

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD Dahleb.Blida



Faculté des sciences Agro-vétérinaires et Biologiques
Département d'Agronomie

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master 2 En
sciences de la nature et de la vie.

Spécialité : Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales et
des produits naturels

THEME

**Contribution à l'étude de la mélisse officinale
(*Melissa officinalis* L.) et essai d'application**

Présenté par : **KOCHERANE Rima**

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

M ^r EL HADI D.	MCA	USDB	Président
M ^r BENDALI A.	MAA	USDB	Examineur
M ^{me} MOUMENE S.	MAA	USDB	Examinatrice
M ^{me} HOUMANI Z.	Pr	USDB	Promotrice
M ^{me} AYACHI N.	MAA	SAIDAL	Co-promotrice

Remerciements

Je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force, le courage et la patience.

J'exprime mes profonds remerciements tout particulièrement à Madame le Professeur Houmani Zahia pour l'accueil qu'elle m'a réservé au sein de son laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales à la faculté des sciences Agrovétérinaires, et qui a bien voulu diriger ce travail avec beaucoup de compétence et d'efficacité. J'ai eu le privilège de bénéficier de son enseignements, de son savoir et sa grande expérience qui, allée à ses qualités humaines resteront pour moi un modèle.

J'adresse mes sincères remerciements à madame Ayachi Nabila pour sa précieuse collaboration scientifique, son aide, son soutien et ses conseils, pour avoir accepté de codiriger ce travail.

Je tiens à remercier le président Mr EL HADI, pour avoir honoré de sa présence ce jury en acceptant de le présider.

Je remercie les membres de jury Mr BENDALI et Mme MOUMENE d'avoir aimablement accepté d'examiner et juger ce travail.

J'exprime mes plus vifs remerciements, et ma reconnaissance au personnel du CRD/SAIDAL et particulièrement à la directrice Dr BENZAID. A à Mme AZZINE et aux membres du laboratoire du pharmacotoxicologie.

Un merci particulier à M^{ME} TRIBECHE pour son aide précieuse, ses conseils qui ont été forts utiles.

Je remercie vivement le personnel du Parc National De Chr ea : Mme AKTOUCHE, Mr CHAFIK, sans oublier le personnel du secteur Hammam Melouane : Fadhila, Yasmina, Hafida, Yassine, Ibrahim et Abd el Karim.

Ma 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 modeste travail.

Je remercie mes amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Dédicaces

Je voudrais en toute modestie dédier ce travail à :

Mes très chers parents qui ont toujours été à mes cotés, qui n'ont jamais cessé de m'encourager et m'aider dans mes études, Leur fierté à mon égard 'aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses. Papa, maman je vous dis merci, et que Dieu vous protège pour nous.

A mes très chers frères.

A mes très chères sœurs et leurs époux.

A mes chers neveux et mes chères nièces

A mon cher oncle Belkacem qui m'a toujours soutenue et encouragée à aller de l'avant et de ne jamais baisser les bras.

A tous mes cousins et cousines

A ma meilleure amie Amel pour sa gentillesse, sa grande patience et son soutien au moment les plus difficiles, je lui souhaite un avenir radieux.

A mes deux amies Sabah et Kamy de m'avoir accompagnée durant mon cursus.

A tous mes amis(es)

En fin, à tous ceux que j'aime, ceux qui m'ont aidé de prêt ou de loin.

Résumé

Contribution à l'étude de la mélisse officinale (*Melissa officinalis L*) et essai d'application

Dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressé à étudier une plante aromatique *Melissa officinalis L.* (la mélisse officinale) possédant plusieurs effets thérapeutiques reconnus. Cette espèce herbacée vivace appartient à la famille des *Lamiaceae*. Malgré des références anciennes, elle est nouvellement introduite en phytothérapie moderne.

Notre étude porte sur des plants de la mélisse poussant à l'état spontané dans les massifs forestiers du parc national de Chréa et des plants cultivés.

La culture de la mélisse par semis en serre, nous a permis d'obtenir des plants ayant un bon développement végétatif.

L'extraction de l'huile essentielle des parties aériennes (tiges feuillées) de *Melissa officinalis* a été accomplie par hydrodistillation. Les rendements moyens en huiles essentielles des plants cultivés et spontanés sont comparables respectivement de 0,24%, et 0,25% .

L'analyse par spectroscopie FTIR de l'huile essentielle de la mélisse a permis de déterminer les groupes fonctionnels comprenant des alcanes, des alcènes, des aldéhydes, des cétones, des alcools, des esters et de l'éther.

Dans le but de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire et antispasmodique de l'infusé de la mélisse, des essais pharmacologiques ont été réalisés sur des souris albinos par gavage.

Les résultats obtenus montrent que cette espèce a un effet anti-inflammatoire avec un pourcentage de réduction de l'œdème de 15,36%, aussi appréciable que celui du produit de référence Ibuprofène 200mg (31,65%) et un effet antispasmodique avec un pourcentage de réduction des crampes de 87,32% comparable à celui du produit de référence SPASFON (92,98%).

Mots clés : *Melissa officinalis*, Huiles essentielles, FTIR, anti-inflammatoire, antispasmodique

Abstract

Contribution to the study of Lemon balm (*Melissa officinalis* L) and essay of application

Within the framework of the valuation of the Algerian flora, we were interested to study an aromatic plant *Melissa officinalis* L. (Lemon balm) possessing several recognized therapeutic effects. This perennial herb belongs to the family of Lamiaceae. In spite of former references, it is recently introduced in modern herbal medicine.

Our study concerns plantations of the balm pushing to the spontaneous state in the forest massifs of the national park of Chree and the cultivated plantations.

The culture of the balm by sowing in greenhouse, allowed us to obtain plantations having a good vegetative development.

The extraction of the essential oil of the air parts of lemon balm was carried out by hydrodistillation. The average returns in essential oil of the cultivated and spontaneous plantations are comparable respectively of 0, 24 %, and 0, 25 %.

The analysis by spectroscopy FTIR of the essential oil of the balm allowed to determine the functional groups including alcanes, alcènes, aldehydes, cétones, alcohols, esters and ether.

With the aim of bringing to light the anti-inflammatory and antispasmodic activity of the infused of the balm, pharmacological essays were realized on albino mice by force-feeding.

The obtained results show that this species has an anti-inflammatory effect with a percentage of reduction of the 15,36 % oedema, so considerable as that of the leading product Ibuprofen 200mg (31,65 %) and an antispasmodic effect with a percentage of 87,32 % reduction of the cramps comparable to that of the leading product SPASFON (92,98 %).

Keywords: *Melissa officinalis*, essential Oil, FTIR, anti-inflammatory, antispasmodic

ملخص

مساهمة في دراسة نبتة الميليسا " *Melissa officinalis* " و تجريب استعمالها

في اطار تقييم النباتات الجزائرية ,اهتمنا بدراسة نبتة عطرية ذات عدة مفاعيل علاجية معروفة باسم ميليسا ,و التي هي عبارة عن عشبة من عائلة lamiaceae .بالرغم من الاشارات القديمة فهي حديثة في طب التداوي بالاعشاب .

دراستنا تمت على الميليسا الغابية الموجودة بالحظيرة الوطنية للشريعة و الميليسا المنتجة .

كما سمحت لنا هذه الاخيرة بعد زرع بذورها داخل بيت بلاستيكي بالحصول على نمو نباتي جيد.

استخلاص الزيوت الاساسية من الاعضاء الهوائية لهذه النبتة قد تم عن طريق المائي ,و التي يتراوح متوسط مردودها 0,24 بالمئة , 0,25 بالمئة على التوالي .

التحليل الطيفي بالاشعة تحت الحمراء لهذه الزيوت أبرز المجموعات الوظيفية لها ,و التي تحتوي على الألكان,الألسن, الأدهيد ,السيتون ,الكحول ,الأستر و الإيثر .

بهدف الكشف عن النشاط المضاد للإلتهاب و المضاد للتشنج لخالصة الميليسا , تجارب صيدلانية أجريناها على فئران المخبر.

النتائج المحصل عليها تبين أن لهذه النبتة تأثير مضاد للإلتهاب بنسبة 15,36 بالمئة مقارنة بالدواء المضاد للإلتهاب المتمثل في الإيبوبروفان 200 مغ بنسبة 31,65 بالمئة ,كما أن لها تأثير مضاد للتشنج بمعدل 87,32 بالمئة مقارنة مع الدواء المضاد للتشنج المتمثل في سباسفون بنسبة 92,98 بالمئة.

الكلمات الاساسية ميليسا اوفيسيناليس, الزيوت الاساسية, التحليل الطيفي للاشعة تحت الحمراء,

مضاد للإلتهاب, مضاد للتشنج.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition de l'huile essentielle de mélisse (%).....	11
Tableau 2 : Rendement en huiles essentielles des tiges feuillées des plants de <i>M. officinalis</i> spontané et cultivés.....	48
Tableau 3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>M. officinalis</i>	52
Tableau 4 : Ensemble des bandes d'absorption de l'huile essentielle.....	53
Tableau 5 : Poids des pattes gauches et droites enregistrés chez les souris de lot témoin (T).....	54
Tableau 6 : Poids des pattes gauches et droites enregistrés chez les souris de lot essai 1 (E ₁).....	55
Tableau 7 : Poids des pattes gauches et droites enregistrés chez les souris de lot essai 2(E ₂).....	55
Tableau 8 : Nombre de crampes enregistrées lors du Writhing test.....	58

Liste des figures

Figure 1 : la réaction inflammatoire (HELLAL, 2007).....	16
Figure 2 : Classification sommaire des anti-inflammatoires (BANNWARTH in BOUVENOT, 1996).....	21
Figure3 : Inhibition de la voie des cyclooxygénases par les AINS (WEILL& BATTEUX, 2003).....	22
Figure 4 : Régulation de la contraction musculaire (RAYCAJAL, 2009).....	23
Figure 5 : Localisation de la zone d'étude : Hammam Melouane.....	27
Figure 6 : Plant de <i>Melissa officinalis</i> L.....	28
Figure 7 : Plants de <i>M. officinalis</i> poussant à l'état spontané à Hammam Mélouane.....	28
Figure 8 : Semences de <i>Melissa officinalis</i>	29
Figure 9 : Substrat pour le repiquage des plants.....	30
Figure10 : Plantule prélevée pour le repiquage.....	30
Figure 11 : Plantules repiquées dans les gobelets.....	30
Figure 12 : Distillateur type « Clevenger ».....	32
Figure13 : Schéma d'un appareil de Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier.(FTIR).....	34
Figure 14 : la levée des semences après 13 jours du semis.....	45
Figure 15 : Plants obtenus après trois semaines du semis.....	45
Figure 16 : Obtention des plantules après repiquage.....	46
Figure 17 : Développement des plantules de <i>M. officinalis</i> après transplantation.....	46
Figure 18 : Obtention de plants de <i>M. officinalis</i> après culture.....	47
Figure 19 : Détail d'un plant de <i>M.officinalis</i> de 30 cm de haut.....	47
Figure20 : Teneur en humidité de la <i>M.officinalis</i> spontanée.....	48
Figure 21 : Teneur en humidité de la <i>M.officinalis</i> cultivée.....	48
Figure 22 : Cinétique d'extraction des HE lors de l'hydrodistillation.....	50
Figure 23 : Spectre infrarouge de l'huile essentielle de la mélisse.....	52
Figure 24 : Pourcentage d'œdème enregistré lors de l'activité anti-inflammatoire sur des souris albinos (n=18).....	56
Figure 25 : Pourcentage de réduction d'œdème, enregistrée lors de l'activité anti-inflammatoire sur des souris albinos (n=18).....	57
Figure 26 : Nombre de crampes comptabilisées après injection de l'acide acétique sur	

Souris albinos (n=18).....59

Figure 27 : Pourcentage de réduction des crampes enregistrée lors du Writhing test sur des Souris albinos n=18).....60

Abréviations

0.05	: seuil de signification
AINS	: Anti-inflammatoire Non Stéroïdien
<i>al.</i>	: Collaborateurs
°C	: Degré Celsius
CGMS	: Chromatographie Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
cm	: Centimètre
CRD	: Centre de Recherche et de Développement
cp	: Comprimé
ddl	: Degré de liberté
E1	: Lot essai 1 traité par l'infusé de la mélisse
FTIR	: Spectroscopie Infrarouge de Transformée de Fourier
g	: Gramme
h	: Heure
HE	: Huile Essentielle
HPLC	: Chromatographie Liquide à Haute Performance
5-HPETE	: 5-HydroxyPentaEicosaTriEnoic Acid
INRH	: Institut National des Ressources Hydrauliques
IR	: Infrarouge
KBr	: Bromure de potassium
Kg	: Kilogramme
L	: Linné Carl Von
Na ₂ SO ₄	: Sulfate de sodium
m ₁ , m ₂	: moyenne
mg	: milligramme
ml	: millilitre
mn	: minute
MS	: Matière Sèche.
n	: nombre de souris
ONAB	: Office National d'Alimentation de Bétail
PG	: Prostaglandines
PGI ₂	: Prostacycline
PLA ₂	: Phospholipase A ₂
PNC	: Parc National de Chréa
RMN	: Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire
S ²	: Variance
TXA ₂	: Thromboxane A ₂
Var	: Variété
VIH	: Virus de l'immunodéficience humaine

Glossaire

Akène : fruit sec, indéhiscant, contenant une seule graine n'adhérant pas au fruit.

Analgésique : qui calme ou supprime la douleur.

Antalgique : qui calme la douleur.

Anti-inflammatoire : ce dit d'un produit ayant la propriété de diminuer l'inflammation.

Antioxydant : Molécule qui ralentit ou empêche l'oxydation, la dégradation des aliments, de certains composés organiques ou de certains matériaux.

Antiparasitaire : substance ayant pour but de lutter contre l'infection due à un parasite en détruisant ce dernier

Antipyrétique : substance qui diminue la fièvre

Antispasmodique : substance qui permet de lutter contre les spasmes, agit généralement en empêchant la contraction des fibres musculaires de l'intestin et des voies urinaires.

Antiviral : actif contre les virus.

Aromathérapie : thérapeutique par les huiles essentielles végétales.

Bilabié : divisé en deux lèvres.

Calice : partie externe des enveloppes d'une fleur formée des sépales.

Carminatif : qui provoque l'expulsion des gaz intestinaux.

Carragénine : mucopolysaccharide sulfaté extrait d'une algue marine

Colique : douleur abdominale.

Cordiforme : en forme de cœur.

Décoction : action de faire bouillir de l'eau dans laquelle se trouvant des fragments de plante pendant 10 à 30 minutes.

Diaphorétique : provoque la transpiration

Elixir : Préparation médicinale liquide à laquelle ont été ajoutés du sucre ou du miel et de l'alcool

Fébrifuge : qui diminue la fièvre.

Flavonoïde : composé hétérocyclique oxygéné portant une fonction cétone et lié à deux noyaux benzéniques.

Glabre : dépourvu de toute pilosité.

Herpès : éruption cutanée de vésicules au niveau d'une inflammation.

Hypnotique : provoque le sommeil

Infusion : action de verser de l'eau bouillante sur des fragments de plante et les laisser en contact quelques minutes.

Limpide : clair, transparent

Macération : procédé consistant à laisser séjourner un corps notamment une substance alimentaire dans un liquide (eau, alcool et huile), pour l'imprégner, l'aromatiser et le conserver.

Monoterpènes : se sont une classe de terpènes constitués de deux molécules d'isoprène C₅H₈

Mucilage : substance glucidique qui se gonfle au contact de l'eau en donnant une solution visqueuse.

Œdème : accumulation anormale de liquide provenant du sang dans les espaces interstitiels.

Onguent : pommade à base de graisse ou d'huiles que l'on applique sur la peau.

Organolectique : Caractère d'un produit pouvant être apprécié par les sens humains.

Phénols : carbure aromatique (cycle benzénique) portant un ou plusieurs groupements Hydroxyles.

Sédatif : qui calme une activité exagérée (cardiosédatif, neurosédatif).

Spasme : contraction musculaire involontaire, soudaine et violente.

Suc : produit de sécrétion susceptible d'être extrait d'un tissu animal ou végétal.

Teinture : solution obtenue en laissant une certaine quantité de drogue desséchée au contact d'un solvant pour un temps plus ou moins long.

Vasoconstriction : diminution du calibre des veines par contraction de leurs fibres musculaires lisses.

Vasodilatation : augmentation du calibre des veines par relâchement de la musculature lisse de leur paroi.

Verticille : ensemble de feuilles attachées à la même hauteur sur la tige en nombre supérieur à deux.

Vulnéraire : en application externe, elle contribue à la guérison des plaies, mais elle peut aussi être administrée oralement pour réanimer les personnes ayant subi une chute ou une blessure.

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Chapitre 1: Synthèse bibliographique

1. Généralités sur la mélisse officinale : <i>Melissa officinalis</i> L.....	04
---	-----------

1.1. Historique	04
1.2. Etymologie et Dénomination de la mélisse.....	05
1.3. Répartition biogéographique et habitat.....	05
1.4. Aspect botanique.....	06
1.5. Culture de la mélisse.....	07
1.5.1. Mode de multiplication.....	07
1.5.2. Exigences.....	08
1.5.3. Conduite de la culture et entretien	09
1.6. Composition chimique de la mélisse.....	09
1.7. Caractéristiques de l'huile essentielle de la mélisse.....	10
1.8. Propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle de la mélisse.....	12
1.9. Utilisation de la mélisse.....	12
1.9.1. Domaine thérapeutique	12
1.9.2. Domaine culinaire.....	13
1.9.3. Domaine agricole.....	14
1.9.4. Domaine industriel	14
1.9.4.1. Cosmétologie.....	14
1.9.4.2. Pharmaceutique.....	14
1.9.4.3. Liquoristerie.....	15
1.9.4.4. Agro-alimentaire.....	15
1.9.4.5. Autres utilisations.....	15

2. Activités pharmacologiques.....	15
---	-----------

2.1. Activité anti-inflammatoire.....	15
---------------------------------------	----

2.1.1. Processus de l'inflammation.....	15
2.1.1.1 Définition.....	15
2.1.1.2 Les causes de l'inflammation.....	16

2.1.1.3 Les phases de l'inflammation.....	17
2.1.2 Les anti-inflammatoires.....	20
2.1.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	20
2.1.2.2. Mécanisme d'action des AINS	21
2.2. Activité antispasmodique.....	22
2.2.1. Généralités.....	22
2.2.2. Rappel physiologique de la contraction musculaire.....	23
2.2.3. Traitement des spasmes.....	23
2.2.3.1. Mécanisme d'action.....	24

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2.1. Présentation de la zone d'étude des plants poussant à l'état spontané.....	26
2.2. Matériel végétal.....	27
2.2.1. Plants poussant à l'état spontané.....	28
2.2.2. Plants cultivés.....	29
2.2.3. Récolte des plants	31
2.2.4. Préparation des échantillons pour les analyses.....	31
2.3. Techniques d'analyses.....	32
2.3.1. Détermination de la matière sèche.....	32
2.3.2. Extraction des huiles essentielles.....	32
2.3.3. Propriétés organoleptiques.....	33
2.3.4. Analyse par Spectroscopie IR.....	33
2.4. Matériel animal.....	34
2.5. Activité anti-inflammatoire (test de Levy)	35
2.6. Activité antispasmodique (Writhing test)	39
2.7. Analyse statistique.....	42

Chapitre 3: Résultats et discussion

3.1. Culture de plants.....	45
3.2. Extraction et rendement en huile essentielle.....	47
3.2.1. Détermination de la matière sèche (%) des plants spontanés et cultivés à la récolte.....	47
3.2.2. Le rendement en huile essentielle.....	48
3.2.3. La cinétique d'extraction des HE lors de l'hydrodistillation.....	50
3.3. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles obtenues.....	51
3.4. Les résultats de l'analyse par Spectroscopie IR.....	52
3.5. Les activités pharmacologiques.....	54
3.5.1. Activité anti-inflammatoire.....	54
3.5.2. Activité antispasmodique.....	58
Conclusion.....	63
Références bibliographiques	

Introduction

Introduction

Depuis toujours, l'homme a eu recours aux plantes pour se nourrir, se soigner mais aussi pour se parfumer sans connaître réellement les propriétés de ces plantes. A travers les siècles, il a pu, grâce à ses expériences et son intelligence, accumuler un savoir important des vertus médicinales des plantes (BOULLARD, 2001).

