

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Blida -1-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie des Populations et des Organismes**



**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie**

**Option : Phytothérapie et Santé**

## **Thème**

**Etude de quelques effets thérapeutiques de l'Huile  
Essentielle de « *Melissa officinalis* L.»**

**Présenté par**

M<sup>elle</sup> HAIANI Cherifa

**Soutenu le 26/10/2015**

**Devant le jury**

M <sup>me</sup> BENASSEL N.	MAA	UB -1-	Présidente
M <sup>me</sup> BRADEA M.S.	MCA	UB -1-	Examinatrice
M <sup>me</sup> CHERIF H.S.	MCB	UB -1-	Promotrice
M <sup>me</sup> FEKNOUS S.	Doctorante	UB -1-	Co-promotrice

Année universitaire

2014-2015

## **Remerciements**

*Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant qui m'a guidée tout le long de ma vie, de m'avoir donnée la force, le courage et la patience pour traverser tous les moments difficiles et qui m'a permise d'achever ce travail.*

*J'exprime mes respectueuses et profondes reconnaissances à*

*M<sup>me</sup> CHERIF H.S. ma promotrice pour ses conseils précieux, son aide et ses encouragements durant toute la période de mon travail.*

*Mes sincères remerciements s'adressent à ma Co-promotrice M<sup>me</sup> FEKNOUS qui n'a pas cessé de me diriger et de me transmettre tout son savoir jusqu'à la fin de ce travail.*

*Mes vives remerciements à M<sup>me</sup> ZATRA d'avoir accepté de présider le jury.*

*Il m'est agréable d'exprimer mes sincères remerciements à M<sup>me</sup> BENASSEL de m'avoir fait l'honneur d'accepté d'examiner ce travail et participer au jury.*

*Mes remerciements s'adressent également à tous les enseignants, qui nous ont donné les bases de la science.*

*Mes profonds remerciements vont également à Mr DJAZOULI, ainsi qu'à son équipe pour m'avoir autorisée à accéder à leur laboratoire ainsi que pour leur gentillesse, tout au long de mon stage.*

*J'exprime mes vives gratitude à tout le groupe de Saida, Media, en particulier le directeur de l'unité Mr MAHI EDDINE A. ainsi le groupe du laboratoire Physico-chimique Mr BOUKHATEM et Mr Fouad de Pharmacotoxicologie M<sup>lle</sup> NEGHABI pour l'aide qu'ils m'ont apporté pendant la période de stage pratique.*

*Mes remerciements vont aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire technique de la police scientifique d'Alger, en particulier Mr. BOUTALEB. M.*

*Ma sympathie et ma reconnaissance sont aussi exprimées à Mr BOUKHATEM de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Blida -1-pour son aide précieuse.*

*Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. On ne saurait remercier ici les personnes dont leur collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail, l'on site spécialement a mon père, Mr BENAMGHAR M. , Mr BEN AMGHAR B. , et mon frère ISHAK pour leur aide, leur disponibilité, leur soutient sans faille et leur sympathie*

*Je remercie toute personne qui m'a aidée de loin ou de près.*



## *Dédicaces*

*J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail, symbole d'un amour éternel en témoignage de mon grand et mon profond attachement à:*

*Mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, pour me soutenir et éclairer le chemin de ma vie, pour leur amour et qui je pris dieu le tout puissant de me les garder.*

*Mon père ABDELKRIM, Ma mère YASMINA*

*Mon grand-père RABAH que j'aime énormément DIEU me le protège.  
D'une façon impressionnante, je me penche devant la mémoire de ma très chère grand-mère PAULETTE. Que Dieu ait son âmes dans sa sainte miséricorde.*

*Ma sœur SOUNDOUS et mon frère SOHAIB.*

*Ma petite ange IMENE.*

*Mes tantes FATMA ZOHRRA, NADIA et WAHIBA.*

*Mon oncle DAHMANE et sa femme FARIDA*

*Mes oncles MALIK, SALAH, BOUDJEMA, MOHAMMED, RABAH.*

*Tous mes cousins et mes cousines, chaque 'un par son nom, du plus petit au plus grand de la famille HAIANI et BENAMGHAR.*

*Tous mes amies de promotion 2014-2015.*

*Cherifa*

## Résumé

L'objectif de notre travail consiste à évaluer les activités anti oxydante, anti-inflammatoire et antispasmodique de l'huile essentielle (HE) de *Melissa officinalis*.

L'étude des coupes histologiques au niveau de la feuille, tige et pétiole ont permis d'identifier les sites de stockage de l'huile essentielle qui sont les poils sécréteurs à tête vésiculaire.

L'extraction de l'huile essentielle de cette plante a été effectuée par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau a donné un rendement de 0.20%. Ensuite une étude des caractères physico- chimiques pour la détermination des indices de réfraction (1.448) , la densité (0.891), l'indice d'acide (3.41) , l'indice de saponification (32.48), l'indice d'ester (29.43), et la teneur en eau (7.23%).

La Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CGMS) a révélé quatre constituants majoritaires sont : Trans (Beta) caryophyllene, l'oxyde de caryophyllene, Caryophylla 3,8 (13) dien 5 Beta-ol, DI-N octyl phtalat.

L'activité anti oxydante testée par la méthode de DPPH a montré que l'Huile essentielle de la mélisse a un faible pourcentage d'inhibition soit de 0.043 %.

L'activité anti-inflammatoire réalisée par la méthode de induction de l'œdème par la carraghénine, a permis de déduire que l'Huile essentielle de *Melissa officinalis* présente un effet anti-inflammatoire important à la dose de 0.1g/ml, cependant, la dose de 0.01g/ml présente un effet anti-inflammatoire très faible. L'étude de l'activité antispasmodique, effectuée par la méthode de l'acide acétique, a mis en exergue une importante diminution des contractions chez les souris, pour les 2 doses (0.1g/ml et 0.01 g/ml).

**Mots clé :** *Melissa officinalis*, Huile essentielle, activité anti oxydante, activité anti inflammatoire, activité anti spasmodique.

## Abstract

The objective of our work is to evaluate the antioxidant activity, anti-inflammatory and antispasmodic essential oil lemon balm (*Melissa officinalis*).

The study histological sections at the leaf, stem and petiole have identified the essential oil storage sites that are in gallbladder glandular head.

The essential oil extraction of these plants was carried out by the method of steam distillation of water gave a 0.20% yield .and then a study of physico-chemical characteristics for determining indices of refraction (1.448), specific gravity (0.891), the acid value (3.41), saponification value (32.48), the ester (29.43), and the water content (7.23%) .

Gaseous Phase chromatography coupled with mass spectrometry (CGMS) revealed four major constituents are: Trans (Beta) caryophyllene, caryophyllene oxide, Caryophylla 3.8 (13) 5 Beta dien-ol, di-octyl N phtalat.

The antioxidant activity tested by the method of DPPH showed that the essential oil of lemon balm has a low percentage of inhibition is 0.043%.

The anti-inflammatory activity produced by the induction of edema by the method carraghénine, allowed to deduce that *Melissa officinalis* essential oil has a significant anti-inflammatory effect at the dose of 0.1g / ml, however the dose of 0.01g / ml has a very low anti-inflammatory effect. The study of antispasmodic activity performed by the method of acetic acid highlighted a significant decrease in contractions in mice for 2 doses (0.1g/ml and 0.01g/ml).

**Keywords:** lemon balm, essential oil, antioxidant, anti-inflammatory, anti-spasmodic effect.

## المخلص

الهدف من عملنا هو تقييم الانشطة المضادة للأكسدة, الالتهابات, و المضادة للتشنج للزيت الطيارة المستخلص من نبتة الترناجان (*Melissa officinalis*).

تمت دراسة البنية الخلوية لمقاطع خلوية لكل من الورقة, الساق والسويقة بهدف تحديد اماكن تخزين الزيت الاساسي التي توجد على مستوى الشعيرات الافرازية.

تم استخراج الزيت الطيارة من النبتة بطريقة التقطير ببخار الماء. ومن ثم قمنا بمختلف التحاليل الفيزيوكيميائية الكثافة (0.891), معامل الانكسار (1.448), مؤشر التصبن (32.48), مؤشر الحموضة (3.41), مؤشر الاسترة (29.43).

اما استخدام تقنية الكروماتوغرافية الغازية المقرونة بطيف الكتلة (CGMS) مكننا من التعرف على التركيب النوعي للزيت العطري.

اظهرت دراسة فعالية مضادة الاكسدة باستخدام طريقة ال DPPH ان للزيت الطيارة قدرة ضعيفة على كبس الجذور الحرة مقارنة مع حمض الاسكوريك ونسبة تثبيط الجذور 0.043 %

النشاط المضاد للالتهاب التي اجريت بطريقة الكراجين اظهر ان جرعة 0.1 غ/مل لها نشاط جيد اما بالنسبة لجرعة 0.01 غ / مل فالنشاط المضادة للالتهابات ضعيف. اما فيما يخص النشاط المضاد للتشنج الذي انجز بواسطة طريقة حمض الخل نتج عنه انخفاض كبير في عدد التشنجات بالنسبة للجرعتين المستخدمتين (0.1 غ/مل و 0.01 غ/مل).

**الكلمات الاساسية :** ترناجان, الزيت الطيارة, النشاط المضاد للأكسدة , النشاط المضاد للالتهاب, النشاط المضاد للتشنج

## Liste des tableaux

Tableau I: Composition chimique de <i>Mélissa officinalis</i> .....	P 14
Tableau II: Constituants actifs de l'Huile Essentiel de <i>Mélissa officinalis</i> L.....	P 14
Tableau III: Conditions opératoire de la CG/MS.....	P 30
Tableau IV: Rendement de l'Huile Essentielle .....	P 43
Tableau V: Caractères organoleptique de l'Huile essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 44
Tableau VI: Résultats des analyses physiques.....	P 44
Tableau VII: Résultats des analyses chimiques.....	P 45
Tableau VIII: Les composés présents dans l'huile essentielle de la mélisse .....	P 48
Tableau XI: Cinétique de réduction de l'inflammation dans les PPG des souris.....	P 54
Tableau X: Activité antispasmodique de l'huile essentielle du <i>Melissa officinalis</i> .....	P 56

## Listes des figures

Figure N°1: Aspect général de <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 09
Figure N°2: Feuille de <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 10
Figure N°3: Vue de <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 11
Figure N°4: Fleur de <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 12
Figure N°5: Séchage de <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 17
Figure N°6: Les souris utilisées.....	P 18
Figure N°7: Dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	P 25
Figure N°8: Gavage des souris. ....	P 34
Figure N°9: Injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de patte arrière gauche de la souris. ....	P 34
Figure N°10 : Gavage des souris.....	P 35
Figure N°11: Injection de l'acide acétique. ....	P 36
Figure N° 12 : Coupe histologique de la tige de <i>Melissa officinalis</i> (Gx 4).....	P 38
Figure N° 13: Coupe histologique de la tige de <i>Melissa officinalis</i> (Gx 10).....	P 38
Figure N° 14 : Coupe transversale au niveau de la tige (Gx 10).....	P 39
Figure N°15: Coupe histologique de la tige de <i>Melissa officinalis</i> (Gx 40).....	P 39
Figure N°16: Coupe transversale au niveau de la tige (Gx 40). ....	P 40
Figure N°17: Observation microscopique des poils au niveau de la tige (Gx 10).....	P 40
Figure N°18: Poils épidermiques de la mélisse (Gx 10).....	P 41
Figure N° 19: Coupe transversale dans le pétiole de <i>Melissa officinalis</i> sous la loupe binoculaire (Gx4.5).....	P 42
Figure N°20: Coupe transversale au niveau du pétiole (Gx 40).....	P 42
Figure N°21: Chromatogramme de la fraction volatile de <i>Melissa officinalis</i> L. extraite par entraînement à la vapeur et analysée par CG-MS.....	P 47
Figure N°21: Spectre de masse de Trans (Beta) caryophyllene.....	P 49
Figure N°22: Spectre de masse de l'oxyde de caryophyllene.....	P 49
Figure N°23: Spectre de masse de Caryophylla 3,8 (13) dien 5Beta-ol.....	P 50
Figure N°24: Spectre de masse de DI-N octyl phthalat.....	P 50
Figure N°26: Résultats du test antioxydant par DPPH de l'Huile Essentielle.....	P 52
Figure N°27: Résultats du test antioxydant par DPPH de l'Acide Ascorbique.....	P 52
Figure N°28: La valeur d'EC 50 de l'Huile Essentielle est l'acide ascorbique.....	P 53
Figure N°29: Variation du poids des pattes postérieures droites et gauches.....	P 54
Figure N°30: Nombre de spasme de l'Huile Essentielle de <i>Melissa officinalis</i> en comparaison avec le médicament de référence.....	P 56
Figure N°31: Pourcentage de protection de l'Huile Essentielle de <i>Melissa officinalis</i> en comparaison avec le médicament de référence.....	P 57

## Liste des abbreviation

AFNOR	Association Française de Normalisation
CG-MS	Chromatographie Gazeuse-Spectrométrie de Masse
EC50	Efficient concentration 50
HE	Huile Essentielle
I <sub>A</sub>	Indice d'Acide
I <sub>E</sub>	Indice d'Ester
I <sub>R</sub>	Indice de Réfraction
I <sub>S</sub>	Indice de Saponification
PPD	Patte Postérieure Droite
PPG	Patte Postérieure Gauche
T-	Témoin négatif
T+	Témoin positif

# Table des Matière

<b>INTRODUCTION</b>	P 1
<b>I.1. Synthèse bibliographique</b>	
I.1. Généralités	
I.1.1.Phytothérapie.....	P 2
I.1.2.Plantes médicinales.....	P 2
I.1.3.Récolte des plantes médicinales.....	P 2
I.1.4.Séchage et conservation des plantes médicinales .....	P 3
I.1.5.Forme d'utilisation des plantes médicinales.....	P 3
I.1.6. Huiles essentielles et l'aromathérapie .....	P 3
I.1.6.1.Aromathérapie.....	P 4
I.1.6.2.Huile essentielle .....	P 4
I.1.6.3.Synthèse et localisation de l'huile essentielle .....	P 5
I.1.6.4.Répartition de l'huile essentielle .....	P 5
I.1.6.5.Propriétés physico-chimique de l'Huile essentielle.....	P 6
I.1.6.6.Rôle des huiles essentielles .....	P 6
<b>I.2 Etude botanique de <i>Melissa officinalis</i></b>	
I.2.1.Caractéristiques de la famille des lamiacées .....	P 7
I.2.2. Historique .....	P 7
I.2.3.Répartition géographique .....	P 7
I.2.4. Systématique de l'espèce <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 8
I.2.5.Origine du nom.....	P 8
I.2.6.Dénominations vernaculaires .....	P 8
I.2.7. Description botanique de la plante .....	P 9
I.2.8.Vertus de <i>Melissa officinalis</i> L.....	P 15
<b>II. Matériel et Méthode</b>	
II.1. Matériel biologique .....	P 16
II.1.1. Matériel végétal.....	P 16
II.1.2 Matériels animal .....	P 17
II.2.Matériel non biologique .....	P 18
II.3. Technique d'étude histologique .....	P 18
II.3.1.Coupes histologiques par microtome .....	P 19
II.3.2.Coupes histologique à main levée .....	P 22
II.4 Extraction par Entrainement à la vapeur .....	P 23
II.5. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 26
II.5.1.Indices physiques .....	P 26
II.5.2.Indices chimiques.....	P 27
II.6.Analyse de la composition chimique de l'Huiles Essentielles par CG- MS .....	P 29
II.7.Etude de l'effet antioxydant de l'Huile essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 30
II.8. Etude des activités biologiques de l'Huile essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 33
II.8.1.Etude de l'Activité anti inflammatoire de l'Huile Essentielle de <i>Melissa officinalis</i> ....	P 33
II.8.2.Etude de l'activité antispasmodique de l'Huile Essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 35

### **III. Résultats et Discussions**

III.1. Etude histologique de la plante .....	P 38
III.2 Extraction et rendement en huile essentielle .....	P 43
➤ Caractères organoleptiques .....	P 44
III.3 Indice physicochimique de l'Huile Essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 44
III.3.1. Indices physiques .....	P 44
III.3.2. Indices chimiques .....	P 45
III.4. Analyse de l'Huile essentielle de <i>Melissa officinalis</i> par la CGMS .....	P 46
III.5. Activité antioxydant .....	P 51
III.6. Activité biologique .....	P 54
III.6.1 Activité anti inflammatoire de l'Huile Essentielle de <i>Melissa officinalis</i> .....	P 54
III.6.2. Activité antispasmodique .....	P 56
<b>Conclusion</b> .....	P 59
Référence bibliographique .....	P 61
Annexe	



# **Introduction**

La phytothérapie repose sur l'utilisation de produits naturels que le corps est capable de reconnaître et de biodégrader. L'efficacité de certains médicaments tels que les antibiotiques (prescrits généralement comme solution inévitable aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistance de plus en plus. (Iserin, 2001).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne (Salhi et al., 2010).

De par sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée (Makhloufi., 2009).

Vu la richesse du monde végétal et afin de contribuer à une meilleure connaissance de notre patrimoine naturel en plantes aromatiques et médicinales, notre choix s'est porté sur une espèce de la famille des *lamiaceae* *Melissa officinalis* L.

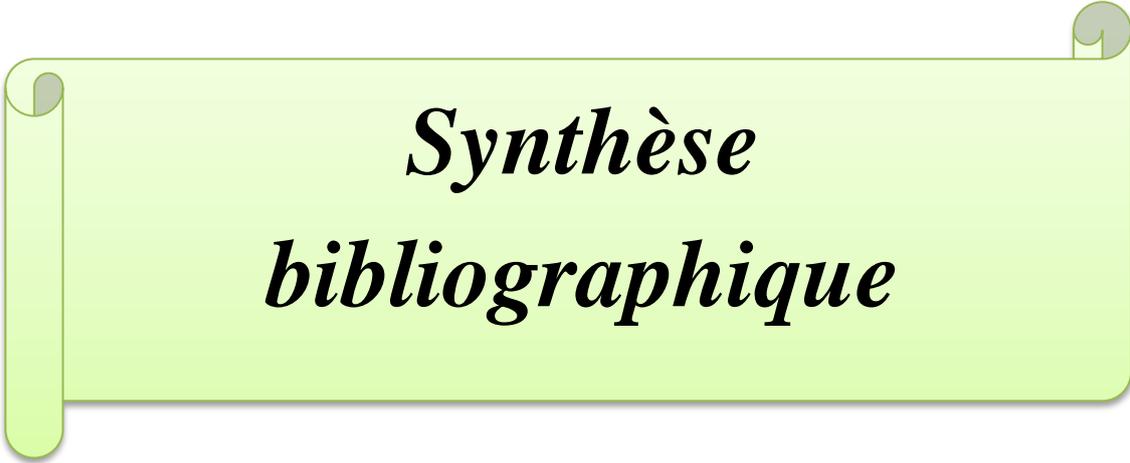
L'espèce *Melissa officinalis* est commune dans toute l'Algérie où elle pousse dans les lieux incultes chauds, en marge des forêts, ainsi qu'aux alentours des maisons (Delille, 2013).

La mélisse, est une plante médicinale du genre *Melissa*, possède particulièrement plusieurs propriétés thérapeutiques très intéressantes a des propriétés stomacalique, antispasmodique, cholérétique et calmante (migraine, nervosité) (Sijelmassi, 2008).

Toutes fois notre travail fait pour but de compléter les travaux qui été déjà faite par d'autre chercheurs (Feknous et al., 2012, Abdellatif et al ., 2014) sur l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L.

Dans cette optique, dans ce présent travail, nous avons assignés, les objectifs suivants :

- Extraction et analyse physico-chimique de L'Huile Essentielle, analyse de la composition chimique de l'Huile Essentielle par CG- MS.
- Etude de l'activité anti oxydante.
- Etude biologique des activités anti inflammatoire, et anti spasmodique de l'H E.



*Synthèse  
bibliographique*

## I. Généralités sur les plantes médicinales

### I.1.1. Phytothérapie

Etymologiquement, la phytothérapie est la thérapie par les plantes ; du grec «phyton » : qui signifie (plante) et «thérapie » qui signifie: (soin) (Mathieu et Fonteneau, 2008) elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes (Gazengel et *al.*, 2013).

### I.1.2. Plantes médicinales

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (Schauenberg et Paris, 1977).

Cependant, de nombreuses plantes sont toxiques et ne doivent être utilisées que sous forme de principes actifs comme précurseurs pour l'obtention de médicaments (Magnami, 1979).

### I.1.3. Récolte des plantes médicinales

On récolte les plantes au moment où la teneur en principe actif est à son point optimal. On choisit un jour ensoleillé pour faciliter le séchage , car celui-ci doit se faire à une température de 40 à 60°C. Les plantes à huiles essentielles sont cueillies tôt le matin et séchées à l'ombre sous une température ne dépassant pas 50°C (Schawenberg et Paris, 1977).

Selon Delille (2013), plusieurs règles doivent être respectées :

- Racine, Rhizome : on récolte au printemps les racines des plantes vivaces, et en automne celles des plantes annuelles et biennuelles.
- Feuille : on les cueille quand elles sont jeunes, mais totalement développées, au plus tard, juste avant que les fleurs ne s'épanouissent.
- Fleurs : on les cueille juste avant leur complet épanouissement et avant la fécondation.
- Fruit : ils doivent être cueillis bien murs, pou être consommés immédiatement mais toutefois les cueillir un peu avant leur maturité lorsque l'on veut les faire sécher.

---

## Généralités sur les plantes médicinales

---

- L'écorce : elle se fait lorsque acquiert une certaine épaisseur et se sépare facilement du corps ; l'écorce des arbres se récolte en hiver, celle des arbrisseaux en automne, et celle des résineux au printemps.

-Graine : elles doivent être arrivées à maturité, lorsque la couleur indique leur maturité, couper les sommités en conservant une partie de la tige et les placer la tête en bas dans un sac en papier.

### I.1.4. Séchage et conservation des plantes médicinales

La récolte et le séchage des plantes médicinales demandent beaucoup de soins, afin qu'elles gardent leurs qualités thérapeutiques. Le séchage se fait à l'abri de la poussière et de l'humidité, dans un endroit ombré et bien aéré, car les rayons solaires causent une altération des matières actives (Thurzova, 1981).

Une fois le séchage terminé les plantes sont coupées grossièrement et disposées dans des bocaux en verre ou dans des sacs en papier à l'abri de l'air et de la lumière. Les boîtes en fer sont naturellement proscrites (Berton, 2007).

Une plante médicinale conserve en général durant une année toutes ses propriétés, ensuite, celle-ci se dégradent (Carlier, 2005), Au-delà de cette période leur pouvoir diminue sensiblement et les vertus thérapeutiques disparaissent (Berton, 2007).

### I.1.5. Forme d'utilisation des plantes médicinales

On peut utiliser les plantes soit en les prenant par voie interne ou par voie externe (Messésué, 1975). Cependant les plantes se présentent sous plusieurs formes ; en général c'est la tisane qui est la plus efficace. (Goyet, 2013).

Les préparations les plus courantes sont :

- Teinture : c'est une extraction végétale qui permet, par une macération des plantes dans l'alcool d'en tirer les principes actifs solubles dans l'eau et dans l'alcool (Lacoste, 2012).
- Infusion : Consiste à verser les plantes dans l'eau bouillante un temps plus au moins long (Pierre et Lys, 2007).
- Décoction : Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus au moins long (Pierre et Lys, 2007).

## Généralités sur les plantes médicinales

---

- Sirop : Se prépare avec du miel ou du sucre combinés avec une préparation de plantes en infusion ou en décoction (Baba aissa, 2011).
- Crèmes : Ce sont des émulsions préparées à l'aide de substance grasses et de préparation de plantes (Baba aissa, 2011).
- Poudre : Les plantes préparées sous forme de poudre obtenue par pulvérisation dans un mortier ou dans un moulin (Delille, 2013).
- Lotion : Liquide obtenu par infusion ou décoction de la plante émolliente ou vulnérable que l'on utilise en les passant légèrement sur la partie à soigner à l'aide d'un coton hydrophile ou d'un linge fin imbibé (Delille, 2007).

### I.1.6 Huiles essentielles et l'aromathérapie

#### I.1.6.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une thérapie qui correspond à l'utilisation des Huiles essentielles pures extraites des plantes (Béregère et *al.*, 2008). Etymologiquement, ce mot vient du latin « Aroma » qui signifie arôme, et du grec « Thérapie » qui signifie traitement (Lardy et *al.*, 2007).

Une plante aromatique se différencie des autres plantes médicinales par ces principes odoriférants et parfumés appelés « l'Huile essentielle » (Willem, 2005).

L'aromathérapie est certes une branche de la phytothérapie puisqu'il s'agit de se soigner par les plantes, mais en aromathérapie on utilise seulement la partie volatile de la plante (Festy, 2007).

#### I.1.6.2. Huile essentielle

Les Huiles Essentielles (HE) sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante, issues du métabolisme secondaire (Bruneton, 1999).

Les HE sont également des produits de composition généralement assez complexe obtenue à partir de matière première végétale soit par entraînement à la vapeur, distillation, ou par un procédé mécanique appropriés (Kaloustian et *al.*, 2013).

### I.1.6.3.Synthèse et localisation de l'huile essentielle

Les Huiles Essentielles se forment dans le cytoplasme des cellules sécrétrices, où elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules du mésophile, ou des cellules épidermiques, ou dans les glandes oléifères (Paris et Harbielle, 1981). L'excrétion de ces essences dans la cavité des poches ou des canaux est réalisée par exocytose ou par lyse des cellules bordant la cavité (Guignard, 2001).

La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Bruneton, 1993), qui sont des cellules glandulaires variables suivant la famille botanique, par exemple : les cellules sécrétrices (Lauracées), les poches sécrétrices (Myrtaceae), les canaux excréteurs (Asteraceae), et les poils sécrétrices (Géraniacée) (Sallé, 1991).

Plusieurs catégories de tissus sécrétrices peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (Paris et Harbielle, 1981).

### I.1.6.4. Répartition de l'huile essentielle

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, 17500 espèces aromatiques (Bruneton, 1993).

Les HE peuvent être stockés dans toutes les parties vivantes de la plante (Bruneton, 1993).

- Les fleurs (exemple : La rose).
- Les feuilles (exemple : Le basilic).
- Les fruits (exemple : Le citron).
- Les graines (exemple : La coriandre).
- L'écorce (exemple : La cannelle).
- Les rhizomes (exemple : Le gingembre).
- Les racines (exemple : Le Vétiver).

Dans une même espèce, la composition de l'huile essentielle peut différer d'un organe à un autre (Bruneton, 1999).

### I.1.6.5. Propriétés physico-chimiques de l'Huile essentielle

La plupart des plantes renferment des essences, cependant elles sont plus particulièrement abondantes dans les végétaux aromatiques des familles suivantes : Labiées, Myrtacées, Rutacées, Térébinthacées (Bardeau, 2009).

