  
*Fitoterapia*, 2000, **71** : 201-202.
39. Hener U., Faulhaber S., Kreis P., Mosandl A. On the authenticity evaluation of balm oil (*Melissa officinalis* L. ).  
*Pharmazie*, 1995, **50(H1)**.
40. Hegnauer R., *Chemotaxonomie der pflanzen*, Birkhäuser Verlag Basel, Stuttgart, 1966.
41. Herrmann E.C., Kucera L.S. Antiviral substances in plants of the mint family (Labiatae). II. Non-tannin polyphenol of *Melissa officinalis* L. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1967, **124(3)** : 869-74.
- 41'. Hohmann J., Zupko I., Redei D., Csanyi M., Mathé I., Janicsak G. Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxydation.  
*Planta medica*, 1999, **65** : 576-578.

42. Hose S., Zänglein A., Van den Berg T., Schultze W., Kubeczka K.-H., Czygan F.-C. Ontogenetic variation of the essential leaf oil of *Melissa officinalis* L.. *Pharmazie*, 1997, **52**(3) : 247-253.
43. Koch-Heitzmann I., Schultze W., *Melissa officinalis* L. : an old medicinal plant with new therapeutic effects. *Deutsh Apotheker Zeitung*, 1984, **124** : 2137-2145.
44. König W.A., Krebber R., Mischnick P. J. *High Resolut. Chromatogr.*, 1989, **12** : 732.
45. Kreis P., Mosandl A. Chiral compounds of essential oils. Part XVI. Enantioselective multidimensional gas chromatography in authenticity control of balm oil (*Melissa officinalis* L.). *Flavour and Fragrance J.*, 1994, **9** : 249-256.
46. Krüger A., Gehrke B., Hardt I., König W.A. *24<sup>th</sup> International Symposium on Essential Oils*, Berlin, 1993.
47. Lamaison J.L., Petitjean-Freytet C., Carnat A. Lamiacées médicinales à propriétés antioxydantes, sources potentielles d'acide rosmarinique. *Pharm. Acta Helv.*, 1991, **66**(7) : 185-188.
48. Larrondo J.V., Agut M., Calvo- Torras M.A. Antimicrobial activity of essences from labiates. *Microbios*, 1995, **82** : 171-172.
49. Merle C., *Mélisse : Melissa officinalis L.*, Thèse de Doctorat de Pharmacie, Clermont-Ferrand, 1990.
- 49'. Mikus J., Harkenthal M., Steverding D., Reichling J. *In vitro* effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpènes on *Leishmania major* and *Trypanosoma Brucei*. *Planta medica*, 2000, **66** : 366-368.
50. Morelli I. Costituenti e usi della *Melissa officinalis*. *Boll. Chim. Farm.*, 1977, **116** : 334-339.
51. Mulkens A., Kapetanidis I. Flavonoïdes des feuilles de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Pharm. Acta Helv.*, 1987, **62**(1) : 19-22.
52. Mulkens A., Kapetanidis I. Etude de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Pharma. Acta Helv.*, 1988, **63** : 266-270.
53. Mulkens A., Kapetanidis I. Eugenylglucoside, a new natural phenylpropanoid heteroside from *Melissa officinalis*. *J. of Natural Products*, 1988, **51**(3) : 496-498.
54. Mulkens A., Stephanou E., Kapetanidis I. Hétérosides à génines volatiles dans les feuilles de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Pharma. Acta helv.*, 1985, **60**(9-10) : 276-278.