Les plantes aromatiques et médicinales sont à l'origine de nombreux médicaments actuels en fournissant d'une part, la matière première et d'autre part, elles sont considérées comme modèle de base pour la synthèse des molécules thérapeutiques (GIRRE, 1980). Elles représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps (ISERIN, 1997).

Aujourd'hui, avec les progrès de la recherche scientifique, la science reconnaît et confirme différentes vertus des plantes et de leurs huiles essentielles. Elles ont un domaine d'application très varié et sont très utilisées dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique, parfumerie, agroalimentaire et additifs (BRUNETON, 1999).

L'Algérie par son aire géographique et diversité climatique est riche en flore naturelle, la gamme des plantes aromatiques et médicinales fait partie du grand patrimoine végétal du pays. Ces plantes suscitent beaucoup d'intérêt, car en dehors de leur utilisation traditionnelle, elles constituent une ressource naturelle exploitable par l'industrie et contribuerait au développement socio économique du pays.

La famille des *Lamiaceae* est largement représentée par les plantes aromatiques et médicinales appartenant à plusieurs genres (QUEZEL et SANTA, 1962). Nous avons choisi comme support d'étude : *Melissa officinalis* L (la mélisse officinale). Cette espèce est employée par la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés sédatives, carminatives, antispasmodique et antivirale. Son huile essentielle présenterait une activité antibactérienne, anti parasitaire, anti-inflammatoire et antifongique.

Pour son utilisation traditionnelle, la mélisse officinale est récoltée à l'état sauvage et commercialisée par les herboristes.

Malgré son intérêt pharmacologique, cosmétique et industriel, la mélisse n'est pas exploitée en Algérie.

A cet effet et dans le but de contribuer à la valorisation de *Melissa officinalis*, nous avons mené un travail qui consiste à :

- La réalisation d'une culture de la mélisse par semis en serre.
- L'extraction des huiles essentielles de la mélisse spontanée et cultivée par hydro distillation,
- L'évaluation des rendements et caractérisation des huiles essentielles par spectroscopie FTIR.
- La mise en évidence de quelques effets thérapeutiques de l'infusé de la mélisse à savoir, son activité anti-inflammatoire et antispasmodique (essais sur souris).

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur la mélisse officinale : *Melissa officinalis* L.

1.1 Historique

Parmi les nombreuses plantes aromatiques les plus connues, la mélisse a une place de choix dans les différentes pharmacopées existantes. Elle est connue depuis plus de 2000 ans, les Grecs et les latins l'utilisèrent traditionnellement pour ses vertus culinaires et médicinales contre les troubles de système nerveux (SPECK, URSULA et FOTSCH, 2009). C'est une plante aromatique, médicinale, mellifère et condimentaire; elle ressemble à la menthe avec laquelle on la confond souvent (JOREK, 1983 ; BARTELS, 1998 ; BARDEAU, 2009).

Depuis le premier millénaire, la mélisse est connue et appréciée en tant que plante médicinale en Europe et au moyen Orient. Le médecin perse Avicenne (980 - 1037) recommandait la mélisse pour stimuler le fonctionnement cardiaque ; aussi, le grand médecin suisse Paracelse (1493 – 1541) la considérait comme cardiotonique très efficace, il s'intéressait à l'extraction de substances actives tiraient de cette drogue et, il préparait des boissons toniques appelées «élixir de la vie»(BABULKA, 2005). L'écrivain anglais John Evelyn (1620 - 1541) a décrit la mélisse comme une plante qui structure le cerveau, renforce la santé mentale et supprime la mélancolie (PENCHEV, 2010). On rapporte qu'en Angleterre, un dénommé John Hussey, qui buvait tous les matins une tasse de tisane de mélisse citronnelle avec du miel, aurait atteint l'âge mémorable de 116 ans (SPECK, URSULA et FOTSCH, 2009).

La mélisse fût introduite en France au moyen âge, au début de XVII siècle, les carmes déchaussés de la rue de Vaugirard à Paris composèrent la célèbre « eau de mélisse » appelée aussi «eau des Carmes » qui rendit célèbre la mélisse officinale et devînt très populaire ; elle est connue comme un excellent antispasmodique (SALLE, 1991). Egalement, les médecins arabes vantaient les vertus antispasmodiques de la mélisse (SCHAUENBERG & PARIS, 1977).

Depuis, de nombreuses études ont été faites, notamment en 1978, en Allemagne où les propriétés antivirales de la plante ont été mises en évidence et confirmées par des recherches menées durant les années 90 sur le virus de l'herpès (ROUX, 2005).

Selon la littérature, la mélisse est l'une des plantes qui ont traversé des siècles sans déclin ; elle est nouvellement introduite en phytothérapie moderne avec l'utilisation de ses extraits qui présentent des propriétés spécifiques; néanmoins, elle garde ses propriétés traditionnelles lorsqu'elle est préparée en tisane ou associée à d'autres plantes (BABULKA, 2005).

1.2 Etymologie et Dénomination de la mélisse

Le nom latin *Melissa* trouve ses racines dans le nom grec Meleia (meli, melitos = miel). Autrement, *Melissa* signifie en Grec « abeille » relatif à son nectar qui est recherché par les abeilles (BIANCHINI et CORBETTA, 1975).

Le terme *officinalis* a été donné pour la première fois par Carl Von Linné (1707-1778) ; ce terme a été mentionné dans la pharmacopée française en 1733 et l'utilisation du mot *officine*, qui signifie en Français « pharmacie » lui a été attribué pour la première fois en 1812 (PENCHEV, 2010). Sa popularité lui a valu différentes appellations telles que citronnelle, mélisse, piment des abeilles ou des ruches, Céline, citronnade, thé de France (GIRRE, 2001), l'herbe au citron (BELOUED, 2001), poncirade (BOURGEOIS, 2007).

Elle est très connue en Angleterre sous les noms : balm, lemon balm, Common Balm, sweet balm (BOCK, 2010).

Selon BOCK (2010), elle est connue en Italie (Cedronella, Citronella, Melissa vera), en Espagne (Melisa, Melissa, Tarongina, Toronjil), aux Pays-bas (Citroenmelisse), en Allemagne (Zitronen-Melisse).

En arabe et en berbère, cette plante est souvent associée à l'abeille : Badarendjouya, Ferzizou, Tifer n't zizoua, Tournadjan, Tizizouit, Touroundjan, Tindjan (BABA AISSA, 1999 ; BELOUED, 2001). Selon certains herboristes, on l'appelle : Merzazou, méliissa, tronjan.

1.3. Répartition biogéographique et habitat

Selon ISERIN(1997) et BOULLARD(2001), La mélisse officinale trouve ses origines dans les régions tempérées ; elle est répandue naturellement en Europe méridionale en Afrique du nord (Algérie, Maroc), en région méditerranéenne orientale et en Asie occidentale (Turquie), au Caucase et au nord de l'Iran.

Elle pousse à l'état spontané dans les broussailles en situation de mi-ombragée jusqu'à 1000m d'altitude ; elle se rencontre souvent dans les endroits où se trouve l'ortie (BARDIN, 2004; POLESE, 2006). Elle est fréquente dans les endroits incultes le long des haies, dans les bois, sur les bermes des routes, dans les terrains vagues et aux abords d'habitations (BIANCHINI et CORBETTA, 1975; BOULLARD, 2001). Elle croît à l'état subsponané dans presque toute la France, particulièrement dans les lieux frais du Midi, dans les Alpes, les- Pyrénées et même dans les environs de Paris (RAHTIYARCA BAGDAT et COSGE, 2006). En Algérie, la mélisse officinale pousse de manière spontanée au niveau des ravins humides des montagnes du Djurdjura, des Babors et de Mouzaia (BELOUED, 2001).

La mélisse est cultivée dans le monde entier : France, Allemagne, Italie, Roumanie, Bulgarie, Amérique du Nord (RAHTIYARCA BAGDAT et COSGE, 2006). Elle est cultivée depuis longtemps dans les jardins à cause de son odeur suave (TRUELLE, 2009). En Algérie, occasionnellement cultivée en Kabylie (BABA AISSA, 1999).

1.4. Aspect botanique

a. Systématique

La classification retenue est celle de QUEZEL et SANTA (1962).

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Magnolopsidae

Ordre : Labiales (Lamiales)

Famille : Labiées (Lamiaceae)

Genre : *Melissa*

Espèce : *Melissa officinalis*

b. Description botanique

La mélisse, du nom scientifique *Melissa officinalis* L., est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des *Lamiaceae* (*Labiataceae*) (BARDEAU, 2009).

Elle présente des racines grêles, cylindriques, dures et fibreuses (BARDEAU, 2009).

Elle pousse en touffes de 30 – 80 cm de haut; ses tiges quadrangulaires sont rameuses et très feuillées, elles sont velues vers leur sommet et près des nœuds et sont glabres dans le reste de son étendue (BABA AISSA, 1999; GIRRE, 2001).

Les feuilles sont opposées, ovales, cordiformes, pétiolées, réticulées et crénelées ; elles sont vert foncé sur le dessus et légèrement pâles en dessous ; lorsqu'elles sont froissées, elles exhalent un parfum doux et citronné (BIANCHINI et CORBETTA, 1975).

Les fleurs sont réunies par 3 à 12 en glomérules axillaires à l'aisselle des feuilles supérieures, elles se tournent du même côté ; elles sont de couleur jaune en bouton, puis blanche, rosée ou bleu pâle ; la floraison a lieu de la fin du mois de juin au mois de septembre (BIANCHINI et CORBETTA, 1975 ; BARTELS, 1998). Selon les mêmes auteurs, le calice mesure environ 8 mm de long, il est tubuleux, presque campanulé, bilabié, ayant cinq dents dont deux inférieures et trois supérieures ; la corolle est monopétale ayant la forme d'un cylindre évasé au sommet, elle renferme des poils courts épars.

Le fruit est un tétrakène à odeur aromatique, il contient quatre minuscules graines luisantes de couleur brun foncé (ACHOUR et BOUGACI, 2008 ; GIRRE, 2001).

D'après BOURGEOIS (2007), il existe plusieurs variétés de mélisse dont l'auteur en cite deux:

- *Variiegata* : mélisse à feuilles panachées de vert et de jaune.
- *Aurea* : *mélisse* au feuillage doré.

L'auteur signale que ces deux variétés préfèrent les lieux assez ombragés, car les rayons lumineux font perdre au feuillage sa coloration particulière.

GILLY (2005) cite trois variétés de *Melissa officinalis* L. ou mélisse citronnée : Var. *officinalis* des Alpes-Maritimes, Var. *foliosa* et Var. *romana*. Cette dernière est une variété des îles de Corse et de Sardaigne ; elle est remarquable par sa taille plus élevée, ses tiges velues, ses grandes feuilles, ses fleurs plus grandes et à lèvres supérieure violette (TRUELLE, 2009).

1.5. Culture de la mélisse

La mélisse est aujourd'hui cultivée essentiellement pour l'extraction de son huile essentielle ayant une odeur agréable de notation citronnée et aux vertus calmantes et toniques. Elle est facilement cultivable, dans les conditions favorables, elle se montre très envahissante (JOREK, 1983; SPECK, URSULA et FOTSCH, 2009). C'est une plante rustique qui peut pousser en altitude jusqu'à 1500m (JOREK, 1983 ; BOURGEOIS, 2007).

1.5.1. Mode de multiplication

La mélisse se propage traditionnellement par semis, division de touffes et par bouturage.

- Semis

La semence garde son pouvoir germinatif pendant 2 à 3 ans, la durée de germination est généralement de trois à cinq semaines (JOREK, 1983; SPECK, URSULA et FOTSCH, 2009). Pour une levée optimale des graines, il lui faut une température d'environ 20 °C pendant un mois avant l'apparition des premières feuilles (JOREK, 1983).

Le semis se réalise en pépinière en hiver, au printemps et en été (TRUELLE, 2009):

- En hiver, au mois de février, les graines sont semées sous châssis. Dans un châssis de 1m 30 X 1m, on peut obtenir 30 mille plantules. Ces dernières sont mises en pleine terre au mois de mai.

- En été, au mois de juillet, les graines sont semées en pépinière, les plantules sont transplantées en pleine terre au mois d'octobre.

- Au printemps, au mois d'avril, les graines sont semées en place. Ce procédé est pratiqué essentiellement pour la plantation dans les jardins bien exposés.

- **Division des touffes**

Ce procédé se réalise au printemps sur des touffes de deux ans. On opère en moyenne 15 à 20 éclats par touffe: des pieds sains et vigoureux sont déterrés et divisés en plusieurs éclats en veillant à ce que chacun d'eux comporte suffisamment de racines ; puis, les tiges et les racines sont courtement taillées et mises en place en pleine terre et arrosées copieusement (BOURGEOIS, 2007; TRUELLE, 2009).

- **Bouturage**

Le bouturage s'effectue du mois de février au mois de septembre à partir des plants placés sous abri ; des rameaux de 8 à 10 cm sont prélevés et effeuillés sur leur partie inférieure, puis sont piqués dans du terreau et arrosé pour favoriser la reprise (BOURGEOIS, 2007).

En plein champs, la plantation s'effectue en ligne écartées de 50 à 60 cm avec une distance de 30 cm entre les plants. La plantation peut durer 10 ans. Mais, pour l'obtention de meilleurs rendements, il est préférable de ne garder la plantation qu'au maximum durant quatre ans (TRUELLE, 2009).

1.5.2. Exigences

- **Sol**

La Mélisse officinale est peu exigeante, elle pousse dans tout type de sol, c'est une plante extrêmement résistante (JOREK, 1983; SPECK, URSULA et FOTSCH, 2009).

Néanmoins, elle préfère un sol profond, sain, perméable, légèrement humide, de texture sablonneuse ou argileuse, riche en humus ; sur des sols légers et secs, les feuilles jaunissent et les rendements sont faibles ; elle s'accommode bien aux sols ayant un pH de 5 à 7,5 (TRUELLE, 2009).

- **Apport en eau** : Si les pluies sont insuffisantes, l'apport d'eau (irrigation) doit être régulier pour assurer une bonne vigueur de la plantation; un léger excès d'eau ne lui sera pas fatal; par contre, un stress hydrique se traduit par un jaunissement de ses feuilles (GILLY, 2005).

- **Climat** : La mélisse se développe bien dans un endroit ensoleillé, chaud, protégé du froid pour lequel elle est sensible, une exposition de trois heures de soleil par jour lui suffisent largement pour se développer (POLESE, 2006). Elle tolère les endroits ombragés et semi-

ombragés; dans ce cas, ses feuilles contiennent plus d'eau et sont plus difficiles à sécher (JOREK, 1983 ; BOURGEOIS, 2007).

1.5.3. Conduite de la culture et entretien

D'après BOURGEOIS (2007) et SPECK, URSULA et FOTSCH (2009), au cours de la végétation, il est nécessaire d'ameublir le sol par un apport de compost ou de fumier et de rabattre les tiges à environ 15 cm du sol pour favoriser la croissance de nouvelles pousses ; alors qu'au mois de novembre, les plants sont taillés très court.

Vers la fin du mois de juillet, il est recommandé de ralentir les arrosages pour favoriser l'entrée en repos de végétation des plants. A la reprise de la végétation, des binages répétés permettront de garder le sol propre et assurer un bon développement des plants; mais la mélisse est très couvrante et étouffe vite les herbes adventices. A l'entrée de l'hiver, un apport de fumier et un labour sont nécessaires. Dans les pays froids, il est prudent de couvrir la souche par un buttage haut ou en préférant une culture de *Dracocephalum moldavica* L, dite verveine de Provence, il s'agit de plante toujours verte qui peut atteindre 2 m de haut donc elle protège la souche de la mélisse contre le froid. (GILLY, 2005).

La mélisse est sensible au mildiou et à la rouille que l'on peut limiter en taillant régulièrement les plants atteints; si ces derniers sont très atteints, il est conseillé de pratiquer une coupe radicale, les plants ne tarderont pas à repousser et à donner des feuilles d'un vert tendre (BOURGEOIS, 2007). Selon cet auteur, parfois les limaces et les pucerons se révèlent envahissants, une surveillance accrue de la culture permet de déceler leur présence.

1.6. Composition chimique de la mélisse

La mélisse a fait l'objet de plusieurs études chimiques dans le but d'identifier ses principes actifs. Ces études ont révélé que les parties aériennes renferment de nombreux constituants appartenant aux métabolites secondaires et primaires dont les teneurs varient selon les conditions géographiques et climatiques, ainsi que par rapport aux méthodes d'études (extraction et détection).