Les principales caractéristiques d'une H.E. sont :

- leur nature huileuse, ces produits sont très peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques apolaire usuels, les huiles grasses, et dans les alcools a titre élève et l'éther (Bruneton, 1999).
- La plupart des huiles sont plus légères, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (Bruneton, 1999).

### I.1.6.6. Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles protègent la plante contre les parasites, les insectes ou les herbivores. Elles peuvent aussi favoriser la fécondation en attirant certains insectes (Milpied, 2009).

Croteau (1986) avait montré que les huiles volatiles auraient en réalité un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Elles réguleraient la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs constituants insaturés. La présence et la teneur en huiles essentielles dans les plantes seraient donc en rapport avec la photochimie.

## I.2 Etude botanique de la plante

### I.2.1. Caractéristiques de la famille des lamiacées

La famille des lamiacées ou labiées regroupe les plantes à fleurs herbacées ou arborescentes, à feuilles aux nervures généralement ramifiées et dont la graine contient une plantule souvent à deux cotylédons.

Parmi les plantes très parfumées : *Ocimum basilicum* L. (Basilic), *Lavandula officinalis* (Lavande), *Thymus vulgaris* (Thymus), *Melissa officinalis* (Mélisse) (Silvant, 2014).

### I.2.2. Historique

*M. officinalis* est une vieille plante mellifère, condimentaire et médicinale, importée par les Romains et les anciens Grecs (Andreas, B., 1998).

La mélisse sert de remède médicinal depuis plus de 2000ans, Pline, dans son ouvrage naturaliste historia a été le premier à mettre en évidence l'action thérapeutique de la plante qui était surtout employée comme remède cardiaque et gastrique (Grunwald et Janicke ,2006). Avicenne (980-1037) la recommandait parce que, disait-il elle rendait le cœur joyeux par suit il découvrit son action positive sur le tube digestif.

Ce sont les médecins arabes qui ont découvert les vertus médicinales de *Melissa officinalis* L. vers le Xe siècle, ils vantaient son pouvoir cordial « qui réjouit le cœur » ainsi que son remède contre la mélancolie (Delaveau et al ., 1977).

Durant du XIX<sup>e</sup> siècle et mis au point par les religieux du Carmel, « l'Eau de mélisse des carmes et de la chartreuse » est toujours utilisée et est employée contre les vertiges et les syncopes (Delille, 2007).

Une importante étude clinique effectuée en 1990 a montré l'efficacité de l'association Mélissa –Passiflore dans le traitement de l'anxiété (Roux, 2005).

### I.2.3. Répartition géographique

Initialement originaire de la région méditerranéenne orientale (Balkans et Asie mineur) et de l'Asie occidentale ; la plante est rarement spontanée et se rencontre dans le midi de la France, dans le sud de l'Allemagne, en Europe occidentale et particulièrement en Espagne où elle croît préférentiellement dans les buissons, les lieux frais et ombragés et les bois (Goetz et

Ghedira, 2012). La mélisse est cultivée dans les régions de la Kabylie. Néanmoins, elle est spontanée dans les montagnes du Tell, où elle est signalée comme assez rare jusqu'en 1962 (Halimi, 2004 ; Belouad, 2005).

#### I.2.4. Systématique de l'espèce *Melissa officinalis* L.

En 2009, l'APG III (Angiosperme Phyllogeny Group) proposait une nouvelle classification :

- Embranchement            *Spermaphytes*
- Sous embranchement    *Angiospermes*
- Classe                     *Dicotyledones Vraies*
- *Sous classe*             *Asteridae*
- Ordre                      *Lamiales*
- Famille                    *Lamiaceae*
- Genre                      *Melissa*
- Espèce                     *Melissa officinalis*

On distingue les sous-espèces suivantes

Sous Espèce                    *Melissa officinalis* L. ssp. *officinalis*  
    *Melissa officinalis* L. ssp. *altissima*  
    *Melissa officinalis* L. ssp. *Inodora*

#### I.2.5 Etymologie

Le nom de la mélisse dérive de sa racine indo-européenne, *mel*, qui signifie miel. En effet, la mélisse étant la plante préférée des abeilles (en grec, *melissophyllon* signifie feuilles pour les abeilles) (Padrini, F. et Lucheroni, M.T., 2003)

Elle est également connue sous le nom de citronnelle puisque elle dégage une délicate odeur de citron lorsqu'on froisse ses feuilles (Delaveau, 2001).

#### I.2.6. Dénominations vernaculaires

Cette plante présente plusieurs noms vernaculaires:

- Nom Arabe : Habaq t-trunj, Merzizou (Ait Youssef, 2006), Touroundjan (Baba Aissa, 2011), Rondjan (Delille, 2013).

- Nom Berbère : Tifer n'zizoua, Ferzizou, Tizizouit, (Baba Aissa, 2011), merzizua (Ait Youssef, 2006).
- Nom Anglais : Lemon blam, Bee blam (Teuscher et al. , 2005).
- Nom Français : Citronnelle (Baba Aissa, 2011), Citronade, Piment des abeilles, Thé de France, pincirade (Teuscher et al ., 2005).

### I.2.7. Description botanique de la plante

La mélisse ou « Herbe au citron » est une plante vivace de cinquante à soixante-dix centimètres (Bardeau, 2009). Il s'agit d'une plante herbacée en touffue et robuste, à rhizome court mais portant de nombreux bourgeons adventifs servant à perpétuer et multiplier la plante (Teuscher et al ; 2005). ( Figure N°1).

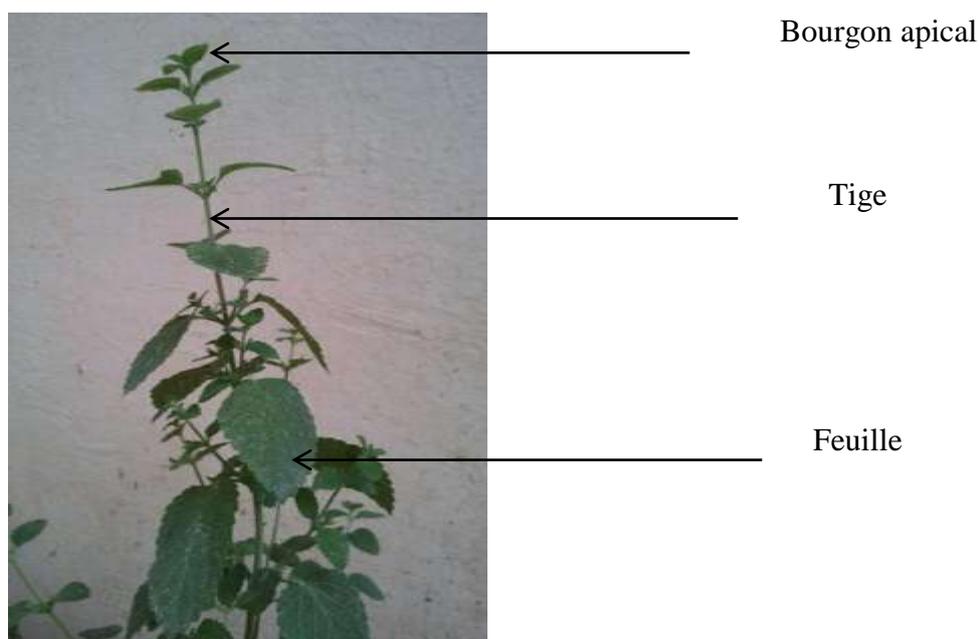


Figure N°1 : Aspect général de *Melissa officinalis* (Original, 2015).

#### 1. Tiges

Elles sont dressées, ramifiées légèrement duveteuses (Bardeau, 2009), elles sont d'une hauteur de 50 à 70 cm (Gladstar, 2012) (Figure N°3).

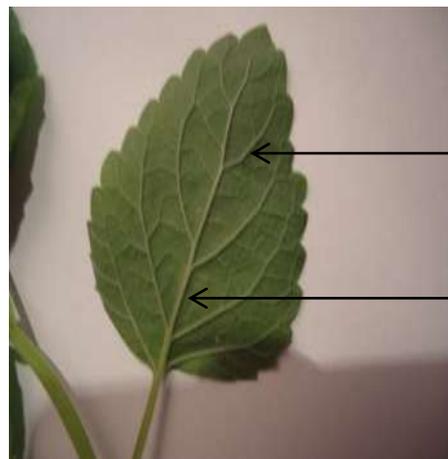
## 2. Feuilles

Elles sont à pétiole étroit et assez allongé, sont opposées, ovoïdes ou en forme de losange et cordées à la base, de 2 à 6cm de long sur 4 cm de large.

Les feuilles sont plus ou moins recouvertes de poils sur leur face supérieure, duveteuses sur leur face inférieure, les poils étant surtout localisés au niveau des nervures ; le bord du limbe est régulièrement denté ou crénelé, la dent terminale étant plus grande que les autres ; sa surface est gaufrée et verte foncée ; à l'aisselle, des feuilles portées par une tige florifère principale, se développent des rameaux qui possèdent des feuilles plus petites de taille (Teuscher et *al.*, 2005) (Figure N°2,3).



Face supérieure



Nervure  
secondaire

Nervure  
Principale

Face inférieure

Figure N°2 : Feuille de *Melissa officinalis* L. (Originale, 2015).

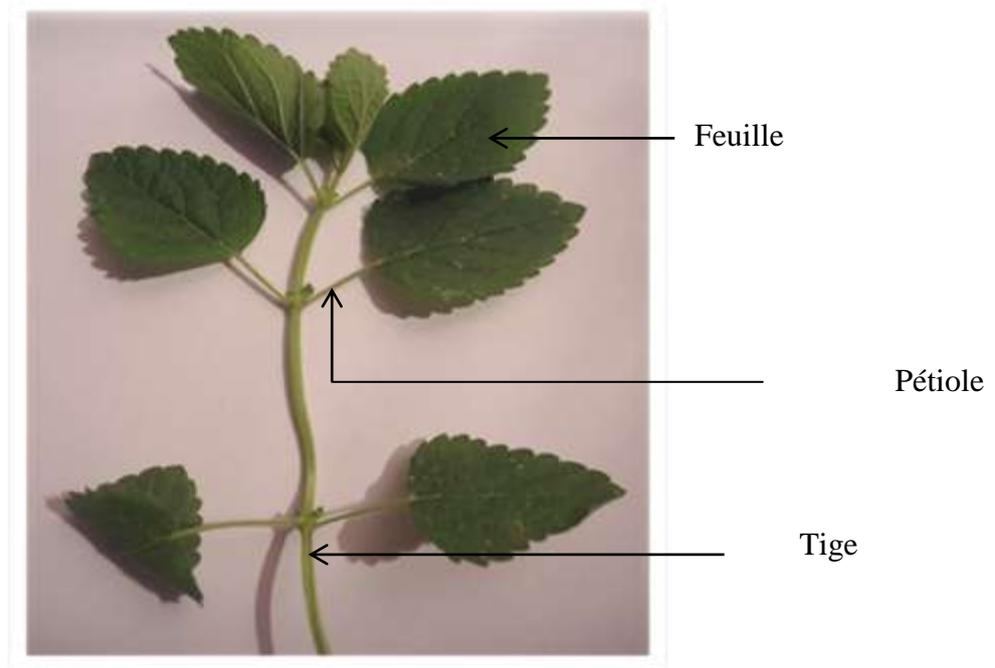


Figure N°3 : Vue de *Melissa officinalis* (Original, 2015).

### 3. Fleurs

Elles sont regroupées en 3 à 5 faux verticilles assez compacts, mais espacées les unes des autres, placées sur des rameaux beaucoup plus courts que les feuilles ; le calice est en forme de clochette tubuleuse, très velue de 7 ou 8 mm de long. Il est bilabié, la lèvre supérieure est tridentée (présente 3 dents courtes) et porte des nervures réticulaires (en forme de réseau), la lèvre inférieure est formée de 2 dents qui remontent en arête (bifide).

La corolle est tuberculeuse, de 8 à 15 mm de long. Au stade bouton, elle est de couleur jaunâtre mais après épanouissement elle prend une couleur blanchâtre. Elle présente un tube légèrement recourbé et un limbe à deux lèvres inégales. La lèvre supérieure est dressée et bifide alors que la lèvre inférieure est à 3 lobes obtus. Le lobe médian étant plus long.

Les étamines sont au nombre de 4 fusionnant ensemble vers le haut. L'ovaire est supère et comprend 2 loges qui renferment chacune 2 ovules (Teuscher et *al.*, 2005). (Figure N°4).



← Fleurs

Figure N°4 : Fleur de *Melissa officinalis* L. (Anonyme, 2015).

#### 4. Fruit

C'est un tétrakène d'environ 2 mm de long. Formé de 4 parties lors du développement de fausses cloisons ; il est lisse, de couleur châtaigne et renferme 4 graines. La floraison se produit généralement au bout de la deuxième année et s'étale entre le mois de juin et le mois de septembre (Teuscher et *al.* , 2005).

#### I.2.7.1. Habitat

*Melissa officinalis* est originaire de la région méditerranéenne orientale. Elle pousse à l'état sauvage dans les pays chauds, on la retrouve à l'état spontané en touffes dans les terrains vagues aux abords des habitations, dans les haies aux pieds des murs et aux bords des chemins jusqu' à 1000 mètre d'altitude (Boullard, 2001 ; Hayon, 2007).

C'est une plante commune dans toute l'Algérie, ou elle pousse dans des lieux incultes chauds, ombragés, sur les terrains riches en humus en marge des forêts ainsi qu'aux alentours des maisons. Elle est aussi largement cultivée (Delille, 2007).

La mélisse pousse sur tous types de sols sauf les plus humides. En sol léger et fertile elle peut même être envahissante, l'idéal pour cette plante est un sol drainé chaud mais pas trop sec, sablonneux ou argileux-sablonneux riche en humus ; et lui faut un emplacement ensoleillé, elle peut pousser dans des endroits ombragés mais sa teneur en H.E. sera amoindrie (Teuscher et *al.* , 2005).

### I.2.7.2. Culture

La mélisse est cultivée dans presque toute l'Europe centrale mais aussi en Amérique du nord et en Afrique du nord, elle doit être cultivée sur un sol profond et bien exposé au soleil (Hayon, 2007). La multiplication se fait par semis printaniers ou par division du rhizome (Thurzova et al ; 1981). Cette plante se ressème souvent seule (Nedelec, P.Y., 1993) elle est sensible à la gelée et doit, de ce fait, être recouverte durant l'hiver (Thurzova et al ; 1981).

### I.2.7.3. Récolte et conservation

La récolte des feuilles aura lieu avant la floraison en raison de l'odeur développée par les fleurs et par temps sec, car les feuilles noircissent à l'humidité (Hayon, 2007).

On récolte les feuilles au fur et à mesure selon les besoins ; du mois d'avril au mois de novembre et/ou le mois de mars du mois de décembre.

Quant aux fleurs, elles sont recueillies en été si l'objectif est le séchage ; il convient de prélever les tiges quand elles ne sont pas humides, sinon elles risquent de noircir ; il faut les cueillir au milieu de la journée, au mois d'août et les suspendre pendant 1 mois dans un local sombre, sec aéré ; effeuiller les tiges et stocker les feuilles séchées dans un récipient hermétique à l'abri de la lumière (Laurent, 2007).

### I.2.7.4. Composition physicochimique et Principes actifs de *Melissa officinalis*

*Melissa officinalis* elle compose principalement par : Tanin, principe amer, flavonoïde, une essence : le Citral qui lui vaut son nom de citronnelle (Halimi, 2004; Baba Aissa, 2012).

Ses constituants chimiques sont consignés dans les tableaux ci-après :

Tableau I: composition chimique de *Mélissa officinalis*

Constituants	Teneure
Eau	8 à 10 %
Matière minérales	10 à 12 %
Composés polyphénoliques	4 %
Acide phénols	7 %
Flavonoïdes	0.2 à 0.7 %
Acide triterpéniques	
Huile essentielle	0.05 à 03 %

(Teuscher et *al* ; 2005 ., Ait Youssef, 2006).

➤ Constituants de l'huile essentielle

Les Huiles Essentielles sont des mélanges complexes de constituants qui appartient à deux groupes caractérisés par des origines déférents d'une part nous retrouvons le groupe des terpénoïde et d'autre part le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquent (Bruneton, 1999) chez la mélisse en trouve les constituant représenté dans le tableau II.

Tableau II: Constituants actifs de l'Huile Essentiel de *Mélissa officinalis* L.

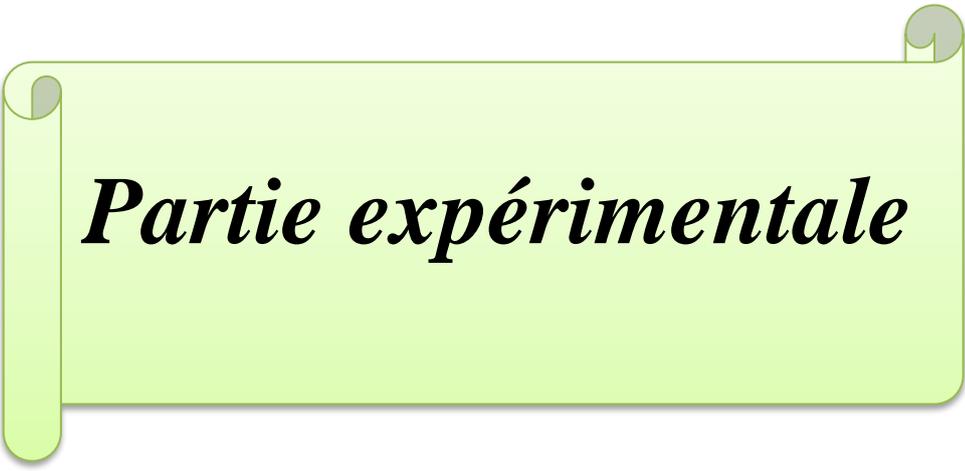
Familles des constituants chimiques	Constituants chimiques
Composés polyphénoliques	Tanin cathéchique
Acide phénols	Acide rosmarinique, les acides caféiques et chlorogénique, acide succinique
Flavonoïde	Quercitroside, rhmnocitrine, 7-glicoside de l'apigénol et du lutéolol.
Acide triterpéniques	les acides ursolique et, oléanolique
Terpènes	citral (mélange de géranial= citral et de néral = citral b.) et de citronellal.
Constituant mineurs	$\beta$ -caryophyllène acétate de géranyle, $\alpha$ -nérol méthyl citronellal et géraniol.
Vitamines	Vitamine C, E et di béta carotène

(Teuscher et *al* ; 2005 ; Ait Youssef, 2006 ; Anna-Sophie 2008).

I.2.8. Vertus de *Melissa officinalis* L.

La *Melisse* vendue chez les marchands de menthe, a des propriétés stomachique, antispasmodique, cholérétique et calmante (migraine, nervosité) (Sijelmassi, 2008). Elle est très efficace contre toute affection d'origine nerveuse, c'est un sédatif doux, un calmant hypotensif, un anti-inflammatoire et cholérétique. Elle est donc tout indiqué pour soulager les insomnies, les crises de nerf, ou encore pour régulariser la sécrétion de la vésicule biliaire de l'estomac (Martinetti, 2013).

Selon Bruneton (1993) *Melissa officinalis* est traditionnellement utilisée dans le traitement symptomatique de troubles digestives tels que le ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations et flatulence ainsi comme traitement adjuvant de la composante douloureuse des troubles fonctionnels digestifs et dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants, notamment en cas de trouble mineurs du sommeil.



*Partie expérimentale*

L'objectif de ce travail consiste en l'extraction et la détermination de quelques effets thérapeutiques de l'huile essentielle de la mélisse.

Notre étude s'est étalée sur une période allant du mois de mai à août 2015 et les analyses ont été effectuées dans les structures suivantes:

- Les coupes histologiques au laboratoire de Biologie végétale et de P.F.E. de l'université de Blida -1-
- L'extraction de l'huile essentielle au laboratoire de phytopharmacie, au Département de Biotechnologie (Agronomie) de l'université de Blida -1-
- Les effets thérapeutiques et les indices physicochimiques de l'Huile Essentielle de la mélisse au laboratoire de toxicologie et physicochimie à Saida-Médéa.
- La CGMS au laboratoire de Recherche de la Police Scientifique d'Alger château neuf.

### II.1 Matériel

#### II.1.1 Matériel végétal

- La plante étudiée *Melissa officinalis* L. (*Mélisse*), a été récolté dans la région de hammam Melouane à Blida. La récolte a été effectuée sur les parties aériennes (tige et feuille) au mois de mai 2014, avant la floraison.
- Pour la réalisation des coupes histologiques, nous avons utilisé des échantillons à l'état frais.
- Pour les indices physicochimiques de l'HE, la CGMS et les activités biologiques, le séchage de la plante a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité sur du papier pendant 15 jours afin d'extraire l'huile essentielle (Figure n°5).



Figure N°5: Séchage de *Melissa officinalis* L. (Original, 2014).

### II.1.2. Matériel animal

Pour la réalisation des tests de l'activité anti inflammatoire et anti spasmodique, nous avons utilisé les souris Albinos (Figure n°6) fournies par le laboratoire de pharmacotoxicologie, unité animalerie du complexe antibiotical- Saidal de MEDEA.

Les caractéristiques des souris sont :

- Poids :  $20 \pm 2$ g.
- Sexe : male.
- Nbr de souris : 40
- Alimentation : granulés d'origine ONAB
- Boisson : l'eau de manière *ad-libitum*.
- Condition d'hébergement :
  - Température : 40° C.
  - Humidité : 50%.
  - Eclairage : 10 h.



Figure N°6 : Les souris utilisées.

### II.2. Matériel non biologique

L'ensemble de matériel de laboratoire (appareillages, verreries, réactifs) utilisé au cours de notre travail expérimental sont regroupés en annexe I.

### II.3. Techniques d'étude histologique

#### II.3.1. Coupes histologiques par microtome

Une série de coupes transversales effectuées à l'aide d'un microtome (Gabe, 1963). La technique nécessite 3 étapes fondamentales :

##### 1. Fixation des organes

Pour la fixation de nos organes (feuilles, tiges et pétioles), nous avons utilisé le mélange formol alcool, acide acétique (FAA) composé de :

- 8 volumes d'éthanol 70°.
- 1 volume de formol.
- 1 volume d'acide acétique glacial.

Un passage sous vide dans le dessiccateur pendant une heure est nécessaire, pour permettre une meilleure pénétration du fixateur dans les tissus tout en éliminant l'eau des cellules pour éviter ainsi une désorganisation des structures.

Le temps de fixation est de 24 heures à 48 heures selon la taille et la consistance des organes fixés.

Après fixation, les organes sont trempés dans l'éthanol 70° qui assure une bonne conservation des organes pendant plusieurs mois.

### 2. Inclusion des organes dans la paraffine

Cette étape nécessite de faire une déshydratation progressive des pièces à l'éthanol dans un premier temps, puis une imprégnation par le toluène, avant l'inclusion des organes dans la paraffine fondue.

#### 2.1. Déshydratation

C'est le traitement par l'éthanol de concentration progressivement croissante qui représente le mode de déshydratation traditionnelle, utilisée pour amorcer l'extraction de l'eau ou autres produits.

Cette étape consiste à éliminer toute l'eau ou le fixateur qui se trouve dans les tissus destinés à être inclus dans la paraffine.

La déshydratation consiste à mettre les organes dans des bains d'éthanol à raison d'une heure comme suit :

- Ethanol 95° pendant 1 heure.
- Ethanol 95° pendant 1 heure.
- Ethanol 100° pendant 1 heure.
- Ethanol 100° pendant 1 heure.
- Ethanol 100° pendant 1 heure ou 1 nuit.

Pour les organes à consistance dure, le passage dans des bains de butanol est nécessaire après passage dans de l'alcool 70° et 90° comme suit :

- Ethanol 70° pendant 1 heure.
- Ethanol 95° pendant 1 heure.
- Ethanol 95° pendant 30 minutes.
- Butanol pendant 24 heures.
- Butanol pendant 24 heures.

Après les 3 bains de butanol, le passage à l'éthanol absolu est nécessaire :

- Ethanol 100° pendant 1 heure.
- Ethanol 100° pendant 1 heure.
- Ethanol 100° pendant 1 heure.

### 2.2. Imprégnation

Cette étape permet d'éliminer toute trace d'éthanol, et cela pour une meilleure pénétration de la paraffine dans les tissus.

L'imprégnation par le toluène (hydrocarbure benzénique) est recommandée pour la rapidité de sa pénétration ; celle-ci se traduit par un éclaircissement des pièces.

L'imprégnation se déroule en plongeant les fragments d'organes dans :

- Toluène + alcool (1V/1V) pendant 30 minutes.
- Toluène pur pendant 1 heure.
- Toluène pur pendant 1 heure.
- Toluène pur pendant 1 heure.
- Toluène + paraffine fondue (1V/1V), pendant 30 minutes à  $58 - 60 \pm 3^\circ\text{C}$ .
- Paraffine pendant 1 heure à  $58 - 60 \pm 3^\circ\text{C}$ .
- Paraffine pendant 1 heure à  $58 - 60 \pm 3^\circ\text{C}$ .
- Paraffine pendant 1 nuit ou plus à  $58 - 60 \pm 3^\circ\text{C}$ .

### 2.3. Inclusion à la paraffine

L'inclusion se fait à la paraffine pure qui est coulée à chaud  $65 \pm 4^\circ\text{C}$  (température de fusion de la paraffine) dans un modèle de moule :

#### Le modèle cassette

Ce système consiste à remplir les moules métalliques de paraffine neuve fondue, dans laquelle on dépose délicatement l'échantillon puis on place les cassettes (en plastique) identifiées sur les moules de manière à ce que cette paraffine pénètre dans les perforations des cassettes, le durcissement se fait sur une plaque réfrigérante pendant 10 minutes.

Nous obtenons à la fin des blocs et des cassettes où les fragments sont parfaitement inclus, le passage à l'étape suivante nécessite une heure d'attente au minimum.

### 3. Confection des coupes et coloration

Les organes inclus dans la paraffine sont débités en coupes sériées à l'aide d'un microtome manuel (type leica) à une épaisseur de 7 $\mu$ m (Annexe I).

Les rubans de coupes réalisées sont placés sur des lames propres mises préalablement dans de l'éthanol 95° puis séchées à l'aide d'un papier hygiénique, numérotées avec un diamant puis étalées par une eau gélatineuse préparée par 0,1 g de gélatine en poudre dans 100 ml d'eau distillée.

Les lames sont mises ensuite sur une plaque chauffante réglée à  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  afin d'étaler les coupes en évitant leur plissement.

#### 3.1. Déparaffinage

Le déparaffinage est une étape qui précède la coloration. Il consiste à éliminer la paraffine des tissus pour faciliter la pénétration des colorants.

Cette étape est assurée par trois bains de toluène :

- Un bain de toluène pur pendant 15 minutes sur plaque chauffante.
- Un bain de toluène pur pendant 10 minutes sur plaque chauffante.
- Un bain de toluène pur pendant 10 minutes sur plaque chauffante.

