

Année universitaire 2011-2012

**THÈSE**

pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

par

**PINEAU Stéphanie**

née le 11 mars 1988 à Angers (49)

-----  
soutenue publiquement le 3 décembre 2012  
-----

**Mécanismes d'action cellulaires et physiologiques des composés  
de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) et de la valériane (*Valeriana  
officinalis* L.)**

***Caractérisation et perspectives d'applications pharmaceutiques et  
phytosanitaires.***

**JURY :**

**Président :** M. Pascal RICHOMME  
**Directeur :** M. César MATTEI  
**Co-directeur :** M. Christian LEGROS  
**Membres :** M. Denis BELLENOT  
Mme Patricia LICZNAR





**Liste des enseignants**

**Année Universitaire 2012-2013**

***PROFESSEURS***

BENOIT Jean-Pierre

BOUET Gilles

BOURY Franck

CALENDA Alphonse

DUVAL Olivier

FOUSSARD Françoise

JARDEL Alain

MAHAZA Chetaou

MARCHAIS Véronique

MAURAS Geneviève

MAURAS Yves

PASSIRANI Catherine

RICHOMME Pascal

ROBERT Raymond

SAULNIER Patrick

SERAPHIN Denis

VENIER Marie-Claire

***Disciplines***

Pharmacotechnie

Chimie Physique Générale et Minérale

Biophysique

Biologie Moléculaire - Biotechnologie

Chimie Thérapeutique

Biochimie Générale et Clinique

Physiologie

Bactériologie - Virologie

Bactériologie et Virologie

Biologie Cellulaire

Toxicologie

Chimie générale – Chimie analytique

Pharmacognosie

Parasitologie et Mycologie médicale

Biophysique pharmaceutique et biostatistiques

Chimie Organique

Pharmacotechnie

***MAITRES DE CONFERENCES***

ANNAIX Véronique

BASTIAT Guillaume

BAGLIN Isabelle

BATAILLE Nelly

BENOIT Jacqueline

CLÈRE Nicolas

CORVEZ Pol

DERBRE Séverine

***Disciplines***

Biochimie Générale et Clinique

Biophysique pharmaceutique et biostatistiques

Pharmaco - Chimie

Biologie Cellulaire et Moléculaire

Pharmacologie et Pharmacocinétique

Pharmacologie

Sémiologie

Pharmacognosie



**MAITRES DE CONFERENCES**

DUBREUIL Véronique  
ÉVEILLARD Matthieu  
FAURE Sébastien  
FLEURY Maxime  
GALLAND Françoise  
GIRAUD Sandrine  
GUILLET David  
HELESBEUX Jean-Jacques  
JOLIVET Jean-Paul  
KHAN Mustayeen  
LAGARCE Frédéric  
LANDREAU Anne  
LARCHER Gérald  
LE RAY Anne-Marie  
LICZNAR Patricia  
MALLET Marie-Sabine  
MAROT Agnès  
MILTGEN-LANCELOT Caroline  
  
NAIL BILLAUD Sandrine  
OGER Jean-Michel  
PECH Brigitte  
SCHINKOVITZ Andréas  
TRICAUD Anne

**A.H.U.**

SPIESSER-ROBELET Laurence

**PRAG (Professeurs Agrégés)**

HANOTTE Caroline  
ROUX Martine

**PRCE (Professeurs certifiés affectés dans l'enseignement supérieur)**

GENARD Nicole  
LECOMTE Stéphane

**Disciplines**

Chimie Analytique  
Bactériologie - Virologie  
Pharmacologie Physiologie  
Immunologie  
Biophysique  
Biologie moléculaire et cellulaire  
Chimie Analytique  
Chimie Organique  
Biophysique  
Chimie Générale et Minérale  
Pharmacotechnie-Biopharmacie  
Botanique  
Biochimie Générale et Clinique  
Valorisation des substances naturelles  
Bactériologie - Virologie  
Chimie Analytique et Bromatologie  
Parasitologie et Mycologie médicale  
Management et gestion des organisations de santé  
Immunologie  
Chimie  
Pharmacotechnie  
Pharmacognosie  
Biologie Cellulaire

**Disciplines**

Pharmacie clinique et Éducation Thérapeutique

**Disciplines**

Economie – Gestion  
Espagnol

Anglais  
Anglais



*"La science ne sert qu'à vérifier les découvertes de l'instinct"*  
Jean Cocteau (extrait de *Le Potomak*)



*Mes sincères remerciements à César Mattei et Christian Legros, mes directeurs de thèse pour m'avoir permis de travailler sur un sujet qui m'intéresse, de m'avoir suivie dans mes recherches et apporter leur aide lorsqu'il le fallait.*

*Mes remerciements à Pascal Richomme, professeur de pharmacognosie et directeur du SONAS pour avoir encadré la partie phytochimie et corrigé mon travail. Je le remercie d'avoir accepté de présider ma soutenance.*

*Mes remerciements à Denis Bellenot pour avoir accepté de m'aider au départ de ce travail, de m'avoir rencontrée, et m'avoir permis d'emprunter des documents à l'ITEIPMAI. Je le remercie pour les précisions qu'il m'a apportées sur la législation des produits de phytothérapie.*

*Mes remerciements à Mme Licznar sans qui je n'aurais jamais su que ce sujet m'attendait.*

*Mes remerciements pour leur participation au cours de mes recherches à l'antenne de Volx du Ministère de l'Agriculture, la Chambre d'Agriculture des Pays de la Loire, au CPPARM, à Végépolys, au jardin Camifolia, à l'association professionnelle Phytolia, et aux producteurs de la région de Chemillé.*

*Mes remerciements à mes maîtres de stage Mme Lesca et Mme Viault qui m'ont toutes les deux accueillie au sein de leur officine dans d'excellentes conditions et m'ont beaucoup appris sur la pratique du métier de pharmacien.*

*Mes chaleureux remerciements à mes amis de la maternelle jusqu'à la fac, pour les bons moments passés ensemble. Le bac, les partiels, les dossiers en tout genre, la thèse, nous avons réussi cela ensemble, j'espère pouvoir encore passer à vos côtés les moments clés de ma vie.*

*Mes remerciements les plus affectueux à mes parents qui n'ont jamais douté de moi et m'ont laissé suivre la voie que je souhaitais.*

*Mes remerciements les plus tendres à Simon pour son soutien permanent et son amour.*



# Sommaire

<b>SOMMAIRE</b>	<b>11</b>
<b>TABLE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES</b>	<b>15</b>
<b>LEXIQUE</b>	<b>19</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>23</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>25</b>
<b>AVANT-PROPOS</b>	<b>27</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>31</b>
<b>A. LA MÉLISSE (<i>MELISSA OFFICINALIS</i> L.)</b>	<b>33</b>
1. DESCRIPTION BOTANIQUE	33
2. HABITAT	35
3. CULTURE ET RÉCOLTE	35
4. UTILISATION TRADITIONNELLE ET CONTEMPORAINE	37
5. AUTHENTIFICATION ET ANALYSE DE LA DROGUE*	39
<b>B. LA VALÉRIANE (<i>VALERIANA OFFICINALIS</i> L.)</b>	<b>39</b>
1. DESCRIPTION BOTANIQUE	39
2. HABITAT	41
3. CULTURE	41
4. UTILISATION TRADITIONNELLE ET CONTEMPORAINE	43
5. AUTHENTIFICATION ET ANALYSE DE LA DROGUE*	43
<b>I. USAGES TRADITIONNELS ET ÉTUDES DES PROPRIÉTÉS THÉRAPEUTIQUES DE LA MÉLISSE ET DE LA VALÉRIANE</b>	<b>45</b>
<b>A. PROPRIÉTÉS DE LA MÉLISSE</b>	<b>45</b>
1. ANTALGIQUE DANS LES DOULEURS D'ORIGINE DIGESTIVE	45
2. EFFETS SUR LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	49
3. ANTIOXYDANT	53
4. VIRUCIDE	55
5. PHYTOSANITAIRE	59
<b>B. PROPRIÉTÉS DE LA VALÉRIANE</b>	<b>59</b>
1. EFFETS CLINIQUES	61
2. EFFETS PHARMACOLOGIQUES	65
<b>C. ÉTUDES D'UNE ASSOCIATION MÉLISSE-VALÉRIANE</b>	<b>69</b>
1. EFFETS SUR LES TROUBLES DU SOMMEIL	69
2. EFFETS FACE À UN STRESS INDUIT	69
3. EFFETS SUR DES SUJETS SAINS	71
<b>II. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MÉLISSE ET DE LA VALÉRIANE</b>	<b>73</b>
<b>A. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MÉLISSE</b>	<b>73</b>
1. COMPOSITION CHIMIQUE DES FEUILLES DE MÉLISSE	73
2. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE* DE MÉLISSE	77
<b>B. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA VALÉRIANE</b>	<b>85</b>
1. COMPOSITION CHIMIQUE DES RACINES DE VALÉRIANE	85
2. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE* DE VALÉRIANE	91
<b>III. ACTIVITÉS PHARMACOLOGIQUES DES COMPOSÉS DE LA MÉLISSE ET DE LA VALÉRIANE</b>	<b>99</b>
<b>A. SYSTÈME NERVEUX</b>	<b>99</b>