Elle renferme des huiles essentielles (CARNAT *et al.*, 1998 ; BRUNETON, 1999 ; SADRAEI, GHANNADI et MALEKSHAHI, 2003), des tanins, des mucilages, des substances résineuses, des vitamines C et E et des principes amers (BABA AISSA, 1999; GOGU *et al.*, 2005 ; TRUELLE, 2009). CARNAT *et al.*, (1998) signalent la présence de cires, de dérivés de lutéoline et d'hydroxycinnamique. La présence de ce dernier composé est confirmée par BRUNETON (1999) et ZIAKOVA, BRANDSTETEROVA et BLAHOVA (2003). La mélisse comprend du cynaroside, de la cosmosine, de la

rhamnocitrine, de l'isoquercitrine (HERODEZ *et al.*, 2003). D'autres auteurs signalent la présence des flavonoïdes (SADRAEI, GHANNADI ET MALEKSHAHI, 2003) ; alors que ZIAKOVA, BRANDSTETEROVA et BLAHOVA (2003) se sont intéressés à la présence des stérols et de la chlorophylle. De nombreux acides ont été mis en évidence dans les plants de la mélisse tels que l'acide rosmarinique (CARNAT *et al.*, (1998)), l'acide caféïque (BRUNETON, 1999), l'acide carsonique, l'acide ursolique, l'acide olénoïque (HERODEZ *et al.*, 2003), l'acide gentsique, l'acide P-hydroxybenzoïque et l'acide protocatéchique (ZGORKA et GLOWNIAK, 2001).

1.7. Caractéristiques de l'huile essentielle de la mélisse

Selon BARDEAU (1976) et SALLE (1991) l'essence de la mélisse est incolore, elle est faiblement jaunâtre quand elle est rectifiée ; elle dégage une odeur très fine et agréable rappelant celle du citron, elle est de saveur chaude et légèrement amère ; l'huile essentielle obtenue à partir de la plante fraîche est de densité $d=0,924$, son pouvoir rotatoire est de -15° .

La mélisse produit une faible quantité d'huiles essentielles, elle varie de 0,02 – 0,32 % du poids sec (CARNAT *et al.*, 1998), mais son prix est élevé, car 100 Kg de la mélisse fraîche donnent 20g d'essence, avec 0.12 à 0.15 % en frais et 0.10% en sec selon le procédé choisi.(GILLY,2005). Dans le commerce souvent l'huile essentielle de la mélisse n'est pas authentique, elle fait l'objet de reconstitutions à base d'essences diverses (citrus, andropogon); cette préparation devrait être indiquée, dans tous les cas, par les fournisseurs (BARDEAU, 1976).

Selon des études faites en France par CARNAT *et al.* (1998) sur l'infusion de la mélisse et en Turquie (Ankara) par BAHTIYARCA BAĞDAT et COŞGE (2006) sur l'huile essentielle de la mélisse obtenue par hydrodistillation des parties aériennes fraîches ou séchées, les principaux composés de ses huiles sont le citral (33%) (représenté par les deux stéréoisomères : néral et geranial), le caryophyllène et le citronellal (39%); d'autres composés y sont présents en petites quantités (0.2-0.18%) tels que le germacène, l'ocimène, le citronellol, l'oxyde de caryophyllène, l'acétate de néral, le linalol, et le geraniol.

Divers travaux (CARNAT *et al.*, 1998; ROZZI *et al.*, 2002 ; SADRAEI, GHANNODI et MALEKSHAHI, 2003) ont montré que la composition de l'huile essentielle de mélisse varie selon les différentes techniques d'extraction (hydrodistillation et extraction au CO₂ supercritique) (Tableau 1.7).

Les taux des composés chimiques contenant dans l'huile essentielle extraite par hydrodistillation est plus élevé que l'huile essentielle extraite par CO₂, en plus, il existe d'autres composés minoritaires : 6-methyl-hepten-2-one, Trans-β-ocimene, Linalool, Para-

menth-3-en-8- qui sont absentes dans l'huile extraite par CO₂. Cela confirme pourquoi la technique d'extraction (hydrodistillation) est la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arome du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables, donc elle convient aux huiles ayant une forte composante volatile comme la mélisse.

Tableau 1.7. Composition de l'huile essentielle de mélisse (%)

Méthodes d'extraction Composés	Hydro- Distillation	Extraction au CO ₂
Octen-3-ol -	1,3	-
6-methyl-hepten-2-one	0,3-0,35	-
Trans-β-ocimene	0,3- 0,5	-
Linalool	0,56- 0,9	-
Para-menth-3-en-8-ol	0,2	-
Citronellal	5- 39, 47	2,87 – 3,53
Citronellol	0,63- 6,2	-
Néral	20,40- 33,63	21,77 – 23,3
Geraniol	0,18- 0,7	-
Geranial	27,84- 47,06	61,40 – 63,23
α-Cubebène	0,2	-
Eugénol	0,1	-
Acétate de Geranyl	7,1	-
Caryophyllène	4,9	6,63 - 8,47
Germacrène	0,2	-
Acétate d'Eugenol	0,1	-
Oxyde de caryophyllène	2,7	0,9 – 2,63
Acétate de néral	-	0 – 1,57

ADINEE *et al.* (2008), ont procédé à l'analyse par GC/MS de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des fleurs de *M. officinalis*, ils ont mis en évidence 12 molécules dont les plus importantes sont le trans-carveol (28.89%), le citronellol (25.24%), δ-3-carène (5.26%), le citronellal (4.9%), le geraniol (2.2%), le 1-octene-3-ol (2.03%) et le spathulenol (2.06%).

1.8. Propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle de la mélisse

La mélisse officinale possède de nombreuses propriétés médicinales, on lui reconnaît d'importantes vertus telles que sédative et hypnotique sur le système nerveux central, antispasmodique, stomachique, carminative et diaphorétique. (SCHAUNENBERG et PARIS, 1977). BIANCHINI et CORBETTA (1975) et ISERIN (1997) mentionnent que la mélisse est cardiotonique, elle stimule la transpiration, elle favorise l'évacuation des gaz. Selon ces auteurs, elle présente des propriétés antivirales et anti-oxydantes ; ces propriétés sont attribuées à l'acide rosmarinique. La teneur en acide rosmarinique de l'huile varie de 0,5 % à 4,75 % / PS (PENICHEV, 2010).

Des tests pharmacologiques de l'huile de la mélisse ont montré une activité anti-inflammatoire au niveau des muqueuses digestives et bronchiques (GIRRE, 2001), des activités antibactériennes, anti-parasitiques, antihistaminiques et antifongiques (SADRAEI, GHANNADI et MALEKSHAHI, 2003).

1.9. Utilisation de la mélisse

La mélisse officinale est utilisée dans plusieurs domaines thérapeutiques, culinaires, agricoles et industriels.

1.9.1. Domaine thérapeutique

- Médecine traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle, la mélisse est une relaxante efficace en cas d'anxiété, de dépression légère, de nervosité et d'irritabilité ; elle diminue l'émotivité et apaise les palpitations cardiaques d'origine nerveuse ; elle est également indiquée lorsque l'anxiété provoque des troubles digestifs tels qu'indigestions, acidité, ballonnements, coliques (ISERIN, 1997). Selon cet auteur des études en laboratoire ont montré qu'elle était active contre l'herpès et le VIH.

La mélisse est utilisée sous-forme de jus ou de thé pour calmer les céphalées, les troubles gastro-intestinaux, l'asthme, la bronchite et pour améliorer les insuffisances cardiaques ; en bain de bouche, elle soulage le mal de dents ; aussi, elle est utilisée sous forme de crème pour calmer les douleurs provoquées par les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales (PIZZORNO et MURRAY, 2006); elle permet de lutter contre la mémoire déficiente, les règles douloureuses et l'anémie. Le suc de la plante fraîche soulage les douleurs dues aux piqûres de guêpes (BOULLARD, 2001). En usage interne, la **mélisse** est tout particulièrement indiquée pour ses propriétés calmantes globales. Néanmoins, ces auteurs soulignent que le nombre de préparations de la mélisse seule est limité, elle est souvent associée à d'autres plantes telles que la menthe poivrée pour combattre des troubles digestifs ou la valériane pour soulager les troubles nerveux.

Une importante étude clinique a été menée en 1990 a montré l'efficacité de l'association mélisse avec la passiflore dans le traitement de l'anxiété (ROUX, 2005).

Beaucoup de praticiens conseillent d'appliquer une solution de mélisse sur la peau dès qu'apparaissent les premiers symptômes de boutons de fièvre d'herpès. Selon des rapports isolés, cette forme de traitement est souvent très efficace. D'autre part, Il est possible que la mélisse ralentisse l'activité de la thyroïde, surtout si on l'employait sur de longues périodes. Par contre, des naturopathes conseillent aux personnes ayant une thyroïde

moins active que la normale de ne jamais employer cette plante (HOSEIN et ROGERS, 2005).

D'après BARDEAU (1976) et SALLE (1991), l'huile de Mélisse est employée en friction contre les migraines et les rhumatismes, un bon bain dans lequel on ajoute une décoction de feuilles de Mélisse est efficace pour traiter les troubles nerveux et les spasmes. Enfin, l'huile essentielle de la mélisse est très utilisée en aromathérapie du fait qu'elle possède des vertus analgésiques et bactériostatiques. (BOULLARD, 2001).

Selon ISERIN (1997) les parties aériennes de la mélisse (les feuilles et les sommités fleuries) sont employées de multiples façons :

- Infusions : contre les maux de tête d'origine nerveuse boire une tasse 3 fois par jour.
- Teintures : pour combattre l'anxiété et la dépression légère prendre ½ cuillère à café 3 fois par jour.
- Lotions : contre l'herpès, préparer une infusion et appliquer régulièrement sur les lésions.
- Onguent : appliquer sur les piqûres d'insectes.

D'après SPECK, URSULA et FOTSCH (2009), la manière la plus agréable de l'utilisation de cette plante est de prendre un bon bain relaxant et calmant à la mélisse !

1.9.2. Domaine culinaire

La mélisse peut être utilisée fraîche ou séchée, elle est particulièrement adaptée à l'accompagnement d'aliments âcres. Les feuilles fraîches, dégageant une fragrance citronnée, peuvent remplacer la menthe dans les ragouts, les soupes froides et boissons rafraichissantes (JOREK, 1983). Selon BARTELS (1998) ses feuilles conviennent très bien pour les salades de fruits, les compotes, les jus de fruits, le thé et les marmelades ; mais elles sont souvent utilisées pour aromatiser les gibiers et les plats de poissons, de viande, de volailles, les sauces aux fines herbes, les farces et les marinades. Elle parfume agréablement les légumes cuits à la vapeur et aromatise certains desserts (flans) et le lait.

Il est préférable d'ajouter les feuilles en fin de cuisson car la mélisse perd une grande partie de son arôme en cuisant. La cuisine orientale emploie souvent la mélisse comme épice. Les feuilles macérées dans du vinaigre, permettent de préparer des dressings exquis pour les salades estivales. Elle est aussi, utilisée dans la pâtisserie à base de citron et d'orange.

1.9.3 Domaine agricole

La mélisse est souvent cultivée comme plante mellifère car ses fleurs sont très butinées par les abeilles, les apiculteurs des régions méditerranéennes frottaient la plante sur les ruches pour attirer de nouvelles abeilles et maintenir les anciennes sur place ; d'autre part, cette pratique permet d'éviter que les ouvrières s'éloignent de la ruche pour retirer la reine de l'essaim (BARTELS, 1998).

1.9.4. Domaine industriel

1.9.4.1. Cosmétologie

La mélisse occupe une place non négligeable en aromathérapie mais aussi, en cosmétologie, son huile essentielle est très appréciée dans la parfumerie grâce à l'hydrosol qu'elle renferme (TRUELLE, 2009). D'après l'auteur, cette huile essentielle constitue un composant intéressant pour l'élaboration de divers produits de beauté et peut être utilisée dans les shampoings, crème de jour, ainsi que dans les lotions et produits de toilette pour le visage et le corps. Aussi, la mélisse constitue un maillon important dans la composition de multiples dentifrices et de bains de bouche, elle entre également dans la composition des produits d'hygiène (ROUX *et al.*, 2008).

1.9.4.2. Pharmaceutique

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la semi synthèse. (SCHNAUBELT, 1998)

La mélisse entre dans les ingrédients de plusieurs médicaments somnifères, de détente, calmants sous forme galénique comprimés, gélules, crème à la mélisse et sachets pour la tisane dont la plupart du temps sont fournis aux pharmaciens qui les conditionnent eux mêmes.

1.9.4.3. Liquoristerie

La mélisse entre dans l'alcoolat vulnéraire du Codex ainsi que dans l'alcoolature vulnéraire ou Eau vulnéraire rouge qui sert à préparer le vin aromatique si usité pour le pansement de certaines plaies. Elle figure à côté de plusieurs autres plantes dans la fabrication de deux liqueurs très répandues : l'Absinthe et la Chartreuse (BIANCHINI et CORBETTA, 1975).

1.9.4.4. Agro-alimentaire

Dans l'industrie agro-alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une bonne qualité organoleptique. Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des huiles essentielles. L'activité antimicrobienne de la mélisse s'est avérée efficace pour inhiber la croissance des levures responsables de la détérioration des aliments (BAHTIYARCA BAĞDAT et COŞGE, 2006). Elle est aussi utilisée comme additif dans les aliments (ADINEE *et al.*, 2008).

1.9.4.5. Autres utilisations

De part ses propriétés médicinales, les avantages de son odeur sont tels que son huile est utilisée comme un insecticide ; on peut disposer des feuilles dans le linge de maison pour le parfumer et éloigner les insectes (ISERIN, 1997).

2. Activités pharmacologiques

2.1. Activité anti-inflammatoire

2.1.1. Processus de l'inflammation

2.1.1.1 Définition

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés à une agression qui entraîne une altération tissulaire (Figure1). Elle est caractérisée par quatre symptômes qui sont : la chaleur, la rougeur, la tuméfaction et la douleur.

Ainsi, le processus inflammatoire est l'ensemble des phénomènes qui se déroulent dans le tissu conjonctif vascularisé. Ce processus est habituellement bénéfique : son but est d'éliminer ou d'isoler l'agent pathogène du reste de l'organisme et de permettre le plus rapidement possible la réparation des tissus. Parfois, cette réaction inflammatoire peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies de la régulation du processus inflammatoire ou par anomalies quantitatives ou qualitatives des cellules intervenant dans l'inflammation (WEILL & BATTEUX, 2003 ROUSSELET *et al.*, 2005)

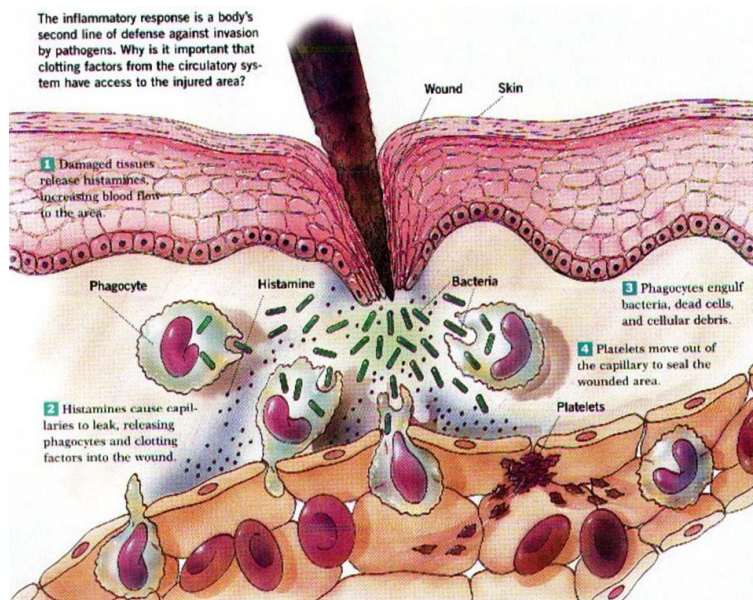


Figure 1 : la réaction inflammatoire (HELLAL, 2007)

2.1.1.2. Les causes de l'inflammation

L'inflammation peut être causée par les agressions physiques (comme les lésions thermiques, les radiations ionisantes, les traumatismes...), chimiques (occasionnées par des composés acides ou basiques, des toxines végétales, bactériennes et venins). Elle peut être la conséquence d'une infection (contamination par des micro-organismes : bactéries, virus, parasites, champignons).

Elle peut être provoquée par une réaction immunitaire secondaire à la réintroduction de l'organisme d'un antigène (allergies) tel qu'un antibiotique. Elle est enfin souvent la conséquence d'une nécrose tissulaire, elle-même secondaire à de nombreuses causes, par exemple une occlusion artérielle (REVILLARD, 2001 ; BLETRY, KAHN et SOMOGYI, 2005).

2.1.1.3 Les phases de l'inflammation

Selon WEILL & BATTEUX (2003), le déroulement d'une réaction inflammatoire est toujours le même. Il évolue en 3 étapes successives :

- La phase vasculaire
- La phase cellulaire
- La phase de cicatrisation

- **La phase vasculaire** : les réactions vasculo-sanguines regroupent trois phénomènes :
- La congestion active
 - L'œdème inflammatoire
 - La diapédèse leucocytaire

- **La congestion active :**

Il s'agit d'une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement, après une brève vasoconstriction, et consiste en une vasodilatation artériolaire puis capillaire dans la zone atteinte. Localement, il en résulte une augmentation de l'apport sanguin et un ralentissement du courant circulatoire. Elle se traduit par une distension des capillaires qui apparaissent gorgés d'hématies, bordés d'un endothélium turgescent.

La congestion est déclenchée par :

-un mécanisme nerveux (nerfs vasomoteurs)

-un mécanisme impliquant l'histamine, la sérotonine, les kinines et les prostaglandines.

Selon BLETRY, KAHN et SOMOGYI (2005), parmi les substances qui participent à la vasodilatation, à l'augmentation de la perméabilité et aux autres aspects de la réaction inflammatoire, on compte :

✚ **les prostaglandines(PG) :**

Ce sont des lipides, libérés par les cellules endommagées et amplifient les effets de l'histamine et des kinines.

Les prostaglandines stimulent peut être également la diapédèse des phagocytes à travers les parois capillaires.

✚ **Amines vasoactives (Histamine-Sérotonine) :**

Elles sont stockées dans les mastocytes, les polynucléaires basophiles et les plaquettes sanguines, une fois libérées dans l'espace extracellulaire, elles produisent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire (congestion active et œdème inflammatoire).

✚ **les kinines :**

Ce sont des polypeptides à action vasoactive formés à partir du kininogène plasmatique grâce à l'action d'enzyme (les kallikréines). Leur action est puissante et brève, car leur durée de vie est très courte. Ces kinines augmentent la perméabilité des vaisseaux, la chaleur locale et la douleur jouent le rôle chimiotactique pour les phagocytes.

✚ Les leucotriènes :

Sont libérés à travers la membrane cellulaire par mise en jeu d'un transporteur spécifique. Ils sont produits par les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles mais surtout les mastocytes et les macrophages alvéolaires. Ils ont une forte activité chimiotactique (leucotriène B₄), vasoconstricteurs, bronchoconstricteurs et augmentent la perméabilité vasculaire (leucotriènes C₄, D₄, E₄) (REVILLARD, 2001 ; WEILL & BATTEUX, 2003).