#### 3.2. Réhydratation

La réhydratation a pour but de préparer les coupes à l'action du colorant miscible à l'eau, elle consiste à faire passer les coupes dans :

- Trois bains d'alcool absolu pendant 10 minutes chacun.
- Un bain d'alcool pur/formol (4v/1v) pendant 5 minutes.

Les coupes sont ensuite rincées à l'eau courante.

### 3.3. Coloration

Nous avons utilisé la double coloration au « Carmino-vert », cette méthode permet de différencier les tissus. Les tissus lignifiés ou subérifiés apparaissent en vert et les tissus à parois cellulósiques en rouge.

La technique se fait selon les étapes suivantes:

- Placer les coupes 10 à 20 minutes dans l'hypochlorite de sodium (eau de javel 12°) pour la destruction des structures cytoplasmiques.
- Laver abondamment à l'eau.
- Laver dans l'acide acétique dilué à 1% pendant 15 minutes (mordantage qui a pour but d'augmenter l'affinité des colorants).
- Laver à l'eau courante pendant 5 à 10 minutes.
- Colorer 5 minutes dans le carmin aluné.
- Laver à l'eau courante pendant 5 à 10 minutes.
- Colorer 30 secondes au vert de méthyle.
- Après lavage à l'eau courante, les coupes sont montées entre lame et lamelle puis observées au microscope photonique.

### II.3.2. Coupes histologiques à main levée

Plusieurs coupes transversales fines ont été réalisées à l'aide d'une lame de rasoir à main levée. Les échantillons étudiés proviennent de pétiole, de la feuille et de la tige de la plante.

Mode opératoire:

Nous avons adopté la technique Universelle standard de double coloration (rouge Congo vert de méthyle) qui permet la coloration des tissus vivants en rouge et les tissus morts en vert.

Les coupes récupérées sont trempées successivement dans :

- 1- L'eau de javel 10 à 15 min pour éliminer le contenu cellulaire.
- 2- Rinçage à l'eau pendant 10 à 20 min.
- 3- L'acide acétique à 1% pendant 1 min pour éliminer totalement l'eau de javel et assurer la fixation du colorant sur la paroi.
- 4- L'eau pendant 10 à 20min pour le rinçage.
- 5- Le vert de méthyle pendant 5 à 10 min pour la coloration des parois lignifiées et /ou suberifiées.
- 6- Rinçage à l'eau pendant 10 à 20 min.
- 7- Le rouge Congo pendant 10 à 20 min pour la coloration des parois pectocellulosiques.
- 8- L'eau pour le dernier rinçage des coupes.

Les meilleures coupes sont sélectionnées et mises entre lame et lamelle pour l'observation au microscope photonique.

### II.4 Extraction par Entraînement à la vapeur d'eau

L'extraction a été faite par la méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Mode opératoire :

- Mettre environ 100 g de matière végétale coupée en petits morceaux dans un perçoir.
- Remplir environ un litre d'eau distillée dans une cocote.
- Déposer le perçoir au-dessus de l'eau puis fermer la cocote (sans contact direct avec la matière végétale).
- Chauffer à l'aide d'une plaque chauffante à 300°C pendant 30 min, après ébullition de l'eau on diminue la température jusqu'à 200°C.
- La vapeur d'eau entraîne les constituants volatils dans le tube principal, pour ensuite se condenser dans un serpentin du réfrigérant rempli d'eau.
- Ouvrir le robinet de la burette graduée pour récupérer l'hydrolat goutte à goutte dans un Erlenmeyer, l'HE reste dans la burette jusqu'à obtention de la quantité maximale de l'HE (après 1 heure et 30 minutes) (Figure N°7).

Vu le rendement faible en HE de la mélisse, ce cycle a été répété plusieurs fois.

La conservation des huiles essentielles se fait à une température de 4°C, à l'abri de la lumière, dans des flacons en verre.

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter (AFNOR, 2000).

Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R = \frac{P_H}{P} \times 100$$

R : rendement de l'HE en %.

$P_H$  : poids de l'HE en g.

P : poids de la plante traitée en g.

➤ Contrôle organoleptique de l'HE

Les propriétés organoleptiques regroupant tout ce qui est perceptible par les sens, ont été effectués par un personnel qualifié du laboratoire.

Les différentes caractéristiques organoleptiques dont l'aspect, la couleur et l'odeur de l'HE ont été notées.

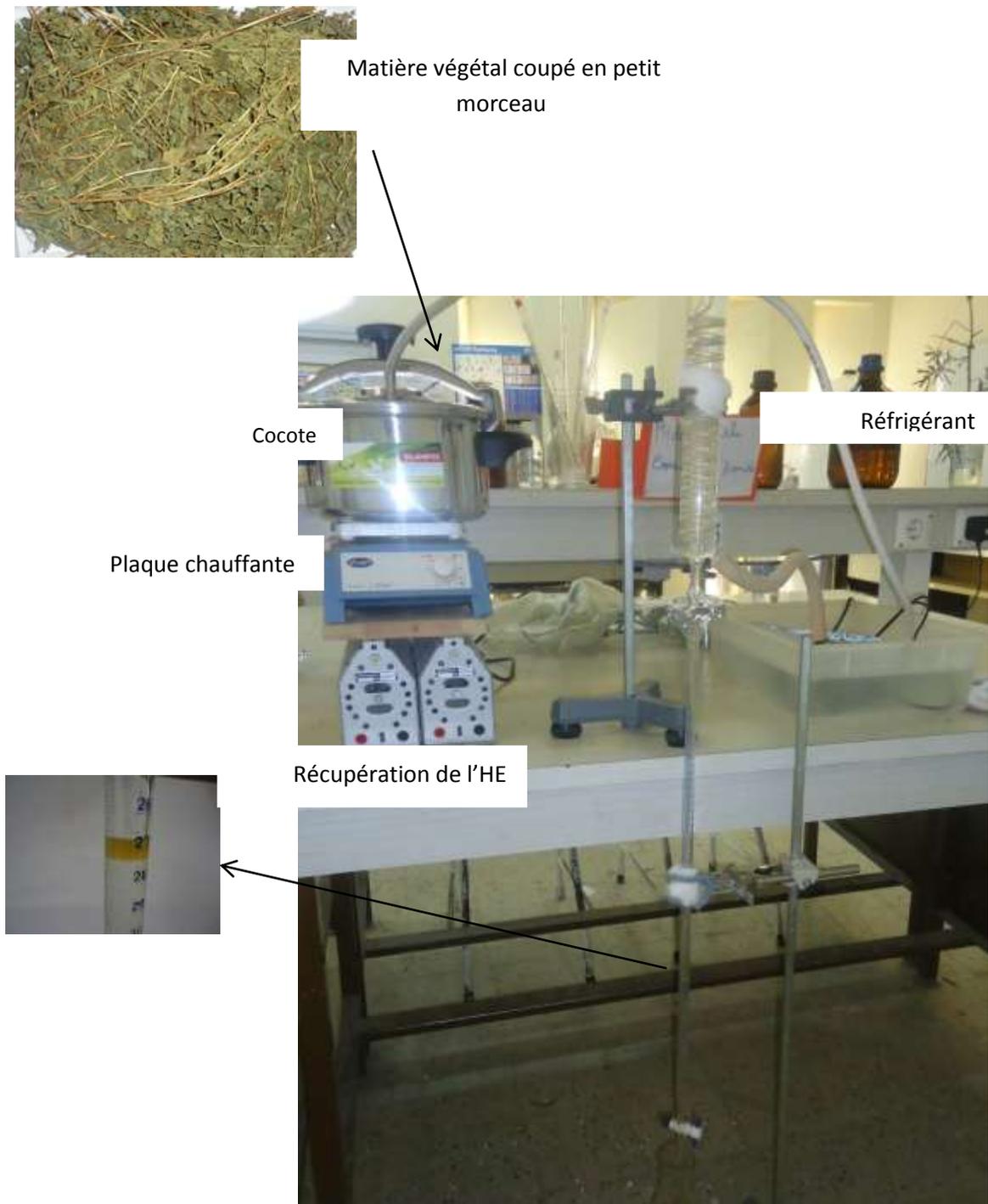


Figure N °7 : Dispositif de l'entrainement à la vapeur d'eau.

### II.5. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de *Melissa officinalis*

#### II.5.1 Indices physiques

##### IV.5.1.1 Indice de réfraction

L'huile essentielle polarise la lumière à droite et à gauche. Selon la norme AFNOR 2000 l'indice de réfraction est le rapport entre le sinus d'angle d'indice, et celui du rayon lumineux de longueur d'onde déterminée.

Mode opératoire :

Le produit est placé à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait signalé.

Refermer le couvercle, au bout de 15 secondes (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C), puis lire le résultat. (Pharmacopée européenne, 2001).

##### II.5.1.2 .Densité relative

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile essentielle, à la masse d'un volume égal d'eau à 20°C (AFNOR, 2000).

Mode opératoire :

- Laver et sécher un bêcher, puis le peser à l'aide d'une balance de précision à 0,0001 g près, pour déterminer son poids vide.
- Remplir le bêcher avec de l'eau distillée à 20°C (avec 1ml), et déterminer la masse apparente de son contenu en eau.
- Vider, laver et sécher le même bêcher, puis le remplir avec un volume d'huile essentielle (1ml), et déterminer la masse de son contenu en produit (AFNOR, 2000).

La densité est déterminée par la formule suivante :

$$D = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

$m_0$  : est la masse en gramme de la fiole vide.

$m_1$  : est la masse en gramme de la fiole remplie d'eau.

$m_2$  : est la masse en gramme de la fiole remplie d'HE.

### II.5.2. Indices chimiques

#### II.5.2.1. Indice d'acide ( $I_A$ )

Principe :

L'indice ( $I_A$ ) est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans un gramme de substance.

Mode opératoire :

Dissoudre une prise d'essai de l'Huile Essentielle dans 50 ml de mélanges égaux d'alcool et d'éther. Le solvant doit être neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0.1 M, en présence de 0.5 ml d'une solution de phénolphaléine. Après dissolution titrez par l'hydroxyde de potassium 0.1M. Le titrage est terminé par l'obtention d'une couleur rose qui persiste pendant au moins 15 secondes (Pharmacopée Européenne, 2008).

$$I_A = 5,61 \times V / m$$

V: Volume de KOH 0.1M consommé.

m : Masse de la substance à examiner.

#### II.5.2.2. Indice de saponification

Selon la norme (ISO 3637 : 1999) (Pharmacopée Française, 2012), c'est l'ébullition à reflux d'un échantillon avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium par une solution titrée d'acide chlorhydrique (HCl).

Mode opératoire :

On pèse 1g d'HE et on lui ajoute 25ml de KOH alcoolique (0,5M). On adapte le réfrigérant et on chauffe à reflux pendant 60 mn, on ajoute à la solution chaude 1 ml de la solution de phénolphaléine et on titre avec l'HCl (0,5M) jusqu'à disparition de la couleur rose de l'indicateur.

On prépare un essai à blanc (essai témoin) dans les mêmes conditions opératoires.

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_S = \frac{(V_0 - V_1) \times 56.1}{M}$$

Avec :

$V_0$  : volume (ml) de HCl utilisé pour essai à blanc

$V_1$  : volume (ml) de HCl utilisé pour la mesure de l' $I_s$  de l'échantillon

$C$  : concentration (mole/l) du HCl

$M$  : masse (g) de l'échantillon à analyser.

### II.5.2.3. Indice d'ester

L'indice d'ester est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présente dans 1 g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification ( $I_s$ ) et de l'indice d'acide ( $I_A$ ) (Pharmacopée européenne, 2001).

$$IE = I_s - I_A$$

### II.5.2.4. Teneur en Eau

Principe:

Pour doser de petites quantités d'eau, Karl Fischer (1935) a proposé d'utiliser un réactif préparé par l'action du dioxyde de soufre sur une solution d'iode dans un mélange, de la pyridine et de méthanol anhydres. L'eau réagit avec ce réactif selon un processus en deux étapes, par lequel une molécule d'iode va disparaître pour chaque molécule d'eau présente dans la solution. On représente généralement le mécanisme réactionnel par les équations suivantes (Mendhan, 2006).

Mode opératoire :

Mettre l'appareil en marche (Voire annexe I) ; vérifier si la solution de support de dosage n'est pas saturée ; en suite neutraliser cette solution jusqu'à l'élimination totale des traces d'eau (c'est-à-dire jusqu'à ce que le voyant «on» de dosage s'allume).

Introduire 100mg d'huile essentielle à l'intérieur du godet de dosage ; appuyer sur le bouton «on» du dosimat et le dosage de l'eau se fera automatiquement ; attendre la fin du dosage automatique, qui sera donné par l'allumage du voyant «on» en rouge. Noter le volume final du dosage indiqué dans le quadrant.

### ➤ Expression des résultats

La teneur en eau, est exprimée en pourcentage et calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau\%} = \frac{V_f \times F \times 100}{P}$$

F : Facteur de la solution de dosage Karl Fisher mg/ml d'eau (4.5429 mg/ml).

P : Pesée de l'échantillon (mg).

Vf : Volume final du dosage (ml).

### II.6. Analyse de la composition chimique de l'Huiles Essentielles par CG-MS:

#### Principe

Le but de cette analyse est la détermination de la composition qualitative des constituants de l'HE.

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse soumis l'échantillon à plusieurs tests, à savoir:

- Ionisation des molécules qui se volatilisent sous l'effet de la haute température;
- Accélération des ions formés qui se dirigent vers le dispositif de séparation;
- Détection et traitement du signal à la sortie de l'appareil ce qui conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport masse et charge m/z
- Identification par une comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs "banques de données" de référence (De maak, et Sablier, 1997 ; Rouessac, 2000).

Conditions opératoires :

Le protocole utilisé dans cette étape est celui adopté au laboratoire central de la police scientifique et technique d'Alger.

Les conditions opératoires sont consignées dans le tableau III.

Tableau III : Les conditions opératoire de la CGMS

Méthode GC:	Méthode MS:
Volume injecte: 1ul Température injecteur: 250 °C Colonne: Elite série 5-MS, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 um épaisseur de phase stationnaire Température initiale: 70 °C pendant 4 min Rampe: 4deg/min jusqu'à 220 °C pendant 15 min Temps d'analyse 56.5 min	Mode d'ionisation: Impact électronique Energie: 70 ev Température: source: 250 °C Température ligne de transfert: 250 °C Analyseur: Quadripôle Mode: Balayage entre 20 - 550 daltons. Délai de solvant: 5.9 min.
Logiciel utilisé : Le Scan.	

### II.7. Etude de l'activité antioxydante de l'Huile essentielle de *Melissa officinalis*

Le pouvoir antioxydant de l'HE la mélisse a été testé in vitro par la méthode de DPPH. L'antioxydant utilisé dans notre étude comme témoin positif est l'acide ascorbique.

La méthode décrite par Sanchez-Moreno et *al.* ,(1998).

Mode opératoire :

➤ Préparation de la solution alcoolique de DPPH

Le DPPH est solubilisé dans du méthanol absolu c'est à dire dans le même type de solvant que celui utilisé pour préparer l'échantillon et ses dilutions.

On prépare 100 ml d'une solution 60  $\mu$ M de DPPH ce qui correspond approximativement à 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

➤ Préparation de la solution

Pour l'HE et même les témoins, on prépare des solutions dans le méthanol absolu à raison de 1000 mg/l. Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour obtenir différentes concentrations.

➤ L'essai au DPPH

Dans chaque tube sec et stérile, on introduit 2 ml de la solution de DPPH à laquelle on ajoute 50  $\mu$ l d'une concentration de l'échantillon à tester. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité et à température ambiante (25°C) pendant 30 min d'incubation.

Pour chaque concentration, le test est réalisé en 3 répétitions successives.

Pour chaque série on prépare un blanc constitué de 2 ml de la solution de DPPH additionné de 50  $\mu$ l de méthanol.

Quel que soit le témoin positif utilisé, sa préparation et son expérimentation sont identiques à celles des autres échantillons (huile essentielle).

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde de 517 nm par un spectrophotomètre (Annexe II).

➤ Expression des résultats

L'activité antioxydante est donnée par le pourcentage de l'inhibition des radicaux libres de DPPH (A%) et a été calculée par :

$$A\% = [(A_0 - A_t) / A_0] 100 = [1 - A_t / A_0] 100$$

Avec:

A<sub>0</sub>: L'absorbance du blanc ou témoin.

A<sub>t</sub>: L'absorbance de l'échantillon.

On peut déterminer la concentration inhibitrice de 50% des radicaux appelée IC50 ou EC50. Cette grandeur est déterminée en traçant pour un échantillon donné la courbe A% en fonction de la concentration puis on détermine la concentration qui correspond à A% = 50.

### II.8. Etude des activités biologiques de l'Huile essentielle de *Melissa officinalis*

#### II.8.1. Etude de l'activité anti inflammatoire :(Berkan et al. 1991)

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire. Cette étude permet de comparer la réaction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et des produits de référence correspondants.

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melissa Officinalis* à (0,1g/ml et 0.01g/ml) sur l'œdème des pattes postérieures provoquées par l'injection d'une solution de carraghénine à (1%) chez les souris.

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction anti-inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

La préparation de la solution de carragénine (1%) a été faite par une dilution de 20mg de la carraghénine dans 2ml d'eau physiologique.

Les animaux testés sont répartis en 4 lots de 5 souris dont le poids est supérieur à 18g (de 18g à 24g).

- Au temps  $T_0$  :

Les 4 solutions (eau physiologique, HE de 0,1g/ml, HE de 0,01g/ml et Cloféнал® 0,1g/ml) ; sont administrées par voie intra-péritonéale (Figure N°8) :

\* lot témoin : chaque souris reçoit 0,5ml d'eau physiologique.

\* lot essai 1 : chaque souris reçoit 0,5ml de l'huile essentielle 0,1g/ml de la Mélisse.

\* lot essai 2 : chaque souris reçoit 0,5ml de l'huile essentielle 0,01g/ml de la Mélisse.

\* lot essai 3 : chaque souris reçoit 0,5ml du produit de référence à la même dose active (Cloféнал®).



Figure N°8 : Gavage des souris

- Au temps  $T_0+30\text{min}$  :

La solution de carraghénine à 1% est injectée sous l'aponévrose plantaire des pattes postérieures arrière gauches sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mis en expérience (Figure N°9).



Figure N°9 : Injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de la souris

- Au temps  $T_0 +4\text{h}$  :

Après avoir sacrifié les animaux par la rupture de la nuque, nous avons coupé les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et nous les avons pesées avec une balance analytique.

### ➤ Expression des résultats

-Calculer les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.

-Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte gauche (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moy des poids des pattes gauche} - \text{moy des poids des pattes droits}}{\text{moy des pattes droits}} \times 100$$

-Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\% \text{ de la réduction d'œdème} = \frac{\% \text{ d'œdème de témoin} - \% \text{ d'œdème d'essai} \times 100}{\% \text{ d'œdème de témoin}}$$

### ➤ Etude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne du diamètre des PPG  $\pm$  écart-type. La signification statistique a été déterminée au moyen du test d'analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie par le test *post-hoc* de Fisher pour comparaison par paires.  $P < 0.01$  a été considérée comme différence hautement significative. L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft, Paris, France) (Annexe II).

### II.8.2. Etude de l'activité antispasmodique

Test de Writhing :( Rouibi et *al.*, 2012)

Une réaction douloureuse est provoquée chez les souris par injection intra péritonéale d'acide acétique ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) à raison de 0,1/10g le poids corporel (Pc).

Les douleurs se manifestent par un mouvement d'étirement de pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale (spasmes), qui peuvent être réduites par un produit antispasmodique (huile essentielle).

Mode opératoire :

Nous avons répartie les 20souries en 4 lots comme suit :

- Le premier lot reçoit de l'eau physiologique.
- Le 2ème lot reçoit le produit à tester " l'huile essentielle de la Mélisse à 0.1g/ml " administrée aux souris par voie intra péritonéale.
- Le 3ème lot reçoit le produit à tester " l'huile essentielle de la Mélisse à 0,01g/ml " administrée aux souris par voie intra péritonéale.
- le 4ème c'est le lot contrôle positif, reçoit de Spasfon ®(Phloroglucinol).

- A  $T_0$  : injection par voie intra péritonéale de 0,5ml de l'huile essentielle de la Mélisse (Figure N°10).



Figure N°10 : Gavage des souris

- Après 30 min : toutes les souris reçoivent 0,2ml de la solution d'acide acétique à 1% par voie intra péritonéale (Figure N°11).



Figure N°11 : Injection de l'acide acétique

- Après 5 min : le comptage du nombre de spasmes est observé directement sur les souris pendant 10min.

- le Phloroglucinol a été utilisé comme contrôle positif.

➤ Expression des résultats:

Le pourcentage de réduction des spasmes (pourcentage de protection) est calculé selon la formule suivante :

$$\begin{aligned} \text{\% de protection} &= \frac{\text{moy des spasmes de lot témoin} - \text{moy des spasmes de lot d'essai}}{\text{moy des spasmes de lot témoin}} \\ &\quad * 100 \end{aligned}$$

➤ Etude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne du nombre de contractions abdominales  $\pm$  écart-type. La signification statistique a été déterminée au moyen du test d'analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie par le test post-hoc de Fisher pour comparaison par paires.  $P < 0.001$  a été considérée comme différence très hautement significative. L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLStat (Addinsoft, Paris, France) (Annexe II).

### III.1 Résultats de l'étude histologique de la plante

Afin de localiser les structures sécrétrices, nous avons effectués des coupes histologiques à main levée et avec la méthode des coupes par microtome, dans la tige, la feuille ainsi que le pétiole.

#### III.1.1 La Tige

La Figure N °12 illustre une coupe transversale de la tige réalisée à l'aide d'un microtome.

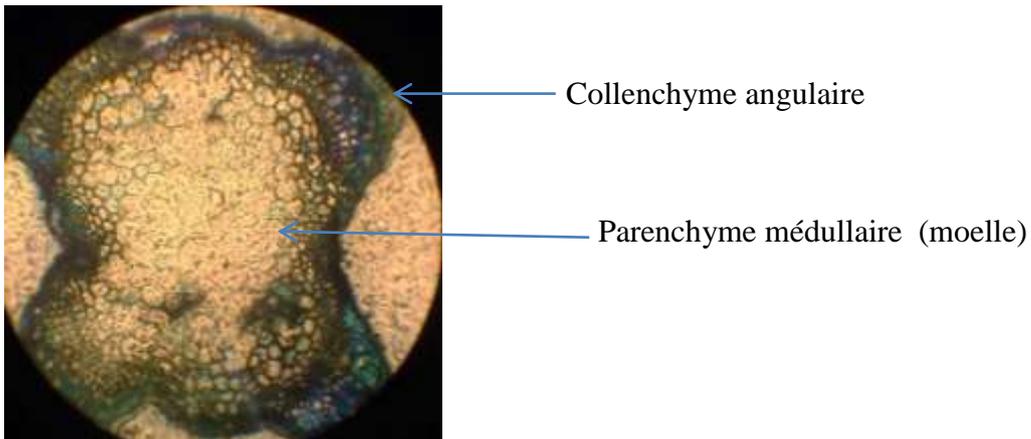


Figure N° 12 : Coupe histologique de la tige de *Melissa officinalis* (Gx 4) (Originale, 2015). (a)

La Figure N°12 nous a permis de voir la forme quadrangulaire de la tige de la mélisse. Les Figures N°13 et 14 représentent une coupe partielle de parenchyme cortical, l'épiderme et de collenchyme angulaire de la tige.

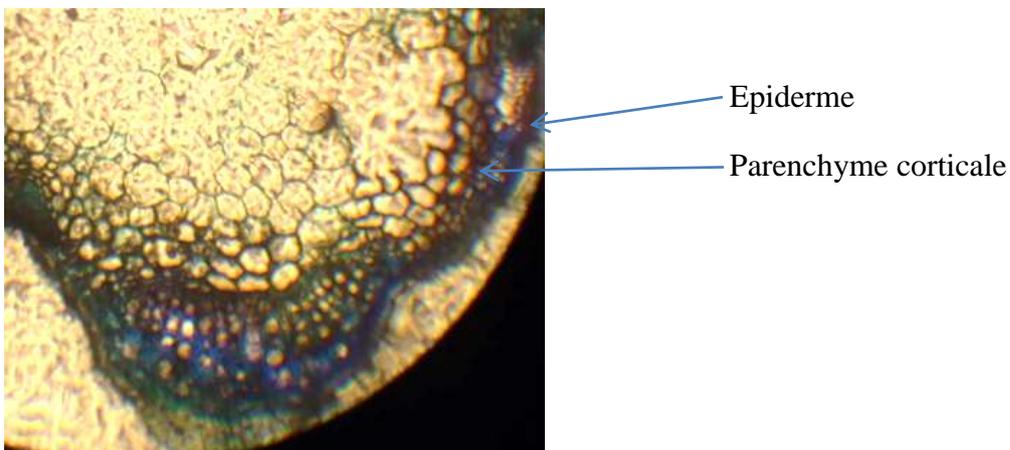


Figure N° 13: Coupe histologique de la tige de *Melissa officinalis* (Gx 10) (Originale, 2015). (a)

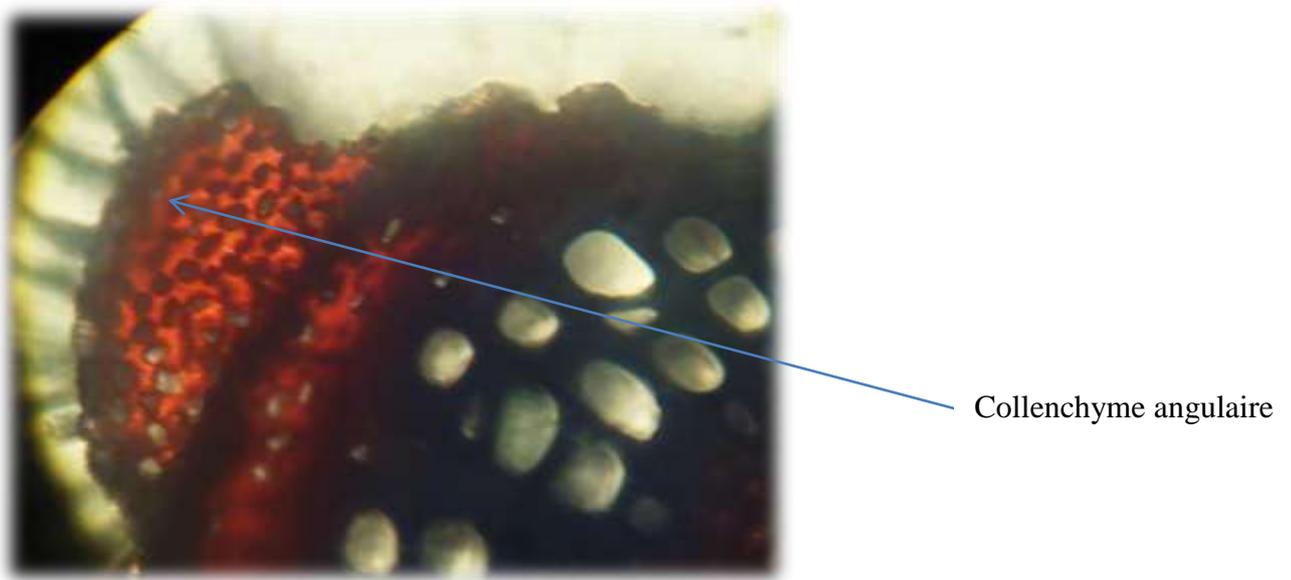


Figure N°14: Coupe histologique de la tige de *Melissa officinalis* (Gx 10) (originale, 2015) (b).