1. INTERACTION AVEC LE SYSTÈME GABAÉRIQUE	99
2. ACTION SUR LES RÉCEPTEURS DE LA VANILLOÏDE	105
3. INTERACTION AVEC LE SYSTÈME ADÉNOSINE	107
4. ACTION SUR LES RÉCEPTEURS SÉROTONINÉRIQUES	109
<b>B. MYORELAXANT</b> .....	<b>111</b>
<b>C. ANTIOXYDANT</b> .....	<b>113</b>
<b>D. ANTI-INFLAMMATOIRE</b> .....	<b>113</b>
1. MÉCANISMES DE L'INFLAMMATION	113
2. EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE	113
<b>E. ANTIMICROBIEN</b> .....	<b>121</b>
1. BACTÉRICIDE	121
2. FONGICIDE	121
<b>F. PHYTOSANITAIRE</b> .....	<b>123</b>
1. INSECTICIDE	123
2. INSECTIFUGE	125
3. EFFET <i>PHEROMON-LIKE</i>	125
4. ANTI-GERMINATIF	127
5. NÉMATOCIDE	127
<b>G. BIODISPONIBILITÉS ET TOXICITÉS ÉVENTUELLES</b> .....	<b>127</b>
1. BIODISPONIBILITÉ	129
2. TOXICITÉ ÉVENTUELLE	131
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>133</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>139</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b>	<b>153</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>I</b>
<b>ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT</b>	<b>LI</b>



## Table des abréviations et acronymes

5-HT : 5-hydroxytryptamine, appelée sérotonine

ADAS-cog : *Cognitive subscale of Alzheimer's Disease Assessment Scale* = échelle d'évaluation de la maladie d'Alzheimer, sous-partie relative aux facultés cognitives

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AFSSaPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AMPA :  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Méthyl-4-isoxasolePropionate

AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament\* et des produits de santé

APG : *Angiosperm Phylogeny Group* = groupe phylogénétique des Angiospermes

ARNc : Acide RiboNucléique codant

ARNm : Acide RiboNucléique messenger

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

CB-2 (récepteurs) : Récepteurs cannabinoïdes de type 2

CE : Communauté Européenne

CE<sub>50</sub> et DE<sub>50</sub> : Concentration et Dose efficace 50\*

CHO (cellules) : *Chinese Hamster Ovary cells*

CI<sub>50</sub> : Concentration Inhibitrice 50\*

CL<sub>50</sub> et DL<sub>50</sub> : Concentration et Dose létale 50\*

CMB : Concentration Minimale Bactéricide\*

COLO 320 (cell line) : *Human COLOrectal cancer cell line*

COX-2 : Cyclo-oxygénase de type 2

CPPARM : Comité des Plantes à Parfum Aromatiques et Médicinales

DEQM : Direction Européenne de la Qualité du Médicament

DER [x:x]: *Drug to Extract Ratio* [quantité de plante initiale : quantité d'extrait obtenu]

DPPH : 1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyle

EFSA : *European Food Safety Authority* = Autorité Européenne de sécurité alimentaire

EGFP : *Enhanced green fluorescence protein*

EMA : *European Medicine Agency* = Agence Européenne du médicament\*

EPA : (U.S.) *Environmental Protection Agency* = Agence américaine de la protection de l'environnement

GABA : Acide Gamma-AminoButyrique

GABA-T : GABA transaminase

GAT : *GABA Transporter* = transporteur du GABA

GLC4 (cell line) : *Small cell Lung Carcinoma*

HEK : *Human Embryonic Kidney*

HEp-2 : *Human epithelial type 2*

HMPC : *Committee on Herbal Medicinal Products* = Comité des produits à base de plantes médicinales

HSV : *Herpes simplex virus*

IFN- $\gamma$  : Interféron gamma

IL : Interleukine

iNOS : Monoxyde d'azote synthase inductible

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

Ip : Intra-péritonéal



ITEIPMAI : Institut technique interprofessionnel des plantes à parfum, médicinales et aromatiques

IVHD : IsoValéroxy-HydroxyDihydrovaltrate

LPS : Lipopolysaccharide\*

*M. officinalis* : *Melissa officinalis*

MAO-A : MonoAmine Oxydase de type A

MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinases*

NF- $\kappa$ B : Nuclear Factor-kappa B

NK : *Natural Killer*

NMDA : N-Méthyl-D-Aspartate

NO : Monoxyde d'azote

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAF : *Platelet Activating Factor*

PBS : *Phosphate Buffered Saline*

P. cent : Pour cent

PC12 : *Pheochromocytome cells 12*

PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*

PG : Prostaglandine

PHY : Physostigmine

PKA : Protéine Kinase de type A

Ppm : Partie par million

RCIM : (Laboratoire) Récepteurs et Canaux Ioniques Membranaires

RGABA-A : Récepteurs GABA de type A

ROS : *Reactive Oxygen Species* = dérivés réactifs de l'oxygène

SIDA : Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis

SNC : Système Nerveux Central

SONAS : (Laboratoire) Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux

Subsp. : *Subspecies* = sous-espèce

TGF : *Tumor Growth Factor*

TNF $\alpha$  : *Tumor Necrosis Factor* alpha

TPA : 12-O-TetradecanoylPhorbol-13-Acetate

TRPV : *Transient Receptor Potential Vanilloid*

TSH : *Thyroid Stimulating Hormon*

UE : Union Européenne

UPRES EA : Unité Propre de Recherche de l'Enseignement Supérieur et Équipe d'Accueil

USC : Unité Sous Contrat

*V. officinalis* : *Valeriana officinalis*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

VGaT : *Vesicular GABA Transporter*

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine



## Lexique

Les mots définis dans ce lexique sont indiqués dans le texte par un astérisque (\*).

- ✦ Bisannuelle : se dit d'une plante dont le cycle se déroule sur deux ans.
- ✦ Caduque : partie de la muqueuse utérine se détachant avec le placenta à l'accouchement (Delamare, 2006).
- ✦  $CI_{50}$  : concentration nécessaire pour une inhibition de 50 % de la pousse bactérienne, ou concentration d'antagoniste nécessaire pour obtenir la moitié de l'effet maximal généré par une concentration donnée d'agoniste.
- ✦ CMI : plus faible concentration d'un produit pour laquelle la croissance microbienne est inhibée après une incubation de 24 heures pour les bactéries et 5 jours pour les champignons et levures.
- ✦ Cyme : inflorescence où chaque ramification est terminée par une fleur. Une ou deux ramification(s) parte(nt) de l'axe principal un peu plus bas sous la fleur, puis une ou deux ramification(s) parte(nt) de celles-ci et ainsi de suite (Dictionnaire Larousse, 2011).
- ✦  $DE_{50}$  ou  $CE_{50}$ : dose ou concentration d'une molécule pour laquelle on obtient la moitié de l'effet maximal possible (Lüllemann *et al.*, 2010).
- ✦ Didynme : qualifie les étamines lorsque, sur quatre étamines, deux sont plus courtes.
- ✦  $DL_{50}$  : dose létale (en unité de masse d'un toxique/unité de masse d'une cible animale testée) pour 50 % de la population étudiée.
- ✦ Drogue (végétale) : "Les drogues végétales sont essentiellement des plantes, parties de plantes ou algues, champignons, lichens, entiers, fragmentés ou brisés, utilisés en l'état, soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais. [...] Les drogues végétales doivent être définies avec précision par la dénomination scientifique botanique selon le système binomial (genre, espèce, variété, auteur)." (DEQM, 2011)
- ✦ Éréthisme cardiaque : excès d'activité du cœur, se traduisant par des palpitations (Delamare, 2006).
- ✦ Exuviation : étape de la mue des arthropodes correspondant au rejet de la cuticule (Dictionnaire Larousse, 2011).
- ✦ Huile essentielle : "Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition" (DEQM, 2011).



- ✦ Indéhiscant : se dit d'un fruit qui ne s'ouvre pas à maturité pour libérer les graines (Dictionnaire Larousse, 2011).
- ✦ Inotrope positif ou négatif (effet) : respectivement augmentation ou diminution des contractions du myocarde (Dictionnaire Larousse, 2011).
- ✦ Lipopolysaccharide : type d'endotoxine présent sur la membrane cellulaire des bactéries à Gram négatif.
- ✦ Médicament : Art. 5111-1 du Code de la Santé publique – On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique (Secrétariat Général du Gouvernement, 2011).
- ✦ Pappus : aigrette de soies correspondant aux sépales persistants.
- ✦ Pennatiséqué : se dit d'une feuille à nervation pennée, divisée en plusieurs folioles.
- ✦ Phytothérapie : traitement des pathologies par les plantes.
- ✦ Vivace : se dit d'une plante dont le cycle est supérieur à deux ans et pouvant produire plusieurs floraisons.



## Liste des tableaux

Tableau 1 – Médicaments* à base de plantes contenant de la mélisse, autorisés en France.....	36
Tableau 2 – Médicaments* à base de plantes contenant de la valériane, autorisés en France ...	42
Tableau 3 – Posologies recommandées par l’HMPC dans le cadre d’un usage traditionnel de la mélisse .....	44
Tableau 4 – Posologies recommandées par l’HMPC dans le cadre d’un usage traditionnel et reconnu de la valériane .....	58
Tableau 5 – Effet d'un extrait hydro-alcoolique de valériane sur les contractions de l'iléon du cochon d'Inde stimulé par 0,1 Hz.....	64
Tableau 6 – Évaluation des symptômes de l’hyperactivité et des troubles du sommeil à la première et la seconde consultations .....	68
Tableau 7 – Potentialisation de la réponse des RGABA par différentes molécules végétales.	104
Tableau 8 – Les différents récepteurs sérotoninergiques identifiés et leurs caractéristiques...	110
Tableau 9 – Médiateurs pro- et anti-inflammatoires .....	112
Tableau 10 – Effets de la quercétine et de l’acétate de bornyle sur la gestation des souris .....	118
Tableau 11 – Activité antimicrobienne du xanthorrhizol .....	120
Tableau 12 – Effets du traitement oral par lignanes et néolignanes sur le quatrième stade larvaire de <i>Rhodnius prolixus</i> .....	124