✚ le complément :

Divers composants du système du complément stimulent la libération d'histamine, attirent les granulocytes neutrophiles par chimiotactisme et favorisent la phagocytose, certains de ses composants peuvent aussi détruire les bactéries. (ROUSSELET *et al.*, 2005)

- **L'œdème inflammatoire :**

Il s'agit du passage dans le tissu conjonctif interstitiel ou les cavités séreuses d'un liquide appelé **exsudat** fait d'eau et de protéines plasmatiques. Il se traduit cliniquement par un gonflement des tissus qui, en comprimant des terminaisons nerveuses, est responsable de la douleur (également provoquée par certains médiateurs chimiques). Sa traduction microscopique est un aspect pâle, peu colorable et distendu du tissu conjonctif. L'œdème inflammatoire résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout d'une augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques, dont l'histamine. (ROUSSELET *et al.*, 2005)

- **La diapédèse leucocytaire :**

C'est la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel. Elle intéresse d'abord les polynucléaires (pendant les 6 à 24 premières heures), puis un peu plus tard (en 24 à 48 heures) les monocytes et les lymphocytes. Il s'agit d'une traversée active des parois vasculaires qui comporte plusieurs étapes :

- **la margination** des leucocytes à proximité des cellules endothéliales, favorisée par le ralentissement du courant circulatoire.

- **l'adhérence** des leucocytes aux cellules endothéliales, par la mise en jeu de molécules

d'adhésion présentes sur la membrane des leucocytes et sur l'endothélium.

-le passage trans-endothélial des leucocytes : en émettant des pseudopodes qui s'insinuent entre les jonctions intercellulaires, les leucocytes traversent la membrane basale grâce à une dépolymérisation transitoire provoquée par leurs enzymes. (ROUSSELET et al., 2005).

➤ **La phase cellulaire :**

Elle est caractérisée par un afflux extravasculaire interstitiel de leucocytes évoluant en trois phases :

La première met en jeu les cellules de l'immunité innée : polynucléaires neutrophiles et monocytes/ macrophages, elle se met en place dans les premières minutes et a pour fonction d'éliminer les micro-organismes pathogènes et les tissus lésés.

A cette première phase fait suite la mise en place d'une réponse non adaptative précoce. Cette réponse implique des lymphocytes porteurs de récepteurs pour l'antigène peu variables qui vont contribuer à l'élimination des micro-organismes.

Enfin, si ces deux premières étapes n'ont pas été suffisantes pour contrôler définitivement l'infection, l'organisme développera une réponse immunitaire adaptative impliquant l'activation de lymphocytes B et T spécifiques. (WEILL& BATTEUX, 2003)

➤ **La phase de cicatrisation :**

La phase de réparation dépend du degré des lésions tissulaires. En effet, le processus de réparation implique de nombreux facteurs de croissance et des interactions complexes entre les cellules et la matrice extracellulaire pour réguler les proliférations et biosynthèses cellulaires. Les molécules d'adhésion transmettent des signaux d'activation aux cellules et certains facteurs de croissance sont capables d'induire ou d'amplifier l'expression de certaines molécules d'adhésion et éventuellement la régénération du tissu lésé (bourgeon charnu).

Le bourgeon charnu va progressivement évoluer soit vers une cicatrice soit vers la reconstitution d'un tissu conjonctif identique au tissu préexistant à l'inflammation (WEILL& BATTEUX, 2003 ; ROUSSELET *et al.*, 2005 ; COHEN et JACQUOT, 2008).

2.1.2 Les anti-inflammatoires

Ce sont des médicaments prescrits pour lutter contre l'inflammation aigue et parfois dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques, et pour atténuer certaines

conséquences de l'inflammation, telles que la douleur et la fièvre.

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes :

- ❖ **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**
- ❖ **Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)** ou glucocorticoïdes : substances de synthèse identiques ou apparentées à des hormones de la glande corticosurrénale, leurs indications plus larges que celles des non-stéroïdiens, dépassent le cadre de l'inflammation. Mais leurs effets indésirables sont également plus importants (COHEN et JACQUOT, 2008).

2.1.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Ils constituent un groupe de médicaments symptomatiques destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies rhumatismales. Tous les AINS possèdent à des degrés divers les propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques. On distingue plusieurs grandes classes d'AINS, notamment les dérivés de l'acide propionique représentés par l'Ibuprofène (Figure 2). Selon BOUVENOT (1996), ils forment une classe chimiquement hétérogène mais s'individualisent par leur capacité commune à inhiber la synthèse des Prostaglandines (PG).

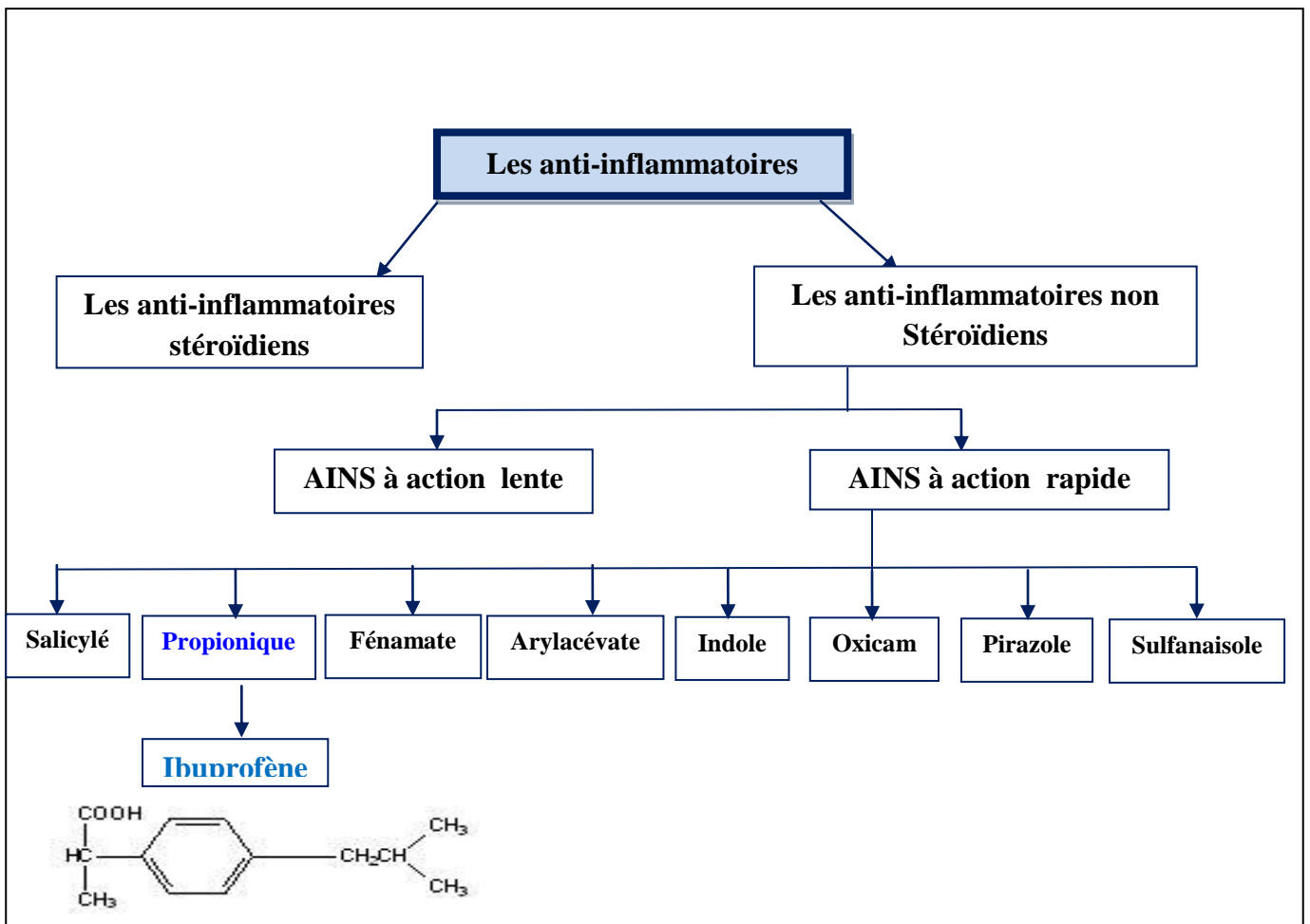


Figure 2 : Classification sommaire des anti-inflammatoires (BANNWARTH *in* BOUVENOT, 1996)

2.1.2.2. Mécanisme d'action des AINS

Les AINS ont plusieurs propriétés pharmacologiques, à savoir des effets anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques, ces effets s'exercent principalement en inhibant la voie des cyclooxygénases. Il existe deux sous-types de cyclooxygénases (COX 1 et 2). La COX-2 est responsable des prostaglandines impliquées dans la douleur et l'inflammation, alors que la COX-1 synthétise les prostaglandines constitutives qui, entre autres, protègent la muqueuse digestive. (Figure 3) (FAUNE et al., 2007)

Les AINS inhibent les cyclooxygénases ; il existe 2 types d'inhibition :

1- Les AINS se fixent sur le site catalytique hydrophobe de l'acide arachidonique de façon **compétitive** et **réversible** et bloquent son catabolisme. C'est le cas de l'ibuprofène et de l'indométacine.

2- D'autres comme l'aspirine se fixent de façon **irréversible** sur la cyclooxygénase et bloquent son activité même après disparition de l'AINS.

Mais le mécanisme d'action de certains AINS comme le paracétamol reste encore

inconnu ; celui-ci aurait peu d'effet sur COX 1 et 2 mais inhiberait une troisième cyclooxygénase (COX-3) qui n'aurait pas les effets secondaires rencontrés avec COX-1. D'autre mécanisme, comme une interférence avec la sérotonine ou une action *via* les endorphines, sont évoqués.

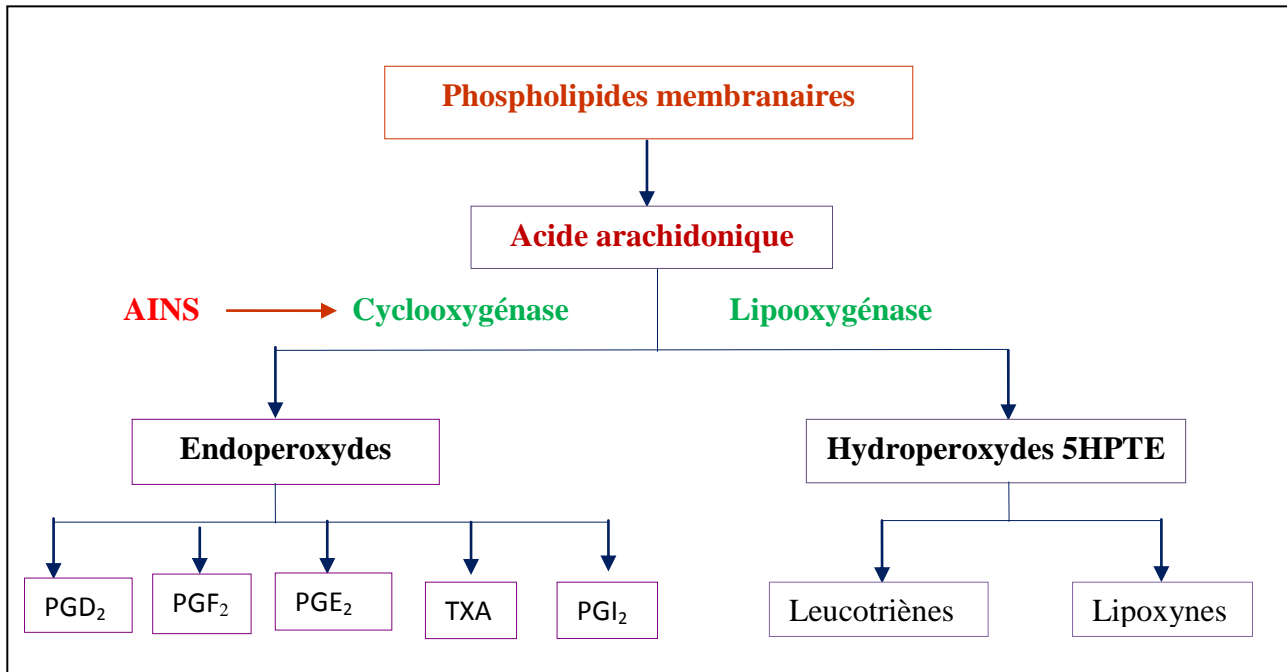


Figure3 : Inhibition de la voie des cyclooxygénases par les AINS

(WEILL& BATTEUX, 2003)

2.2. Activité antispasmodique

2.2.1. Généralités

La douleur est le symptôme le plus fréquent, il s'agit de douleurs à type de spasmes, réalisant une sensation de contraction ou de tension d'intensité variable (NAVEAU, BARKIAN et PERLEMUTER, 2003).

De nombreux troubles digestifs sont liés à des anomalies de la motricité digestive, nausées et vomissements, dysfonctionnements des sphincters, dyspepsie, gastroparésie, spasme ou atonie de l'intestin irritable.

2.2.2. Rappel physiologique de la contraction musculaire

Le muscle lisse digestif est constitué de cellule (fibres) caractérisées par des variations périodiques de leur potentiel de membrane, sous forme d'une onde électrique de dépolarisation. La naissance d'un potentiel d'action (activité rapide/déclenche la contraction musculaire).

L'excitation des petits muscles lisses peut être spontanée, certaines cellules fonctionnent comme des pacemakers. La propagation de l'onde électrique se fait de proche en proche. Au niveau cellulaire, l'ensemble de ces phénomènes électriques de dépolarisation membranaire correspond à des transferts ioniques notamment de calcium vers l'intérieur de la cellule (Figure 4). L'augmentation du calcium intracellulaire permet la liaison entre les filaments d'actine et de myosine et déclenche la contraction musculaire lisse (TALBERT, WILLOQUET et GERVAIS, 2009).

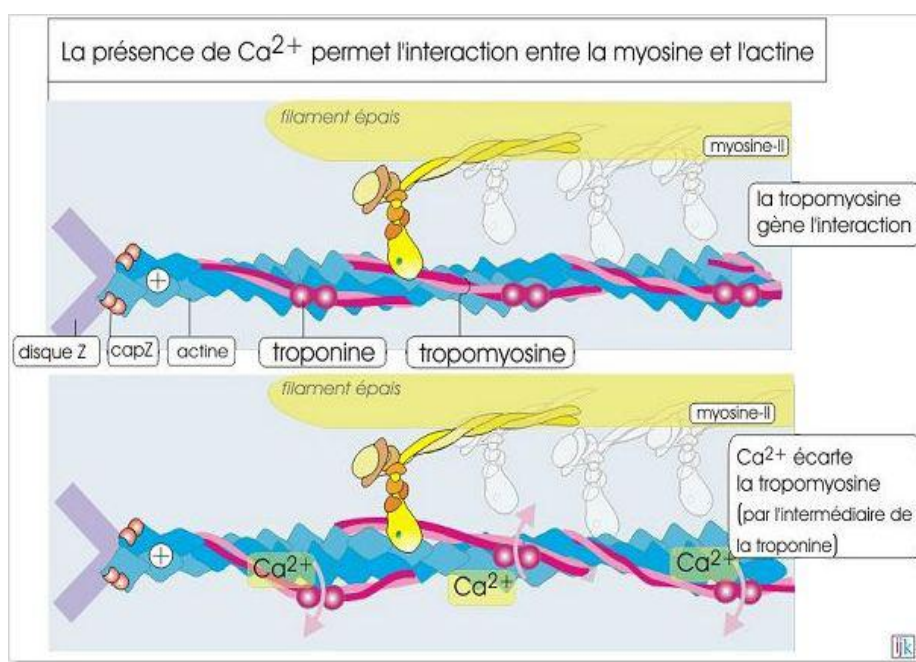


Figure 4: Régulation de la contraction musculaire (RAYCAJAL, 2009)

2.2.3. Traitement des spasmes

Le spasme des muscles lisses est considéré comme responsable de certaines douleurs ; cette douleur entretient le spasme, d'où un cercle vicieux que l'on s'efforce de rompre par le recours aux antispasmodiques.

Les antispasmodiques suppriment les contractures douloureuses des fibres lisses et

font disparaître les spasmes, ils calment les douleurs intestinales et crampes abdominales. (STORA, 2007).

Il existe deux types d'antispasmodiques :

◆ **Les antispasmodiques anticholinergiques :**

Ils sont actifs, mais les effets indésirables en limitent l'utilisation à fortes doses. (Viscéralgine).

◆ **Les antispasmodiques musculotropes :**

En raison de leur bonne tolérance, ils sont adaptés au traitement au long cours et sont répartis généralement en trois prises avant les repas.

Ils ont fait la preuve de leur efficacité sur les douleurs des patients ayant une colopathie fonctionnelle.les plus utilisés sont la trimébutine (Débridat), le phloroglucinol (spasfon). Le phloroglucinol, d'action plus rapide, est utilisé lorsqu'il existe des phénomènes douloureux paroxystiques. (NAVEAU, BARKIAN et PERLEMUTER, 2003).

2.2.3.1. Mécanisme d'action

Action directe sur les fibres musculaire lisses digestives urinaires et utérines, empêchant leurs contractions (SABBAH, 2009).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du parc national de Chréa, de l'université Sâad Dahlab de Blida et au CRD de la Saidal (El Harrach).

Au parc national de Chréa, nous avons récolté des plants de *M. officinalis* poussant à l'état spontané.

A l'université Saad Dahleb de Blida, nous avons réalisé la culture des plants et l'extraction des huiles essentielles au laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales. L'analyse des huiles essentielles par spectroscopie Infrarouge (FTIR) a été réalisée au laboratoire de chimie du département de chimie.

Les activités pharmacologiques de l'infusé de la mélisse (anti-inflammatoire et antispasmodique) ont été réalisés au niveau de laboratoire de pharmacotoxicologie du centre de recherche et développement CRD (SAIDAL).

2.1. Présentation de la zone d'étude des plants poussant à l'état spontané

- Localisation

La zone d'étude est localisée dans la vallée d'oued El-Harrach (juste avant son débouché dans la plaine de Mitidja). La zone est située dans la commune de Hammam Melouane (Daïra de Bougara, Wilaya de Blida) à environ 40 Km au sud-ouest d'Alger (Figure 5).