Selon les figures n°12, 13 et 14 nous avons remarqué que la tige de la mélisse présente quatre angles. Les amas de collenchyme angulaire sous épidermique sont responsables de l'aspect quadrangulaire.

La Figure N°15 illustre une vue partielle des parties suivantes ;Epiderme, Sclérenchyme, phloème, Xylème, Parenchyme médullaire.

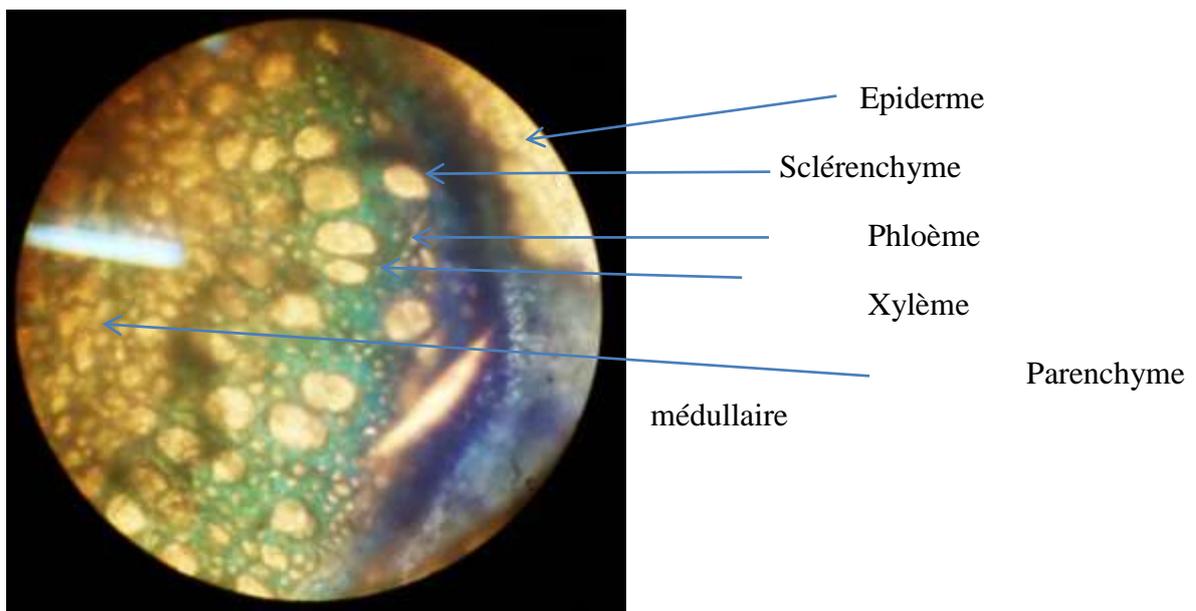


Figure N° 15 : Coupe histologique de la tige de *Melissa officinalis* (Gx 40) (Originale, 2015). (a)

Figure N° 16 représente les defferents structure de la tige de l'extérieur vers l'intérieur.

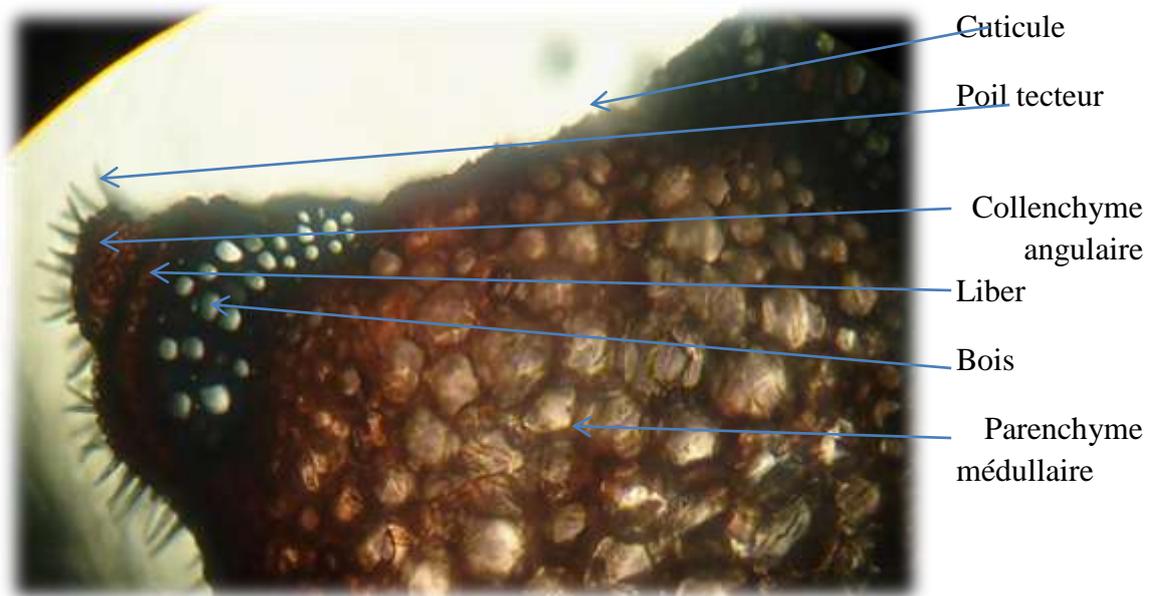


Figure N°16: Coupe histologique au niveau de la tige de *Melissa officinalis* Gx 40 (originale, 2015) (b).

Figure N° 17 illustre les poiles à tête vésiculaire de la tige.

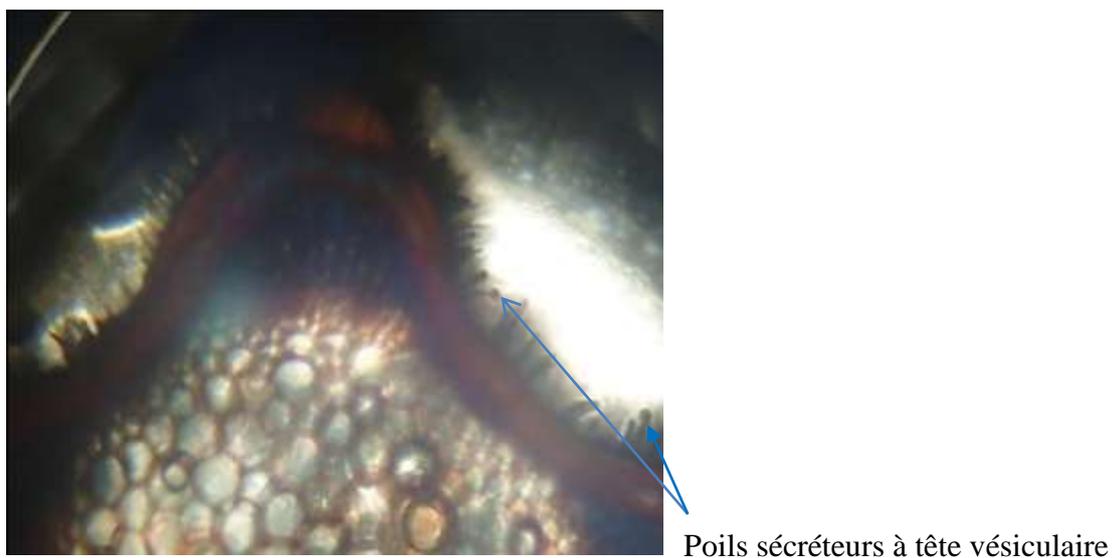


Figure N° 17: Observation microscopique des poils au niveau de la tige Gx 10(originale, 2015). (b)

(a): Les coupes réalisées au microtome.

(b) : Les coupes réalisées à main levée.

Selon les Figures N°12, 13, 14, 15 et 16, nous observons de l'extérieur vers l'intérieur au niveau des coupes histologique de la tige de *Melissa officinalis* les tissus suivants :

- Une cuticule.
- Le collenchyme angulaire : La tige de la mélisse, présente quatre angles. Les amas de collenchyme angulaire sous épidermique sont responsables de l'aspect quadrangulaire.
- Un anneau de sclérenchyme : formé par des cellules mortes dont l'épaississement est formé par des cellules lignine.
- Le phloème et le xylème.
- Un parenchyme médullaire ou la moelle : délimité par l'épiderme à l'extérieur formé par des cellules à paroi mince et cellulosique.

### III.1.2. La Feuille

La Figure N°18 illustre les Poils sécréteur à tête vésiculaire de la feuille.

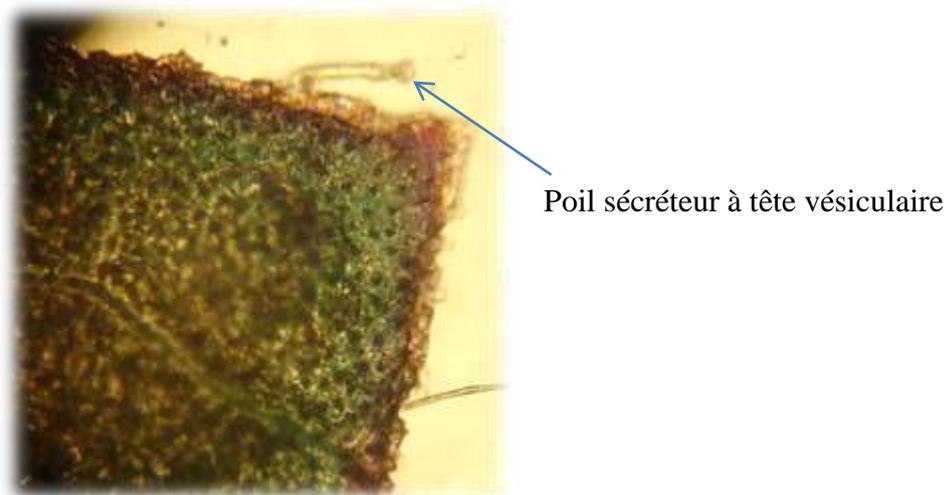


Figure N°18: Poils épidermiques de la mélisse Gx 10 (originale, 2015). (b)

(b) : La coupe réalisée à main levée.

Selon la figure N°18, la feuille de *Melissa officinalis* est recouverte d'un épiderme ventral et un épiderme dorsal. L'épiderme est tapissé de poils épidermiques.

### III.1.3. Pétiole

La Figure N° 19 illustre une coupe transversale du pétiole vue à travers la loupe binoculaire.

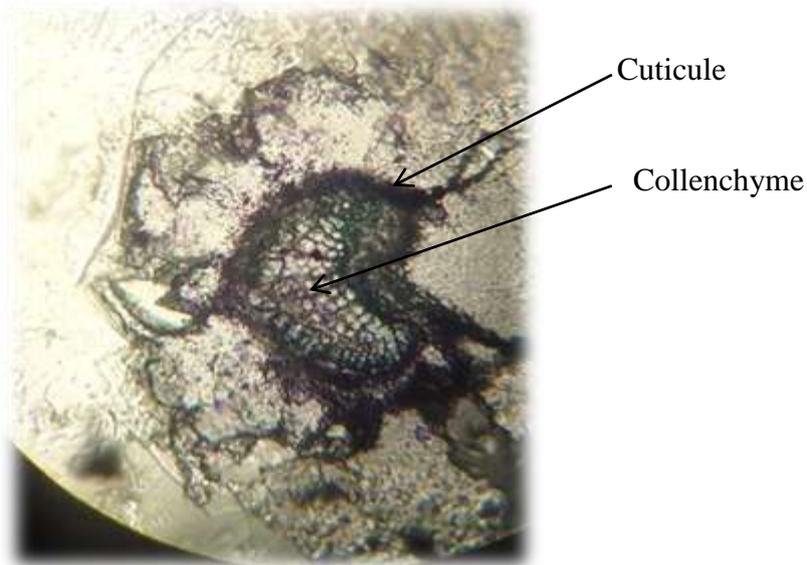


Figure N° 19: Coupe histologique de le pétiole de *Melissa officinalis* sous la loupe binoculaire Gx4.5 (Originale, 2015).

La Figure N°20 illustre les structures du pétiole de l'extérieur vers l'intérieur.

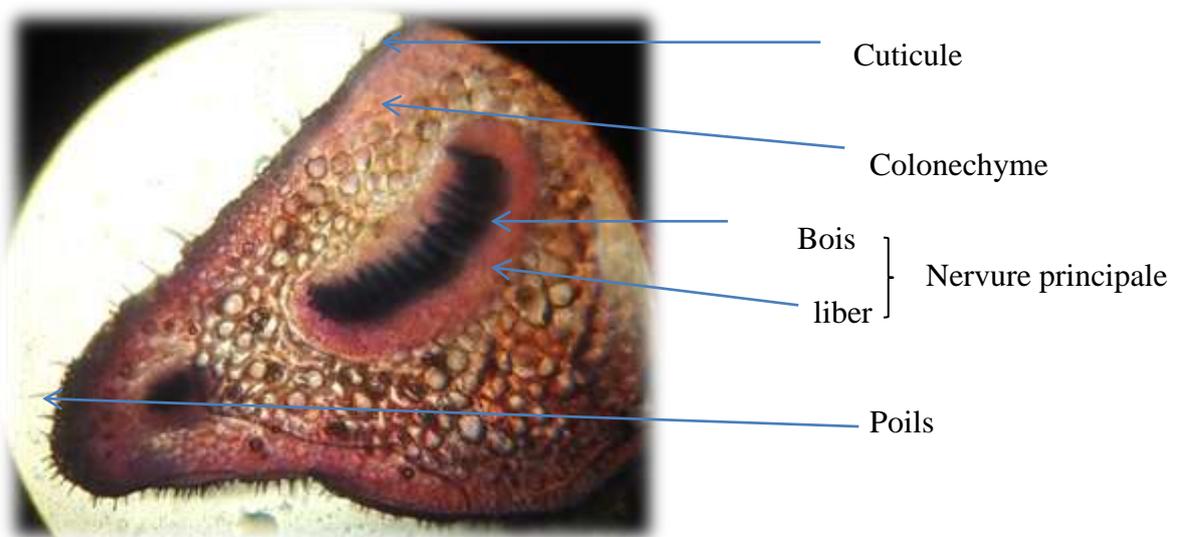


Figure N°20: Coupe histologique du pétiole de *Melissa officinalis* (Gx 40) (originale, 2015). (b)

(a): La coupe réalisée au microtome.

(b) : La coupe réalisée à main levée.

Selon les Figures N°19 et 20 nous observons de l'extérieur vers l'intérieur dans le pétiole de *Melissa officinalis* les tissus suivants :

- La cuticule tapissée des poils pluricellulaires
- Le collenchyme.
- Les structures secondaires qui impliquent les nervures et qui représentent le bois et le liber.

Les coupes histologiques réalisées par microtome et à main levée au niveau des organes étudiés montrent l'absence de cellules sécrétrices, de poches sécrétrices ou de canaux excréteurs.

Les plantes de la famille des lamiacées sont caractérisées par les poils sécréteurs. On les trouve dans le romarin le basilic (Bottega et Corsi, 2000 ;Marin *et al.*, 2006). Ce sont des trichomes glandulaires capités pouvant synthétiser et contenir l'huile essentielle, elles sont constituées d'une seule cellule basale encreée dans l'épiderme, d'un cou porteur court unicellulaire ou bicellulaire et d'une large tête sécrétrice constituée d'une ou de huit cellules sécrétrices disposées en rosaces.

La récupération lors de l'extraction des huiles essentielles se fait par rupture de la cuticule (Sharma *et al.*, 2003; Wagner *et al.*, 2004 ).

On peut conclure que les poils épidermiques à tête vésiculaire sont responsables de la sécrétion de l'HE de *Melissa officinalis*.

### III.2. Extraction et rendement en huile essentielle

L'huile essentielle extraite à partir des organes aériens de la plante séchée a été obtenue par le procédé de l'entraînement à la vapeur d'eau le Rendement est représenté dans le Tableau IV.

Tableau IV: Rendement en Huile Essentielle.

Poids de la plante en g	Quantité d'HE en g	Rendement %
4297,13	0.465±0.265	0,20 ± 0,2097

Nous avons obtenus un rendement en HE de 0,20%. D'après Teuscher *et al.*, (2005), la teneur en HE de la mélisse varie de 0,05 à 0,3 %.

### ➤ Caractères organoleptiques

Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* sont présentés dans le tableau V :

Tableaux V: Caractères organoleptique de l'Huile essentielle de *Melissa officinalis* L.

	Couleur	Odeur	aspect
<i>Melissa officinalis</i>	Jaune.	Très forte, citronnée et très agréable.	Liquide
Anonyme, 2008	Jaune.	Citronnée caractéristique.	Liquide- limpide mobile

Après extraction nous avons obtenus une huile essentielle liquide de couleur jaune avec une odeur très forte citronnée et très agréable. Ses caractères sont conformes au caractère donné par (Anonyme, 2008) c'est un paramètre qui indique la bonne qualité de notre Huile Essentielle.

### III.3. Indice physicochimique de l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis*

Les propriétés physico-chimiques telles que : l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de saponification et autre constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par la pharmacopée européenne et aux normes AFNOR. Ainsi, nous avons reporté dans les tableaux VII et VIII les résultats des caractères physico-chimiques de l'huile extraite.

#### III.3.1 Indices physiques

Le tableau VI représente un état récapitulatif des résultats des caractères physiques de l'Huile essentielle de *Melissa officinalis* L.:

Tableau VI : Résultats des analyses physiques.

	Indice de réfraction	Densité relative
Les résultats obtenus	1.448	0.891
Thoby et <i>al.</i> , 2009	1.488	0.902
Anonyme, 2015	1.452 - 1.487	0.880- 0.920
Abdelatif F., et <i>al</i> 2014	1.349	0.909

### ➤ Densité relative

D'après les résultats (Tableau VI) concernant la densité obtenue de l'Huile, on peut dire que cette dernière est conforme aux normes et se situe à l'intérieur de l'intervalle donné par (Anonyme, 2015) (0.880 - 0.920).

Selon Thoby et *al.*, (2009) l'H.E de Mélisse a une densité de 0,902 , Abdelatif et *al* (2014) ils ont obtenu une valeur de 0.909.

### ➤ Indice de réfraction

L'indice de réfraction de l'huile essentielle de la mélisse est égal à 1.448. Cette valeur se rapproche des deux résultats trouvés par Thoby et *al.*, (2009) (1.488) et par Abdelatif et *al* (2014) ( 1.3493).

L'indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. Pour certains auteurs le faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière, ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (Kanko et *al.*, 2004).

### III.3.2. Indices chimiques

Les résultats des indices chimiques sont rassemblés dans le Tableau VII :

Tableau VII : Résultats des analyses chimiques.

	Indice d'acide	Indice d'ester	Indice de saponification	Karl Fischer
Les résultats	3.41	29.43	32.84	7.23 %
Abdelatif F., et <i>al</i> 2014	1.2	–	23.59	–

### ➤ L'Indice d'acide

Le contrôle de l'indice d'acide  $I_A$  permet d'évaluer la qualité des HE : donne une appréciation sur le taux des acides libres (Goetz, 2007). Une valeur élevée indique une dégradation de l'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation. Inversement, un  $I_A$  inférieur à 2 est un indice de bonne conservation de l'HE (Salle, 1991).

L'HE de *Melissa* a  $I_A$  égal à 3.41. Cet indice est supérieur à celui cité par d'Abdelatif et *al* (2012). Cela peut être dû à la dégradation de l'HE durant la conservation.

➤ Indice d'ester

L'indice d'ester renseigne sur la quantité des acides gras liés, (Kanko et *al.*, 2004)  
L'indice d'ester de l'HE de la mélisse est de 29.43.

➤ Indice de saponification

Un indice de saponification correspond à des acides gras comportant une chaîne de carbone plus longue,  $I_s$  de l'HE de la mélisse est de 32.84. Ce résultat est relativement supérieur à celui trouvé par Abdellatif et *al* 2014.

➤ Teneur en eau

La teneur en eau dans l'huile essentielle de la mélisse est de 7.23%.

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape plus importante mais demeure non suffisante pour caractériser l'HE, pour cela on a passé à la détermination de profil de chromatographie.

### III.4. Analyse de l'Huile essentielle de *Melissa officinalis* par la CGMS

L'analyse de l'HE de *Melissa officinalis* par CG-MS, nous a permis d'obtenir le chromatogramme représenté dans la Figure N° 21 et (Annexe II).

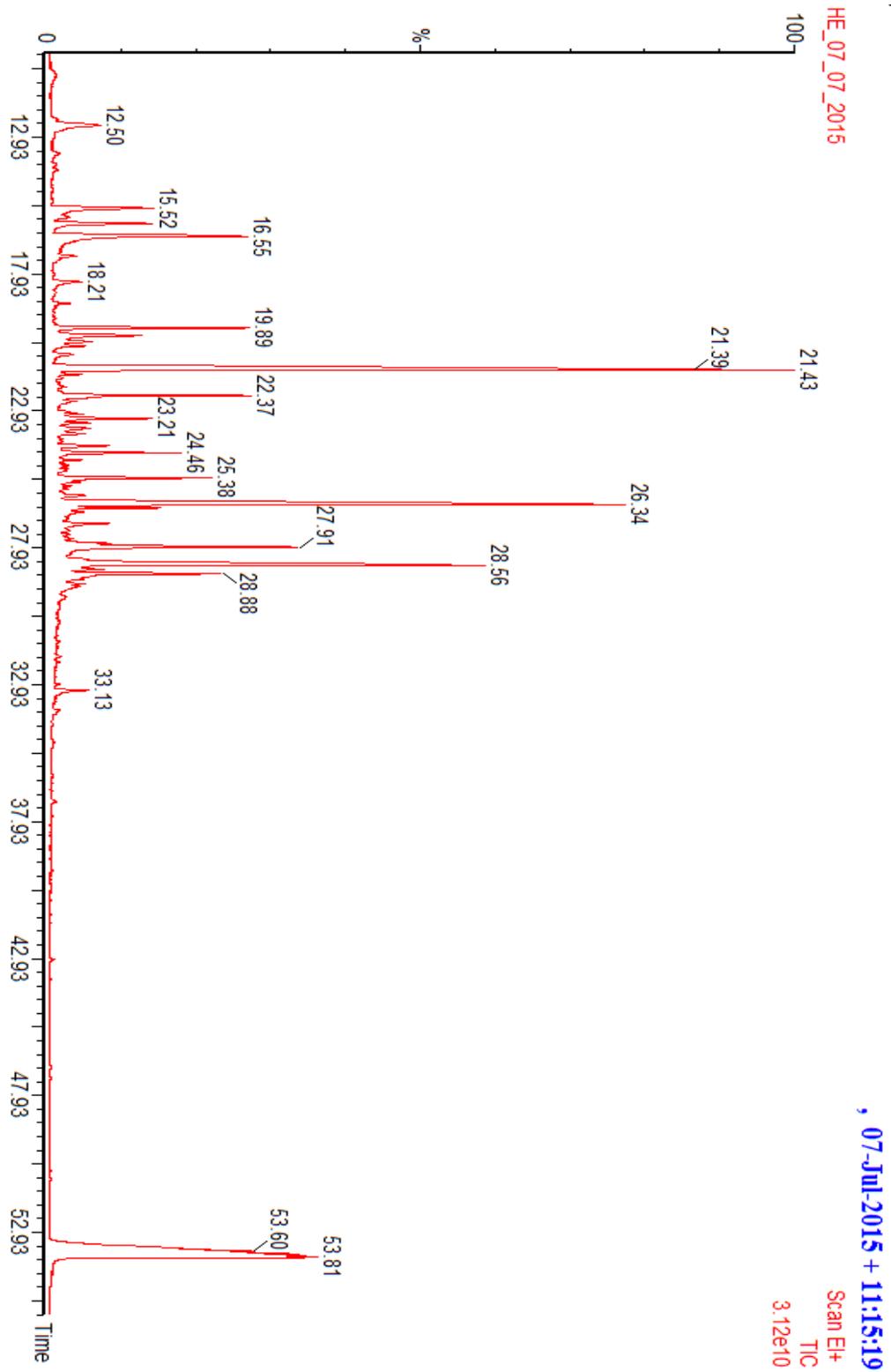


Figure N°21 : Chromatogramme de l'HE extraite par entraînement à la vapeur et analysée par la CG/MS (Originale, 2015).

## Résultats et discussions

L'analyse des huiles essentielles de la partie aérienne nous a permis l'identification de 17 composés (Annexe II), sont présentés dans le tableau et les figures suivantes :

Tableau VIII: Les composés présents dans l'huile essentielle de la mélisse

Temps de retentions (min)	Composés	Catégorie	Effet thérapeutique*
12.48	Citronella	Aldéhyde monoterpènes	Sédatif, Anti inflammatoire, Anti septique, Antivirus sur Herpès simplex virus type 2
15.52	Z-Citral	Aldéhyde monoterpènes	Calment, Antiseptique, Antiviral, Anti inflammatoire
16.08	(S)-(-) Citronellic Acide, Méthyle ester	Monoterpènes carboxylic acide.	
18.20	Méthyl geranate	Ester	
19.89	Alpha copaène	Hydrocarbure Sesquiterpènes	Anti inflammatoire, Régulateur psychique, Relaxant.
20.16	Cis Myrtanol	Monoterpènes	Antiviral, Stimulant digestif
23.19	Trans beta caryophyllène	Hydrocarbure Sesquiterpènes	Anti inflammatoire, Antispasmodique, Antiviral, Anti tumoral.
22.37	Alpha humulene	Hydrocarbure Sesquiterpènes	Anti inflammatoire, Anti tumoral.
23.19	Germacrène D	Hydrocarbure Sesquiterpènes	Anti fongique, Anti bactérienne.
24.08	Gamma Muurolene	sesquiterpènes	Anti inflammatoire, Antispasmodique, Antiviral,
24.47	Delta Cadinene	Hydrocarbure Sesquiterpènes	Anti inflammatoire, Régulateur psychique, Relaxant
25.38	Caryophyllène oxide	Oxyde terpénique	Anti bactérienne, Anti inflammatoire, Anti proliférateur, Anti oxydante, Sédatif
27.04	Humulene oxide	Sesquiterpènes	Anti-inflammatoire
28.52	Caryophylla 3,8 (13) dien 5Beta-ol	Sesquiterpènes	Anti-inflammatoire, Calmant
28.78	(4S-5R)-5, hydroxycaryophyl-8-(1-3) ene 4,12 epoxide	Sesquiterpènes	Anti-inflammatoire, Calmant
33.13	2-penta decanone 6, 10, 14 trimethyl	Keton	
53.78	DI-N octyl phthalat	Ester de phtalat	Inhibe la synthèse des prostaglandines et affect la synthèse endocrinienne

(\* Roux, 2008 ; Annonyme, 2015)

## Résultats et discussions

Le chromatogramme (Figure N°21) issu de l'analyse de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L. comporte quatre pics nécessaires. Chaque pic a été soumis à une analyse par spectrométrie de masse permettant ainsi d'identifier chaque molécule.