## Liste des figures

Figure 1 – Mélisse officinale ( <i>Melissa officinalis</i> ).....	34
Figure 2 – Valériane officinale ( <i>Valeriana officinalis</i> ).....	40
Figure 3 – Chronologie des indications de la mélisse.....	44
Figure 4 – Effets d'un extrait aqueux de <i>M. officinalis</i> sur le comportement de la souris dans le test de la nage forcée.....	48
Figure 5 – Un extrait aqueux de mélisse possède une activité anti-VIH-1 concentration-dépendante sur les cellules T Sup-T1.....	56
Figure 6 – Effets de différentes fractions d'un extrait sec de mélisse sur la germination de graines de laitue.....	58
Figure 7 – Effet inhibiteur concentration-dépendant d'un extrait de valériane sur l'excitabilité neuronale.....	66
Figure 8 – Effets d'un extrait aqueux et d'un extrait hydro-alcoolique de valériane sur la fixation du glutamate en présence d'agonistes des récepteurs au glutamate.....	66
Figure 9 – Structure du récepteur GABA-A.....	100
Figure 10 – Structure du récepteur GABA-B.....	100
Figure 11 – Mécanisme d'action du récepteur GABA-B.....	102
Figure 12 – Effet du (+)-bornéol sur les RGABA-A $\alpha_1\beta_2\gamma_2L$ .....	102
Figure 13 – Effets du géraniol et du linalol sur les RGABA-A.....	104
Figure 14 – Les canaux TRP sensibles aux paramètres de l'environnement (température, pH).....	106
Figure 15 – Augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ dans les cellules HEK293 exprimant TRPV3 ou TRPV2 après exposition au carvacrol.....	106
Figure 16 – La 5-hydroxytryptamine (5-HT), ou sérotonine.....	108
Figure 17 – Effet du pinorésinol sur la production de NO induite par le LPS et l'expression par la microglie primaire d'iNOS.....	114
Figure 18 – Effet du pinorésinol sur la production de PGE2 induite par le LPS et l'expression par la microglie primaire de COX-2.....	114
Figure 19 – Effet d'un traitement préventif (1) et curatif (2) par $\alpha$ -humulène et $\beta$ -caryophyllène.....	116
Figure 20 – Action temps-dépendante des flavonoïdes sur la libération de $TNF\alpha$ induite par le LPS.....	118
Figure 21 – Numérotation des carbones de la quercétine.....	118
Figure 22 – Effets sur la germination des semences de laitue des différentes fractions d'un extrait hydro-acétonique de <i>M. officinalis</i> .....	126
Figure 23 – Structure générale des valépotriates, présence d'un cycle époxyde.....	130



## Avant-propos

La mélisse (*Melissa officinalis*) et la valériane (*Valeriana officinalis*) sont consommées par l'homme depuis l'Antiquité (Babulka, 2005), en infusion c'est-à-dire en tant qu'extrait aqueux liquide, pour leurs vertus sédatives et relaxantes. Ces propriétés sont liées à des observations empiriques des effets de ces plantes sur l'organisme. Or, il existe un regain d'intérêt pour la phytothérapie\* en tant que médecine alternative au sens où l'entend l'OMS, et depuis quelques années, il est apparu sur le marché des extraits hydroalcooliques ou des huiles essentielles, pour lesquelles les mêmes indications que pour les infusions sont revendiquées. Il convient donc d'élucider ou de préciser les mécanismes d'action de leurs divers constituants afin d'expliquer leur efficacité. Et ce, d'autant plus que la réglementation européenne des compléments alimentaires et des médicaments\* à base de plantes a évolué. En effet, la période de transition de sept ans<sup>1</sup> de la directive 2004/24/CE (Annexe 1) a pris fin le 1<sup>er</sup> mai 2011. Désormais, les médicaments\* à base de plantes autorisés dans l'Union Européenne (UE) sont ceux considérés comme "traditionnels" qui ont prouvé leur innocuité (dans les conditions normales d'utilisation) et ayant un passé montrant un bénéfice<sup>2</sup> réel, sans avoir nécessairement subi d'essais cliniques ou ceux ayant une AMM classique comme les autres médicaments. Les médicaments à base plantes "d'usage traditionnel" peuvent bénéficier d'une demande d'AMM allégée, c'est-à-dire sans essais cliniques prouvant leur efficacité ou leur innocuité dès lors que les plantes qu'ils contiennent possèdent une monographie à l'HMPC. Le règlement européen n°1924/2006 à propos des compléments alimentaires est plus contraignant financièrement. Il stipule que la bibliographie justifiant les allégations relatives à la santé doit être fournie par les industriels eux-mêmes (Commission Européenne, 2011).

Le but de ce travail est de dresser un bilan des connaissances actuelles concernant les cibles pharmacologiques – en particulier récepteurs membranaires et canaux ioniques – des divers composés de la mélisse et de la valériane. De cette façon, les activités de ces molécules, observées empiriquement à l'échelle de l'organisme, peuvent être expliquées et objectivées aux niveaux moléculaire et cellulaire. L'intérêt étant d'expliquer scientifiquement les effets pharmacologiques observés dans la médecine traditionnelle.

Parallèlement aux aspects réglementaires, l'agriculture biologique connaît un essor qui incite de plus en plus la science à se tourner vers les plantes pour trouver de nouveaux

---

<sup>1</sup> La période de transition est la durée prévue par la directive, accordée aux producteurs ou importateurs de médicaments à base de plantes pour régulariser l'AMM de leurs produits.

<sup>2</sup> Trente ans d'utilisation, dont au moins quinze dans l'UE.



principes actifs, efficaces contre les nuisibles, mais qui soient sans impact sur les cultures, les animaux non cibles et l'homme. La finalité est de préserver au maximum un écosystème déjà fragilisé par l'agriculture intensive et l'activité humaine en général.

La problématique de cette thèse est née de ce constat et de la collaboration scientifique, dans le cadre d'un projet de recherche commun, entre deux structures angevines : l'ITEIPMAI et le laboratoire RCIM (UPRES EA 2647, USC INRA 1330). Pascal Richomme, directeur du SONAS (EA 221) a également contribué à ce travail. L'occasion s'est donc présentée de pouvoir me consacrer à un sujet de thèse qui répond à mes aspirations personnelles : la valorisation des ressources végétales.



## Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS\*), dans la plupart des pays industrialisés, 70 à 95 % de personnes ont recours aux médecines traditionnelles<sup>3</sup> (phytothérapie\* incluse), ce qui représente un marché de plus de 65 milliards d'euros en 2008 (OMS, 2011b).

De nos jours, la problématique en phytothérapie\* est de mettre en évidence l'efficacité des plantes utilisées. Il s'agit non seulement de caractériser leurs cibles, mais aussi de prévoir ou de comprendre certains effets secondaires, et de définir précisément les doses efficaces, en-deçà desquelles un principe actif n'exerce aucun effet, et au-delà desquelles il devient toxique. Cette contrainte pour les entreprises commercialisant des produits à base de plantes – médicaments\* et compléments alimentaires – nécessite des moyens humains, matériels et financiers importants. Cependant, cela constitue aussi un avantage puisqu'en appuyant scientifiquement les propriétés revendiquées, le produit gagne en crédibilité. De plus, depuis le début du XXI<sup>ème</sup> siècle, l'engouement de la population occidentale (Clément, 2005) pour la phytothérapie\* impose d'apporter un éclairage nouveau sur des plantes déjà connues et utilisées. L'important est d'éviter la mise sur le marché de produits aux propriétés non ou partiellement caractérisées qui pourraient s'avérer inefficaces voire dangereux. Mieux connaître les composés permettrait de mieux cibler les exigences quant au contenu de ces produits.

En France, la loi qui régissait les demandes d'autorisation de mise sur le marché pour les médicaments\* traditionnels à base de plantes n'a plus cours car c'est la directive européenne qui prévaut. Toutefois, avant leur commercialisation, un enregistrement auprès de l'ANSM (anciennement l'AFSSaPS) est nécessaire pour une durée initiale de cinq ans. L'Agence peut malgré tout exiger un dépôt de demande d'AMM classique si elle le juge nécessaire, tant sur le plan de l'efficacité que de la sécurité du produit (Secrétariat Général du Gouvernement, 2011).

La mélisse et la valériane, c'est-à-dire respectivement *Melissa officinalis* et *Valeriana officinalis* sont des plantes médicinales reconnues depuis l'Antiquité. Quelles sont leurs caractéristiques ? Les propriétés qui leur sont attribuées ont-elles été démontrées ? Quels sont les composés de ces plantes responsables de leurs effets bénéfiques ? Ce travail propose

---

<sup>3</sup> L'OMS regroupe sous le terme "médecines traditionnelles" : la phytothérapie et les pratiques ayant recours à des parties animales et/ou minérales, nommées médecine "alternative", "complémentaire" ou "non-conventionnelle" (OMS, 2011b).



d'apporter des réponses à ces questions à partir d'une analyse de la bibliographie scientifique et médicale

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

La place de la mélisse dans la classification phylogénétique APG III\* (2009) est la suivante (Perrot & Paris, 1971 ; Meyer *et al.*, 2008 ; Thoby, 2009) :

Règne : Végétal,	Ordre : Lamiales,
Embranchement : Spermaphytes,	Famille : Lamiacées,
Sous-embranchement : Angiospermes,	Genre : <i>Melissa</i> ,
Classe : Eudicotylédones,	Espèce : <i>officinalis</i> .
Sous-classe : Astéridées,	