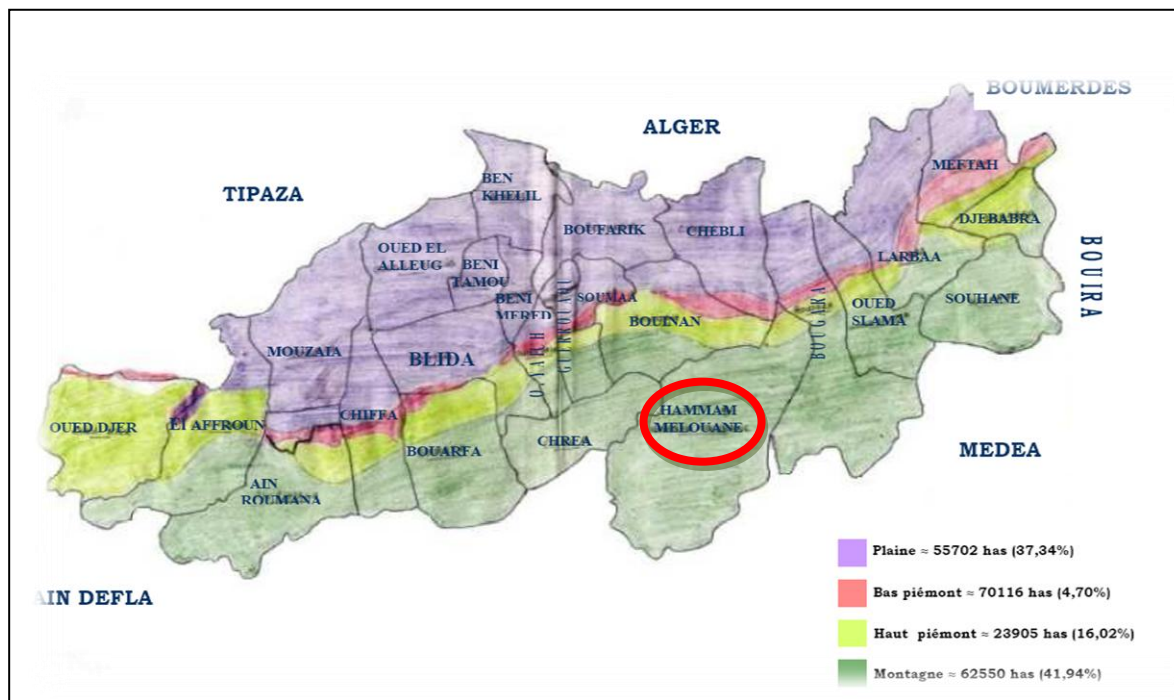


Figure 5 : Localisation de la zone d'étude : Hammam Melouane (PNC, 2010)

- Caractéristiques pédoclimatiques

Les données pédoclimatiques de la zone d'étude ont été recueillies auprès de l'Institut National des Ressources Hydrauliques (INRH) de Soumâa et du Parc National de Chréa (PNC), secteur Hammam Melouane.

Le territoire de Hammam Melouane présente un relief accidenté et montagneux, il est couvert à près de 85% par des broussailles, maquis avec une dominance d'arbres forestiers.

Le climat de Hammam Melouane est méditerranéen, il est sec et chaud en été, frais et pluvieux en hiver. Selon, les données de la station météorologique, la moyenne annuelle des températures est instable, car elle varie de 15 °C en période hivernale à 33°C en période estivale ; cette température pourrait baisser jusqu'à 5°C en hiver et augmenter à 35°C en été. La pluviométrie ne dépasse pas les 700 mm/an. Pour l'année 2008, la pluviométrie enregistrée est de 572 mm, dans cette région, ce sont les vents de l'est-ouest qui prédominent ; tandis que le sirocco, il se manifeste un à trois jours par an.

2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de plants de la mélisse officinale, espèce herbacée appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Elle pousse en Algérie à l'état spontané. Elle est parfois cultivée dans des jardins comme plante décorative.

2.2.1. Plantes poussant à l'état spontané

Dans notre cas, la mélisse pousse à l'état spontané sur les collines du parc national de Chréa essentiellement au niveau de Hamma Mélouane .

L'identification de l'espèce *Melissa officinalis* L. (Figure 6) a été effectuée à l'aide de la flore Algérienne (QUEZEL et SANTA, 1962) et authentifiée après consultation de l'herbier du parc national de Chréa, secteur Hammam Mélouane.



Figure 6: Plant de *Melissa officinalis* L.

Elle croît dans les broussailles situées à près de 300m d'altitude au niveau des massifs forestiers (Figure7), dans les endroits exposés au soleil, en association avec de nombreuses autres espèces herbacées.

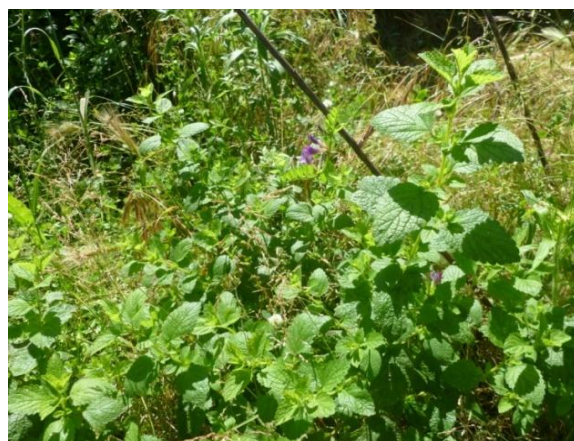


Figure 7 : Plantes de *M. officinalis* poussant à l'état spontané à Hammam Mélouane

Les tiges sont droites, quadrangulaires, plus ou moins rameuses, clairsemées de poils, elles portent des feuilles grandes, opposées, largement crénelées, ovoïdes ou en forme de losange et cordées à la base. A l'aisselle de ces feuilles se développent des rameaux à feuilles de plus petite taille.

2.2.2. Plants cultivés

La culture de la mélisse a été réalisée par semis au niveau de la serre de l'Université de Saad Dahleb Blida. Les semences sont achetées auprès des commerçants des grains et semences (Figure 8).



Figure 8: Semences de *Melissa officinalis*

- Semis

Le semis en serre a été réalisé le 01 mars 2011, à raison de 1,5g de graines dans 137 alvéoles contenant de la tourbe stérile au 2/3 de l'alvéole. Dans chaque alvéole nous avons placé 3 à 6 graines. Par la suite, les graines sont recouvertes par une couche de tourbe (1/3) et arrosées à l'eau délicatement avec un pulvérisateur. Durant toute la période, avant germination, nous avons maintenu une humidité suffisante à l'intérieur des alvéoles de façon à ne pas causer d'inondation ni de sécheresse.

Les alvéoles sont placées dans un endroit éclairé de la serre. La température ambiante journalière oscillait entre 20°C et 25°C.



Figure 9 : Substrat pour le repiquage des plants



Figure 10: Plantule prélevée pour le repiquage

- Repiquage

Après 22 jours du semis, nous avons réalisé le repiquage de 85 plantules. Le substrat est constitué d'un mélange de $\frac{2}{3}$ de terreau et de $\frac{1}{3}$ de tourbe (Figure 9). Les plantules comportent deux à trois verticilles de feuilles (Figure 10). Les plantules sont prélevées en faisant attention aux racines et placées à raison d'une plantule par gobelet et enfoncée jusqu'aux premières feuilles (Figure 11).



Figure 11 : Plantules repiquées dans les gobelets

- Transplantation

Après, 45 jours du semis, nous avons procédé à la transplantation des plantules atteignant 15-25 cm de haut dans des pots de taille suffisante (30 cm de diamètre) contenant de la terre de jardin et terreau ($\frac{2}{3}$) et de fumier ($\frac{1}{3}$). L'arrosage des plants s'est poursuivi quotidiennement sans mouiller les feuilles.

Il est important de signaler que durant la culture, nous avons désherbé manuellement quelques herbes adventices et nous n'avons utilisé aucun produit chimique pour le traitement des plants ni pour stimuler leur développement et que nous avons maintenu les arrosages quotidiens et réguliers jusqu'à la récolte.

2.2.3. Récolte des plants

- Plants poussant à l'état spontané

Pour les analyses, au mois de mai 2011, nous avons récolté des tiges sommitales feuillées de 30cm de long. La récolte est réalisée vers 10 heures du matin. La température ambiante était de 26°C, le ciel était dégagé.

Les plants étaient au stade de pleine végétation, avant floraison (absence de boutons floraux). La quantité des tiges feuillées récoltée est de 4 kg.

- Plants cultivés

Les échantillons composés de tiges feuillées sommitales de 15 à 30 cm de long sont récoltés au mois de juillet 2011 vers 9h du matin au même stade phénologique que ceux récoltés à l'état spontané. Au moment de la récolte, la température ambiante de la serre était de 28°C.

2.2.4. Préparation des échantillons pour les analyses

Dans les deux cas (plants spontanés et cultivés), les tiges feuillées sont pesées à la récolte et mises à sécher, étalées sur des paillasses pendant une semaine à l'abri du soleil. La température ambiante était de 26°C à 30°C. Les plants étaient bien étalés et aérés afin d'éviter les moisissures. Après séchage, les échantillons sont mis dans sachets en papiers, en attendant les analyses.

2.3. Techniques d'analyses

2.3.1. Détermination de la matière sèche

La matière sèche des plants est déterminé par un passage d'un échantillon de tige feuillée fraîche ou séchée à l'étuve à +105 °C pendant 24 heures.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$MS (\%) = (PS/PF).100$$

MS(%) : pourcentage de matière sèche.

PF : Poids frais.

PS : poids sec.

2.3.2. Extraction des huiles essentielles

La méthode choisie est l'hydro distillation. L'appareil utilisé est du type Clevenger (Figure 12). La matière végétale (50g) est immergée dans 600ml d'eau distillée, le tout est contenu dans un ballon et porté à ébullition durant 3 heures. Les huiles surnageantes sont récupérées (V ml) et séchées à l'aide de Na₂ SO₄ anhydre.



Figure 12 : Distillateur type « Clevenger »

Afin d'évaluer la production en huiles essentielles des plants, on détermine les rendements obtenus par rapport à la matière sèche des plants et calculés selon la formule ci-dessous.

$$P = (V/M).100$$

Où

P : Production d'huiles essentielles en ml/100g de MS

V : volume d'huile essentielle en (ml)

M : poids de la matière végétale, exprimé par rapport à la matière sèche.

Durant les extractions, nous avons exploré la cinétique d'extraction en effectuant des prélèvements horaires à intervalles réguliers sur les phases organiques.

2.3.3. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues ont fait l'objet d'observations des caractéristiques organoleptiques : aspect, couleur, odeur.

2.3.4. Analyse par Spectroscopie FTIR :

Le but de cette analyse est de connaître les groupements fonctionnels présents dans les huiles essentielles de la mélisse.

La Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) (figure 13) est basée sur l'adsorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau (PETER *et al.*, 2004)

En spectrométrie infrarouge, on soumet un échantillon à une radiation comprise entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} (énergie de vibration d'une molécule). Lorsque la fréquence de cette radiation incidente est voisine de la fréquence de résonance de la molécule à analyser, il y a absorption de l'énergie lumineuse. On notera ainsi une diminution de l'énergie transmise ou réfléchi. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre de la molécule. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure données va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques qui vont permettre d'identifier le matériau.

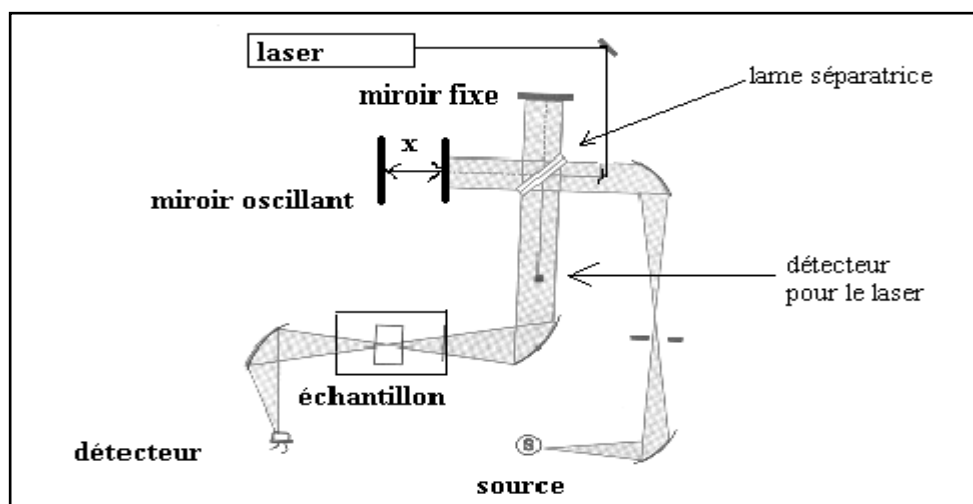


Figure13 : Schéma d'un appareil de Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

L'analyse se réalise par l'étalement d'une goutte de l'huile essentielle de la mélisse sur une pastille de KBr à l'aide de l'équipement infrarouge de marque A JASIO (FTIR- 4100).

2.4. Matériel animal

Nous avons testé l'activité anti-inflammatoire et antispasmodique de l'infusé des tiges feuillées de la mélisse sur des souris issues de l'élevage de l'animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie du CRD SAIDAL. Ces souris présentent les caractères suivants :

- Espèce : souris albinos
- Sexe : male, femelle
- Nombre : 36
- Poids : 19 à 21g / 20g \pm 2g
- Alimentation : Granulés « O.N.A.B »
- Boisson : Eau de robinet ad libitum

*Conditions d'hébergement :

Les souris sont placées dans un local contrôlé. La température est comprise entre 20 à 24°C, la photopériode est de 10 heures par jour, le taux d'humidité est de l'ordre de 50%.

Nous avons remarqué que l'HE de la mélisse est potentiellement toxique car elle a provoqué la mort des animaux de laboratoire (souris) quelques temps après l'ingestion de cette HE par voie orale.

A notre grand regret, l'HE que nous avons récoltée n'était pas suffisante pour entreprendre l'étude de la toxicité de l'huile essentielle et d'autant plus que la bibliographie signale l'utilisation avec prudence de l'extrait des huiles essentielles à partir de certaines doses (ROUX, 2005)

2.5. Activité anti-inflammatoire (test de Levy) selon CULOT (1972)

Ce test a pour objectif de déterminer les étapes à suivre pour contrôler l'activité anti-inflammatoire par voie orale du produit à tester à savoir l'infusé de la mélisse officinale afin de garantir la fiabilité des résultats.

Il permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester l'infusé de la mélisse officinale et du produit de référence correspondant Antalphen 200mg.

Le principe est d'injecter de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris qui provoquerait une réaction inflammatoire donc un œdème qui peut être réduit par un produit anti-inflammatoire.

- Préparation de l'infusé

Selon la méthode de BARDEAU (2009), on verse 100ml d'eau bouillante sur 20g de poudre végétale, on laisse infuser pendant 15mn et on filtre. On ajuste à 100ml avec de l'eau distillée.

- Préparation de la solution de carragénine :

On prépare la solution de la carragénine, soit 0,5g dissout dans 50 ml d'eau distillée.

- Préparation de la solution du produit de référence (Antalphen 200mg):

Pour la préparation de cette solution, on utilise Antalphen(Ibuprofène) comprimé de 200mg :

La dose active est de 1200mg/60kg (VIDAL, 2008). Sachant que le poids moyen des souris est de 20g. Ainsi, la dose à administrer à chaque souris serait de 0,4 mg et, chaque souris doit recevoir 0,5ml de médicament. Ainsi, on dissout 1cp (200mg) dans 100ml d'eau distillée puis on ajuste le volume à 250ml.

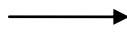
- Test d'activité :

La veille du test les souris sont mises à jeun. On constitue 3 lots de 6 souris chacun

- Lot témoin T : qui reçoit l'eau distillée
- Lot essai E₁ : qui reçoit l'infusé de la mélisse
- Lot essai E₂ : qui reçoit l'Antalphen(Ibuprofène)

Le protocole expérimental de l'activité anti-inflammatoire (Test de Levy) sur des souris albinos (n=18) est présenté ci dessous :

Contention de la souris



Administration par gavage aux 3 lots de 6 souris les solutions suivantes

T_0

Lot T
0.5ml d'eau distillé

Lot E₁
0.5ml de l'infusé de
la mélisse

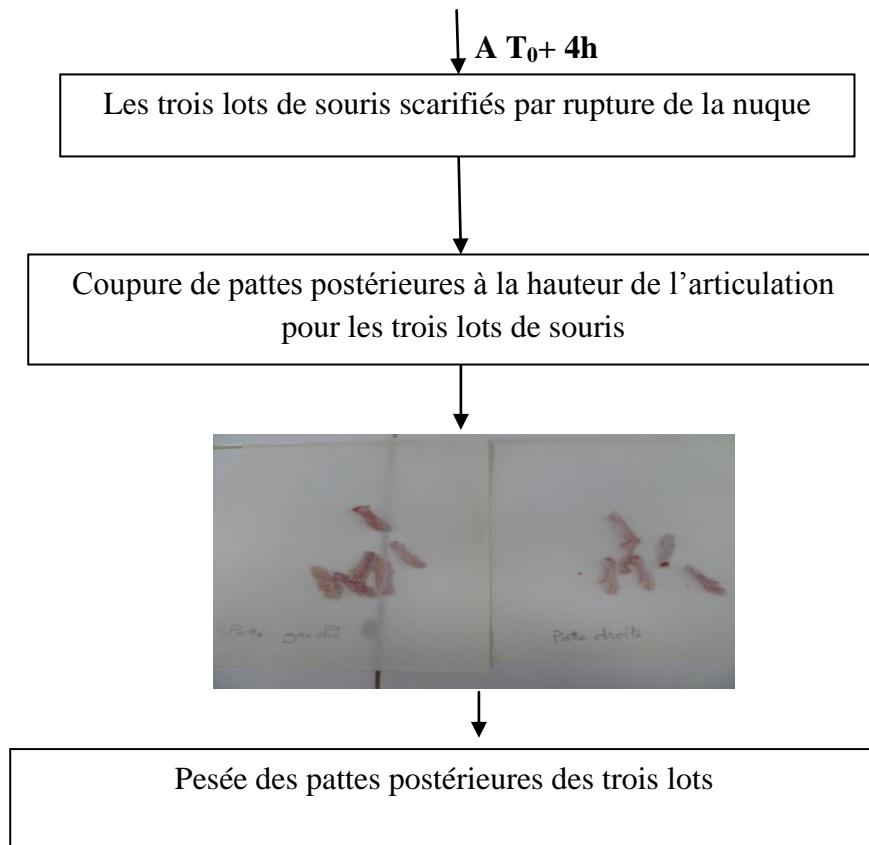
Lot E₂
0.5ml d' Ibuprofène
200mg



A T_0+30mn

Injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0.025ml aux trois lots





Le jour du test :

Au temps T₀ (Figure 14), on administre aux trois lots les suspensions suivantes :

- Lot T : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée.
- Lot E₁ : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester l'infusé de la mélisse officinale à la dose active bibliographique.
- Lot E₂ : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit de référence Antalfen 200mg(Ibuprofène) à la même dose active.