55. Orth M., Van der Berg T., Czygan F.C. Aldehyde-dependent caryophyllene oxide formation in essential oil during storage.  
*Planta Medica*, 1993, **59**, supplement issue, A 633.
56. Peake P.W., Pussel B.A., Martyn P., Timmermans V., Charlesworth J.A. The inhibitory effect of rosmarinic acid on complement involves the C5 convertase.  
*Int. J. Immunopharmac.*, 1991, **13**(7) : 853-857.
57. Perrot E., *Matières Premières Usuelles du Règne Végétal, T.II*, Masson et Cie, Paris, 1943.
58. Pharmacopée Française, X<sup>ème</sup> édition, monographie de la Mélisse, Maisonneuve, Ste Ruffine, 1996.
59. Rampart M., Beetens J.R., Bult H., Herman A.G., Parnham M.J., Winkleman J. Complement-dependent stimulation of prostacyclin biosynthesis : inhibition by rosmarinic acid. *Biochem. Pharmac.*, 1986, **35** : 1397-1400.
60. Ramos Ruiz A., De la Torre R.A., Alonso N., Villaescusa A., Betancourt J., Vizoso A. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*.  
*J. of Ethnopharmacology*, 1996, **52** : 123-127.
61. Rombi M., *100 plantes médicinales*, Ed. Romart, Nice, 1991.
62. Sarer E., Kökdil G. Constituents of the essential oil from *Melissa officinalis*.  
*Planta medica*, 1991, **57** : 89-90.
63. Schultze W., Klosa R., Zänglein A., Kubeczka K.-H. Investigations on the essential leaf oil of Balm.  
*Planta medica*, 1989, **55** : 219-220.
64. Schultze W., Koch-Heitzmann I., Hose S., Abou-Mandour A., Zänglein A., Czygan F.-C. et al. Volatiles from callus cultures of *Melissa officinalis*.  
*Planta Medica*, 1990, **56** : 628.
65. Schultze A., König W.A., Ritcher R. Differentiation of original lemon balm oil (*Melissa officinalis*) from several lemon-like smelling oils by chiro-specific GC analysis of citronellal and isotope ratio mass spectrometry.  
*Planta medica*, 1993, **59**, suppl. issue : A635.
66. Shalaby A.S., El-Gengaihi S., Khattab M. Oil of *Melissa officinalis* L., as affected by storage and herb drying.  
*J. Essent. Oil Research*, 1995, **7** : 667-669.
67. Soulimani R., *Recherche et évaluation de l'activité biologique des substances végétales vis à vis du S.N.C., in vivo, chez la souris et vis à vis des récepteurs cholinergiques*,

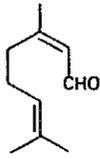
*histaminergiques et opioïdes, in vitro, au niveau du duodenum de rat et de l'iléon de cobaye.* Thèse de Doctorat de Pharmacie, Metz, 1992.

68. **Soulimani R., Fleurentin J., Mortier F., Misslin R., Derrieu G., Pelt J.-M.** Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* in the mouse. *Planta medica*, 1991, **57** : 105-109.
69. **Soulimani R., Younos C., Fleurentin J., Mortier F., Balansard G., Misslin R.** Recherche du support chimique responsable de l'activité neurotrophe de *Melissa officinalis* par une technique chromatographique de fractionnement et d'évaluation sur le comportement de la souris. *Rev. Mar. Pharm.*, 1993, **9(2)** : 79-89.
70. **Sourgens H., Winterhoff H., Gumbinger H.G., Kemper F.H.** Antihormonal effects of plant extracts. TSH- and prolactin-suppressing properties of *Lithospermum officinale* and other plants. *Planta medica*, 1982, **45** : 78-86.
71. **Stahn T., Bomme U.** *Herba germanica*, 1994, **2** : 78-91.
72. **Tabak M., Armon R., Potasman I., Neeman I.** In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J. of Applied Bacteriology*, 1996, **80** : 667-672.
73. **Tekel J., Vaverkova S., Kovacicova J., Holla M., Havranek E.** A screening method for the determination of the residues of uracil herbicides in *Melissa officinalis* L. *Pharmazie* , 1994, **49(H12)** : 899-901.
74. **Thieme K., Kitze C.** Occurrence of the flavonoïds in *Melissa officinalis* L. *Pharmazie*, 1973, **28(1)** : 69-70.
75. **Tittel G., Wagner H., Bos R.** Chemical composition of the essential oil from *Melissa*. *Planta medica*, 1982, **46** : 91-98.
76. **Tyler V.E.**, *Herbs of choice*, Pharmaceutical Products Press, New York, 1994.
77. **Van den Berg T. , Freundl E. , Czygan F.-C.** *Melissa officinalis* subsp. *altissima* : characteristics of a possible adulteration of lemon balm. *Pharmazie*, 1997, **52(10)** : 802-808.
78. **Van Hellemont J.**, *Compendium de Phytothérapie*, A.P.B. Service scientifique, Bruxelles, 1986.
79. **Van Sumere C.F., Lea P.J.**, *The Phytochemical Society of Europe*, 1985, **25**.
80. **Vaverkova S., Tekel J. Holla M.** The effect of herbicides on the qualitative properties of medicinal plants. Part 3 : Content and composition of the essential oil from *Melissa officinalis* L. after application of Basagran. *Pharmazie*, 1955, **50(H12)** : 835-836.