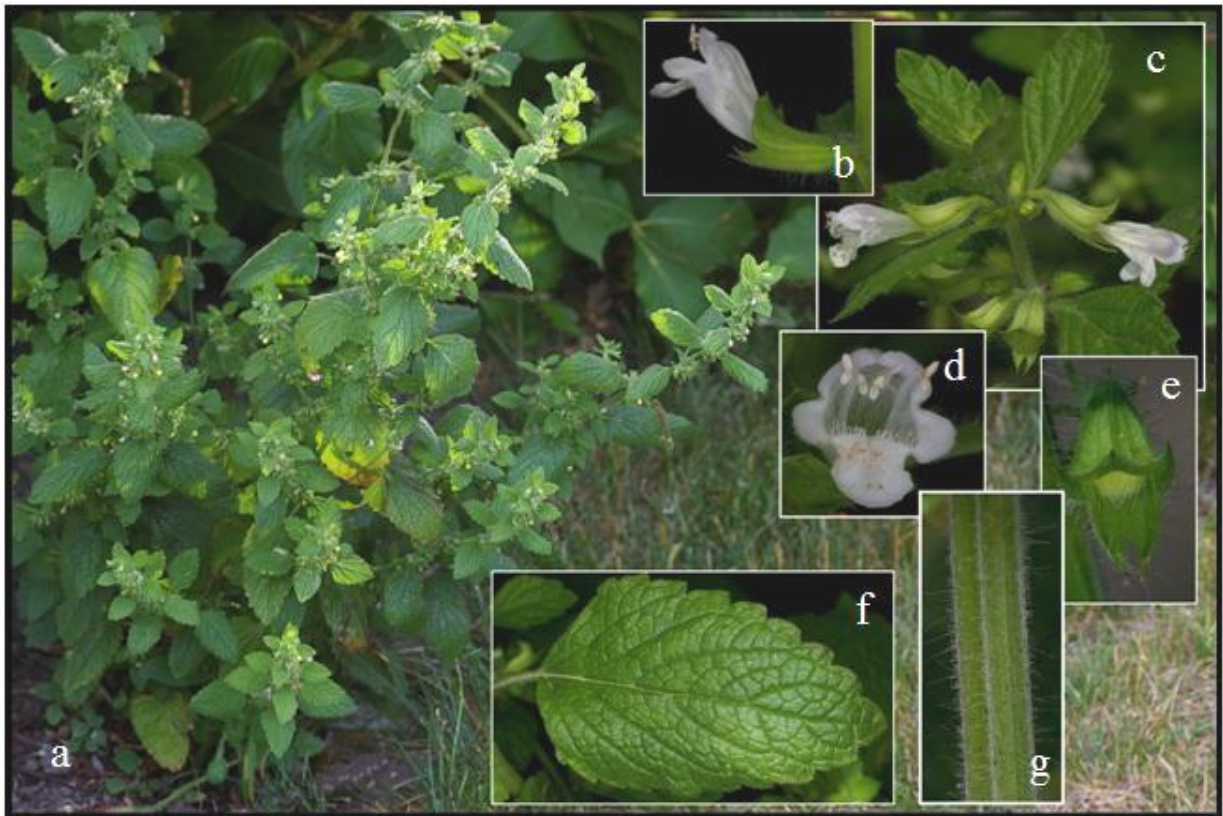
Il existe trois sous-espèces : *officinalis*, *inodora* et *altissima* (Sari & Ceylan, 2002) mais c'est la sous-espèce *officinalis* qui est utilisée en thérapeutique (Carnat *et al.*, 1998).

Elle possède plusieurs appellations vernaculaires en français telles que : citronnelle, thé de France, piment des abeilles et pincirade (Wichtl & Anton, 2003). En anglais, elle porte le nom de *lemon balm*, *sweet lemon* ou *cure-all*, tandis qu'en allemand, c'est *Melissenblätter*, *Zitronenkraut* ou *Zitronenmelisse* entre autres (Perrot & Paris, 1971). Ces dénominations font référence au parfum citronné qui se dégage des feuilles lorsqu'elles sont froissées.

### 1. Description botanique

La mélisse (Figure 1a) est une plante herbacée vivace\* à la tige carrée (Figure 1g), dressée et ramifiée, poussant en touffe, mesurant le plus souvent entre 30 et 80 centimètres de haut (Perrot & Paris, 1971 ; Thoby, 2009).

Les feuilles (Figure 1f), pétiolées, sont réparties de façon opposée et décussée sur la tige (Wichtl & Anton, 2003). Leurs bords sont fortement crénelés. Elles sont de forme ovale et cordiforme, aux nervures réticulées très saillantes sur la face inférieure, donnant cet aspect gaufré à la face supérieure. La surface est recouverte de fins poils courts (Perrot & Paris, 1971).



**Figure 1 – Mélisse officinale (*Melissa officinalis*)**

<http://www.herbierimages.be>

a : plante entière ; b : fleur zygomorphe ; c : fleurs disposées en verticilles à la base des feuilles ; d : quatre étamines ; e : calice bilabié et pubescent ; f : feuille ; g : tige carrée.

Les fleurs sont regroupées par douzaine ou demi-douzaine, en verticille (Figure 1c), à la base des feuilles. De couleur blanche à rosée, elles sont formées d'une corolle tubulaire (Figure 1b) constituée de deux lèvres inégales. La lèvre supérieure est dressée (Perrot & Paris, 1971) et celle inférieure est divisée en trois lobes. Quatre étamines didynames\* (Figure 1d) s'insèrent sur le tube formé par la corolle, elles sont courbées et tendent ainsi les unes vers les autres. Le pistil, quant à lui, est constitué de quatre loges et possède un long style terminé par un stigmate. Le calice (Figure 1e) est bilabié et pubescent (Wichtl & Anton, 2003).

Le fruit est un tétrakène contenant de petites graines brunes, foncées et luisantes.

La mélisse officinale peut parfois, notamment si elle est cueillie à l'état sauvage, être confondue avec d'autres plantes (Wichtl & Anton, 2003 ; Babulka, 2005) qui sont : la cataire citronnée (*Nepeta cataria* var. *citriodora*), la mélisse des bois (*Melittis melissophyllum*), la mélisse à grandes fleurs (*M. grandiflora* Sm.) et la mélisse de Moldavie (*Dracocephalum moldavicum*).

## **2. Habitat**

La mélisse est présente à l'état sauvage dans le sud de l'Europe et de l'Amérique du Nord, et en Asie Mineure (Sari & Ceylan, 2002) dans des endroits légèrement ombragés tels que le bord d'une haie, un bois ou un lieu non cultivé et frais (Perrot & Paris, 1971 ; Wichtl & Anton, 2003). Elle est cultivée en Europe centrale et occidentale, ainsi qu'aux Etats-Unis (OMS, 1999a).

## **3. Culture et récolte**

La première récolte normale ne se fait qu'après la deuxième année de culture (Wichtl & Anton, 2003). En effet, la première année, le producteur ne peut espérer que 25 % d'un rendement normal. Les feuilles et les tiges sont ramassées avant la floraison c'est-à-dire fin juin à début juillet. Une deuxième récolte peut avoir lieu fin août à début septembre. A l'origine, le ramassage se faisait à la faucille mais désormais il existe des récolteuses mécaniques, utilisées surtout lorsque la surface du champ est importante (Fiche technique de l'ITEIPMAI : Mélisse). Le séchage de la plante doit être effectué sitôt la cueillette terminée

**Tableau 1 – Médicaments\* à base de plantes contenant de la mélisse, autorisés en France**  
AFSSaPS, 2011 ; Vidal, 2011

Médicaments* à base de plantes	Forme de la mélisse	Nom commercial	Indications
Mélisse seule	Poudre de plante	Arkogélules Mélisse®	1, 2 et 3
Mélisse associée à d'autres plantes	Poudre de plante	Médiflor n°14 calmante® Troubles du sommeil	3
		Santane N9®	3
	Extrait sec	Vagostabyl®	3 et 4
	Extrait fluide	Biocard®	3 et 4

1 : Traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulences.

2 : Traitement adjuvant de la composante douloureuse des troubles fonctionnels digestifs.

3 : Traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil.

4 : Troubles de l'érythisme cardiaque\* de l'adulte (cœur sain)

car la plante s'abîme très rapidement (Fiche technique de l'ITEIPMAI : Mélisse ; Filière des plantes médicinales biologiques du Québec, 2003).

En 2008, la culture de la mélisse représentait 55,24 ha en France, soit 1,6 % des terres cultivées pour les plantes aromatiques et médicinales (Krausz, 2009). En 2009, l'exploitation des terres pour cette plante était constante, c'est-à-dire 50 ha dont 40 en agriculture biologique. Près de 50 % de la production de mélisse est transformée en huile essentielle\* (source : CPPARM, 2011). En 2010, la culture de la mélisse a doublé, 98 ha y sont consacrés (source : antenne de Volx, ministère de l'Agriculture). Une trentaine d'hectares est située en Anjou (source : producteurs angevins).

#### **4. Utilisation traditionnelle et contemporaine**

La drogue\* utilisée dans les médicaments\* ou les compléments alimentaires est l'extrait sec de feuilles de mélisse (*M. officinalis* L.) ou les feuilles de mélisse séchées. Cependant, l'huile essentielle\* extraite de celles-ci peut aussi être utilisée.

La mélisse est connue depuis la Grèce antique. En effet, Théophraste (372 - 287 av. J.-C.)<sup>4</sup> et Hippocrate (460 - 377 av. J.-C.)<sup>4</sup> utilisaient déjà les feuilles de cette plante pour améliorer la digestion et réduire les états de nervosité. Au XVI<sup>ème</sup> siècle, Paracelse (1493 - 1541)<sup>4</sup> l'utilisait aussi (Wichtl & Anton, 2003).

L'Eau de mélisse des Carmes Boyer® existe depuis 1611. C'est une solution alcoolisée à base de mélisse, et contenant également neuf épices et treize autres plantes. Elle est présentée comme un produit aux multiples vertus, notamment celles de diminuer le stress et la fatigue, de faciliter la digestion et d'apaiser le mal des transports (Perrot & Paris, 1971 ; Eau des Carmes Boyer, 2011).