Au temps T₀+ 30 mn :

On injecte la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0.025 ml à tous les animaux mis en expérience.

Au temps T₀+ 4heures (protocole expérimental)

- On scarifie les animaux par rupture de la nuque.
- On coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et on les pèse.

- Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes :

- Les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et de la patte droite sont calculées pour chaque lot.
- Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante : (CULOT, 1972)

$$\%d'œdème = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

- Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante : (CULOT, 1972)

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

2.6. Activité antispasmodique (Writhing test) selon VOGEL et VOGEL (1997)

Ce test a pour objectif de déterminer les étapes à suivre pour contrôler l'activité antispasmodique du produit à tester à savoir l'infusé de la mélisse officinale afin de garantir la fiabilité des résultats.

Il permet de comparer la réduction du nombre de crampes après administration de doses égales du produit antispasmodique à tester l'infusé de la mélisse officinale et du produit de référence correspondant le SPASFON.

Le principe est que l'injection de l'acide acétique par voie intra-péritonéale chez les souris provoque une réaction douloureuse. Cette douleur se manifeste par des mouvements de torsion de l'abdomen avec étirement des pattes postérieures (crampes) ; ceci pourrait être réduit par un produit antispasmodique.

Protocole expérimental :

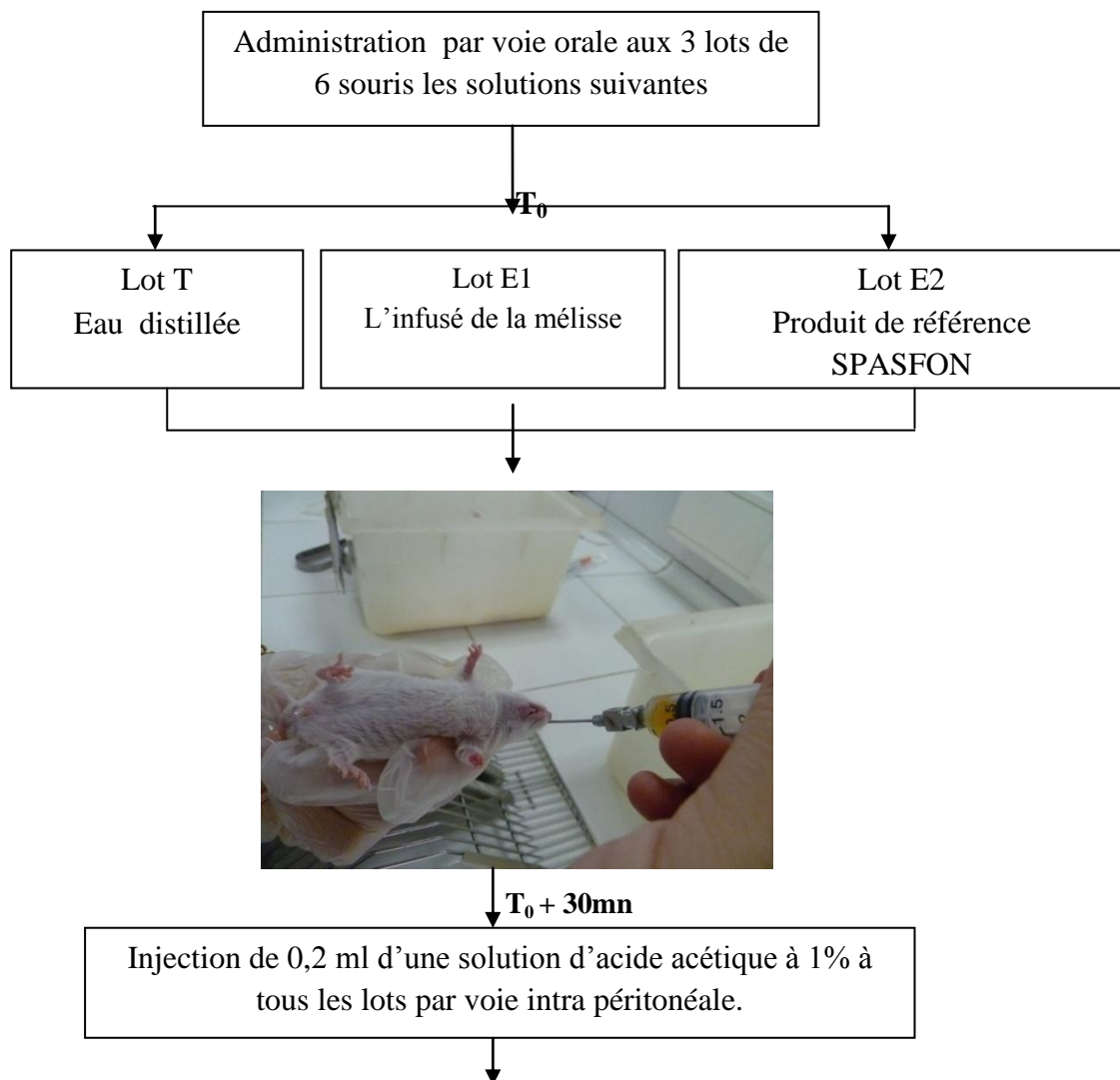
- Préparation de la solution de l'acide acétique à 1%
- Préparation de la solution du produit de référence SPASFON (1cp = 80mg):

La dose active est de 480mg/60kg (VIDAL, 2008). Et, chaque souris doit recevoir 0,5 ml de médicament. Sachant que le poids moyen des souris est de 20g, la dose à administrer à chaque souris serait de 0,16 mg ($20 \times 480 / 60000 = 0,16 \text{mg} / \text{Souris}$). Ainsi, on fait dissoudre 1cp de SPASFON dans 250ml d'eau distillée ($80 \times 0,5 / 0,16 = 250 \text{ml}$).

Le Protocole expérimental de l'activité antispasmodique (Writhing test) sur des souris albinos (n=18) est le suivant :

Ce test passe par 3 étapes : La veille du test les souris sont mises à jeun. On constitue 3 lots de 6 souris chacun

- Lot témoin T : qui reçoit l'eau distillée
- Lot essai E₁ : qui reçoit l'infusé de la mélisse
- Lot essai E₂ : qui reçoit le SPASFON





↓ $T_0 + 35mn$

Transfer des souris dans des cages afin de comptabiliser le nombre de crampes observées pendant une période de 10 mn



Le jour du test :

Au temps T_0 : On administre aux trois lots les suspensions suivantes :

- Lot T : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée par voie orale
- Lot E_1 : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester l'infusé de la mélisse à la dose active bibliographique.
- Lot E_2 : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit de référence SPASFON à la même dose active.

Au temps $T_0 + 30 mn$: On injecte à toutes les souris la solution d'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale sous un volume de 0,2 ml par souris.

Au temps $T_0 + 35 mn$: On fait le comptage de crampes par observation directe des souris séparées chacune dans une cage. La durée de l'observation est de 10 mn.

Méthode de calcul du pourcentage de réduction de nombre de crampes :

- Les moyennes arithmétiques des crampes sont calculées pour chaque lot.
- Le pourcentage de réduction des crampes (% de protection) chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante : (VOGEL et VOGEL, 1997)

$$\text{\% de réduction de nombre de crampes} = \frac{\text{Moyenne des crampes du lot T} - \text{moyenne de crampes du lot E}}{\text{Moyenne des crampes du lot T}} \times 100$$

2.7. Analyse statistique

Nous avons appliqué le test de Student pour les effectifs réduits ($n < 30$). Il s'agit d'une comparaison de deux moyennes observées des deux lots (le lot essai 1 et le lot essai 2).

On suppose l'hypothèse nulle $H_0 : \mu_1 = \mu_2$

On choisit $\alpha = 0.05$ comme seuil de signification

Calcul de t par la formule suivante :

$$t = \frac{|m_1 - m_2|}{\sqrt{\frac{(S^2_1 + S^2_2)}{n_1 + n_2}}}$$

Estimation de la variance commune S^2 :

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1) S^2_1 + (n_2 - 1) S^2_2}{n_1 + n_2 - 2}$$

Le t est comparé avec t_α lu sur la table de Student à un degré de liberté ($n_1 + n_2 - 2$) ddl.

- $|t| \geq t_\alpha - k$ dll $\rightarrow H_0$ est rejetée (préciser p)
- $|t| < t_\alpha - k$ dll $\rightarrow H_0$ est non rejetée (différence significative)

$$K = (n_1 + n_2 - 2)$$

$p < 0.05 \rightarrow$ peu significative

$p < 0.01 \rightarrow$ significative

$p < 0.001 \rightarrow$ très significative

$p < 0.0005 \rightarrow$ hautement significative

Chapitre 3

Résultats et discussions

3.1. Culture de plants

Les premières plantules sont apparues au 13^{ème} jour du semis (figure 14). Sur les 1,5 g de graines semées, nous avons obtenu 92 plantules.



Figure 14 : la levée des semences après 13 jours du semis.

La levée des graines a eu lieu après 13 jours seulement. Alors que, d'après JOREK (1983) la durée de germination est généralement de trois à cinq semaines.

Trois semaines après le semis, nous avons obtenu 92 plantules sur les 137 alvéoles semées. Les plantules mesurent 5 à 7 cm de haut et comportent deux à trois verticilles de feuilles (Figure 15).



Figure 15: Plants obtenus après trois semaines du semis

Après trois semaines du semis, nous avons évalué le taux de levée des graines à 67 %. Ces résultats montrent que nos conditions expérimentales seraient favorables à la multiplication par semis de *M. officinalis*.

La culture s'est poursuivie dans les gobelets où nous avons observé un bon développement des plantules (Figure 16).



Figure 16: Obtention des plantules après repiquage

Par la suite, ces plantules sont transplantées dans les pots où elles ont atteint un bon développement avec des ramifications et comportant de larges feuilles (figure 17).



Figure 17 : Développement des plantules de *M. officinalis* après transplantation



Figure 18 : Obtention de plants de *M.officinalis* de 30 cm de haut



Figure 19 : Détail d'un plant de *M. officinalis* après culture

Après la transplantation, nous avons obtenu des plants de 25 à 30 cm de long munis de ramifications et portant de larges feuilles. (Figure 18,19)

Nous signalons que la culture est réalisée dans des pots contenant un sol stérile et maintenu humide. Ces pots sont placés dans un endroit bien éclairé sous serre. Au cours la culture, nous n'avons utilisé aucun produit chimique pour stimuler le développement ni pour traiter contre les maladies. Ces conditions nous ont permis d'obtenir des plants ayant un bon développement végétatif.

3.2. Extraction et rendement en huiles essentielles

3.2.1 Détermination de la matière sèche (%) des plants spontanés et cultivés à la récolte

La détermination des teneurs en eau des échantillons a montré que les plants cultivés renferment plus d'eau (80 - 82%) que les plants poussant à l'état spontané (figure 20 et 21).

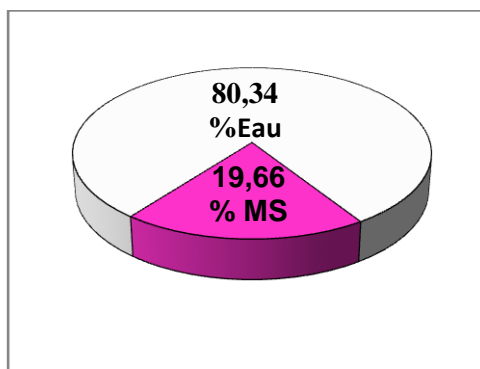


Figure 20: Teneur en eau de la *M.officinalis* spontanée

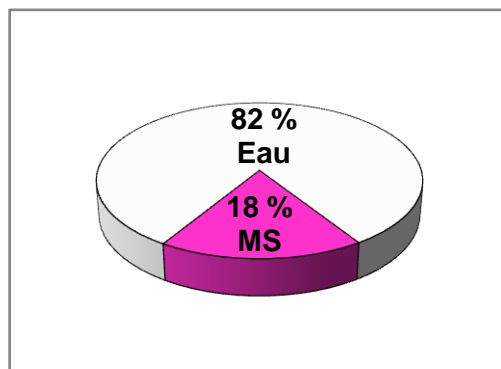


Figure 21: Teneur en eau de la *M .officinalis* cultivée

3.2.2 Le rendement en huiles essentielles

L'hydrodistillation des parties aériennes fraîches (tiges feuillées de 30 cm de long) a été réalisée avec le dispositif du type « Clevenger ».

Tableau 2 : Rendement en huiles essentielles des tiges feuillées des plants de *M. officinalis* spontané et cultivés

Echantillons	Plants spontanés (ml/100g MS)	Plants cultivés (ml/100g MS)
E1	0,24	0,26
E2	0,26	0,22
E3	0,24	0,24
Moyenne	0,25	0,24

Les rendements en huiles essentielles sont exprimés par la quantité d'huile en ml obtenu pour 100g de matière végétale sèche.

L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement moyen de 0,24ml/100g MS et 0,25ml/100g MS respectivement pour la mélisse cultivée et spontanée. Ainsi, nous constatons que la culture n'a pas entraîné l'amélioration des rendements en huiles essentielles des tiges feuillées par rapport aux plants poussant à l'état spontané. Cependant, ces rendements sont supérieurs à ceux obtenus par SADRAEI, GHANNADI et MALEKSHAHI (2003) sur des plants de *M.officinalis* cultivée en Kashan (Iran), l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des parties aériennes pendant 4 heures, dont les rendements sont en moyenne de 0,1%.

Selon certains auteurs (ADZET *et al.*, 1992 ; MRLIANOVA *et al.*, 2001 ; MRLIANOVA *et al.*, 2002 ; PATORA *et al.*, 2003), les rendements en huiles essentielles peuvent varier d'une région à une autre, selon les facteurs pédoclimatiques (sol, pratiques culturales, climat), l'âge de la plante, la hauteur de la coupe, la période et l'endroit de récolte de la plante, les conditions de séchage, de stockage et particulièrement l'espèce elle-même. Ainsi, MRLIANOVA *et al.*, (2001) ayant utilisé différentes populations de la *M.officinalis* provenant de 17 régions Européennes et présentant deux périodes de végétation (avant et au début de floraison); le pourcentage d'huiles essentielles contenant dans les feuilles, au stade avant de floraison, varie de 0,06 à 0,16% de la 1^{ère} récolte. SARI et CEYLAN (2002) sur 11 populations de *M.officinalis* provenant de différentes localités en Turquie, l'hydrodistillation des feuilles des plants a révélé une différence dans les rendements en huiles essentielles qui est de 0,03% pour la localité de Bozdağ et de 0,067% pour la localité de Menemen. Alors que PATORA *et al.* (2003) sur différentes populations de la *M.officinalis* cultivé en Pologne ont obtenu des rendements variant de 0,08 à 0,25 ml/100g dans les feuilles.

CARRON, BAROFFIO et CARLEN (2008) ont mené une culture de *M. officinalis* dans une zone montagneuse suisse ; durant la période de végétation, les auteurs ont couvert les cultures avec une couverture agro textile, composé de voiles de polypropylène non tissés de couleur blanche et stabilisé contre les UV, elle présente une bonne homogénéité et une forte porosité, perméable à l'eau en freinant l'évaporation; ainsi, l'hydrodistillation des parties aériennes des plants a permis d'obtenir 0,48% d'huiles essentielles ; alors que les plants obtenus par culture sans couverture agro textile ont abouti à des rendements de 0,18%. Ce dernier résultat est inférieur à celui obtenu par nos plants. En revanche, l'utilisation de la couverture agrotexile a permis l'amélioration des rendements en huiles essentielles de près de trois fois. Toutefois, SHAHRAM, MORTEZA et KATAYOON (2011) ont montré que les rendements en huiles essentielles obtenus par hydrodistillation à partir des feuilles et tiges de *M.officinalis* cultivé sous en serre en Iran étaient respectivement de 0,36% et de 0,014%, ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par nos plans cultivés sous serre (0,24ml/100gMS).

D'autre part, SHAHRAM, MORTEZA et KATAYOON (2011) ont rapporté que le rendement en huiles essentielles obtenus par hydrodistillation à partir des plants de *M.officinalis* cultivés en serre et traités avec N, P, K, NP, NK, PK, NPK sont de l'ordre

de 0,4% . En effet, ces traitements ont permis d'obtenir des rendements élevés suite à l'augmentation de la phytomasse.

Plusieurs études (SADRAEI, GHANNADI et MALEKSHAHI, 2003 ; CARLEN *et al.*, 2004 ; SHAHRAM, MORTEZA et KATAYOON, 2011) ont confirmé que les fluctuations observées au niveau des rendements en huiles essentielles peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à l'implication de facteurs biotiques et abiotiques dont la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents. Selon CARRON, BAROFFIO et CARLEN (2008), la production en huiles essentielles de la mélisse est fortement augmentée par le microclimat plus chaud sous agro textile avec augmentation du rendement en matière sèche. D'autre part, PENCHEV (2010) impute ces changements aux méthodes d'extractions (extraction par CO₂ supercritique, Soxhlet, etc.).

3.2.3. La cinétique d'extraction des HE lors de l'hydrodistillation :

La quantité d'huiles essentielles (ml) recueillie par l'utilisation de l'essencier (type Clévenger) a été suivie durant trois heures (180mn) pour les plantes cultivées et spontanées (figure 22).

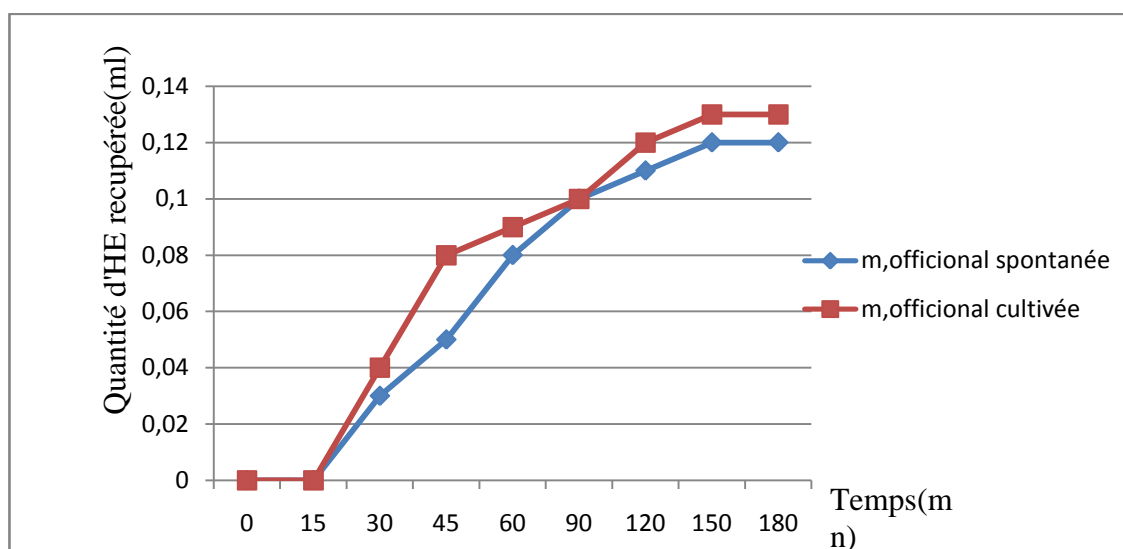


Figure22 : Cinétique d'extraction des Huiles essentielles lors de l'hydrodistillation

La cinétique obtenue montre trois étapes qui s'expliqueraient comme suit :

- Dans une 1^{ère} étape, nous observons un palier dont le rendement est nul (0-15 mn) .il correspond à la phase de chauffage de la matière végétale.