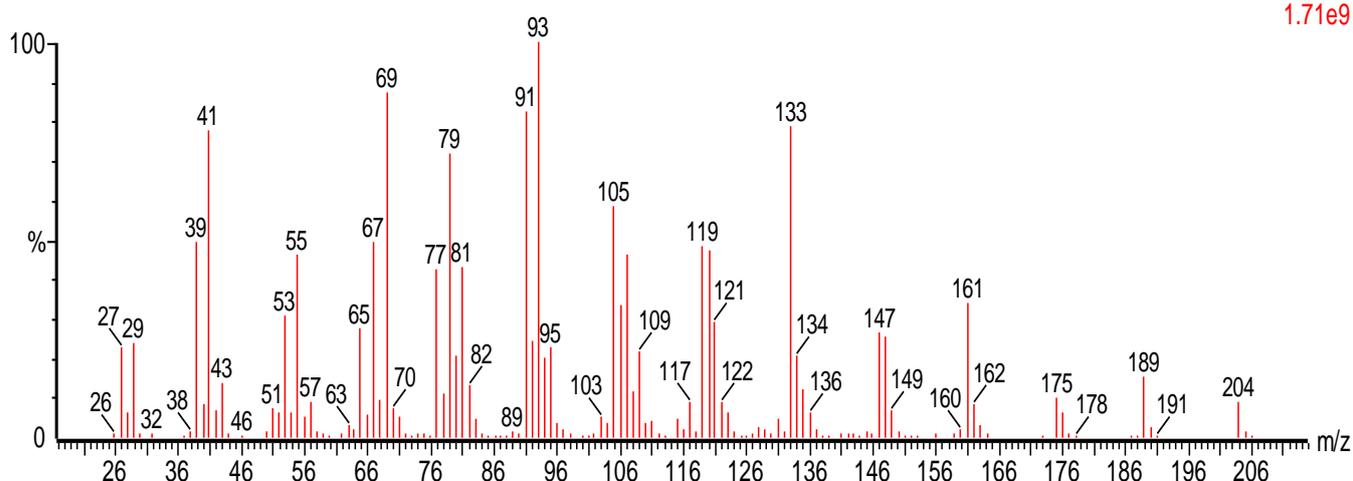
Le pic n°1 correspond au spectre de masse du Trans (Beta) caryophyllène (Figure N°22) qui est un sesquiterpène.

$T_R = 23.19$  mn.

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3082 (21.415) Cm (3082-(3045+3106))

Scan EI+  
1.71e9



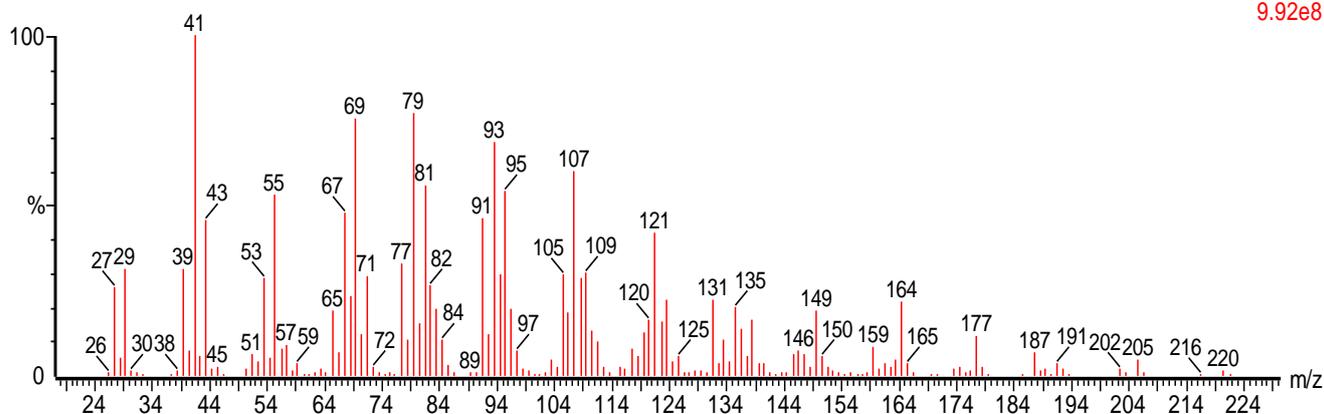
Le pic n°2, correspond au spectre de masse d'oxyde de caryophyllène (Figure N°23) appartenant à la famille des oxydes terpéniques. C'est un stéréoisomère de l'époxyde de caryophyllène.

$T_R = 25.38$  mn.

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 4062 (26.316) Cm (4062-(4042+4081))

Scan EI+  
9.92e8



Le pic n°3 correspond au spectre de masse de (Figure N°24) Caryophylla 3,8 (13) dien 5Beta-ol qui appartient à la famille des sesquiterpènes.

$T_R = 28.52$  mn.

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 4503 (28.522) Cm (4503-(4489+4520))

Scan EI+  
4.57e8

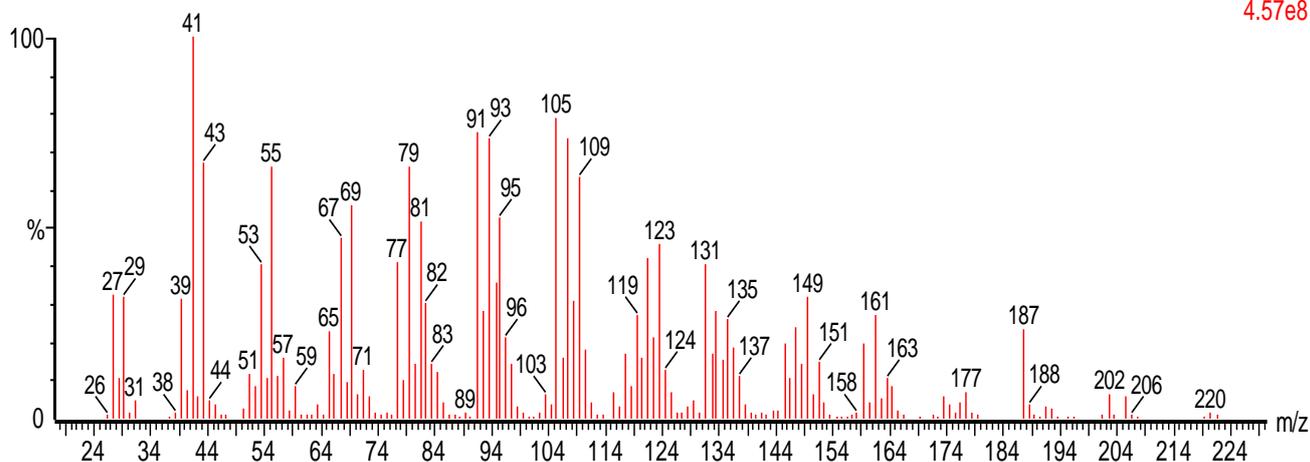


Figure N°24: Spectre de masse de Caryophylla 3,8 (13) dien 5Beta-ol (Originale, 2015).

Le pic n°4 correspond au spectre de masse de DI-N octyl phthalat (Figure N°25) qui est un ester.

$T_R = 53.78$  mn.

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 9554 (53.787) Cm (9554-(9536+9580))

Scan EI+  
5.42e8

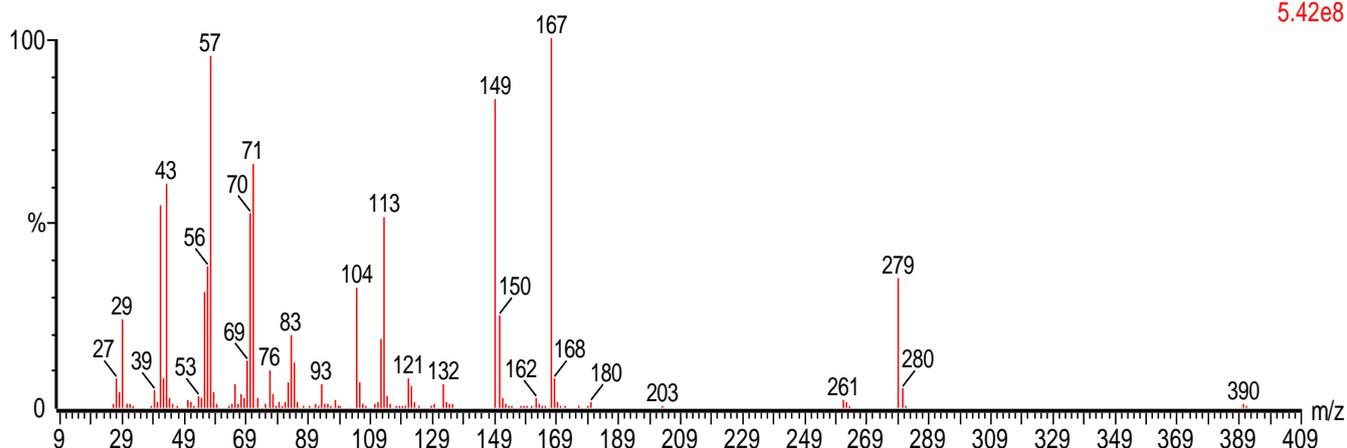


Figure N° 25: Spectre de masse de DI-N octyl phthalat (Originale, 2015).

D'après nos résultats, l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis* L. elle est composée majoritairement par Trans (Beta) caryophyllene, l'oxyde de caryophyllene, Caryophylla 3,8 (13) dien 5 Beta-ol, DI-N octyl phtalat.

Selon les résultats obtenus par (Feknous et *al.*, 2012) l'huile essentielle de la mélisse récolter à Blida et composer majoritairement par néral ou citral b, bergamotene, l'acétate de citronellyl, l'oxyde de caryophyllene. D'autre part, l'essence volatile d'Alger possède du géraniol, néral et le citronellal (Abdellatif et al, 2014). Ces constituants majoritaires qui caractérisent cette HE peuvent varier considérablement en fonction de plusieurs paramètres notamment les conditions de stockage ainsi que l'équipement et le mode d'extraction.

On constate que l'huile essentielle de *Melissa officinalis* est principalement composée par des aldéhydes monoterpéniques et des sesquiterpènes. De plus une attention a été accordée au rôle pharmaceutique et médicinal de l'aldéhyde mono terpénique et des sesquiterpènes. Pour les aldéhydes monoterpénique (le citral et le citronellal) ils sont responsables de l'odeur caractéristique de citron (Wichtl et Anton ., 2003) et ont de multiples action pharmacologique, ils peuvent être anti inflammatoire, anti hypertensif, sédatif, antiviraux. Les Hydrocarbures sesquiterpéniques peuvent avoir une action anti inflammatoire et anti histaminique (Roux, 2008).

### III.5. Activité antioxydante

Nous avons réalisé le test du de DPPH pour l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L.

#### ➤ Test antioxydant par DPPH :

Le radical libre DPPH permet l'estimation du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Melissa officinalis*. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité anti-radicalaire de cette huile (Figure N°26).

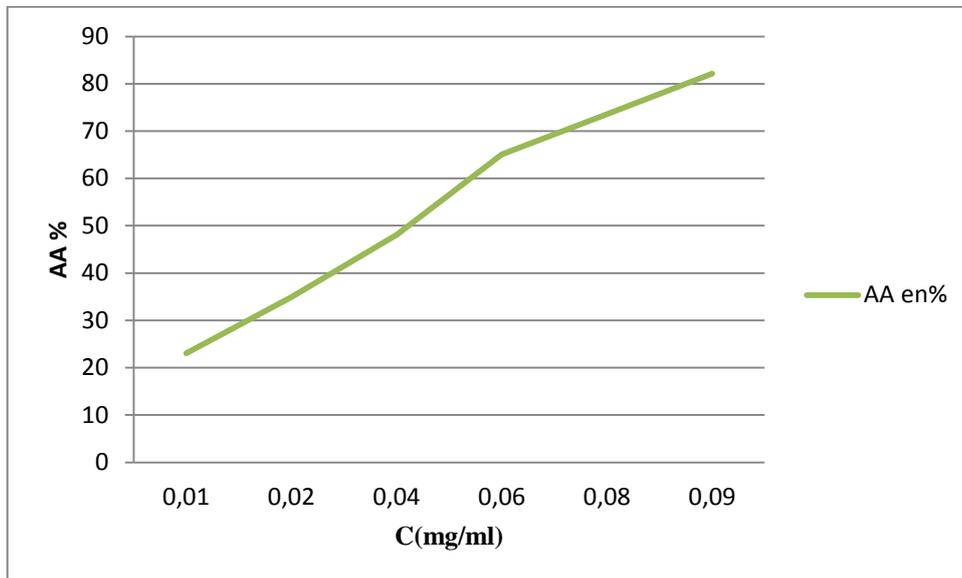


Figure N° 26 : Résultats du test antioxydant par DPPH de l'huile Essentielle.

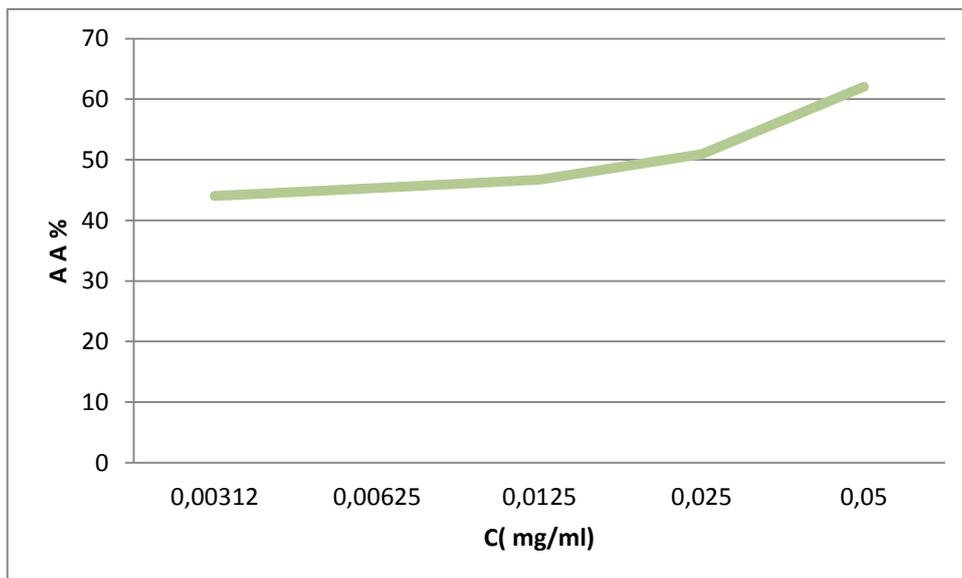


Figure N°27 : Résultats du test antioxydant par DPPH de l'Acide Ascorbique.

Nos résultats exprimés en pourcentage de l'activité anti-radicalaire, révèlent que l'huile testée ainsi que l'Acide ascorbique pris comme référence, sont des anti-radicalaires.

On observe que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration du standard ou de l'huile essentielle de *Melissa officinalis*.

L'augmentation simultanée du pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH de l'extrait de l'huile essentielle de *melissa officinalis* met en évidence la présence de l'activité antioxydante.

La concentration qui inhibe 50% des radicaux libres est représentée graphiquement, nous avons obtenu les résultats suivants :

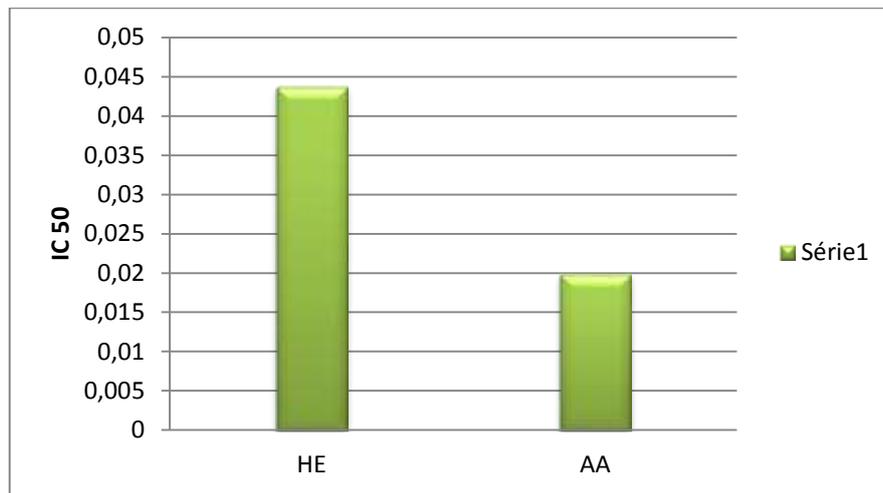


Figure N° 28: la valeur d'EC 50 de l'Huile Essentielle est l'acide ascorbique

Comme représenté dans la Figure N°28, EC 50 de l'huile essentielle de la mélisse et de l'acide ascorbique est égal à 0.019 et 0.043 respectivement

Nous pouvons dire que l'Huile Essentielle de la mélisse présente une faible activité antioxydante par rapport à celle de l'acide ascorbique.

D'après Feknous et *al.*, (2012), l'extrait méthanolique est riche en flavonoïdes. Ce dernier est un excellent antioxydant naturel. Au contraire, l'activité antioxydant des HE de la mélisse est très faible car elle est riche en composés phénoliques.

La mélisse présente une activité antioxydante et que la faculté de piéger le radical libre DPPH est puissante avec l'extrait méthanolique mais elle est modeste à très faible dose pour l'HE.

### III.6.Résultats des activités biologiques

#### III.6.1. Activité anti inflammatoire de l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis*

L'Activité anti inflammatoire de l'essence de *Melissa officinalis* a été effectuée in vivo par la méthode de l'œdème à la carraghénine.

Les résultats de l'évolution de l'inflammation à travers le calcul du poids des PPG chez les groupes témoin et essais sont présents dans le tableau XI.

Tableau XI: Cinétique de réduction de l'inflammation dans les PPG des souris.

Traitement	Quantité	PPG m± ET (en g)	PPD m± ET (en g)	Réduction de l'œdème (%)
T <sup>-</sup>	0.5 ml	0.222 ± 0.011	0.172 ± 0.008	-
T <sup>+</sup>	25 mg/ ml	0.193 ± 0.0100	0.165 ± 0.005	40.67
HE	0.1 g/ ml	0.213 ±0.010	0.166 ± 0.008	30.52
	0.01 g/ml	0.251± 0.019	0.171 ± 0.005	-14.41

T<sup>-</sup> : témoin négatif (eau physiologique, 0.9% Na Cl) ; T<sup>+</sup> : témoin positif (Clofénal) ; PPG: Pattes Postérieures Gauches ; PPD : Pattes Postérieures Droites ; HE : huile essentielle ; m ± ET : Moyenne ± Ecart-Type.

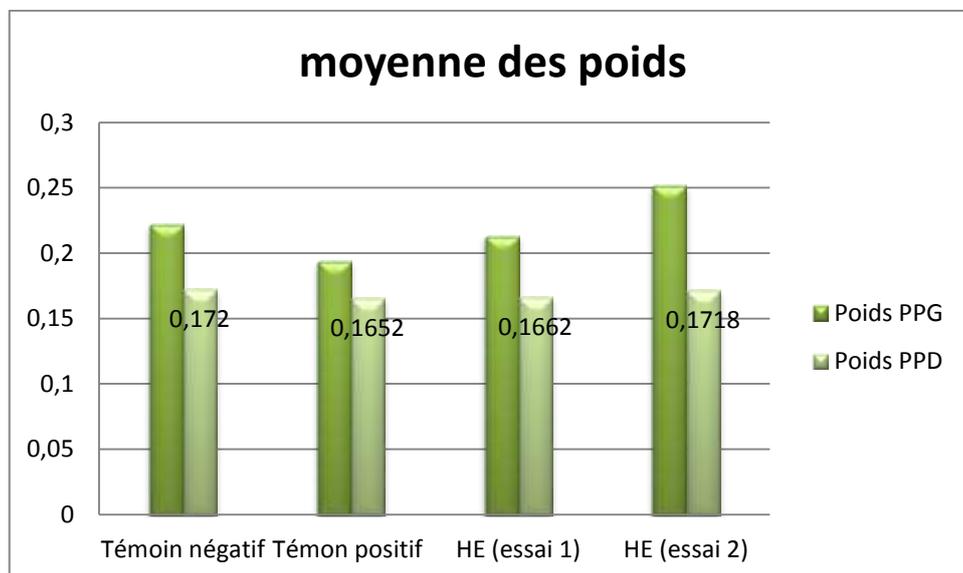


Figure N°29: Variation du poids des pattes postérieures droites et gauches pour chaque lot.

T<sup>-</sup> : témoin négatif (eau physiologique, 0.9% Na Cl) ; T<sup>+</sup> : témoin positif (Clofénal) ; PPG:

Pattes Postérieures Gauches ; PPD : Pattes Postérieures Droites ; HE (essai1) 0.1 mg/ml; HE (essai2) (0.01mg/ml).

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire rapportés dans le Tableau XI et dans la Figure N°29 montrent les variations du pourcentage de réduction de l'œdème (PPG des souris) des différents essais (T+, HE à 0.1 mg/ml et 0.01 mg/ml), par rapport au témoin négatif (eau physiologique).

L'administration de la carraghénine dans les PPG a provoqué un gonflement et un œdème dans ces dernières et ce dans tous les lots. Le témoin négatif, traité avec l'eau physiologique, est le lot qu'a présenté le poids des PPG le plus important. Cet œdème diminue progressivement avec le temps jusqu'à la fin de l'expérience (4 h). La même remarque a été observée avec les autres lots. La cinétique de réduction de l'œdème est décroissante (FigureN°29).

L'huile essentielle de *Melissa officinalis* administrée par voie orale avec une dose de 0.1g/ml a induit une réduction d'œdème des pattes postérieures gauche des souris de 30,52%, ce résultat est proche à celui de Déclofenac® qui est de 40,67 %.

Le lot traité avec le Diclofenac est celui qui a présenté un pouvoir de réduction de l'inflammation le plus élevé suivi par celui traité avec l'extrait de 0.1 g/ml. Aucune différence significative n'a été notée entre ces 2 lots.

Le lot traité avec la dose de 0.01 g/ml a présenté l'activité anti-inflammatoire la plus faible, avec une différence hautement significative en comparaison avec le contrôle positif.

Cette conclusion a été confirmée par l'étude statistique (analyse des variances ANOVA suivie par le test de comparaison par paires de Fisher) (Annexe II).

Nous pouvons déduire que l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis* présente un effet anti-inflammatoire important à la dose de 0.1g/ml cependant, à la dose de 0.01g/ml il ne présente pas un effet anti-inflammatoire.

Ceci est dû à la composition chimique de l'huile essentielle riche en alcool terpénique et mono terpénique.

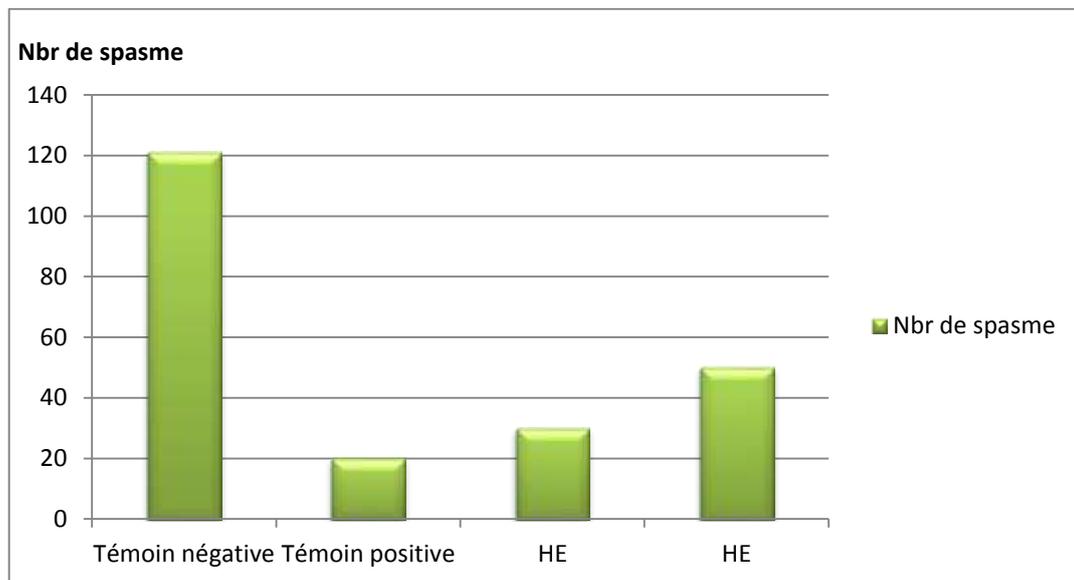
III.6.2. Activité antispasmodique

L'activité antispasmodique de l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis*. a été évaluée par le dénombrement des spasmes ou de contractions abdominales induites chez les souris par injection intra-péritonéale de l'acide acétique. Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau X, et la figure ci-dessous illustre le pourcentage de protection de l'Huile essentielle en comparaison avec le médicament de référence et le lot témoin:

Tableau X: Activité antispasmodique de l'huile essentielle du *Melissa officinalis*.

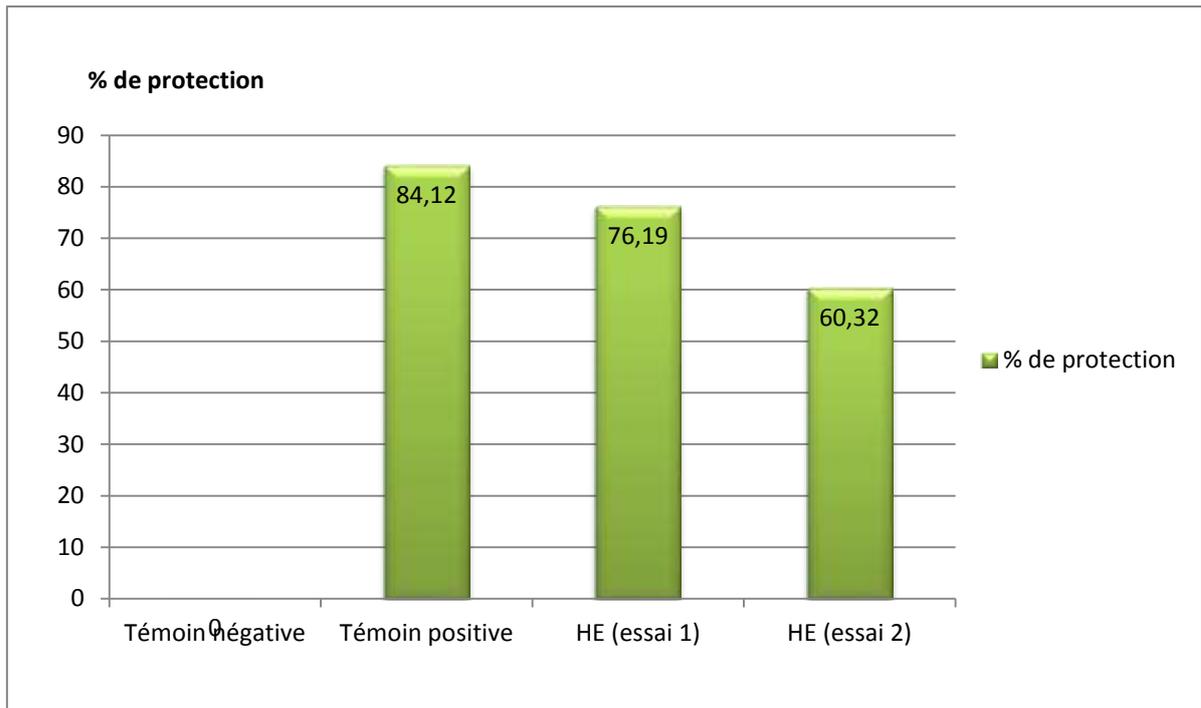
Traitement	Quantité	Nbr des spasmes	% de protection
Témoin négatif	0,5ml	25,2±5,85	
Témoin positive	25 mg/ml	4±1,2	84,12
HE	0,1g/ml	6±1,2	76,19
HE	0,01g/ml	10±0,8	60,32

Témoin négatif : eau physiologique ; Témoin positif : HE : huile essentielle.