De nos jours, plusieurs médicaments\* proposés en vente-conseil contiennent de la mélisse officinale. Selon les Cahiers de l'Agence (1998), par voie orale, elle est "traditionnellement utilisé[e] dans le traitement symptomatique de troubles digestifs (ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulences) et dans le traitement adjuvant de leur composante douloureuse / dans le traitement symptomatique des états neurotoniques (troubles mineurs du sommeil)" (AFSSaPS, 1998). En France, l'usage se limite à ces propriétés (Tableau 1) tandis qu'en Allemagne, il existe des formes pour usages

---

<sup>4</sup> Larousse, 2008



externes contenant de la mélisse et indiquées dans le traitement de l'herpès labial telles que Lomaherpan® du laboratoire Lomapharm (Wichtl & Anton, 2003).

La mélisse peut être administrée sous forme d'infusion en procédant de la manière suivante : laisser reposer cinq à dix minutes 1,5 à 4 g de feuilles finement coupées sur lesquelles il a été versé de l'eau bouillante, puis filtrer avant de boire (Wichtl & Anton, 2003).

*M. officinalis* fait partie de la liste des 34 plantes sorties du monopole pharmaceutique<sup>5</sup> à la suite du décret 79-480 du 15 juin 1979 (Secrétariat Général du Gouvernement, 2011).

## 5. Authentification et analyse de la drogue\*

La mélisse possède deux monographies à la Pharmacopée Européenne VII<sup>ème</sup> édition (Annexes 2 et 3) concernant la feuille de mélisse et l'extrait sec de feuille de mélisse (DEQM, 2011).

Elle est aussi inscrite à la Pharmacopée française pour ses feuilles et ses sommités fleuries.

## B. La valériane (*Valeriana officinalis* L.)

La place de la valériane dans la classification phylogénétique APG III est la suivante (Bisby *et al.*, 2011) :

Règne : Végétal,	Ordre : Dipsacales,
Embranchement : Spermaphytes,	Famille : Valérianacées,
Sous-embranchement : Angiospermes,	Genre : <i>Valeriana</i> ,
Classe : Eudicotylédones,	Espèce : <i>officinalis</i> .
Sous-classe : Astéridées,	

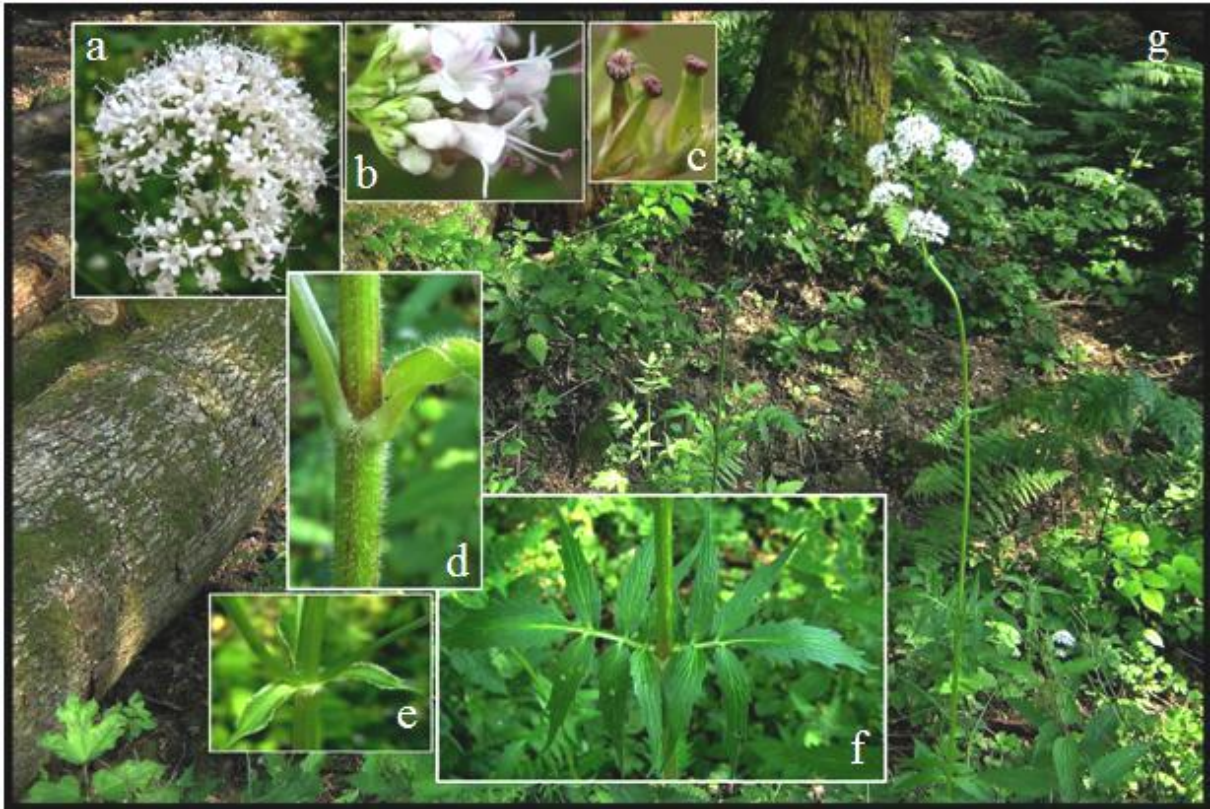
La valériane porte plusieurs noms vernaculaires tels que l'Herbe aux chats ou l'Herbe de Saint-Georges. En anglais, on l'appelle *Valerian* et en allemand, *Baldrian* (Perrot & Paris, 1971).

### 1. Description botanique

La valériane (Figure 2g) est une plante bisannuelle\* par sa racine (ou souche) pouvant mesurer jusqu'à 1,50 mètres selon la sous-espèce (Wichtl & Anton, 2003). La souche est courte et fibreuse tandis que la tige est creuse et d'aspect cannelé (Perrot & Paris, 1971).

---

<sup>5</sup> Le monopole pharmaceutique correspond à un ensemble d'éléments dont la préparation ou la vente en gros ou au détail, sont exclusivement réservés aux pharmaciens, sauf dérogations. Ses dispositions générales et pénales sont définies de l'article L4211-1 à L4212-8 (Secrétariat Général du Gouvernement, 2011).



**Figure 2 – Valériane officinale (*Valeriana officinalis*)**

<http://www.herbierimages.be>

a : inflorescence en cyme\* ; b : fleurs à corolle infundibuliforme ; c : calice ; d : tige avec disposition opposée des feuilles; e : feuilles disposées en rosette à la base de la tige; f : feuilles opposées sur la tige; g : plante entière.

Les feuilles pennatiséquées\* (constituées de 11 à 21 folioles lancéolés ; Figure 2f) sont organisées en rosette (Figure 2e) à la base de la tige et de façon opposée (Figure 2d) le long de celle-ci (Perrot & Paris, 1971).

Les fleurs sont de couleur blanche à rose et disposées en cymes\* (Figure 2a) à l'extrémité de la tige. Leur corolle infundibuliforme (Figure 2b) est composée de cinq pétales soudés entre eux, libres et étalés à l'extrémités supérieures et formant une bosse à l'extrémité inférieure. Les anthères sont distinctes et proéminentes (Perrot & Paris, 1971 ; Wichtl & Anton, 2003). L'ovaire contient trois loges dont une seule donnera un ovule après maturation. Les poils plumeux du calice (Figure 2c) se replient sur eux-mêmes, formant ainsi un renflement autour de la base de la corolle (Perrot & Paris, 1971).

Le fruit est un akène indéhiscent\* surmonté d'un pappus\* (Wichtl & Anton, 2003 ; Bruneton, 2009). L'embryon contenu dans la graine est dépourvu d'albumen (Perrot & Paris, 1971).

Les organes souterrains sont constitués d'un rhizome conique gris-brun clair d'où partent de multiples racines longues et fines, et auquel s'ajoutent des stolons à nœuds proéminents et entre-nœuds striés (Bruneton, 2009).

La plante (surtout la partie souterraine séchée) dégage une odeur particulièrement forte et désagréable, qui attire les chats d'où son nom d'Herbe aux chats (Vial, 1998).

## **2. Habitat**

La valériane pousse naturellement dans les régions tempérées et subpolaires d'Eurasie (OMS, 1999b). Elle pousse dans les bois humides et au bord des cours d'eau, en France à l'exception de la région méditerranéenne (Perrot & Paris, 1971). Elle pousse aisément sur les sols argilo-siliceux (Wichtl & Anton, 2003).

## **3. Culture**

La valériane est cultivée pour sa racine. La récolte se fait par arrachage à l'automne (octobre et novembre), à partir de la deuxième année de culture. Les parties aériennes de la plante sont coupées, les racines sont déterrées mécaniquement puis lavées (Fiches techniques de l'ITEIPMAI : valériane ; Filière des plantes médicinales biologiques du Québec, 2010). La racine obtenue est ensuite coupée et séchée à moins de 40°C (Gruenwald *et al.*, 2007).

La production française de valériane représente plus d'un quart de la production européenne, soit 50 à 80 ha. Les deux tiers des surfaces cultivées en France sont situées en Anjou (source : ITEIPMAI et producteurs angevins).

**Tableau 2 – Médicaments\* à base de plantes contenant de la valériane, autorisés en France**

AFSSaPS, 2011 ; Vidal, 2011

Médicaments* à base de plantes	Forme de la valériane	Nom commercial	Indications
Valériane seule	Poudre de plante	Arkogélules Valériane®	1
	Extrait sec	Elusanes Valériane®	2
Valériane associée à d'autres plantes	Poudre de plante	Médiflor® calmante Troubles du sommeil n°14	1
	Extrait sec	Euphytose®	3
		Spasmine®	1
		Tranquital®	2
Teinture	Biocard®	1 et 4	

1 : Traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil.