- La seconde étape correspond à une augmentation rapide de la quantité en Huiles essentielles (30- 150 mn)
- Au cours de la troisième étape, la courbe tend vers un second palier, celui-ci correspond au rendement maximum atteint après les 150mn.

Chez la mélisse officinale, les structures sécrétrices sont des cellules épidermiques différenciées en glandes sécrétrices sur la tige et les feuilles recouvertes d'une cuticule. Au fur et mesure de la sécrétion des huiles par les cellules, celles-ci sont accumulées sous la cuticule. Les huiles vont d'abord être diffusées à travers l'épaisseur des cellules et du tissu végétal avant d'entrer en contact avec la vapeur d'eau. Elles seront alors lentement entraînées durant les 150 mn comme cela a été signalé par GILLY (2005) en comparaison avec les structures sécrétrices superficielles.

3.2.4 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles obtenues

D'après les recherches bibliographique nous avons constaté que les huiles essentielles de la mélisse officinale (*Melissa officinalis L*) n'a pas fait l'objet de normalisation. Les huiles que nous avons obtenu sont liquides et limpide, elles sont de couleur jaune clair dégageant une odeur citronnée caractéristique. Le tableau 4, montre les propriétés organoleptiques comparatives des huiles obtenues dans notre étude et par d'autres auteurs.

Tableau 3 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *M. officinalis*.

	Bulletin d'analyse d'HE de laboratoire Florame (2008)	BARDEAU (1976).	Nos huiles
Aspect	Liquide limpide, mobile	--	Liquide, mobile
Couleur	Jaune	Incolore à faiblement jaunâtre	Jaune clair
Odeur	odeur caractéristique	Très fine et agréable de citron	Citronnée

Les caractéristiques organoleptiques de nos huiles essentielles obtenues par hydrodistillation sont comparables à celles données par BARDEAU (1976) et par le Bulletin d'analyse du laboratoire Florame (2008) sur *M. officinalis* où ces propriétés organoleptiques s'expriment par une forte odeur citronnée et un aspect liquide et mobile ainsi qu'une couleur jaune clair.

3.3. Résultats de l'analyse de l'huile essentielle par Spectroscopie FTIR

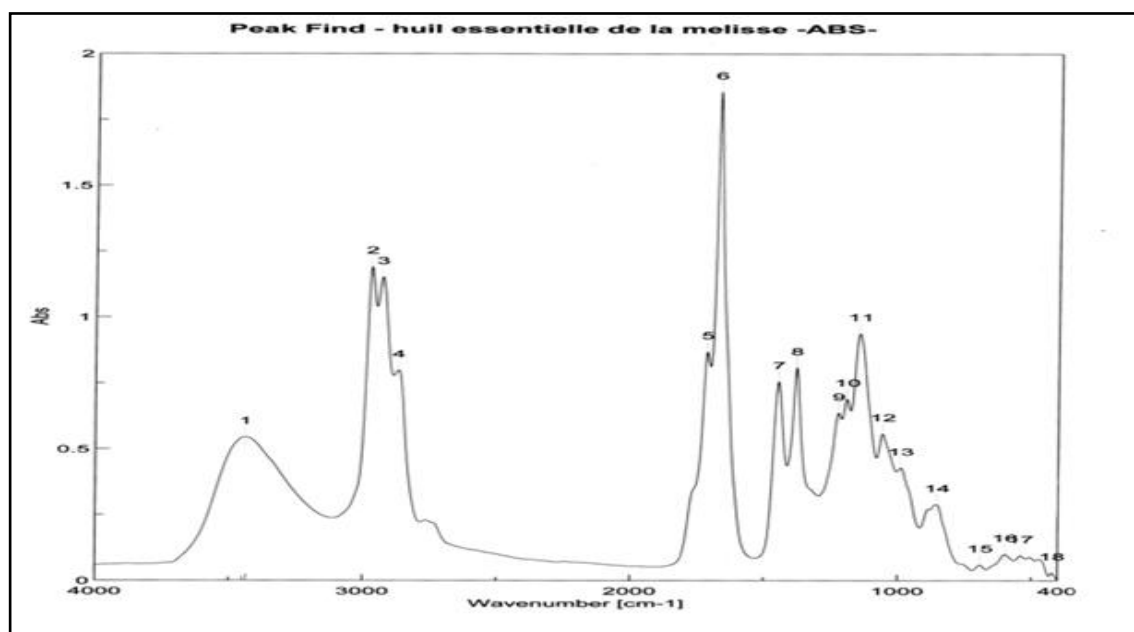
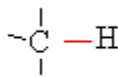
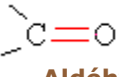

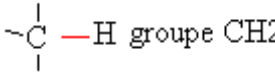





Figure 23 : Spectre infrarouge de l'huile essentielle de la mélisse

Le spectre illustré ci-dessus, présente plusieurs pics d'absorption d'où l'on constate que l'huile essentielle englobe une diversité de groupements fonctionnels organiques. L'interprétation des pics nécessitait une recherche bibliographique pour les associés à leurs groupements. Le tableau suivant résume les résultats trouvés :

Tableau 4 : Ensemble des bandes d'absorption de l'huile essentielle

N° de pic	Nombre d'ondes (cm ⁻¹)	Nombre d'ondes de Référence (cm ⁻¹)	Groupe fonctionnel	Nature de vibration
1	3439	3200-3450 forte et large	-O-H : alcool lié intermoléculaire	Allongement
2	2969 forte	2830-3000 forte	 Alcane	Allongement
3	2929 forte			
4	2868			
5	1713	1710-1750 forte	 Aldéhyde,	Allongement
6	1671 forte	1600-1680	 alcène aromatique	Allongement
7	1446 moyenne	1350-1480		déformation
8	1379 moyenne			
9	1221	1150-1270 forte	 Ester	allongement
10	1190			
11	1142 forte	1070-1275 forte	 Ether	allongement
12	1056	1000-1260	 Ether	allongement

Le spectre infrarouge illustré ci-dessus, montre l'existence des bandes d'absorption caractéristique de l'huile essentielle de la mélisse. Les fonctions détectées correspondent aux fonctions : alcane, alcène aromatique, alcool, aldéhyde, cétone, ester, éther et les doubles liaisons. Ces mêmes fonctions sont rencontrées dans les flavonoïdes, tanins, terpènes. Ceci étant que l'identification par infrarouge n'est pas suffisante en raison de l'importance des fonctions qui existent dans ces trois familles et aussi de la multiplicité des dérivés de tanins, flavonoïdes et les composés terpéniques. D'autres méthodes de détection complémentaire comme la HPLC préparative et le RMN devront compléter cette analyse.

3.4. Les activités pharmacologiques

3.4.1. Activité anti-inflammatoire :

L'injection de la solution de carragénine à 1% aux trois lots (T, E₁, E₂) dans la surface plantaire de la patte postérieure gauche des souris a provoqué une congestion des tissus et la formation d'un œdème (Tableau 5, 6 et 7).

Tableau 5 : Poids des pattes gauches et droites enregistrés chez les souris de lot témoin (T).

lot T	n° de souris	poids de la patte gauche	poids de la patte droite
Eau distillée	1	0,2177	0,134
	2	0,1685	0,1614
	3	0,1636	0,1424
	4	0,217	0,1572
	5	0,2116	0,1453
	6	0,2001	0,1326
Moyenne		0,1964	0,1454

D'après ce tableau, on observe une différence significative entre les poids moyen des pattes gauches et les pattes droites, cela signifie que la carragénine provoque une intense inflammation chez les pattes gauches de lot témoin.

Tableau 6 : Poids des pattes gauches et droites enregistrés chez les souris de lot essai 1 (E₁).

lot E1	n° souris	poids de la patte gauche	poids de la patte droite
L'infusé de la mélisse	1	0,2039	0,1745
	2	0,214	0,1372
	3	0,1701	0,1301
	4	0,1695	0,1383
	5	0,2062	0,138
	6	0,1661	0,1534
Moyenne		0,1883	0,1452
Ecart type		0,02144	0,01649

Le résultat de ce tableau ressortir une petite différence entre les poids moyens des pattes gauches et des pattes droites de lot essai 1. cela signifie que l'infusé de la mélisse inhibe partiellement la réaction inflammatoire provoquée par la carragénine.

Tableau 7 : Poids des pattes gauches et droites enregistrés chez les souris de lot essai 2 (E₂).

lot E2	n° de souris	poids de la patte gauche	poids de la patte droite
Produit de référence : Ibuprofène 200mg	1	0,266	0,1402
	2	0,123	0,151
	3	0,1988	0,1056
	4	0,1685	0,1738
	5	0,1187	0,1408
	6	0,1769	0,1371
moyenne		0,1753	0,1414
Ecart type		0,0542	0,02196

Ce résultat fait ressortir une petite différence entre les poids moyens des pattes gauches et des pattes droites de lot essai 2. Cela signifie que l'Ibuprofène 200mg diminue la réaction inflammatoire provoquée par la carragénine.

Le pourcentage d'œdème et le pourcentage de réduction au niveau des différents lots témoins et traités sont représentés respectivement dans les figures 26 et 27.

Cet œdème est du aux PG_s qui possèdent un effet vasodilatateur et potentialisent l'action des agents qui augmente la vaso-perméabilité et la douleur (TALBERT, WILLOQUET et GERVAIS, 2011). En outre, les ions super-oxydes s'échappent des polynucléaires et des macrophages et augmentent l'activité de la phospholipase A₂ membranaire qui est à l'origine de la libération de l'acide arachidonique (PERRIN, 1991).

A l'issue du test de Levy, il apparait une différence significative quant à la réponse des souris prétraitées ou non face à l'œdème provoqué par l'injection de la carragénine. Cette dernière se traduit par un pourcentage d'œdème plus élevé pour le lot témoin (35,07%) par rapport à un nombre plus réduit pour les lots prétraités (29,68%) pour l'infusé de la mélisse et 23,97% pour l'IBUPROFENE (Figure 24).

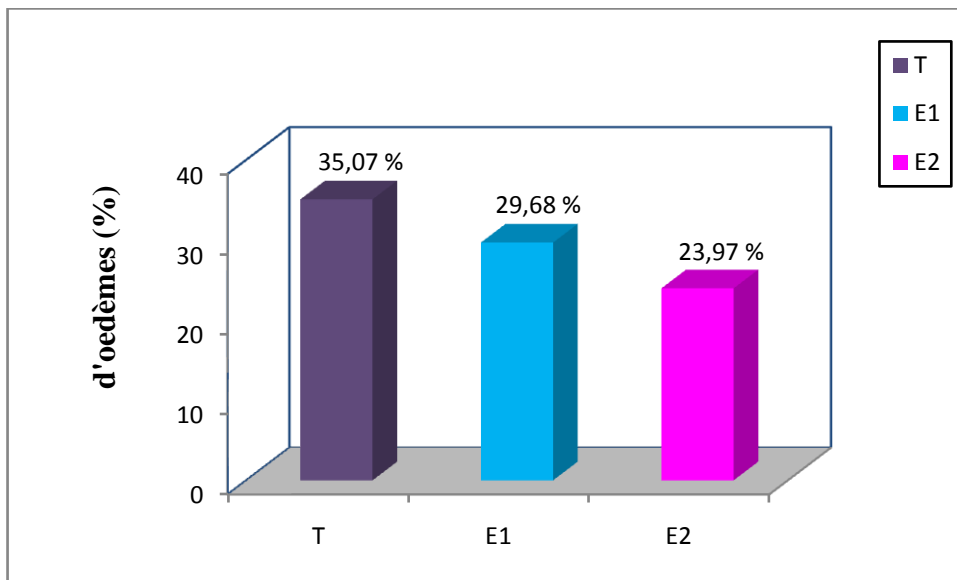


Figure 24 : Pourcentage d'œdème enregistré lors de l'activité anti-inflammatoire sur des souris albinos (n=18)

Ceci met clairement en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'infusé de la mélisse et de l'IBUPROFENE 200mg qui est expliqué par l'inhibition réversible de la cyclooxygénase par l'isomère S(+) (BRION, 2003)

Les deux produits (infusé de la mélisse et l'ibuprofène) ont montré des propriétés anti-inflammatoires en empêchant l'œdème d'atteindre un développement maximal, tel que obtenu 4h après l'injection de la carragénine (15,36% pour l'infusé de la mélisse et 31,65% pour l'ibuprofène) (Figure 25)

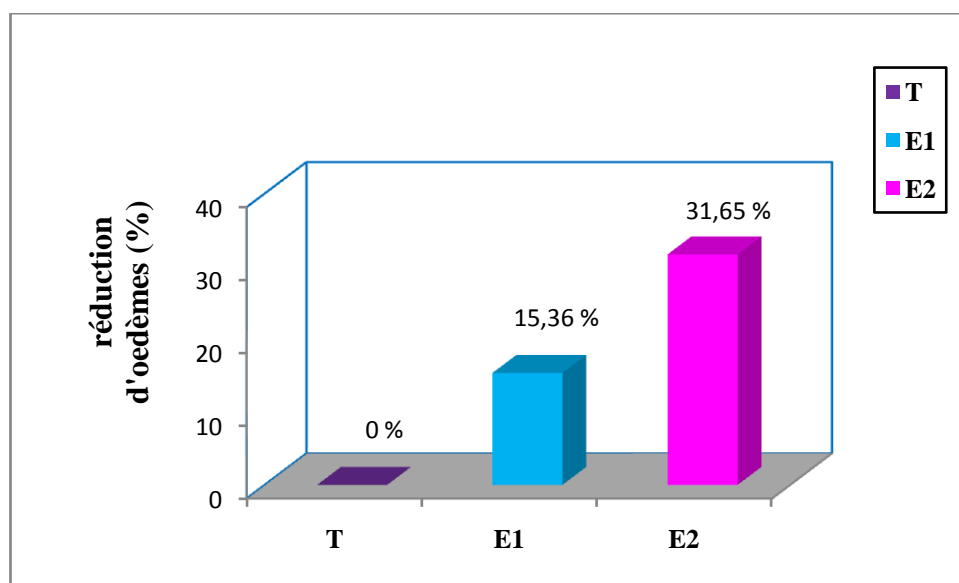


Figure 25: Pourcentage de réduction d'œdème, enregistrée lors de

La signification statistique :

$$T_{\text{exp}} = \frac{|0,1452-0,1414|}{\sqrt{0,00038\left(\frac{2}{6}\right)}} = 0,3392$$

Or :

$$S^2 = \frac{5 \times ((0,01649)^2 + (0,021496)^2)}{10} = 0,000375 \sim 0,00038$$

Nous avons calculé le T_{exp} à partir des données expérimentales sur le lot E₁ et lot E₂, ensuite comparé la valeur de T_{exp} à une valeur théorique $T_{\text{théo}}$ lue sur la table de Student.

$T_{\text{théo}} = 2,2281$, T_{exp} est inférieure à $T_{\text{théo}}$, donc pas de différence significative

A la lumière de ces résultats, il apparaît que le produit « infusé de la mélisse » est doté d'une activité anti-inflammatoire aussi appréciable que celui du produit de référence Ibuprofène 200mg.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par BIRDANE *et al.* (2007) qui ont travaillé sur l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de la mélisse.

L'activité anti-inflammatoire des tiges feuillées de la mélisse officinale est liée selon PEAKE *et al.* (1991) à sa richesse en composés phénoliques (Acide rosmarinique) qu'ils ont d'après BRUNETON (1999) la capacité d'inhiber la synthèse des prostaglandines.

3.4.2. Activité antispasmodique :

Le nombre de crampes engendrées par l'acide acétique sur les souris albinos des lots témoin, essai et référence est reporté sur le tableau 8 et représenté dans la (figure 28)

Tableau 8 : Nombre de crampes enregistrées lors du Writhing test.

N° de souris	nombre de crampes de lot T	nombre de crampes de lot E1	nombre de crampes de lot E2
1	11	2	1
2	15	3	1
3	10	1	3
4	6	0	0
5	8	2	0
6	21	1	0
Totale	71	9	5
Moyenne	11,83	1,50	0,83
Ecart type		1,048	1,169

On constate que, dans les mêmes conditions opératoires, l'administration de l'infusé de la mélisse pour le lot essai 1 et le spasfon pour le lot essai 2 diminuent d'une façon très efficace l'effet de l'acide acétique.