Témoin négatif (eau physiologie) ; T+ : référence (Spasfon ®) ; HE (essai1) 0.1 mg/ml; E : HE (essai1) (0.01mg/ml).

Figure N° 30: Nombre de spasme de l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis* en comparaison avec le médicament de référence



Témoin négatif (eau physiologie) ; T+ : référence (Spasfon ®) ; HE (essai1) 0.1 mg/ml; E : HE (essai1) (0.05mg/ml).

Figure N° 31: Pourcentage de protection de l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis* en comparaison avec le médicament de référence

Après 10 min de l'injection de l'acide acétique au lot témoin des souris, une moyenne de 20 crampes abdominales a été enregistrée, l'administration de l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis* L. à 0.1 g/ml et 0.01 g/ml, réduit la moyenne des crampes abdominales avec un pourcentage de protection de 76.19% et 60.32% respectivement, ces pourcentages sont proches de celui de la solution de référence 84.12%, avec une moyenne de 4 spasmes. Concernant nos échantillons en HE, nous remarquons que plus la concentration injectée augmente, plus le nombre de spasme diminue. Le nombre des spasmes était de l'ordre de 30 et 50 et une moyenne de 6 et 10 pour les extraits de 0.1 et 0.05 g/ml, respectivement.

Les lots traités avec les extraits 0.1g/ml et 0.01g/ml ont présenté un pouvoir antispasmodique statistiquement similaire à celui du médicament de référence ( $p > 0.05$ ). Les lots des essais et celui du médicament ont réduit le nombre de spasmes d'une façon très hautement significative ( $p < 0.001$ ) en comparaison avec le témoin négative. Cette conclusion a été confirmée par l'étude statistique (analyse des variances ANOVA suivie

par le test de comparaison par paires de Fisher) (Annexe II).

Les plantes aromatiques ont des propriétés spasmolytiques de par leur contenu en huile essentielle. De nombreuses études *in vitro*, réalisées sur des préparations isolées d'intestins tels que l'iléon de cobaye, la souris ou le chat, ont prouvé que ces plantes aromatique antagonistes les spasmes induits par l'acétylcholine et l'histamine au niveau du muscle lisse (Wichtl et Anton, 2003).

Le mécanisme d'action probable serait que les composants, aux propriétés lipophiles et au faible poids moléculaire des HE, s'intégreraient de manière réversible aux membranes cellulaires des muscles lisses ce qui inhibe l'entrée de calcium dans les cellules est empêcherait, à terme, la contraction de ces organes (Bruneton, 2009).

Le travail réalisé avait pour objectif la valorisation de la fraction aromatique d'une plante médicinale connue sous le nom de citronnelle ou piment d'abeille (*Melissa officinalis*), à travers la détermination de certaines propriétés biologiques.

Dans un premier temps, nous nous sommes consacrées à l'observation des coupes histologiques, les coupes réalisées ont révélés l'absence de cellules et de poches sécrétrices ou de canaux excréteurs.

L'extraction de l'essence aromatique de la plante a été accomplie par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau, le rendement de l'HE a atteint 0,20%, dont les propriétés organoleptiques elles sont très appréciées en parfumerie.

Les tests physiques des indices de réfraction (1.448), la densité (0.891), sont conformes aux résultats donnés par Thoby et *al.*, (2012), les valeurs des tests chimiques l'indice d'acide (3.41), l'indice de saponification (32.48), l'indice d'ester (29.43), et la teneur en eau (7.23%), dépassent celles de Abdellatif F et *al.*, (2014).

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique fine qui a permis d'identifier la composition chimique de *Melissa officinalis* L. En effet, elle a permis de révéler que l'extrait volatil de la plante est composé essentiellement par des aldéhydes monoterpéniques et des sesquiterpènes

Par ailleurs l'étude du pouvoir antioxydant testé par la méthode de DPPH a montré que l'Huile essentielle de la mélisse a une faible activité anti oxydante.

Concernant l'activité anti-inflammatoire de l'HE évaluer par la méthode de l'œdème induit par la carraghénine, a montré que l'Huile Essentielle de *Melissa officinalis* présente un effet anti-inflammatoire important à la dose de 0.1 g/ml, ce dernier a un pourcentage de protection d'œdème (30.51%) proche de celui du médicament de référence Diclofenac avec un pourcentage égal à 40.67%. Cependant, à la dose de 0.01g/ml elle présente un très faible effet anti-inflammatoire.

Pour l'activité antispasmodique, nous 'avons constaté que l'Huile essentielle à 0.1g/ml et 0.01g/ml présente un pourcentage de protection égale à (76.19 et 60.32% respectivement) assez proche de celui du médicament de référence (84.12%), ce qui indique que l'Huile Essentielle présente une bonne activité antispasmodique.

En aromathérapie, l'emploi des huiles aromatiques, en particulier celle du melissa est à recommander car ses molécules terpéniques apparaissent comme une solution naturelle et efficace pour faire partie intégrante de l'arsenal thérapeutique.

Comme perspectives et en vue de poursuivre et approfondir nos connaissances sur cette plante à parfum, notamment l'aspect phytothérapeutique, il serait intéressant de :

- Déterminer une éventuelle activité anti-inflammatoire de l'HE en utilisant d'autres méthodes.
- Evaluer la toxicité de l'HE *in vivo*.
- Evaluation des différentes activités biologiques telles que l'activité sédatrice.

# References bibliographiques

## A

Abdellatif F., Boudjella H, Zitouni A, Hassani A., 2014: “Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L.” Excli Journal 2014;13:772-781 – ISSN 1611-2156 Received: June 28, 2014, accepted: July 09, 2014, published: July 17, 2014.

Afnor. 2000: “ Recueil de normes : Les huiles essentielles”, Tome I. Echantillonnage et méthodes d’analyse. Afnor. Paris, 440 p.

Aït Youssef M., 2006: “ Plantes médicinales de Kabylie ”, Editions Ibis Press, Paris, 349p.

Andreas, B., (1998), : “ Guide des plantes du bassin méditerranéen ”, édition Française, Les éditions Eugen Ulmer, 400p.

Anne-Sophie et Nogaret-Ehrhart, 2003:“ La phytothérapie – se soigner par les plantes ”, Edition Groupe Eyrolles, Deuxième tirage 2006, 191p.

Anonyme, 2015 :[www.wikiphyto.org](http://www.wikiphyto.org).

Anonyme, 2015: Certificate of analysis sheet organic Essentiel oil- Lemon blam *Melissa officinalis*.

Anonyme, 2015: <http://www.sauvagesdupoitou.com>.

Anonyme, 2008: Laboratoire Florame Aromathérapie Huile essentielle de la mélisse lot 8859.

APG III: Tela botanica *Melissa officinalis* e Flor, la flore électronique de Tela botanica BDTFX V.3.00.

## B

Baba Aissa F. ,2010: Encyclopédie des plantes médicinales, flore de d’Algérie et du Maghreb, substances végétales d’Afrique d’orient. Edition : Librairie Moderne Rouïba.

Baba Aissa F., 2011: “Encyclopédie des plantes utiles ”, Edition el Marrifa, 471p.

Bardeau F., 2009 : “ Les huiles essentielles : Découvrir les biens faits et les vertus d’une médecine ancestrale ”, Edition LANORE, p 244.

Bardeau F., 2009 : “La pharmacie du bon dieu” Edition LANOR, p169.

Beloued A., 2005: “ Plantes médicinales d’Algérie ”, Edition office des publications universitaires 284p.

Bérengrère A., et al., 2008: “Les plantes médicinales”, p15,17.

Berkan T, Ustunes L, Lermioglu F, Ozer A., 1991: “Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of an aqueous extract of *Erythraea centarium*”. *Planta Med.* ;57:34–37.

Berton H., 2007: “Sorcellerie, sorciers, guérisseurs, médecine magique et traditionnelle”

Bottega S. and Corsi G., 2000: “Structure, secretion and possible functions of calyxglandular hairs of *Rosmarinus officinalis* L.”. *Botanical J. Linnean Soc.* 132: 325–335.

Boullard, B., 2001: “ Dictionnaire: Plantes médicinales du monde récolte et croyance ”, Editions ESTEM.

Bruneton J., 1993: “Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales”. 2ème Edition .Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 915p.

Bruneton J., 1999: Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed. Tec & Doc, Paris p 1120.

### C

Carlier, V., 2005: “ Herbière médicinales ”, Aubanel, une marque des éditions Minerva, Genève Suisse, 215p.

Croteau F., 1986: Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of the essential herbs: spices and medicinal plants, Recent advances in botany, horticulture and pharmacology. Vol. , 1, Craken, Simon, Oryx Press, Phoenix.

### D

De maak, F. et Sablier, M., 1997 :“ Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse”, Techniques de l'ingénieur - Traité, Analyse et Caractérisation, pp 2614.

Delaveau P., 2001: “Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique ” Edition Louis Pariente.

Delille L., 2007: Les plantes médicinales d'Algérie ”, Berti éditions, Alger 240p

Delille L., 2013: “Les plantes médicinales d'Algérie”, 3<sup>me</sup> Edition Berti, p168.

### F

Feknous S., Saidi F, Mohamed Said , 2012 : Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractère thérapeutique, *Melissa officinalis* L.

Festy, D., 2007: “ Ma bible des huiles essentielles ”, Editions leduc. S, Paris, p 17,18.

### G

Gabe M, 1963: “Technique Histologiques”, Edition Masson, 1113p.  
Gabe M., 1968: Technique histologique Edition Masson, 1113p.  
Gazengel, J. et Orecchioni A.M., 2013: “ Le préparateur en pharmacie 2<sup>me</sup> Edition, Edition Chantal arpin, p 1251.  
Gladstar R., 2012: “Cultiver et utiliser les plantes médicinales” Edition Marabout, p 151.  
Goetz P, 2007 : La phytocosmétologie thérapeutique. Ed. Springer- verlag, Paris.257p.  
Gotez P., Ghedira K., 2012 : “ Phytothérapie anti infectieuse”, Edition Sprining, p305.  
Goyet C., 2013: “Guide de poche de phytothérapie”, Edition Quotidien Malin, p15.  
Grünwald J. et Jänicke C., 2006: “ Le guide de la phytothérapie ”, Edition Marabout, 416p.  
Guignard J.L., 2001: “ Botanique systématique moléculaire”, Edition Masson Paris, p 189.

### *H*

Halimi A, 2004: “ Les plantes médicinales d’Algérie”, Edition Berti, p304.  
Hayon, 2007: “ Les plantes médicinales qui nous soignent tradition et thérapeutique”, Edition Ouest France, p 22, 23.

### *I*

Iserin P., 2001: Encyclopédie des plantes médicinales (identification, préparation, soins) Edition la rousse.

### *K*

Kaloustian J et al ., 2013: “ La connaissance des Huiles Essentielles: qualitologie et aromathérapie”, p2.

Kanko C., Sawaliho B.E., Kone S., Koukoua G., N’Guessan YT., 2004: Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippiamultiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus* ». Comptes rendus Chimie7, pp 1039–1042.

### *L*

Lacoste S., 2012: “Ma bible des trucs de santé ”, Edition DUC. S, p161.  
Lardy M., 2007: “ L’aromathérapie et Huile Essentielles” Kinésithérapie la revue, Volume7 issue 61 January p14, 17.  
Laurent B., 2007: “Le grand livre des plantes aromatique”. Rustica Edition: 191p.

### *M*

Magnami P., 1979: ‘ ‘Culture et cueillette des plantes médicinales ‘ ’, Edition Hachette, 127 p.

Makhloufi A., 2009 : Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Doctorat d'état en Biologie. P : 01-.

Marin M., Koko V., Duletić-Laušević S., Marin P.D., Rančić D. et Dajicstevanovic Z., 2006: ‘ ‘ Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: Morphology, stereology and histo chemistry’ ’. *S.African J. Botany*. 72: 378 – 382.

Martinetti P., 2013: ‘ ‘Mon Guide des Huiles Essentielles’ ’, Edition Lanore, P 150, 151.

Mathieu M J., Fonteneau J M., 2008. ‘ ‘Le manuel porphyre du réparateur en pharmacie’ ’, wolters kluwer France, p 1409.

Mendhan J, 2006: Analyse chimique quantitative de Vogel, édition De Boeck Université, Belgique- P 496.

Messésué M. ,1975: ‘ ‘Mon herbier de santé’ ’ Edition Robert Laffont.

Milpied H., 2009 : ‘ ‘ Progrès en dermato allergologie’ ’, John libbey Euronext Franc, p 128.

## N

Nedelec, P.Y., 1993: ‘ ‘ Larousse du jardin : Toutes les techniques 1000 plantes de A à Z ’ ’, édition Larousse, 607p.

## O

Osakebe et al., 2004 : ‘ ‘Anti-inflammatory and anti-allergic effect of rosmarinic (AR) acid, inhibition of seasonal allergic rihnoconjocivitis (SAR) and its mechanism, Biofactors’ ’, 21 (1-4):127.38.

## P

Padrini, F. et Lucheroni, M.T., 2003 : ‘ ‘ Le grand livre des huiles essentielles ’ ’, Editions De Vecchi S.A., Paris, (2003), dépôt légal : Avril 2006, 206p.

Paris P.P., et Harbielle A., 1981: ‘ ‘ Abrégé de matière médicale: Pharmacognosie ’. Tome I. Edition Masson, 183 p.

Pereira R.P. et al., 2008: “Anti oxydant effect of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus* Neurochem Res, oct 4.  
Pharmacopée Européenne 2001.  
Pharmacopée Européenne 2008.  
Pharmacopée française ,2012: 11eme édition. ANSM. Paris. France, pp: 55-60.  
Pierre M., lys M., 2007: “ Secret des plantes ’’ , Edition LANOR, p36.

### R

Rouessac, F., 2000: “ Analyse chimique – Méthodes et techniques instrumentales modernes”, Edition Dunod, 5ème édition, 219 p.  
Rouibi A. Chabane D. SAIDI.F, AZINE.K., 2012: “Etude comparative de l'activité Antispasmodique de l'extrait aqueux d'*Ajuga Iva L.* et de l'ibuprofène chez les souris, Biologie, Blida’’, p131-137.  
Roux D, 2008 : “Conseil en Aromathérapie’’2<sup>ième</sup> Edition, Edition pro officina, 187p.  
Roux D., 2005: “ Les nouvelles plantes qui soignent ’’ Alpen Edition, p 92.

### S

Salhi S, Fadli M, Zidane L & Douira A.; 2010 : Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc).P :133.  
Sallé, J. L., 1991: “ Les huiles essentielles – Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie ’’, Editions Frison-Roche, Paris, 167 p.  
Sanchez-Moreno C., Lurrari J-A. and Saura-Calixo, F.A., 1989: “Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols”, J. Sci. Food Agric., p76, 270-276.  
Schauenberg, P. et Paris, F., 1977: “ Guide des plantes médicinales – Analyse, description et utilisation de 400 plantes ’’, Edition Delachaux et Niestlé S.A., Neuchâtel Switzerland, Paris, 3ème édition, p 8,238, 396.  
Sharma S., Sangwan NS. et Sangwan RS., 2003: “Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint.” Current sci. 84 : 544 – 550.  
Sijelmassi A., 2008: “Les plantes médicinales du Maroc’’, Édition le Fennec Casablanca, p285.  
Silvant C., 2014 : “ Aromathérapie : la nature au service de l’humanité’’ Edition Publibook, p14.

### T

Teuscher, E., Anton R. et Lobstein A., 2005: “ Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles ”,522p.

Thoby C., et *al*, 2012: “La Melisse officinal, *Melissa officinalis*” Pharmacie, Nantes p 58.

Thurzova, L., 1981: “Les plantes – santé qui poussent autour de nous ”, Edition Bordas, imprimé en Mars 1985, 268 p.

### W

Wagner G.J., Wang E. et Shepherd RW., 2004. New Approaches for Studying and Exploiting an Old Protuberance, the Plant Trichome. Ann. Bota. Vol. N°1, pp : 3-11.

Wichtl, M., & Anton, R. 2003: Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2<sup>me</sup> Edition, Tec & Doc, EM INTER, Paris, France.

Willem J., 2005: “Aroma famille : 100 petit maux de la vie quotidienne traites par les Huile Essentielles”, Albin Michel parais, p13.

### Y

Youn J et *al.*, 2003: “Beneficial effect of rosmarinic acid on suppression of collagen induced arthritis” J Rheumatol, Jun, 30(6): 1203y-7.

Réactifs, indicateurs et autre

- Acide acétique
- Acide acétique
- Acide acétique dilué
- Acide ascorbique.
- Acide Chlorhydrique
- Alcool
- Carmin aluné
- Carraghénine
- Chloroforme.
- Diclofenac
- DPPH
- Eau de javel (12°)
- Eau distillé
- Eau physiologique
- Ethanol
- Ether
- Formol
- Gélatine
- HCL 0.5M.
- Hydroxyde de potassium 0.1M
- KOH alcoolique 0.5M.
- Paraffine
- Phénol phtaléine
- Rouge de Congo
- Spasfon
- Thiosulfate de sodium
- Toluène
- Vert de méthyl

Appareillage

Equipements	Model
* Microtome	leica
*Plaque chauffante	
*Spectrophotomètre d'adsorption UV/Visible	Shimadzo – 1800
* Microscope	Motic
*Réfrigérateur	UNIEM
*Balance analytique	Sartorios
*Densimètre	
*Karl Fischer	
*Hotte chimique aspirante	Captair

Verreries ; petits matériels et autres

*Tube à essai	*Seringue 2ml
*Pipette en verre graduées (5ml ;10ml ;50ml ;100ml ;150ml )	*Pince
*Burette 25ml ; 50ml	*Lame porte objet
*Becher	*Lamelle
*Erlenmeyer	*Moule
*Entonnoir en verre	*Passoire
*Eprouvette en verre gradué	*Cassette
*Fiole conique	*Porte lame
*Boîtes de Pétrie	*Sonde de gavage
* Ciseaux	



Microscope Photonique



Microtome



Cassette avec échantillon paraffiné



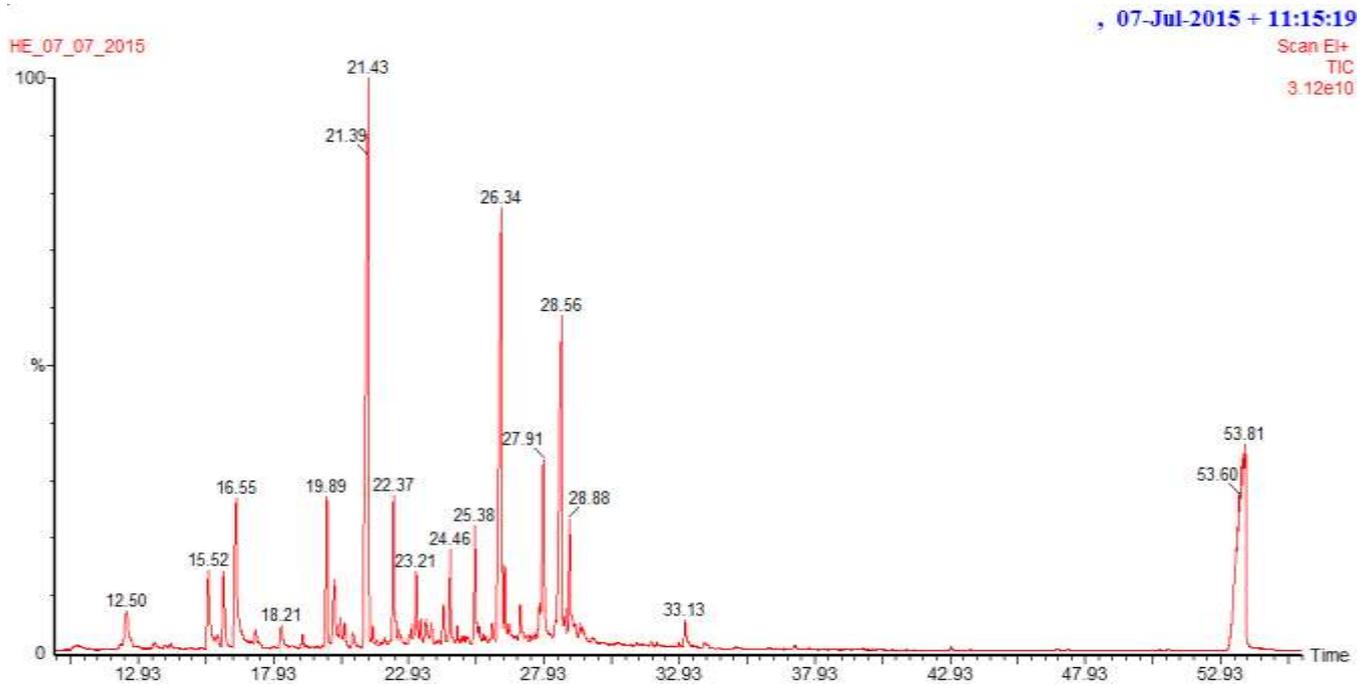
Karl Fischer



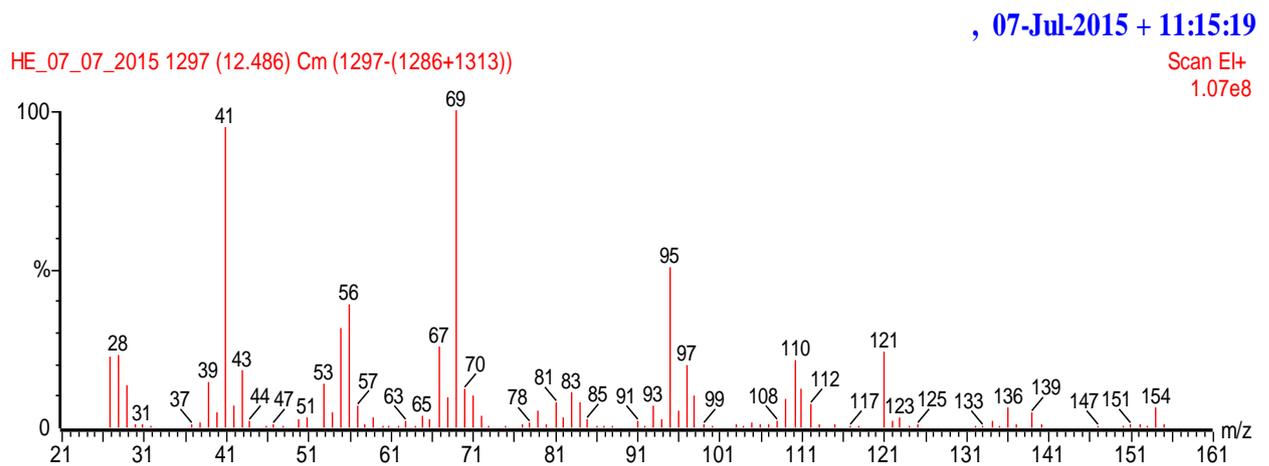
Densimètre



Sonde de Gavage

La Chromatographie en phase Gazeuse Couplé à la Spectrométrie de Masse

t = 12.486 mn



# Annexe II

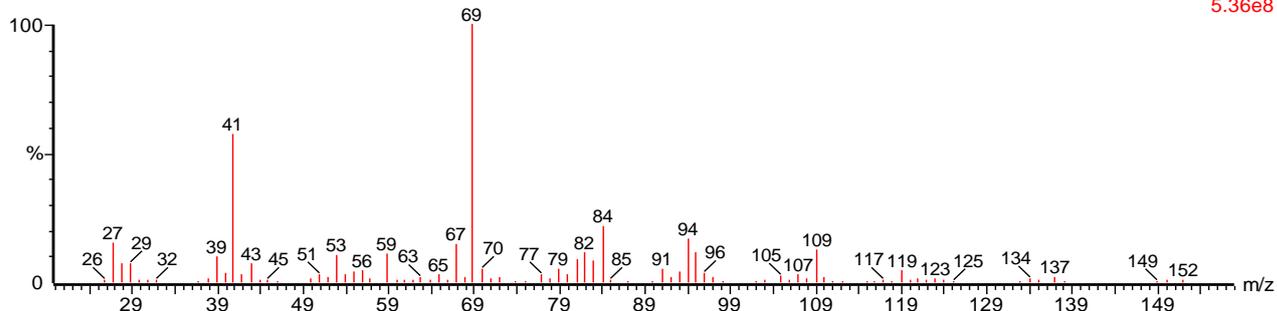
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	968	953	6-OCTENAL, 3,7-DIMETHYL-, (R)-	154	C10H18O	2385-77-5	Nist
2	964	949	CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ Citronellal \$\$ Rhodinol	154	C10H18O	106-23-0	Wiley9
3	962	947	CITRONELLAL	154	C10H18O	106-23-0	Nist
4	955	940	CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ Citronellal \$\$ Rhodinol	154	C10H18O	106-23-0	Wiley9
5	955	941	CITRONELLAL	154	C10H18O	106-23-0	Nist
6	954	939	CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ Citronellal \$\$ Rhodinol	154	C10H18O	106-23-0	Wiley9
7	953	934	CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ Citronellal \$\$ Rhodinol	154	C10H18O	106-23-0	Wiley9
8	953	944	CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ Citronellal \$\$ Rhodinol	154	C10H18O	106-23-0	Wiley9
9	948	749	CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ Citronellal \$\$ Rhodinol	154	C10H18O	106-23-0	Wiley9

t = 15.522 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 1904 (15.522) Cm (1904-(1894+1914))