2 : Traditionnellement utilisé dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil.

3 : Traditionnellement utilisé dans le traitement symptomatique des états anxieux mineurs et en cas de troubles mineurs du sommeil des adultes et des enfants.

4 : Troubles de l'érythisme cardiaque\* de l'adulte (cœur sain).

#### **4. Utilisation traditionnelle et contemporaine**

La drogue\* est constituée de la racine de valériane, c'est-à-dire les organes souterrains de la plante (rhizome, racines et stolons) séchés, qu'ils soient entiers ou divisés (Bruneton, 2009).

Selon les Cahiers de l'Agence 1998, par voie orale, la valériane est "traditionnellement utilisé[e] dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants en cas de troubles mineurs du sommeil" (AFSSaPS, 1998).

Actuellement, il existe en France plusieurs médicaments\* à base de plantes contenant de la valériane, le plus souvent sous forme d'extrait sec de racine (Tableau 2) : elle est alors utilisée seule ou en association avec d'autres plantes aux propriétés sédatives telles que la passiflore, l'aubépine et la ballote (Vidal, 2011).

#### **5. Authentification et analyse de la drogue\***

La valériane (*V. officinalis*) comporte cinq monographies à la Pharmacopée européenne VII<sup>ème</sup> édition (Annexes 4 à 6) concernant la racine de valériane (divisée ou non), les extraits secs aqueux ou hydroalcooliques, ainsi que la teinture de racine de valériane (DEQM, 2011).

La plante est également inscrite à la Pharmacopée française (X<sup>ème</sup> édition) pour le rhizome et la racine.



**Figure 3 – Chronologie des indications de la mélisse**

**Tableau 3 – Posologies recommandées par l’HMPC dans le cadre d’un usage traditionnel de la mélisse**  
EMA, 2007

	Formes employées	Posologies
Enfants de plus de 12 ans, adultes, personnes âgées  L’emploi chez l’enfant de moins de 12 ans, chez la femme enceinte ou allaitante n’est pas recommandé.	Feuilles sèches coupées ou en poudre	1,5 – 4,5 g, 1 à 3 fois par jour
	Infusion	1,5 – 4,5 g de feuilles sèches pour 150 ml d’eau bouillante, infusées pendant 5 à 15 minute, 1 à 3 fois par jour
	Teinture	2 - 6 ml, 1 à 3 fois par jour.
	Extrait liquide	2 - 4 ml, 1 à 3 fois par jour.
	Extrait sec aqueux ou éthanolique 45% v/v	Doses équivalentes aux posologies de l’infusion, de la teinture et de l’extrait liquide
La voie d’administration recommandée est la voie orale uniquement. La durée de traitement doit être limitée et en cas de persistance des symptômes, une consultation médicale doit être envisagée.		

## **I. Usages traditionnels et études des propriétés thérapeutiques de la mélisse et de la valériane**

Les effets de la mélisse et de la valériane, sous forme de poudre de plante ou d'extrait sec (aqueux ou hydroalcooliques le plus souvent) ont été beaucoup étudiés, afin de déterminer leur mécanisme d'action. De ce fait, la plupart des études ont d'abord eu pour objectif de démontrer l'efficacité thérapeutique supposée par l'usage traditionnel. En outre, certaines se sont attachées à découvrir de nouvelles propriétés médicales par des expériences *in vitro* ou chez l'animal, ou une observation clinique sur l'animal ou l'homme.

Cette partie propose de déterminer si les propriétés attribuées à la mélisse et à la valériane sont fondées cliniquement puis pharmacologiquement. Toutefois, la pharmacologie des récepteurs impliqués dans leur activité ne sera pas abordé (cf. III).

### **A. Propriétés de la mélisse**

La mélisse est depuis l'Antiquité (Figure 3) une plante utilisée dans les cas de nervosité et de troubles mineurs du sommeil, ainsi qu'en cas de troubles gastro-intestinaux telles les flatulences et les douleurs abdominales. C'est de façon empirique que ces propriétés lui ont été attribuées (Babulka, 2005 ; Ollier, 2011).

Le Comité des médicaments\* à base de plantes (HMPC\* ou *Herbal Medicinal Products Committee*) de l'Agence Européenne du médicament\* (EMA\* ou *European Medicine Agency*) reconnaît l'utilisation des feuilles sèches de *M. officinalis*, intactes ou sous forme de poudre, de teinture éthanolique 45% v/v (DER [1 :5]\*) et d'extraits éthanoliques 45% v/v sec ou liquide (DER [1 :1]) pour ces usages traditionnels. Il préconise donc des doses de plantes à respecter (Tableau 3). Toutefois, l'HMPC ne reconnaît pas d'usages scientifiquement établis (EMA, 2007).

#### **1. Antalgique dans les douleurs d'origine digestive**

L'usage de la plante pour soulager les douleurs abdominales est propre à *M. officinalis*, la valériane n'étant pas utilisée dans ce but. Cette propriété antalgique serait due à une composante antispasmodique associée à une stimulation de la digestion, notamment par un effet cholérétique.



## 1.1. Origine de la spasticité intestinale

Le péristaltisme intestinal est assuré par des fibres musculaires lisses circulaires, douées d'un automatisme contrôlé par le système nerveux autonome, qui en se contractant permettent la progression du bol alimentaire dans la lumière du tube digestif. Le transit est ainsi régulé par les récepteurs à la 5-hydroxytryptamine de type 3 et 4 (5-HT<sub>3</sub> et 5-HT<sub>4</sub>) qui, s'ils sont stimulés par un agoniste, entraînent une accélération du transit par augmentation du péristaltisme et production de mucus, ce qui peut parfois occasionner des douleurs. Il existe aussi un contrôle par des récepteurs muscariniques et adrénergiques. La sérotonine provient dans ce cas en majorité des cellules entérochromaffines, situées exclusivement au niveau du tube digestif. Une possibilité de traitement pourrait donc être assurée par un antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>3</sub> et 5-HT<sub>4</sub> (Ahn & Ehrenpreis, 2002 ; Johanson, 2004 ; Beattie & Smith, 2008).

Parallèlement, l'intestin possède une population de neurones sensitifs qui lui est propre et qui constitue le système nerveux entérique. Ce dernier est constitué de neurones sérotoninergiques, de petits neurones peptidergiques de nature opioïdes et de fibres motrices parasympathiques et sympathiques. Les neurones du système nerveux entérique comportent différents types de récepteurs pouvant être stimulés par la sérotonine libérée par les cellules entérochromaffines (Lebouvier, 2008).

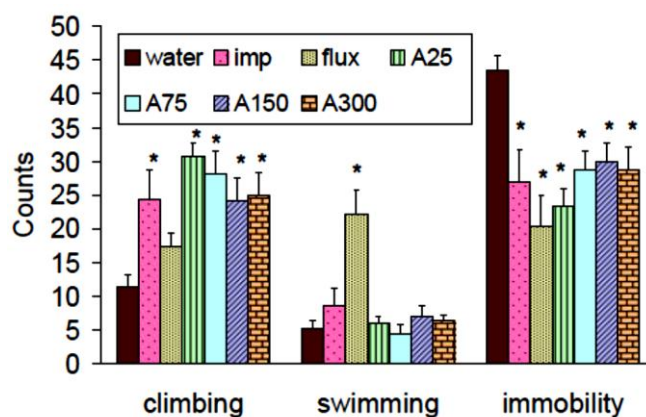
## 1.2. Effet antispasmodique de la mélisse

Il a été montré qu'un extrait hydro-éthanolique (éthanol 45 % v/v) de mélisse a un effet inhibiteur des acétylcholinestérases équivalent à  $1,72 \pm 0,16 \mu\text{g}$  de physostigmine<sup>6</sup>/mg (PHY/mg) d'extrait après dix minutes d'exposition des enzymes à cet extrait *in vitro*. Cela s'exprime par une diminution de l'hydrolyse de l'acétylcholine par les acétylcholinestérases. Une fraction de cet extrait est apparue plus efficace par une activité équivalent à  $25,36 \pm 1,63 \mu\text{g}$  PHY/mg. Celle-ci contient de l'acide rosmarinique et deux de ses dérivés qui pourraient être à l'origine de l'activité observée (Dastmalchi *et al.*, 2009).

L'huile essentielle\* de mélisse possède des propriétés spasmolytiques car elle inhibe les contractions d'iléon de rat induites par dépolarisation avec du KCl avec une  $\text{CI}_{50}$ \* de 19 ng/ml. Cet effet relaxant s'observe d'ailleurs également lorsque les contractions sont induites par l'acétylcholine et par la sérotonine. Ce qui laisse supposer une interaction des composés de l'huile essentielle\* avec leurs récepteurs. Cette activité semble être liée à la présence de

---

<sup>6</sup> Molécule de référence qui inhibe de façon réversible l'acétylcholinestérase (Katzung, 2006).



**Figure 4 – Effets d'un extrait aqueux de *M. officinalis* sur le comportement de la souris dans le test de la nage forcée**

D'après Emamghoreishi & Talebianpour, 2009

Counts : nombre ; water : eau = groupe témoin ; imp : imipramine ; flux : fluoxétine ; A25-300 : extrait aqueux de 25 à 300 mg/kg ; climbing : escalade = tentative de fuite ; swimming : nage ; immobility : immobilité.

Dans le test de nage forcée, trois paramètres ont été évalués dans des conditions de contrôle et après administration en ip des produits énumérés ci-dessus. Les extraits aqueux de mélisse produisent un effet au profil comparable à celui observé chez les animaux traités par imipramine, c'est-à-dire une augmentation des tentatives de fuite et une diminution de l'immobilité. La fluoxétine en revanche produit une augmentation significative de la nage et une augmentation plus modérée de l'escalade.

citral (Sadraei et al., 2003). Ceci confirme que la mélisse peut être utilisée dans les troubles gastro-intestinaux d'origine spasmodique.