Pour le lot témoin nous avons comptabilisé 71 crampes. Ce nombre est relativement élevé comparé à celui enregistré aussi bien pour le lot prétraité à l'infusé de la mélisse avec 9 crampes que pour le lot prétraité au produit de référence SPASFON avec 5 crampes (Figure26)

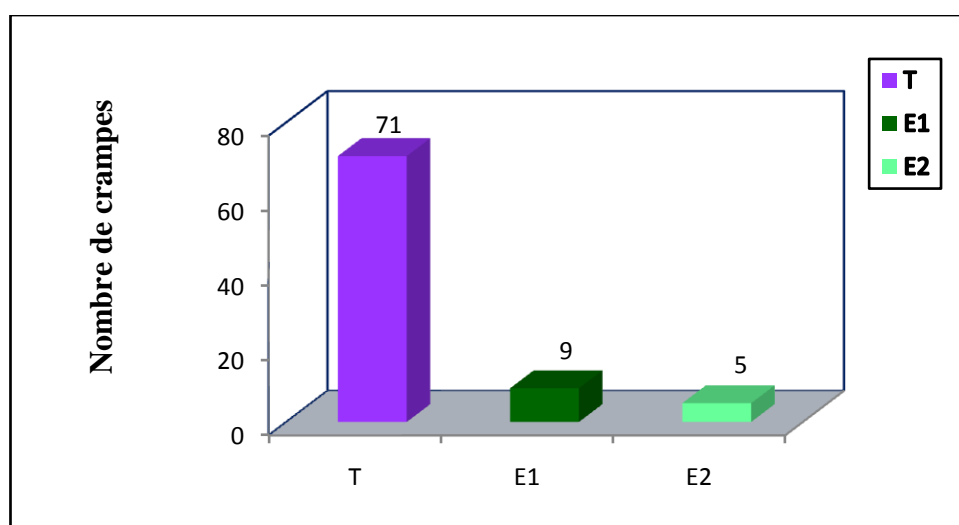


Figure 26 : Nombre de crampes comptabilisées après injection de l'acide acétique sur souris albinos (n=18)

Au vue de cette représentation graphique, on constate l'action antispasmodique musculotrope du lot E1 (souris prétraité avec l'infusé de mélisse) et du lot E2 (souris prétraité avec du SPASFON) comparé à celui du lot T. Cette action antispasmodique s'est traduite par la diminution de la contraction du muscle par action directe sur les fibres musculaire lisses digestives, ce qui a diminué la douleur (SABBAH, 2009)

Le calcul du pourcentage de réduction des crampes des trois lots est représenté dans la (figure 27)

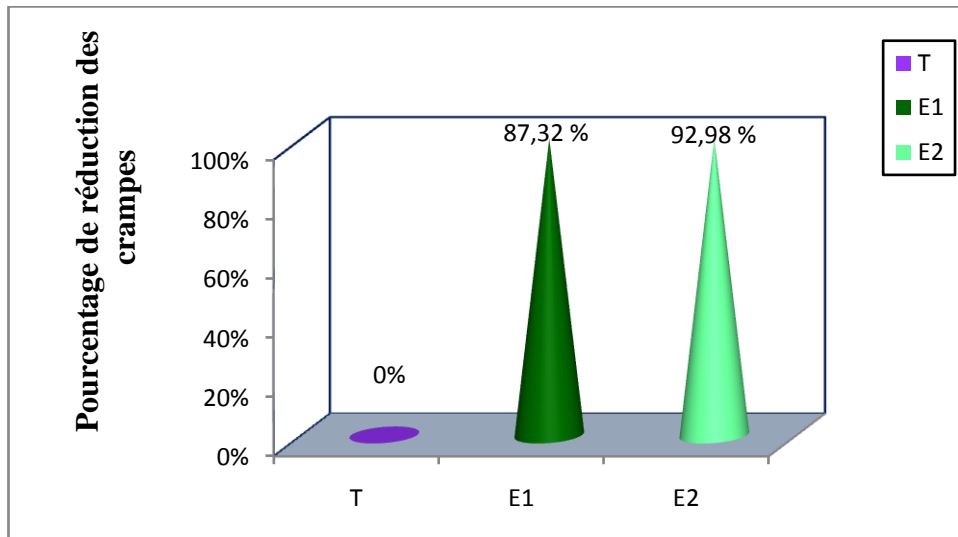


Figure 27 : Pourcentage de réduction des crampes enregistrée lors du Writhing test sur souris albinos (n= 18)

Ce test montre clairement que le pourcentage de réduction des crampes suite à l'injection de l'acide acétique, du lot prétraité par l'infusé de la mélisse (87,32%) est très proche de celui enregistré par le lot prétraité par le SPASFON (92,98%). Ceci confirme le caractère antispasmodique puissant de l'infusé de la plante étudiée, et ce par rapport au lot témoin où la valeur est quasiment nulle (Figure 27).

La signification statistique :

$$T_{\text{exp}} = \frac{|1,50 - 0,83|}{\sqrt{1,232 \left(\frac{2}{6}\right)}} = 1,051$$

Or :

$$S^2 = \frac{5 \times ((1,048)^2 + (1,169)^2)}{10} = 1,232$$

Nous avons calculé le T_{exp} à partir des données expérimentales sur le lot E₁ et lot E₂, ensuite comparés la valeur de T_{exp} à une valeur théorique $T_{\text{théo}}$ lue sur la table de Student.

$T_{\text{théo}} = 2,2281$, T_{exp} est inférieure à $T_{\text{théo}}$, donc pas de différence significative

Ceci implique que la qualité de ce produit contre ce type de spasmes n'est plus à mettre en doute, car il a procuré aux souris une protection d'environ (87,32%), pourcentage très proche de celui du produit de référence SPASFON.

Conclusion

Conclusion

La recherche de nouvelles plantes aromatiques à caractère thérapeutique a surtout servi à montrer le bien fondé de leurs utilisations par les praticiens traditionnels. Elle a démontré aussi que notre pays recèle une biomasse végétale riche et variée. Celle ci constitue une source incommensurable pour l'élaboration et la mise au point de nouvelles molécules actives à visé thérapeutique.

Au terme de ce modeste travail que nous avons mené, il est nécessaire de rappeler les principaux résultats obtenus.

Notre travail avait pour but de mieux connaître la mélisse officinale issue d'une culture biologique et d'une poussée à l'état spontané en Algérie, à travers d'une part l'évaluation des rendements en huiles essentielles extraites par hydrodistillation et la caractérisation par FTIR d'autre part. Par ailleurs nous avons pu évaluer et vérifier sur le plan biologique certaines de ses activités pharmacologiques.

Dans un premier temps, la culture de *M. officinalis* par semis en serre a révélé le bon développement végétatif des plants ceci s'est traduit par un taux de levée de 67%.

Dans un second temps, l'extraction de l'huile essentielle à partir des tiges feuillées du *Melissa officinalis* cultivée et spontanée par hydrodistillation, nous a permis de montrer que les plants cultivés n'ont pas entraîné l'amélioration des rendements en huiles essentielles par rapport aux plants poussant à l'état spontané. Quant à l'analyse spectroscopique IR, elle nous a permis de révéler les principaux groupes fonctionnels organique présents dans l'huile essentielle, sans pouvoir cependant les identifier. De part de son profil spectroscopique IR, l'huile essentielle possède des propriétés organoleptiques très appréciées en parfumerie.

Dans un troisième temps, sur le plan pharmacologique, nous avons trouvé que l'infusé de la mélisse présente une activité anti-inflammatoire et antispasmodique assez appréciable. En effet, nous avons enregistré :

- Un pourcentage de réduction de l'œdème de 15,36% chez les souris traités par l'infusé et de 31,65% chez les souris traités par l'Ibuprofène 200mg.
- Un pourcentage de protection de spasme de 87,32% chez les souris traités par cette infusé et de 92,98% chez les souris traités par le SPASFON.

En plus de cet apport thérapeutique, le gain économique ne serait pas négligeable. Il s'agit de valoriser le patrimoine végétal de notre pays et promouvoir la culture et la transformation des plantes aromatiques et médicinales à même de servir encore de tremplin pour la recherche scientifique.

Au niveau économique, cette étude a permis de mettre en évidence les aptitudes à la culture dans des conditions très simples de cette espèce d'intérêt industriel et de montrer son intérêt dans de nouvelles applications notamment dans le domaine pharmaceutique.

Les résultats de cette recherche pourraient avoir, à moyen terme, une incidence sur le développement durable du pays.

En perspective, les résultats de cette étude font appel à d'autres recherches :

- ✓ La réalisation de la culture de cette plante par d'autres modes de multiplication tels que la division des touffes, le bouturage ou la micro propagation pour une exploitation à grande échelle.
- ✓ Il serait intéressant, lors de l'hydro distillation de récupérer l'hydrolat et analyser sa composition et son potentiel pharmacologique, car elles n'ont pas fait l'objet d'études scientifiques approfondies. Ces eaux aromatiques constitueraient un créneau de recherche intéressant pour leur exploitation en cosmétologie.
- ✓ Prospector d'autres méthodes d'extraction (extraction par solvant, extraction par CO₂ supercritique...) pour un meilleur rendement.
- ✓ Nous proposons de finaliser l'analyse chromatographique par utilisation de la CGMS, HPLC dans le but de déterminer avec précision les différents composés de l'huile essentielle de la mélisse, pour identifier les principes actifs qui interviennent dans ces deux activités pharmacologiques et doser des différents constituants chimiques.
- ✓ Réaliser les tests de toxicité aiguë et subaiguë par la détermination de la toxicité de l'huile essentielle.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ACHOUR F & BOUGACI C. 2008 : Contribution à l'étude ethnobotanique dans la région d'EL Hamdania et caractérisation chimique de la mélisse (*Melissa officinalis.L*) et évaluation de son effet sédatif de la mélisse. Mémoire d'Ingénieur. USDB.38p.
- ADINEE J, PIRI K & KARAMI O, 2008: Essential Oil Component in Flower of Lemon Balm (*Melissa officinalis L.*).American Journal of Biochemistry and Biotechnology 4(3): pp 277-278. (ISSN 1553-3468).
- ADZET T, PONZ R, WOLF E et SCHULTE E, 1992: Content and composition of *Melissa officinalis* oil in relation to leaf position and harvest time. *Planta Med.*, 58: pp562-564.
- BABA AISSA F, 1999 : Encyclopédie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb. Edition Librairie moderne Rouïba. Alger.368p
- BABULKA P, 2005 : Phytothérapie : les plantes de nos tisanes. Springer.numéro 3, pp114-117.
- BANNWARTH B, 1998 : Anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Revue du praticien*.1019p
- BARDEAU F, 1976 : La médecine par les fleurs. Editions Robert Laffont, S.A.440p
- BARDEAU F, 2009 : La pharmacie du BON DIEU. Edition Fernand Lanore.333p
- BARDIN J-M, 2004 : Dictionnaire des plantes médicinales et des médecines douces : les plantes qui guérissent. Editions Lodi.312p
- BARTELS A.1998 : Guide des plantes du bassin méditerranéen. Edition Eugen Ulmer.400p.
- BELOUED A.2001 : Plantes médicinales d'Algérie.OPU Algérie.192p.
- BIANCHINI F & CORBETTA F.1975 : Atlas des plantes médicinales. Edition Nathan.243p.
- BIRDANE Y O, BÜYÜKOKUROG –LU M E, BIRDANE F M, CEMEK M et YAVUZ H, 2007 : Anti-inflammatory and Antinociceptive Effects of *Melissa officinalis L.* in Rodents. *Revue Méd. Vét*, **158**, 02, pp75-81.
- BLETRY O, KAHN J-E et SOMOGYI A, 2005: Immunopathologie, réaction inflammatoire. 2^{ème} édition. Edition Masson, Paris.375p.
- BOCK B, 2010 : Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. Tela Botanica. BDNFF v4.02. (<http://www.tela-botanica.org>)
- BOULLARD B. 2001 : Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Edition Estem.636p.

- BOURGEOIS L, 2007 : Le grand livre des plantes aromatiques. Editions Rustica Fler, Paris.191p
- BOUVENOT G, 1996 : Pathologie médicale. Edition Masson. 2819p.
- BRION F, 2003 : Les médicaments en périnatalogie. Edition Masson.411p.
- BRUNETON J.1999 : Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales.3^{ème} éd. Edition Tec & Doc. Lavoisier.1120p.
- CABRERA A, 2008 : Bulletin d'analyse, huile essentielle de mélisse officinale *Melissa officinalis* l. Laboratoire Florame.France. 2p.
- CARNAT A.P, CARNAT A, FRAISSE D & LAMAISON J. L, 1998 : The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. Pharmaceutica Acta Helvetiae. Volume 72, Issue 5.pp 301-305.
- CARLEN C, NEYROUD J.-A, CARRON C.-A et REY C, 2004 : Effets de différents engrais azotés organiques sur le rendement de plantes aromatiques et médicinales. Agroscope RAC Changins, Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. **36** (5): 263-267, 265.
- CARRON C-A, BAROFFIO C et CARLEN C, 2008:Influence d'une couverture agrotextile sur le rendement et la qualité de trois plantes aromatiques. Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. **40** (2): pp125-130.
- COHEN Y, JACQUOT C, 2008 : Pharmacologie. 6^{ème} édition, Edition Elsevier Masson.487p.
- CULOT M, 1972 : Notions techniques de pharmacologie générale. Edition Masson et Centre de recherche.132p.
- FAURE A-V, FONTAINE M, HELIN B et JOLLIET P, 2007 : Pharmacologie. Edition Elsevier Masson.302p.
- GILLY G, 2005 : Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse (botanique-culture – chimie- production et marché).Edition L'harmattan, Paris.404p
- GIRRE L.1980 : Connaitre et reconnaître les plantes médicinales. Ouest- France – Rennes.333p.
- GIRRE L.2001 : Les plantes et les médicaments (l'origine végétale de nos médicaments).Edition Nathalie, Paris.253p.
- GOGU I. GHIORGHI, DIANA ELENA ST. MAFTEI, DANIELA N & NICUTA.2005: Investigations on the in vitro morphogenetic reaction of *Melissa officinalis* l. species. Université Alexandru Ioan Cuza.Romanie.pp120-121.

- HELLAL M, 2007: Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinone dérivés de l'azélastine: synthèses et activités anti-cytokine. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg I).324p.
- HERODEZ S.S, HADOLINB M, & SKERGETA M. ZELJKO KNEZ.2003: Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves, Food Chemistry. 80,pp275 – 282.
- HOSEIN S & ROGERS T, 2005 : Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Edition révisée. CATIE.60p
- ISERIN P. 1997 : Encyclopédie des plantes médicinales (identification, préparation, soins). Larousse- Bordas, 335p.
- JOREK N. 1983 : Epices et plantes aromatiques (description, culture, soins, propriétés et emploi de 50 aromates culinaires).Edition Hatier.123p
- MRLIANOVA M , TEKEL'OVA D, FELKLOVA M, TOTH J, MUSIL P et GRANCAI D , 2001 :Comparison of the quality of *Melissa officinalis L.* cultivar Citra with mellissas of European origin. Pharmacopsychiatry 34 suppl., 1: pp 20-21
- MRLIANOVA M, TEKEL'OVA D, FELKLOVA M, REINÖHL V et TOTH J, 2002: The influence of the harvest cut height on the quality of the herbal drugs *Melissae folium* and *Melissae herba*.
- NAVEAU S, BALIAN A et PERLEMUTER G, 2003: Hépto-gastro-entérologie.Edition Masson.462p.
- PATORA J, MAJDA T, GORA J et KLIMEK B, 2003: Variability in the content and composition of essential oil from lemon balm cultivated in Poland. J. Endocrinol Invest., 26: pp950-955.
- PEAKE P.W, PUSSELL B.A, MARTYN P, TIMMERMANS V et CHARLESWORTH J.A 1991: The inhibitory effect of rosmarinic acid on complement involves the C5 convertase. *Int. J. Immunopharmacol.*, **13**, pp853-857.
- PENCHEV P-I, 2010 : Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.229p.
- PERRIN F.L, LAURANT E.P, 1991 : L'aspirine. Edition Ellipses. pp11-57.
- PETER K, VOLLHARDT C, NEIL E, SCHORE, 2004: Traité de chimie organique.4^{ème} édition. Edition de Boeck Université. 1334p.
- PIZZORNO A &MURRAY S.2006: Test book of natural medicine. Edition Churchill Livingston. pp109-113.

- POLESE J-M, 2006 : La culture des plantes aromatiques. Editions Artemis.93p
- QUEZEL P et SANTA S, 1962 : Nouvelles flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Paris : centre nationale de la recherche scientifique.1170p.
- RAHTIYARCA BAGDAT R & COSGE B. 2006: The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields. J. of Fac of Agric., OMU, 21(1):pp116-121.
- REVILLARD J.P, 2001: Immunologie. Association des enseignants d'immunologie des universités de langue française.600p.
- ROUSSELET MC, VIGNAUD J.M, HOFMAN P ET CHATELET F.P ,2005 : Inflammation et pathologie inflammatoire. *Association Française des Enseignants en Cytologie et Anatomie Pathologiques (AFECAP)*.
- ROUX D, 2005 : Les nouvelles plantes qui soignent comment utiliser efficacement plus de 50 plantes médicinales. Editions Alpen S.A.M.95p
- ROUX D, CHAUMONT J-P, CIEUR C, MILLET J, MOREL J-M et TALLEC D, 2008 : Conseil en aromathérapie.2^{ème} éd. Editions Wolters Klumer.187p
- ROZZI N.L, PHIPPEN W, SIMON J.E & SINGH R.K.2002: Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 35(2002), pp319 –324.
- RYCAJAL, 2009 : Physiologie « la contraction musculaire »13p.
- SABBAH L, 2009: Le tout en un révisions IFSI. Edition Elsevier Masson.1823p.
- SADRAEI H, GHANNADI A & MALEKSHAHI K. 2003: Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions, *Fitoterapia*, 74 (5), pp 445-452
- SALLE J-L, 1991: Le totum en phytothérapie, approche de phyto-biothérapie. Editions Frison- Roche, Paris.239p.
- SALLE J-L, 1991 : Les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Editions Frison- Roche, Paris.167p.
- SARI A.O et CEYLON A, 2002: Yield characteristics and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown in the Aegean region of Turkey. *Turk J. Agric. For.*, 26: pp217-224.
- SCHAUENBERG P& PARIS F, 1977: Guide des plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes. Edition Delachaux et Niestlé, Paris.386p
- SCHNAUBLET K, 1998: Advanced Aromatherapy. Vermont: Healing Arts Press.

- SHAHRAM S, MORTEZA K-K ET KATAYOON J, 2011: Aroma Profile of Leaf and Stem of Lemon Balm (*Melissa Officinalis* L.) Grown under Greenhouse Conditions. *Advances in Environmental Biology*, 5(4): pp547-550. (ISSN 1995-0756)
- SPECK B, URSULA & FOTSCH C. 2009: Connaissance des herbes. EGK-caisse de Santé.pp4.
- STORA D, 2008 : Pharmacie et surveillance infirmière.5^{ème} édition, Edition Lamarre.378p.
- TALBERT M, WILLOQUET G et GERVAIS R, 2009 : Le guide pharmaco clinique. Edition Wolters Kluwer.1063p
- TALBERT M, WILLOQUET G et GERVAIS R, 2011 : Le guide pharmaco clinique. Edition Wolters Kluwer.1610p.
- TRUELLE A. 2009: Le jardin familial de plantes médicinales (mélisse officinale).Gloubik sciences.pp4.
- VIDAL.2008: Dictionnaire de pharmacologie.400p (ISBN2850911690, 9782850911699)
- VOGEL H-G, VOGEL W-H, 1997: Drug Discovery and Evaluation, pharmacological assays.382p.
- WEIL B et BATTEUX F, 2003 : Immunopathologie et réactions inflammatoires.1^{ère} édition, Edition de Boeck Université.312p.
- ZGORKA G & K. GLOWNIAK.2001: Variation of free phenolic acid in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family, *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 26(2001), pp79 – 87.
- ZIAKOVA A, BRANDSTETEROVA E & BLAHOVA E. 2003: Matrix solid-phase dispersion for the liquid chromatographic determination of phenolic acids in *Melissa officinalis*, *Journal of Chromatography A*, 983:pp271 – 275.