Scan El+  
5.36e8



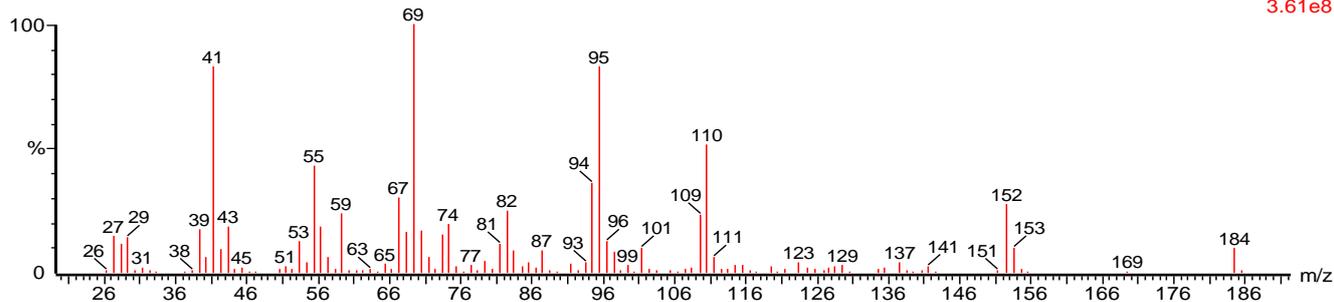
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	959	941	Z-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) \$\$ Neral \$\$ beta-Citral	152	C10H16O	106-26-3	Wiley9
2	959	941	2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, (Z)-	152	C10H16O	106-26-3	Nist
3	956	945	Z-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) \$\$ Neral \$\$ beta-Citral	152	C10H16O	106-26-3	Wiley9
4	955	948	2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, (Z)-	152	C10H16O	106-26-3	Nist
5	953	931	E-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) \$\$ Geranial \$\$ trans-Citral	152	C10H16O	141-27-5	Wiley9
6	951	923	Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl- (CAS) \$\$ 3,7-Dimethyl-2,6-octadienal \$\$ 3	152	C10H16O	5392-40-5	Wiley9
7	951	923	CITRAL	152	C10H16O	5392-40-5	Nist
8	945	919	CITRAL	152	C10H16O	5392-40-5	Nist

t = 16.082 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 2016 (16.082) Cm (2016-(2001+2026))

Scan El+  
3.61e8



# Annexe II

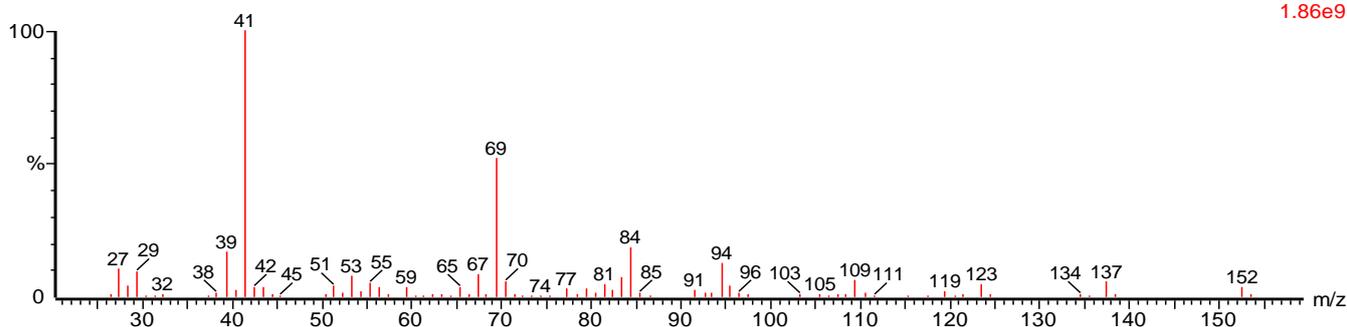
Hit	REV	for	Compound Name	MW	Formula	CAS	Library
1	976	961	(S)-(-)-CITRONELLIC ACID, METHYL ESTER	184	C11H20O2	900333-55-1	Nist
2	937	888	6-Octenoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl citronellate \$\$ Methyl	184	C11H20O2	2270-60-2	Wiley9
3	937	888	6-OCTENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-, METHYL ESTER	184	C11H20O2	2270-60-2	Nist
4	893	835	6-OCTENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-	170	C10H18O2	502-47-6	Nist
5	889	821	(R)-(+)-CITRONELLIC ACID	170	C10H18O2	18951-85-4	Nist
6	875	547	beta-thujone \$\$ BETA-THUJONE \$\$ BICYCLO[3.1.0]HEXAN-3-ONE, 4-METHYL-	152	C10H16O	471-15-8	Wiley9
7	867	614	(1R,5R)-1-(1,1-dimethyl-2-propen-1-yl)-2-(1-methylethylidene)-5-methylcyclohexa	222	C15H26O	112219-58-6	Wiley9
8	867	807	6-OCTENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-	170	C10H18O2	502-47-6	Nist

t = 16.548 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 2109 (16.548) Cm (2109-(2086+2116))

Scan EI+  
1.86e9



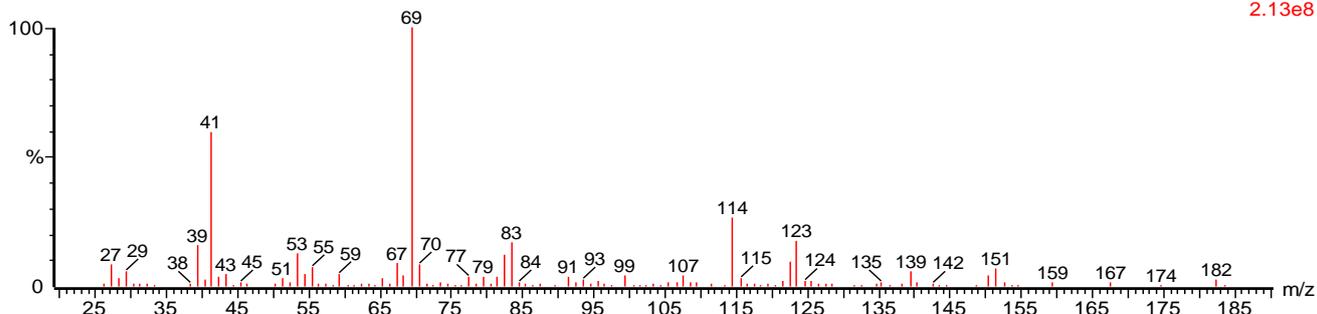
Hit	REV	for	Compound Name	MW	Formula	CAS	Library
1	967	591	E-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) \$\$ Geranial \$\$ trans-Citral	152	C10H16O	141-27-5	Wiley9
2	966	712	3,7-Dimethylocta-2E,6-dienal	152	C10H16O	999054-11-6	Wiley9
3	963	956	2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, (E)-	152	C10H16O	141-27-5	Nist
4	961	948	2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, (E)-	152	C10H16O	141-27-5	Nist
5	960	947	3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL \$\$ GERANIAL (E-CITRAL)	152	C10H16O	999054-10-0	Wiley9
6	960	947	E-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) \$\$ Geranial \$\$ trans-Citral	152	C10H16O	141-27-5	Wiley9
7	957	941	E-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) \$\$ Geranial \$\$ trans-Citral	152	C10H16O	141-27-5	Wiley9
8	955	943	2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, (Z)-	152	C10H16O	106-26-3	Nist
9	954	941	Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (CAS) \$\$ 3,7-Dimethyl-2,6-octadienal \$\$ 3	152	C10H16O	5392-40-5	Wiley9
10	954	941	2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, \$\$ 2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL-, (Z)- \$\$	152	C10H16O	106-26-3	Wiley9
11	953	922	Z-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) \$\$ Neral \$\$ beta-Citral	152	C10H16O	106-26-3	Wiley9
12	953	922	3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENAL \$\$ CIS-CITRAL	152	C10H16O	999054-10-5	Wiley9

t = 18.208 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 2441 (18.208) Cm (2441-(2429+2461))

Scan EI+  
2.13e8



## Annexe II

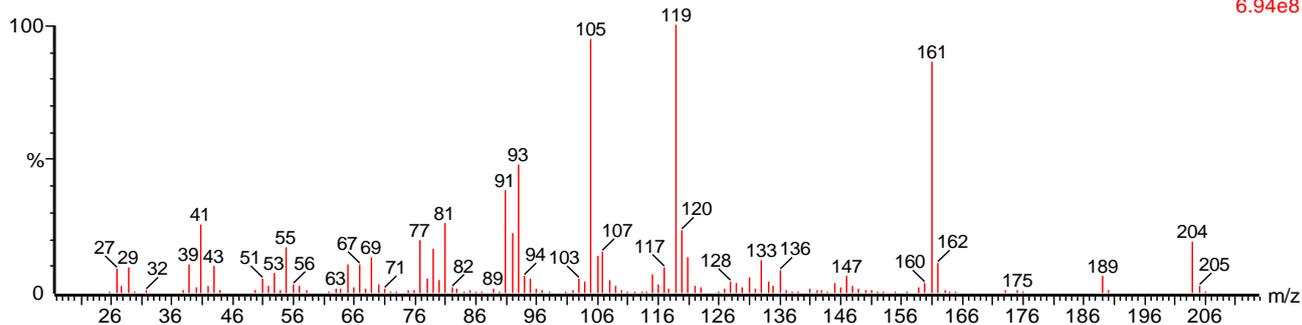
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	994	650	2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl geranate \$\$ Me	182	C11H18O2	2349-14-6	Wiley9
2	974	950	2,6-OCTADIENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-, METHYL ESTER	182	C11H18O2	2349-14-6	Nist
3	972	959	2,6-OCTADIENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-, METHYL ESTER \$\$ METHYL (2E)-3,7-	182	C11H18O2	2349-14-6	Wiley9
4	970	865	2,6-OCTADIENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-, METHYL ESTER, (E)-	182	C11H18O2	1189-09-9	Nist
5	969	945	2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl geranate \$\$ Me	182	C11H18O2	2349-14-6	Wiley9
6	967	948	2,6-OCTADIENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-, METHYL ESTER	182	C11H18O2	2349-14-6	Nist
7	965	864	2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester, (E)- (CAS) \$\$ E-Methylgeranate	182	C11H18O2	1189-09-9	Wiley9

t = 19.899 mn

HE\_07\_07\_2015 2779 (19.899) Cm (2779-(2771+2793))

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

Scan E1+  
6.94e8



Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	996	665	.alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl-	204	C15H24	3856-25-5	Wiley9
2	985	625	.alpha.-Cubebene \$\$ (-)-.alpha.-Cubebene \$\$ .alpha.-cubebene \$\$ ALPHA-CUB	204	C15H24	17699-14-8	Wiley9
3	979	958	ALFA-COPAENE	204	C15H24	900360-33-0	Nist
4	956	847	.alpha.-Cubebene \$\$ (-)-.alpha.-Cubebene \$\$ .alpha.-cubebene \$\$ ALPHA-CUB	204	C15H24	17699-14-8	Wiley9
5	953	766	CADINA-1,4-DIENE	204	C15H24	29837-12-5	Wiley9
6	950	912	.alpha.-Mangene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl-	204	C15H24	14912-44-8	Wiley9
7	948	912	.alpha.-Cubebene \$\$ (-)-.alpha.-Cubebene \$\$ .alpha.-cubebene \$\$ ALPHA-CUB	204	C15H24	17699-14-8	Wiley9
8	948	918	.alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl-	204	C15H24	3856-25-5	Wiley9
9	948	915	ALPHA-CUBEBENE	204	C15H24	17699-14-8	Nist
10	946	575	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)	204	C15H24	30021-74-0	Wiley9
11	944	928	COPAENE	204	C15H24	3856-25-5	Nist

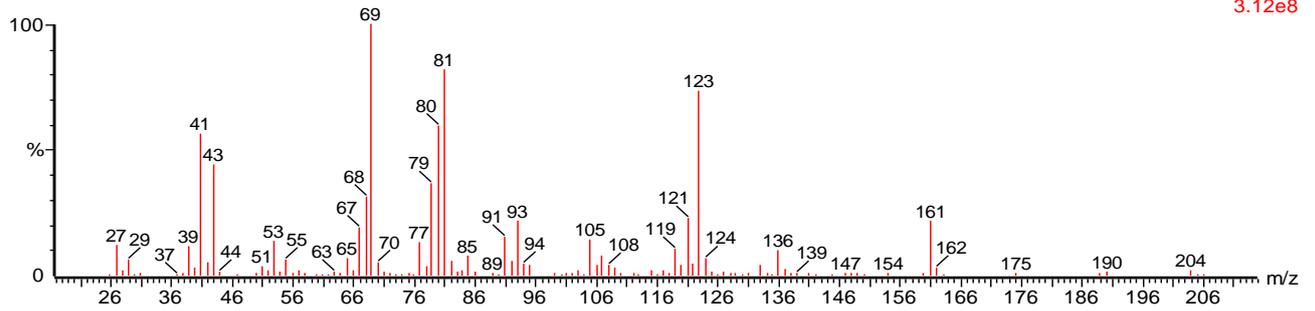
t = 20.164 mn

# Annexe II

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 2832 (20.164) Cm (2832-(2815+2846))

Scan EI+  
3.12e8



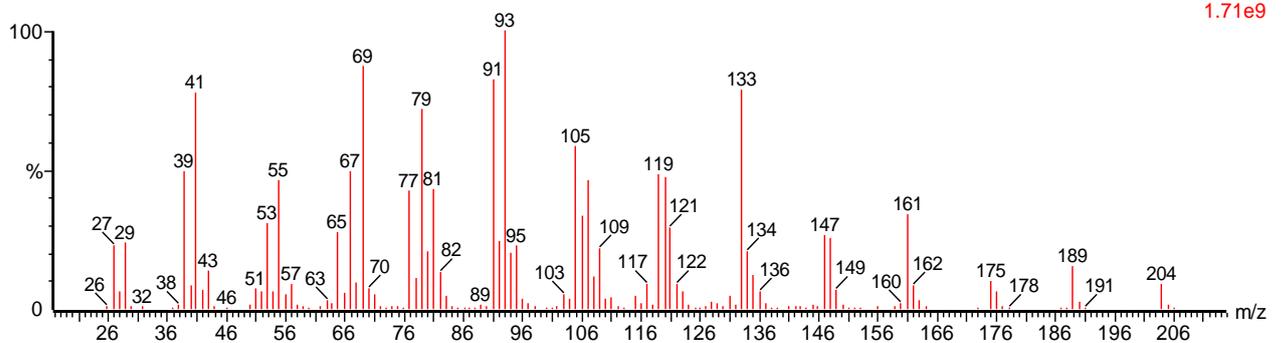
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	877	536	PHOTONEROL A \$\$ Photonerol \$\$ CYCLOPENTANEMETHANOL, 2-METHYL-5-(	154	C10H18O	60619-35-4	Wiley9
2	837	552	(S)-(2'-Dimethyl-6'-methylene-1'-cyclohexyl)methanol	154	C10H18O	999058-99-7	Wiley9
3	822	757	.beta.-Bourbonene \$\$ (-)-beta.-Bourbonene \$\$ BETA-BOURBONENE \$\$ (-)-BET	204	C15H24	5208-59-3	Wiley9
4	822	743	cis-Myrtanol \$\$ (1S,2S,5S)-(-)-Myrtanol \$\$ (-)-cis-Myrtanol \$\$ (6,6-Dimethylbicyclo	154	C10H18O	53369-17-8	Wiley9
5	822	744	BICYCLO[3.1.1]HEPTANE-2-METHANOL, 6,6-DIMETHYL-, 1(S)-(1.ALPHA.2.ALPH	154	C10H18O	53369-17-8	Nist
6	821	780	FARNESYL ACETATE 3 \$\$ 3,7,11-TRIMETHYL-2,6,10-DODECATRIENYL ACETA	264	C17H28O2	29548-30-9	Wiley9
7	820	751	.beta.-Bourbonene \$\$ (-)-beta.-Bourbonene \$\$ BETA-BOURBONENE \$\$ (-)-BET	204	C15H24	5208-59-3	Wiley9
8	818	768	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, acetate, (E,E)- (CAS) \$\$ Farnesyl acel	264	C17H28O2	4128-17-0	Wiley9
9	817	748	(-)-BETA-BOURBONENE	204	C15H24	5208-59-3	Nist

t = 21.415 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3082 (21.415) Cm (3082-(3045+3106))

Scan EI+  
1.71e9



## Annexe II

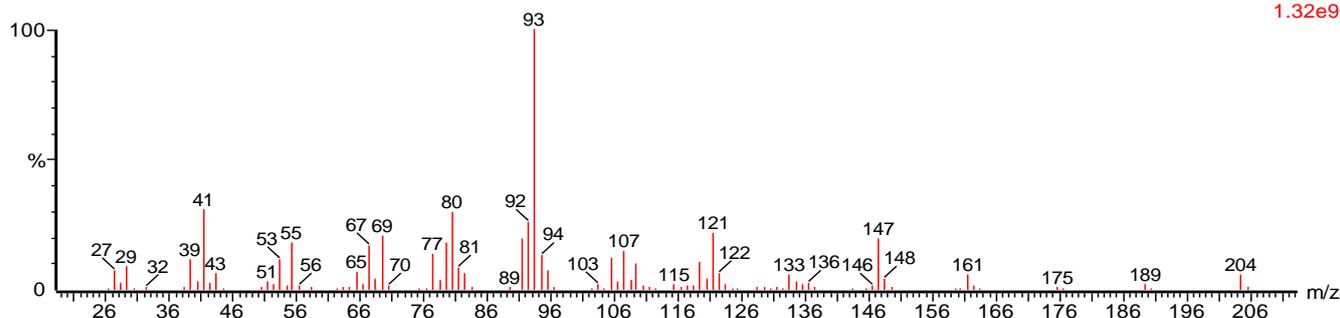
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	986	965	TRANS(BETA)-CARYOPHYLLENE	204	C15H24	999152-62-0	Wiley9
2	986	970	CARYOPHYLLENE	204	C15H24	87-44-5	Nist
3	985	794	CIS-CARYOPHYLLENE \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methyl	204	C15H24	13877-93-5	Wiley9
4	983	977	CARYOPHYLLENE	204	C15H24	87-44-5	Nist
5	982	976	BICYCLO[7.2.0]UNDEC-4-ENE, 4,11,11-TRIMETHYL-8-METHYLENE-, [1R-(1R',	204	C15H24	87-44-5	Wiley9
6	980	959	trans-4,11,11-Trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undeca-4-ene \$\$ BICYCLO[7.2	204	C15H24	13877-93-5	Wiley9
7	980	960	trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene	204	C15H24	87-44-5	Wiley9
8	979	949	trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene	204	C15H24	87-44-5	Wiley9
9	979	949	CARYOPHYLLENE	204	C15H24	87-44-5	Nist

t = 22.370 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3273 (22.370) Cm (3273-(3256+3283))

Scan EI+  
1.32e9



Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	985	703	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
2	991	578	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
3	987	697	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
4	979	810	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
5	976	928	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
6	964	949	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
7	959	941	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9
8	956	929	HUMULENE	204	C15H24	6753-98-6	Nist
9	952	927	alpha-Humulene (CAS) \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)	204	C15H24	6753-98-6	Wiley9

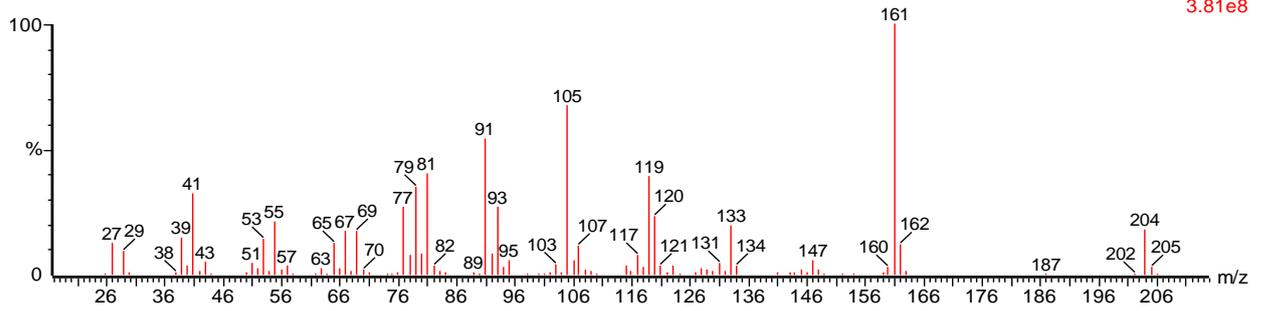
t = 23.195 mn

# Annexe II

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3438 (23.195) Cm (3438-(3426+3453))

Scan E1+  
3.81e8



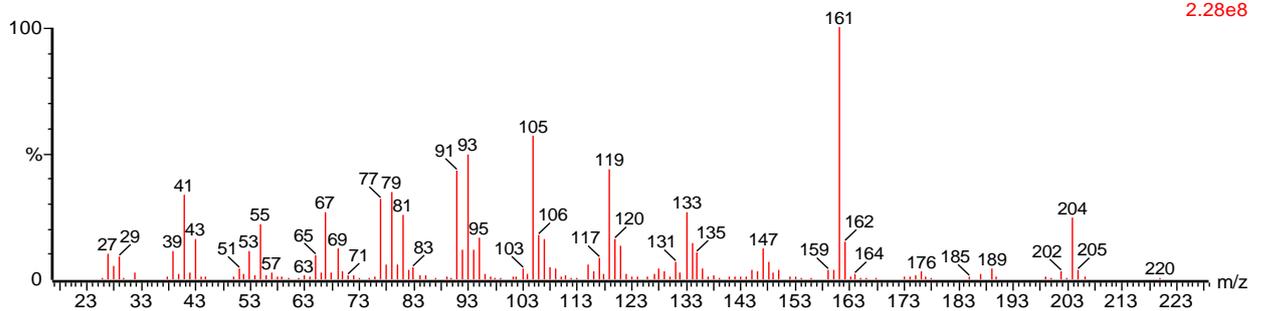
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	993	582	Germacrene D \$\$ 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-	204	C15H24	23986-74-5	Wiley9
2	990	669	.beta.-Cubebene \$\$ .beta.-Cubebene \$\$ 4-Isopropyl-7-methyl-3-methyleneoctah	204	C15H24	13744-15-5	Wiley9
3	986	982	GERMACRENE-D \$\$ 1,6-CYCLODECADIENE, 1-METHYL-5-METHYLENE-8-(1-M	204	C15H24	23986-74-5	Wiley9
4	983	609	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)	204	C15H24	30021-74-0	Wiley9
5	981	924	GERMACRENE-D \$\$ 1,6-CYCLODECADIENE, 1-METHYL-5-METHYLENE-8-(1-M	204	C15H24	23986-74-5	Wiley9
6	967	952	Germacrene D \$\$ 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-	204	C15H24	23986-74-5	Wiley9
7	957	949	.beta.-Cubebene \$\$ .beta.-Cubebene \$\$ 4-Isopropyl-7-methyl-3-methyleneoctah	204	C15H24	13744-15-5	Wiley9
8	957	948	1H-CYCLOPENTA[1,3]CYCLOPROPA[1,2]BENZENE, OCTAHYDRO-7-METHYL-3	204	C15H24	13744-15-5	Nist
9	956	848	.alpha.-Cubebene \$\$ (-)-.alpha.-Cubebene \$\$ .alpha.-cubebene \$\$ ALPHA-CUB	204	C15H24	17699-14-8	Wiley9
10	953	941	GERMACRENE-D \$\$ 1,6-CYCLODECADIENE, 1-METHYL-5-METHYLENE-8-(1-M	204	C15H24	23986-74-5	Wiley9

t = 24.208 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3640 (24.206) Cm (3640-(3623+3657))

Scan E1+  
2.28e8



Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	967	943	.alpha.-Amorphene \$\$ ALPHA AMORPHENE \$\$ 6.alpha.-Cadina-4,9-diene, (-)	204	C15H24	23615-88-0	Wiley9
2	966	946	NAPHTHALENE, 1,2,3,4,4A,5,6,8A-OCTAHYDRO-7-METHYL-4-METHYLENE-1-(1	204	C15H24	39029-41-9	Wiley9
3	963	951	.GAMMA-MUJROLENE	204	C15H24	30021-74-0	Nist
4	961	925	NAPHTHALENE, 1,2,3,4,4A,5,6,8A-OCTAHYDRO-7-METHYL-4-METHYLENE-1-(1	204	C15H24	39029-41-9	Nist
5	956	643	.beta.-Cubebene \$\$ .beta.-Cubebene \$\$ 4-Isopropyl-7-methyl-3-methyleneoctah	204	C15H24	13744-15-5	Wiley9
6	952	936	NAPHTHALENE, 1,2,4A,5,6,8A-HEXAHYDRO-4,7-DIMETHYL-1-(1-METHYLETHY	204	C15H24	483-75-0	Nist
7	960	915	.GAMMA-MUJROLENE	204	C15H24	30021-74-0	Nist

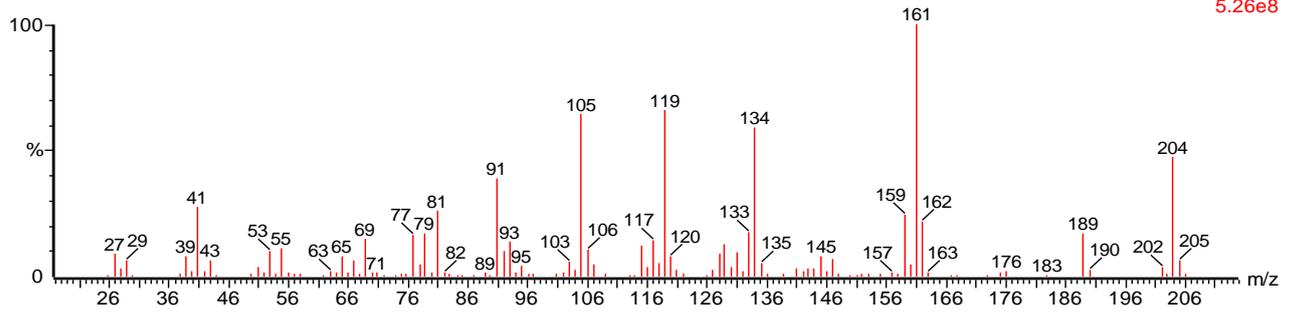
t = 24.471 mn

# Annexe II

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3693 (24.471) Cm (3693-(3674+3705))