## **2. Effets sur le système nerveux central**

### **2.1. Effet anxiolytique**

La GABA-transaminase, GABA-T, est l'enzyme responsable de la dégradation du GABA. Son inhibition entraîne donc une augmentation du GABA au niveau cérébral. Dans une étude de 2007, Awad et son équipe ont montré sur des cerveaux de rat qu'un extrait de mélisse possédait une activité inhibitrice de la GABA-T *in vitro*,  $CI_{50} = 0,35\text{mg/ml}$  (Awad et al., 2007). Cette activité serait due à l'acide rosmarinique, à l'acide ursolique et à l'acide oléanolique (Awad *et al.*, 2009). Cependant, une étude *in vivo* serait nécessaire pour savoir si l'inhibition de la GABA-T par ces composés a un effet sur la fonction GABAergique.

### **2.2. Effet antidépresseur**

Il a été montré chez la souris qu'un extrait aqueux de mélisse présente une activité, apparentée à une activité antidépressive chez l'homme, similaire à celle observée chez les animaux traités par imipramine<sup>7</sup>. Le test de la nage forcée permet d'évaluer les effets des traitements antidépresseurs sur la souris. L'animal est placé dans un récipient en verre cylindrique rempli à moitié d'eau. Alors soit il essaie d'escalader les parois pour s'échapper (escalade ou fuite), soit il nage, soit il se laisse flotter sans bouger (immobilisme). Ainsi, une activité antidépressive d'un produit se caractérisera dans ce test par une augmentation de l'activité locomotrice de la souris (temps de nage et escalade). L'étude d'Emamghoreishi et Talebianpour (2009) révèle que 25 mg/kg d'extrait aqueux de mélisse administrés par voie intra-péritonéale réduisent de 46 % l'immobilité de la souris, augmentent de 170 % les tentatives de fuite sans modifier le nombre de fois où la souris nage (Figure 4). Cette activité possède un effet au profil semblable à celui observé pour 15 mg/kg d'imipramine, mais est différent de celui observé pour 20 mg/kg de fluoxétine (Emamghoreishi & Talebianpour, 2009).

L'effet antidépresseur peut s'expliquer par l'inhibition de la monoamine oxydase de type A, MAO-A\* par des extraits de *M. officinalis*. La  $CI_{50}$ \* pour l'extrait méthanolique étant d'environ 19  $\mu\text{g/ml}$ , tandis qu'elle est d'environ 48  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait aqueux. En revanche,

---

<sup>7</sup> L'imipramine fait partie de la classe des antidépresseurs dits tricycliques. Elle possède une activité thymoanaleptique due à ses effets noradrénergique, sérotoninergique et anticholinergique central et périphérique (Dorosz *et al.*, 2011).



aucun d'eux n'a montré d'activité vis-à-vis de l'acétylcholinestérase (Lopez *et al.*, 2009). Cela signifierait une absence d'effets indésirables liés à une activité anticholinergique, contrairement aux antidépresseurs imipraminiques. Ceci est cependant en contradiction avec l'étude de Dastmalchi en 2009 qui montre une activité par rapport aux acétylcholinestérases. Toutefois, cette différence de résultats peut être due à la nature de l'extrait employé : extrait méthanolique ou aqueux dans un cas et hydro-alcoolique dans l'autre. Pour s'en assurer, il faudrait étudier l'effet de différents types d'extrait de mélisse sur les acétylcholinestérases.

### **2.3. Sédatif et inducteur du sommeil**

Il semble que ni un extrait méthanolique ni un extrait aqueux de mélisse ne déplace le flumazenil<sup>8</sup> de son récepteur GABA-A. Ceci suggère que ces extraits n'agissent donc pas sur les sites récepteurs aux benzodiazépines (Lopez *et al.*, 2009). Ces extraits n'induiraient donc peut-être pas les mêmes effets secondaires que les benzodiazépines.

### **2.4. Intérêt chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer résulterait d'une baisse générale de la transmission cholinergique au niveau central. Or, *M. officinalis* posséderait des propriétés cholinergiques. C'est pourquoi un extrait liquide hydro-alcoolique de mélisse [1 :1] (éthanol 45%) et standardisé à 500 µg/ml de citral a été testé chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer à un stade légèrement à modérément avancé. Les patients ont reçu pendant quatre mois, 60 gouttes de cet extrait par jour et d'autres ont reçu un placebo. L'étude montre une nette amélioration des performances cognitives des sujets, observée par une diminution du score ADAS-cog<sup>9</sup>, non observée chez les patients sous placebo. L'extrait étudié n'a par ailleurs pas montré d'effets secondaires majeurs (Akhondzadeh *et al.*, 2003). Il faudrait désormais déterminer si l'amélioration est due à une activité cholinergique de l'extrait de mélisse ou à un autre effet pharmacologique.

Il apparaît qu'un extrait éthanolique de *M. officinalis* présente un intérêt dans la maladie d'Alzheimer puisqu'il associe une activité antioxydante,  $CI_{50} = 0,36$  mg/ml, à une inhibition des acétylcholinestérases, près de 40 % d'inhibition pour 1 mg/ml d'extrait. En revanche,

---

<sup>8</sup> Le flumazenil est un antagoniste compétitif du site récepteur aux benzodiazépines utilisé comme traitement antidotique en cas de surdosage en benzodiazépines (Dorosz *et al.*, 2011).

<sup>9</sup> Le score ADAS-cog va de 0 (stade léger de la maladie d'Alzheimer) à 70 (stade le plus sévère). Ce score permet d'évaluer l'attention, le langage, la mémoire, l'orientation, les habitudes de vie et le raisonnement des patients atteints de la maladie d'Alzheimer.



l'effet anti-amnésique ne s'observe pas chez la souris ayant une amnésie induite par la scopolamine (Orhan & Aslan, 2009). Orhan et Aslan (2009) ont donc aussi observé une inhibition des acétylcholinestérases avec le même type d'extrait que Dastmalchi (2009) et son équipe.

### **3. Antioxydant**

Les antioxydants sont des agents protecteurs des cellules. Ils leur permettent de lutter contre le stress oxydatif provoqué par les rayonnements, ou les agents chimiques par exemple. Certains antioxydants sont naturellement synthétisés par les cellules, ils sont endogènes. Ils peuvent être enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase et hème oxygénase) ou non (glutathion et acide urique). A cela s'ajoutent les antioxydants exogènes apportés par l'alimentation. Il s'agit notamment des vitamines C et E (Nadji, 2010). La mélisse présente des propriétés antioxydantes importantes (Dastmalchi *et al.*, 2008).

#### **3.1. Intérêt dans le traitement des maladies neurodégénératives**

Le stress oxydatif est supposé être l'un des facteurs influençant la survenue de certaines maladies neurodégénératives comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. Le pouvoir antioxydant de *M. officinalis* pourrait donc offrir une protection contre les dérivés oxygénés réactifs ou *Reactive oxygen species* (ROS\*). Un extrait méthanolique de la plante de 60 et 80 µg/ml protège *in vitro* plus de 60% des cellules chromaffines tumorales de médullosurrénale de rat, nommées PC12 (*Pheochromocytome cells 12*<sup>10</sup>), contre le peroxyde d'hydrogène. Cette protection atteint 50% pour un extrait aqueux (Lopez *et al.*, 2009).

L'huile essentielle\* de mélisse pourrait être associée à un traitement de la maladie d'Alzheimer grâce à ses propriétés antioxydantes qui confèrent ainsi une protection cellulaire aux neurones (Bahtiyarca Bagdat & Cosge, 2006).

#### **3.2. Intérêt dans le traitement des hyperlipidémies**

Les ROS interviennent dans le processus d'athérosclérose, c'est-à-dire dans la formation de plaques d'athéromes qui peuvent être à l'origine d'infarctus du myocarde ou d'accidents vasculaires cérébraux (AVC). L'organisme libère une molécule de défense antioxydante : le glutathion (Nadji, 2010). Or, il se trouve que chez le rat hyperlipidémique sa production est fortement abaissée. Une étude de Bolkent *et al.* (2005) a montré qu'un extrait

---

<sup>10</sup> Ces cellules sont considérées comme des neurones, d'où leur utilisation dans l'étude.



de mélisse augmente sa concentration dans le sang et le foie du rat hyperlipidémique. En effet, celle-ci est supérieure de 33% chez les rats hyperlipidémiques qui ont reçu l'extrait par rapport aux rats hyperlipidémiques n'ayant pas été traités. Chez les rats traités, le taux de peroxydation des lipides est diminué de 63%. En revanche, l'administration de l'extrait à des rats dont la cholestérolémie et la triglycéridémie sont normales ne produit pas des résultats aussi équivoques. On peut donc supposer qu'une administration en prévention n'aurait pas d'utilité. Selon les auteurs, ces effets pourraient être attribués aux flavonoïdes (Choi, 1991 ; Ribeiro *et al.*, 2001). Par ailleurs, cette étude a aussi mis en évidence qu'un extrait aqueux de feuilles de mélisse induisait une réduction de la cholestérolémie et du taux de lipides sanguins chez le rat hyperlipidémique (Bolkent *et al.*, 2005). Actuellement, aucun médicament\* ne cible les ROS dans le traitement de l'athérosclérose.

## **4. Virucide**

### **4.1. Action sur le Virus d'Immunodéficience Humaine**

#### **4.1.1. Thérapeutiques existantes**

La lutte contre le VIH<sup>11\*</sup> fait partie des enjeux médicaux les plus importants de notre époque. En effet, l'OMS estime à 1,8 millions le nombre de personnes mourant du SIDA<sup>12\*</sup> chaque année (OMS, 2011a). Actuellement, il n'existe aucun médicament\* capable de guérir cette infection. En revanche, une trithérapie peut être instaurée afin de repousser le plus longtemps possible le stade de SIDA déclaré, c'est-à-dire lorsque le taux de lymphocytes T CD4 est inférieur à 500/mm<sup>3</sup> de sang. Il existe plusieurs types d'antirétroviraux permettant de limiter la multiplication du virus: les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs de protéase et les inhibiteurs de fusion. De plus, ces traitements engendrent de nombreux effets indésirables (Talbert *et al.*, 2008).