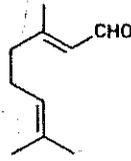
81. **Voisin H.**, *Matière Médicale du Praticien Homéopathe*, Maloine S.A., Paris, 1980.
82. **Wagner H., Blatt S.**, *Plant Drug Analysis : A thin layer chromatography atlas*, 2<sup>ème</sup> éd., Springer, Berlin, 1996.
83. **Wagner H., Jurcic K., Deininger R.** *Planta medica*, 1979, 37 : 9.
84. **Wagner H., Sprinkmayer L.** *Deutsche Apotheker Zeitung*, 1973, 113 : 1159.
85. **Wichtl M., Bisset N.G.**, *Herbal drugs and phytopharmaceuticals*, Medpharm, Stuttgart, 1994.
86. **Wölbling, Leonhard.** Local therapy of herpes simplex virus with dried extract from *Melissa officinalis*.  
*Phytomedicine*, 1994, 1 : 25-31.
- 86'. **Yamasaki K., Nakano M., Kawahata T., Mori H., Otake T., Ueba N., Oishi L., Inami R., Yamane M., Nakamura M., Murata H., Nakanishi T.** Anti-HIV-1 activity of herbs in *Labiatae*.  
*Biol.Pharm.Bull.*, 1998, 21 (8) : 829-833.
87. **Zivanovic L.J., Jovanovic M., Mutavdzic M., Djuric Z., Agatonovic S.** Densitometric determination of monoterpenoids in *Melissa* extracts.  
*Fitoterapia*, 1990, 61(1) : 82-83.