Scan E1+  
5.26e8



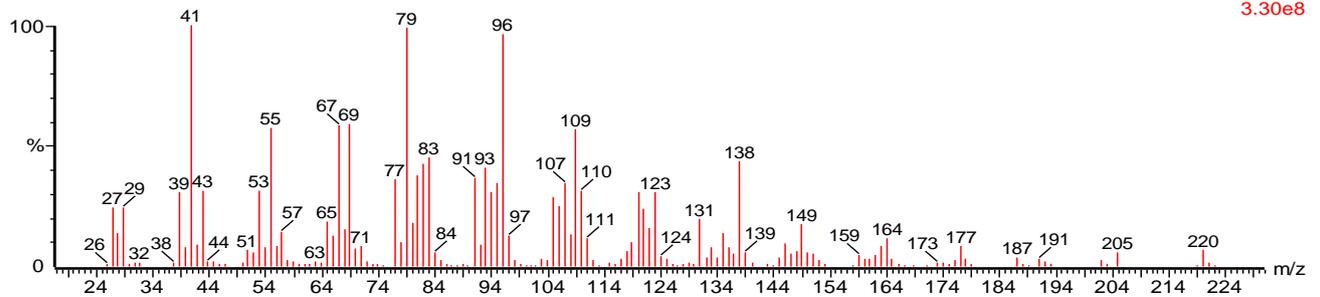
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	971	915	delta-Cadinene (CAS) $\delta\delta$ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Wiley9
2	960	913	delta-Cadinene (CAS) $\delta\delta$ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Wiley9
3	960	913	NAPHTHALENE, 1,2,3,5,6,8a-HEXAHYDRO-4,7-DIMETHYL-1-(1-METHYLETHYL)	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Nist
4	953	905	delta-Cadinene (CAS) $\delta\delta$ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Wiley9
5	952	902	NAPHTHALENE, 1,2,3,5,6,8a-HEXAHYDRO-4,7-DIMETHYL-1-(1-METHYLETHYL)	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Nist
6	950	897	.beta.-cadinene $\delta\delta$ NAPHTHALENE, 1,2,4A,5,6,8a-HEXAHYDRO-4,7-DIMETHYL-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	523-47-7	Wiley9
7	950	902	delta-Cadinene (CAS) $\delta\delta$ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Wiley9
8	950	901	delta-Cadinene (CAS) $\delta\delta$ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Wiley9
9	948	924	delta-Cadinene (CAS) $\delta\delta$ Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	483-76-1	Wiley9

t = 25.381 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 3875 (25.381) Cm (3875-(3853+3885))

Scan E1+  
3.30e8



Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	913	354	(6S,7R)-6,7-Epoxy-6,7-dihydro-beta-farnesene	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	999189-11-9	Wiley9
2	896	348	(-)-Caryophyllene oxide $\delta\delta$ (-)-5-Oxabicyclo[8.2.0]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1139-30-6	Wiley9
3	888	849	CARYOPHYLLENE OXIDE	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1139-30-6	Nist
4	884	559	2-(2-methylene)cyclohexyl)ethan-1-ol $\delta\delta$ Cyclohexaneethanol, 2-methylene- $\delta\delta$ 2-	140	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	53544-46-0	Wiley9
5	869	453	9.beta.-Bromo-4.8.beta., 11,11-tetramethylbicyclo[6.3.0]undec-4-ene	284	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> Br	999339-54-2	Wiley9
6	856	483	2-(3-Iodopropyl)-1,1-dimethyl-3-methylidene cyclohexane $\delta\delta$ Cyclohexane, 2-(3-I-	292	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> I	95452-02-1	Wiley9
7	851	514	(S)-2,2-Dimethyl-6-methylene-1-cyclohexylcarbaldehyde	152	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	999055-21-6	Wiley9
8	838	421	(-)-(3S,4S,4aS,8aS)-3,4-Epoxy-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-4a,8,8-trimethylnapht	208	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O2	999161-34-9	Wiley9
9	825	557	(2S,4R)-P-MENTHA-(1(7),8)-DIENE 2-HYDROPEROXIDE	168	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O2	900292-74-4	Nist
10	823	312	(1S)-Ethyl 7,7-dimethyl-2-oxo-1-bicyclo[2.2.1]heptanesulfonate	246	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O4S	0-0-0	Wiley9
11	823	623	CARYOPHYLLENE OXIDE	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1139-30-6	Nist

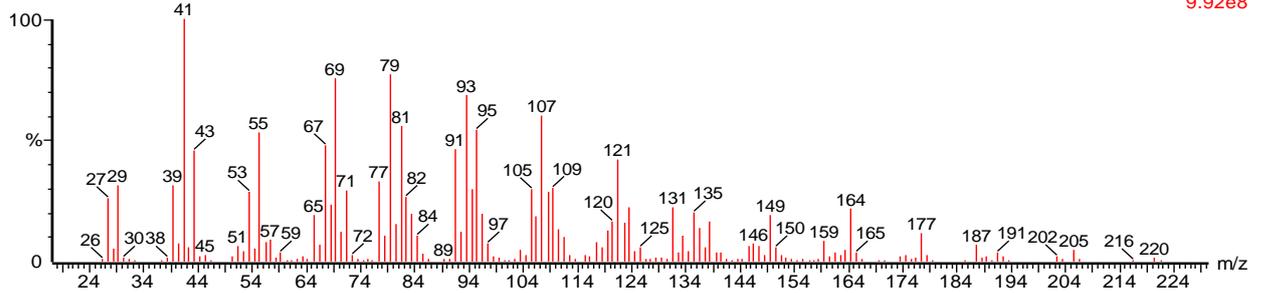
t = 26.316 mn

# Annexe II

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 4062 (26.316) Cm (4062-(4042+4081))

Scan El-  
9.92e8



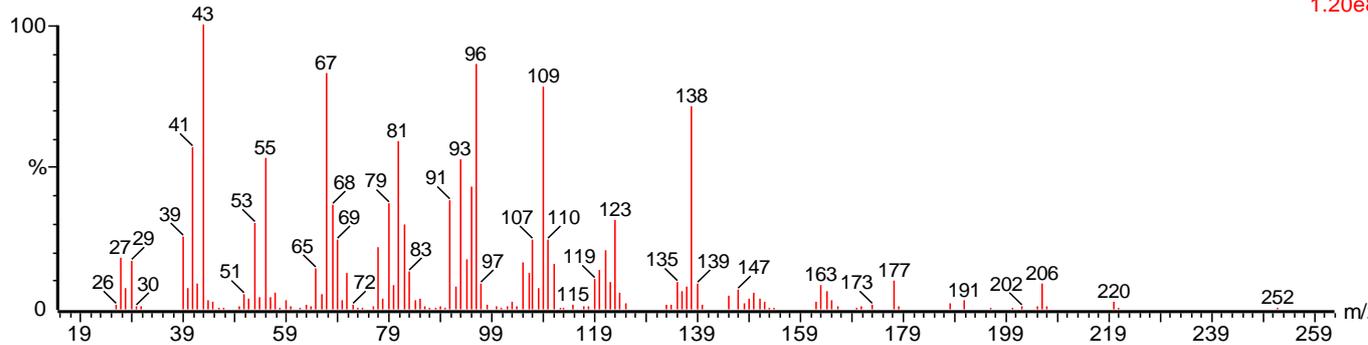
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	979	498	(-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
2	959	523	(1R,5S,E)-2-methyl-4-[2,2,3-trimethyl-6-methylenecyclohex-2-en-1-yl]but-2-enal	220	C15H24O	124886-71-1	Wiley9
3	952	517	(+)-BETA-COSTOL \$\$ (-)-ALPHA-COSTOL \$\$ ALPHA-COSTOL	220	C15H24O	55018-15-7	Wiley9
4	930	358	(4S,5R)-5-Hydroxycaryophyll-8(13)-ene-4,12-epoxide	236	C15H24O2	999226-94-5	Wiley9
5	925	502	(+)-beta-Costal \$\$ Eudesma-4(14),11(13)-dien-12-ol (CAS) \$\$ Costal (CAS) \$\$	218	C15H22O	3650-40-6	Wiley9
6	924	514	(-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
7	923	882	(-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
8	919	478	1-METHYLENE-2B-HYDROXYMETHYL-3,3-DIMETHYL-4B-(3-METHYLBUT-2-EN	222	C15H26O	900144-10-6	Nist
9	915	832	(-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
10	914	479	3,7,11,15-TETRAMETHYL-13-PHENYLSULFONYL-2,6,10,14-HEXADECATETRA	430	C26H38O3S	67428-43-7	Wiley9
11	914	873	(-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
12	911	840	CARYOPHYLLENE OXIDE	220	C15H24O	1139-30-6	Nist
13	907	472	gamma-cis-sesquicycloteranoid \$\$ cis-1-hydroxymethyl-2,2-dimethyl-6-methyl	222	C15H26O	108287-11-2	Wiley9
14	907	506	(1R,3S)-cis-(3-(4-hydroxy-2,2-dimethyl-6-methylene-1-cyclohexyl)methanol	170	C10H18O2	999084-96-3	Wiley9
15	906	824	(-)-Caryophyllene oxide \$\$ (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
16	900	561	(2R,5E)-caryophyll-5-en-12-ol	220	C15H24O	999188-90-7	Wiley9
17	900	584	(S)-[2,2'-Dimethyl-6'-methylene-1'-cyclohexyl]methanol	154	C10H18O	999058-99-7	Wiley9
18	898	501	alpha-cis-1-hydroxymethyl-2,2,6-trimethyl-3-(3-methyl-2-buten-1-yl)-5-cyclohex	222	C15H26O	108287-09-8	Wiley9
19	897	806	CARYOPHYLLENE OXIDE	220	C15H24O	1139-30-6	Nist

t = 27.042 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 4207 (27.042) Cm (4207-(4183+4229))

Scan El-  
1.20e8



Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	936	444	(1R,4R,6S)-4-Acetyl-1-methylbicyclo[4.1.0]heptan-2-one	166	C10H14O2	999076-73-5	Wiley9
2	917	499	(all-E)-2,6,10,14-Tetramethyl-16-(phenylthio)hexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol	398	C26H38OS	132274-02-3	Wiley9
3	916	616	1,4-dimethylcyclohexene-4-carboxaldehyde \$\$ 1,4-Dimethylcyclohex-3-ene-1-car	138	C9H14O	999036-19-6	Wiley9
4	905	490	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate (CAS) \$\$ Menthol acetate \$\$ A	198	C12H22O2	16409-45-3	Wiley9
5	892	499	2,5,9-Trimethylcycloundeca-4,8-dienone \$\$ 2,5,9-TRIMETHYL-CYCLOUNDECA-	206	C14H22O	999157-11-9	Wiley9
6	892	517	Naphthalene, decahydro- (CAS) \$\$ Deca \$\$ Decalin \$\$ Dekalin	138	C10H18	91-17-8	Wiley9
7	891	433	5-Allyl-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone	166	C9H10O3	999075-98-9	Wiley9
8	889	548	Cyclohexane, butylidene- (CAS) \$\$ Butylidene-cyclohexane \$\$ Butylidene-cyclohex	138	C10H18	2272-03-9	Wiley9
9	879	751	HUMULENE OXIDE	220	C15H24O	999188-94-7	Wiley9
10	876	466	4-hydroxy-7,8-dihydro-beta-ionol	212	C13H24O2	999170-47-2	Wiley9
11	875	473	1,4-Dimethylcyclohex-1-en-4-ylcarboxaldehyde \$\$ 3-Cyclohexene-1-carboxaldeh	138	C9H14O	933-44-8	Wiley9
12	872	423	2-Isopropylidene-4-methyl-1,5-dihydroxiloole	138	C8H14Si	999035-82-3	Wiley9
13	872	825	12-OXABICYCLO[9.1.0]DODECA-3,7-DIENE, 1,5,5,8-TETRAMETHYL-, [1R-(1R',3	220	C15H24O	19888-34-7	Nist
14	871	374	8,8-DIOXETERIOCAMPHENE \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-(methylen	136	C10H14O2	67596-97-8	Wiley9
15	866	396	(4R')-1,4,7,9-Tetramethyl-1-hydroxy-spiro[4,5]decan-2-one	224	C14H24O2	999199-35-8	Wiley9

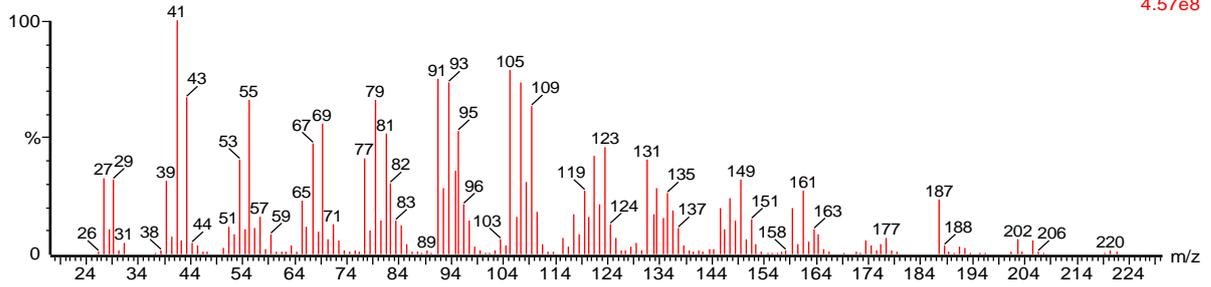
# Annexe II

t = 28.522 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 4503 (28.522) Cm (4503-(4489+4520))

Scan E1+  
4.57e8



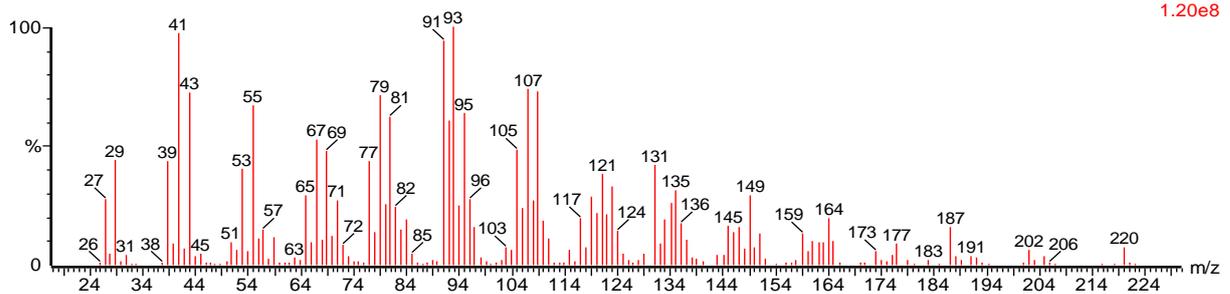
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	968	447	(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
2	934	427	.beta.-Selinene SS Jatamol A SS 8a-Methyl-4-methylene-1-(1'-methyl)ethenyl-10-deca	220	C15H24O	999189-18-6	Wiley9
3	900	492	.alpha.-cis-1-hydroxymethyl-2,2,6-trimethyl-3-(3-methyl-2-buten-1-yl)-cyclohexe	222	C15H26O	108287-09-8	Wiley9
4	898	753	caryophylla-3,8(13)-dien-5.beta.-ol	220	C15H24O	999189-91-0	Wiley9
5	898	473	Caryophylla-2(12),6-dien-5-one SS Bicyclo[7.2.0]undec-6-en-5-one, 6,10,10-trime	218	C15H22O	61824-50-8	Wiley9
6	897	345	Norsesterterpene Dien Ester SS 5-(4-Methoxycarbonyl-2-pentenylidene)-1,11,11-	372	C26H40O2	0-00-0	Wiley9
7	897	447	1-METHYLENE-2B-HYDROXYMETHYL-3,3-DIMETHYL-4B-(3-METHYLBUT-2-EN	222	C15H26O	900144-10-6	Nist
8	886	377	MANGIFERONIC ACID	454	C30H46O3	999592-19-4	Wiley9

t = 28.872 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 4573 (28.872) Cm (4573-(4567+4579))

Scan E1+  
1.20e8

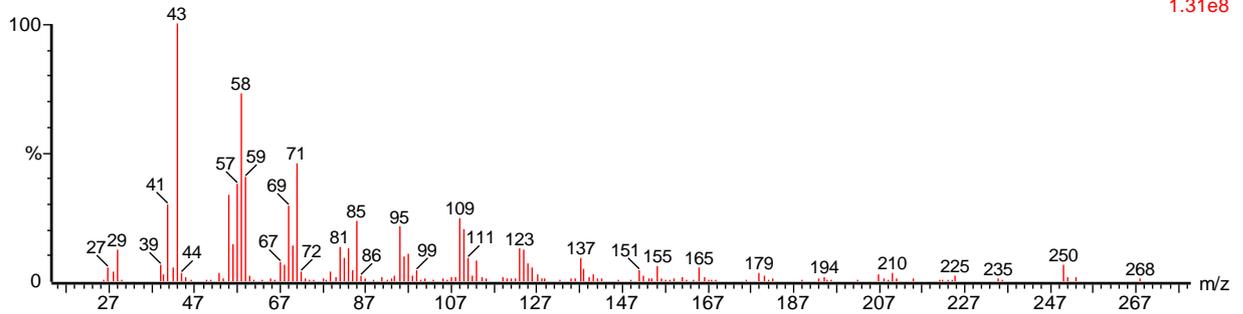


Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	974	469	(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
2	938	402	(4S,8R)-5-Hydroxycaryophyll-8(13)-ene-4,12-epoxide	236	C15H24O2	999225-94-5	Wiley9
3	889	402	MANGIFERONIC ACID	454	C30H46O3	999592-19-4	Wiley9
4	879	463	1-METHYLENE-2B-HYDROXYMETHYL-3,3-DIMETHYL-4B-(3-METHYLBUT-2-EN	222	C15H26O	900144-10-6	Nist
5	872	424	.beta.-Selinene SS Jatamol A SS 8a-Methyl-4-methylene-1-(1'-methyl)ethenyl-10-deca	220	C15H24O	999189-18-6	Wiley9
6	868	758	(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
7	866	450	5-(Ethinyl)nona-1,8-dien-5-yl acetate SS 5-(ETHINYLYNONA-1,8-DIEN-5-YL ACE	206	C13H18O2	999156-35-2	Wiley9
8	863	454	.gamma.-cis-sesquicyclogeraniol SS cis-1-hydroxymethyl-2,2-dimethyl-6-methyle	222	C15H26O	108287-11-2	Wiley9
9	854	593	(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
10	853	731	(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9
11	843	650	ISOSTEVIDOL	318	C20H30O3	27975-19-5	Nist
12	842	736	(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 12-trimethyl-9-	220	C15H24O	1139-30-6	Wiley9

t = 33.134 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 5425 (33.134) Cm (5425-(5414+5436))

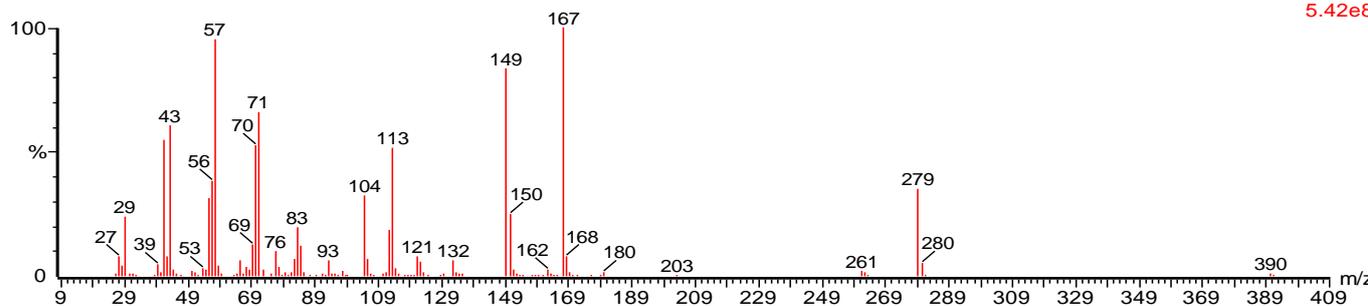
Scan EI+  
1.31e8

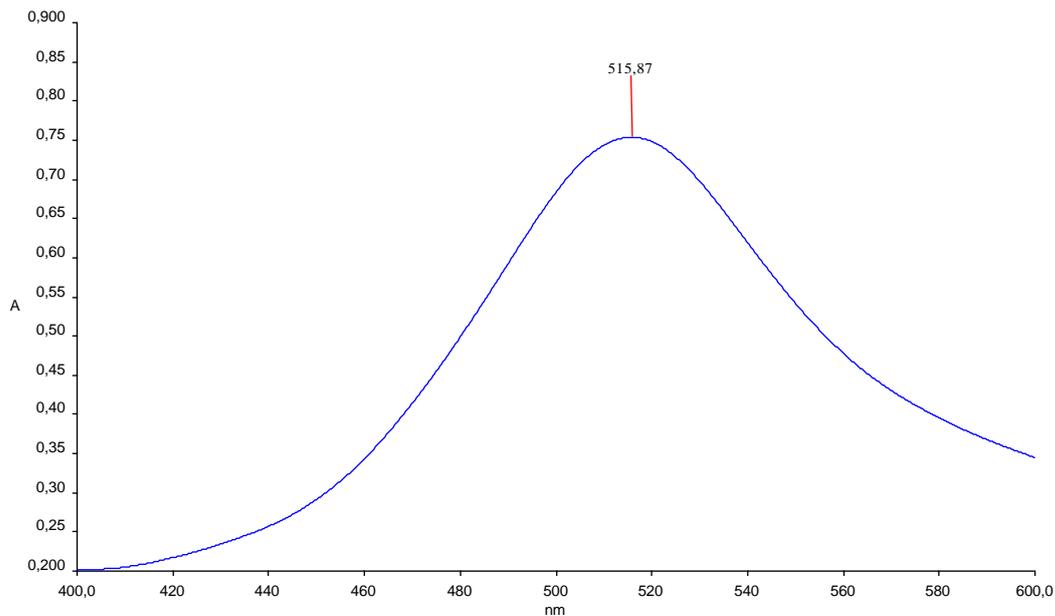
Hit	REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS	Library
1	979	951	2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Nist
2	978	950	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- (CAS) §§ 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecano	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Wiley9
3	966	942	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- (CAS) §§ 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecano	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Wiley9
4	966	942	2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Nist
5	962	939	2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Nist
6	968	926	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- (CAS) §§ 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecano	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Wiley9
7	966	922	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- (CAS) §§ 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecano	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Wiley9
8	966	922	2-PENTADECANONE, 6,10,14-TRIMETHYL-	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	502-69-2	Nist

t = 53.787 mn

, 07-Jul-2015 + 11:15:19

HE\_07\_07\_2015 9554 (53.787) Cm (9554-(9536+9580))

Scan EI+  
5.42e8



Spectre de vérification de la longueur d'onde

Tableau XI: les pourcentages d'inhibition de l'huile essentielle en fonction des différentes concentrations.

	C en (mg/ml)	A sol contrôle	A huile	AA en%
	0,01	0,754	0,58	23,07692
	0,02	0,754	0,4908	34,90716
	0,04	0,754	0,3916	48,06366
	0,06	0,754	0,2635	65,05305
	0,08	0,754	0,199	73,60743
	0,09	0,754	0,1345	82,1618
moyenne arithmétique	0,05			54,47834
coefficient corrélation	0,99437719			
droit de régression	710,4417466			
b	18,95625043			
CI 50 en (mg/ml)	0,043696404			

Tableau XII : Résultats de L'Absorbance de l'acide ascorbique

	C(mg/ml)	Sol contrôle	A Acide Ascorbique	AA %
	0,00312	0,754	0,422	44,0318302
	0,00625	0,754	0,4122	45,331565
	0,0125	0,754	0,4018	46,7108753
	0,025	0,754	0,3702	50,9018568
	0,05	0,754	0,2862	62,0424403
moyenne arithmétique	0,019374			49,8037135
Coeff. De corrélation	0,9950838			
droite de régression	381,734675			
b	42,4079859			
CI 50	0,0198882			

Tableau XIII : Résultats de poids des pattes postérieures gauches et droites.

L'eau physiologique			Clofenal de sodium 12,5mg		lot essai 0,1g/ml		Lot Essai 0,01 g/ml	
	PP G	PP D	PPG	PPD	PPG	PPD	PPG	PPD
souris n°1	0,2088	0,1839	0,1852	0,1729	0,2342	0,1782	0,2375	0,1782
souris n°2	0,2102	0,1705	0,195	0,1671	0,1967	0,1677	0,2498	0,1642
souris n°3	0,2197	0,1683	0,215	0,1701	0,2129	0,174	0,2998	0,1785
souris n°4	0,2474	0,157	0,196	0,1622	0,2039	0,1588	0,2446	0,1681
souris n°5	0,2248	0,1821	0,1768	0,154	0,2184	0,1525	0,2276	0,1704
la moyenne	0,22218	0,17236	0,1936	0,16526	0,21322	0,16624	0,25186	0,17188
Ecart type	0,011136	0,008512	0,01008	0,005728	0,010464	0,008472	0,019176	0,005176
% d'augmentations d'œdème	28,90461824		17,14873533		% aug 28,26034649		46,53246451	

Tableau XIV: Résultats de l'activité anti spasmodique.

	Nbr de spasme: Lot Témoin	Nbr de spasme Lot: témoin positif	Nbr de spasme: Lot essai 1	Nbr de spasme: Lot Essai 2
Souris N°1	30	3	7	10
Souris N°2	20	4	8	9
Souris N°3	35	6	6	12
Souris N°4	25	2	3	9
Souris N°5	16	5	6	10
Nombre de spasme	121	20	30	50
Moyenne	25,2	4	6	10
Ecart type	5,84	1,2	1,2	0,8

### ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

**Test ANOVA suivi par le test e Tukey de comparaison par paire au  
risque de 5%**

**(Statistica, Version 8.0, StatSoft, USA)**

Tableau XV: Résultats de l'étude statistique de l'activité anti -inflammatoire

Tukey HSD test; variable DPP (Spreadsheet10) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = ,00041, df = 16,000					
	TRAITEMENT	{1} - ,04982	{2} - ,02834	{3} - ,04698	{4} - ,07998
1	EAU PHY		0,365930	0,996044	0,126333
2	DICLOFENAC	0,365930		0,484396	0,004870
3	ESSAI 0,1	0,996044	0,484396		0,084883
4	ESSAI 0,01	0,126333	0,004870	0,084883	

**En rouge : Différence Hautement Significative (P<0.01)**

**En noir : Différence non significative**

Tukey HSD test; variable DPP (Spreadsheet10) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00041, df = 16,000				
	TRAITEMENT	DPP - Mean	1	2
2	DICLOFENAC	0,028340	****	
3	ESSAI 0,1	0,046980	****	****
1	EAU PHY	0,049820	****	****
4	ESSAI 0,01	0,079980		****

**ACTIVITE ANTISPASMODIQUE**  
**Test ANOVA suivi par le test e Tukey de comparaison par paire au**  
**risque de 5%**  
**(Statistica, Version 8.0, StatSoft, USA)**

Tableau XVI: Résultats de l'étude statistique de l'activité antispasmodique

Tukey HSD test; variable SPASMES (Spreadsheet18) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 16,300, df = 16,000					
	TRAITEMENT	{1} - 25,200	{2} - 4,0000	{3} - 6,0000	{4} - 10,000
1	Temoin -		0,000186	0,000188	0,000279
2	Medicament	0,000186		0,861005	0,128127
3	Essai 0,1	0,000188	0,861005		0,424073
4	Essai 0,01	0,000279	0,128127	0,424073	

**En rouge : Différence Très Hautement Significative (P<0.001)**

**En noir : Différence non significative**

Tukey HSD test; variable SPASMES (Spreadsheet18) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 16,300, df = 16,000				
	TRAITEMENT	SPASMES - Mean	1	2
2	Medicament	4,00000	****	
3	Essai 0,1	6,00000	****	
4	Essai 0,01	10,00000	****	
1	Temoin -	25,20000		****