# **ANNEXES**

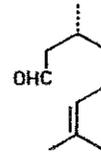
## Monoterpènes



Néral

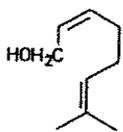


Géraniol

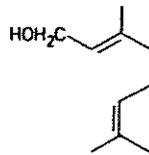


Citronellal

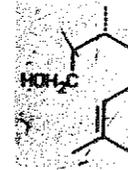
Citral



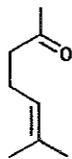
Nérol



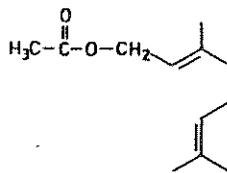
Géraniol



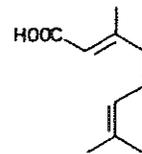
Citronellole



6-methyl-5-heptèn-2-one



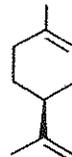
Acétate de géranyle



Acide gérannique



Linalool



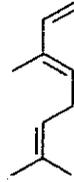
Limonène



Myrcène

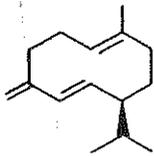


Ocimène, cis

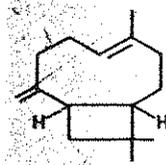


Ocimène, trans

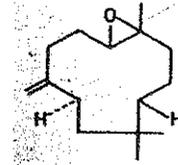
### *Sesquiterpènes*



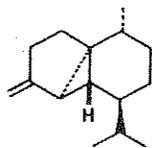
Germacrène D



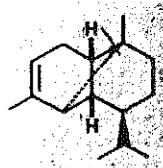
β-caryophyllène



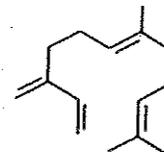
oxyde de β-caryophyllène



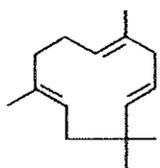
β-Cubébène



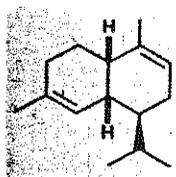
α-Copaène



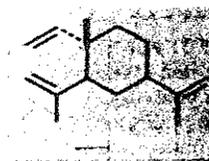
E-β-Farnésène



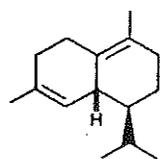
$\alpha$ -Humulène



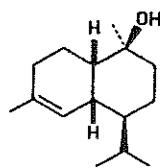
$\alpha$ -Muuroolène



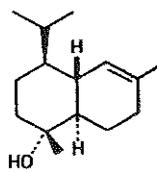
$\beta$ -Elémène



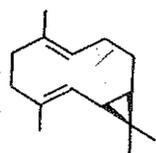
$\delta$ -Cadinène



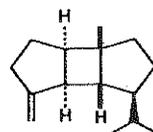
T-Muurolol



$\alpha$ -Cadinol

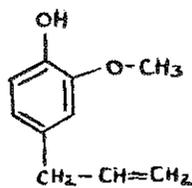


Bicyclgermacrène



$\beta$ -Bourbonène

*Autres*



Eugénol

# **TABLE DES MATIERES**

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b> .....	6
---------------------------	---

## **PREMIERE PARTIE : ETUDE BOTANIQUE**

1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET HABITAT.....	9
2. PLACE DANS LA SYSTEMATIQUE.....	9
3. DESCRIPTION DE LA PLANTE.....	10
4. CARACTERISATION	
4.1. Caractères organoleptiques et macroscopique.....	14
4.2. Caractères microscopiques.....	14
5. FALSIFICATION	
5.1. Autres <i>Melissa</i> .....	16
5.2. Autres espèces à odeur de citron .....	19
5.3. Autres Lamiacées .....	20

## **DEUXIEME PARTIE : COMPOSITION CHIMIQUE**

### **A. ANALYSE QUALITATIVE DES CONSTITUANTS**

<b>1. L'huile essentielle :</b> .....	24
1.1. Terpénoïdes : .....	26
• Monoterpènes.....	26
• Sesquiterpènes.....	29
1.2. Hétérosides de phénylpropanoïdes : .....	29
1.3. Hétérosides de terpènes ou assimilés : .....	30

## **2. Polyphénols:**

2.1. Flavonoïdes :.....	31
2.2. Acides Phénols :.....	32
• Acide caféique	
• Acide chlorogénique	
• Acide rosmarinique	
• Acides mélitriques	

<b><u>3. Composés divers</u></b> .....	33
--	----

## **B. VARIATION QUANTITATIVE DES CONSTITUANTS**

1. Des conditions climatiques.....	34
2. De l'âge de la plante.....	34
3. De la période de récolte.....	38
4. De la dessiccation.....	38
5. De la conservation.....	40
6. Constance du rapport néral/géranial.....	41
7. Chimiotype.....	41
8. Sélection et hybridation des plants.....	42
9. Cultures de cals.....	42

## **C. CONTROLE DE QUALITE**

1. Normes de la Pharmacopée.....	44
2. Critères chimiques de différenciation des sous-espèces de <i>M. officinalis</i> sbsp. <i>officinalis</i> .	
• <i>M. officinalis</i> sbsp. <i>inodora</i> .....	45
• <i>M. officinalis</i> sbsp. <i>altissima</i> .....	47
3. Méthodes permettant de détecter une substitution de <i>M. officinalis</i> sbsp. <i>officinalis</i> .....	47
4. Pesticides.....	50

## TROISIEME PARTIE : PROPRIETES BIOCHIMIQUES.

1. ACTIVITE SPASMOLYTIQUE.....	53
2. ACTIVITE NEUROTROPE	
2.1. Sédative .....	56
2.2. Hypnotique.....	58
2.3. Analgésique.....	59
3. ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	60
4. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIFONGIQUE.....	62
5. ACTIVITE ANTIVIRALE.....	65
6. ACTIVITE INHIBITRICE SUR LA SYNTHESE PROTEIQUE.....	66
7. ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE.....	70
8. ACTIVITE ANTITHYROÏDIENNE .....	75
9. ACTIVITE ANTIGONADOTROPE .....	76.
10. TOXICITE ET EFFETS SECONDAIRES.....	77

## QUATRIEME PARTIE : UTILISATIONS.

1. PHARMACEUTIQUES.	
1.1. infusion.....	79
1.2. alcoolat .....	79.
1.3. teintures-mère.....	79
1.4. spécialités pharmaceutiques utilisant la mélisse.....	79
1.5. homéopathie.....	79
1.6. utilisation topique. ....	80
2. CULINAIRES.....	80
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>81</b>





# Serment des Apothicaire

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

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

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

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