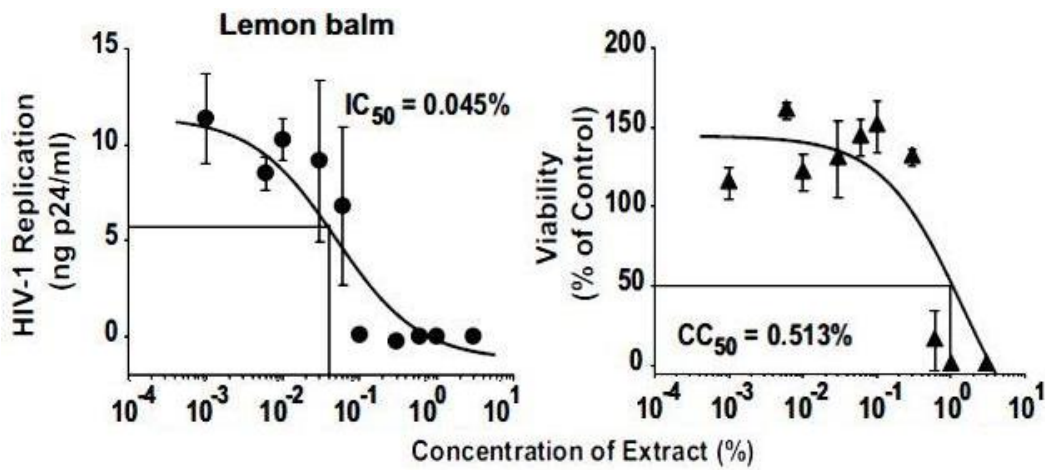
#### **4.1.2. Activité de la mélisse sur le VIH**

La mélisse, ainsi que d'autres plantes de la famille des Lamiaceae, possède une activité sur le virion du VIH. En effet, l'efficacité d'un extrait aqueux de mélisse a été étudiée *in vitro* et *ex vivo*. Celui-ci n'a d'effet que sur les particules virales libres, en inhibant le mécanisme de fusion. Ce dernier semble pourtant être différent de celui de l'enfuvirtide, Fuzeon®, qui est

---

<sup>11</sup> Virus de l'Immunodéficience Humaine

<sup>12</sup> Syndrome d'Immunodéficience Acquise



**Figure 5 – Un extrait aqueux de mélisse possède une activité anti-VIH-1 concentration-dépendante sur les cellules T Sup-T1**

Geuenich *et al.*, 2008

L'extrait aqueux de mélisse inhibe la réplication du virus HIV-1 (*HIV-1 replication*) dans les cellules T Sup-T1 à des concentrations (*Concentration of Extract*) relativement faible ( $IC_{50}=0,045\%$  à J5 après l'infection) et s'avère peu toxique (*viability*) pour les cellules à cette concentration. Dans cet essai, la réplication virale a été évaluée en mesurant la quantité de protéine p24 présente dans le surnageant (ng p24/ml).

aussi un inhibiteur de fusion. L'extrait n'est cytotoxique qu'à des concentrations relativement haute (Figure 5) par rapport à la  $CI_{50}^*$  (Geuenich *et al.*, 2008).

Il faut cependant rester très vigilant par rapport aux résultats qui attesteraient une activité anti-VIH. En effet, ces essais ont été menés sur des modèles. Il se peut donc qu'à l'échelle de l'organisme humain, ces effets ne soient pas observés.

## **4.2. Action sur l'*Herpes simplex virus***

### **4.2.1. Thérapeutiques existantes**

Il existe plusieurs molécules anti-herpétiques qui sont l'aciclovir, par voie orale ou locale, et le valaciclovir par voie orale uniquement (Talbert *et al.*, 2008). L'aciclovir inhibe la synthèse de l'ADN viral, et il en est de même pour le valaciclovir, car celui-ci donne après clivage de la partie valine, une molécule d'aciclovir. L'intérêt du valaciclovir est que son absorption au niveau intestinal est nettement supérieure à celle de l'aciclovir (Katzung, 2006).

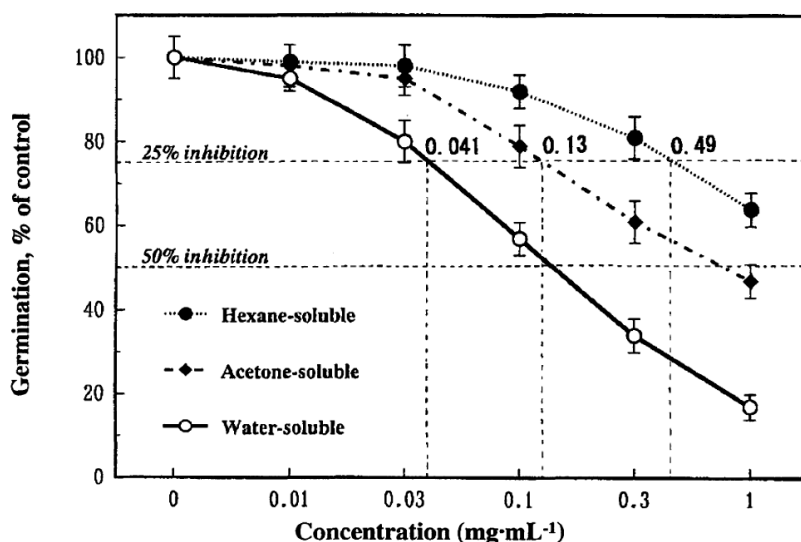
### **4.2.2. Activité de la mélisse sur l'HSV**

L'activité anti-herpétique de l'huile essentielle\* de *M. officinalis* sur HSV<sup>13</sup> de types 1 et 2, a été étudiée sur des cellules rénales de singe. A très haute dilution (pour lesquelles la cytotoxicité est très faible), c'est-à-dire pour des concentrations inférieures à 0,002 %, il a été observé une inhibition de la formation de plaques virales de 98,8 % pour HSV-1 et 97,2 % pour HSV-2 (Schnitzler *et al.*, 2008). L'efficacité de l'huile essentielle\* de mélisse a aussi été montrée sur HSV 2 par Allahverdiyev et son équipe en 2004, pour des concentrations non-cytotoxiques inférieures à 100 µg/ml. La cytotoxicité envers les cellules HEp-2 apparaissait dès 100 µg/ml (Allahverdiyev *et al.*, 2004). Il semblerait que l'huile essentielle\* empêche la pénétration du virus dans les cellules mais n'aurait aucune activité une fois le virus dans la cellule-hôte (Schnitzler *et al.*, 2008). Il semble donc que, à l'instar du VIH, seules les particules virales libres d'HSV soient sensibles à la mélisse.

En Allemagne, une spécialité à base de mélisse est déjà commercialisée dans les traitements de l'herpès labial : Lomaherpan® du laboratoire Lomapharm (Wichtl & Anton, 2003).

---

<sup>13</sup> *Herpes simplex virus*



**Figure 6 – Effets de différentes fractions d’un extrait sec de mélisse sur la germination de graines de laitue**

On observe que la fraction soluble dans l’eau de l’extrait de mélisse possède un pouvoir inhibiteur nettement supérieur à celui de la fraction soluble dans le n-hexane et dans l’acétone. Ce sont donc les composés hydrophiles qui ont la plus forte activité.

**Tableau 4 – Posologies recommandées par l’HMPC dans le cadre d’un usage traditionnel et reconnu de la valériane**

EMA, 2005

	Formes employées	Posologies	
<p>Enfants de plus de 12 ans, adultes, personnes âgées</p> <p>L’emploi chez l’enfant de moins de 12 ans, chez la femme enceinte ou allaitante n’est pas recommandé.</p>	Usage reconnu		
	Teinture DER [1:5] ou extrait aqueux ou hydro-éthanolique (éthanol 70 % v/v max.)	<p>1 dose équivalente à 2-3 g de drogue* :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 3 fois par jour en cas de nervosité modérée</li> <li>- ou 1 dose 1 heure avant le coucher en cas de troubles de l’endormissement, voire 1 dose supplémentaire au dîner si nécessaire</li> </ul> <p>Maximum 4 doses par jour</p>	
	Usage traditionnel		
	Poudre ou tisane de racine sèche de valériane	0,3 à 1 g	3 fois par jour, si visée relaxante
	Jus de plante fraîche	15 ml	Ou 1 dose 1 heure avant le coucher en cas de troubles de l’endormissement, voire 1 dose supplémentaire au dîner si nécessaire
	Huile essentielle* de racine de valériane	15 mg	Maximum 4 doses par jour

La voie d’administration recommandée est la voie orale uniquement. Pour un effet optimal, il est conseillé de poursuivre le traitement sur 2 à 4 semaines. Le traitement ne saurait être efficace en phase aiguë d’insomnie. Toutefois, la durée de traitement doit être limitée et en cas de persistance des symptômes, une consultation médicale doit être envisagée.

## 5. Phytosanitaire

L'utilisation de la mélisse est depuis toujours orientée vers la médecine humaine. Or, depuis quelques années, d'autres usages sont étudiés notamment dans le domaine des produits phytosanitaires.

### 5.1. Herbicide

Certaines fractions d'un extrait hydro-acétonique de *M. officinalis* inhibe la germination et la croissance (Figure 6) de racines et de pousses de "queue de renard" (*Amaranthus caudatus*), du cresson (*Lepidium sativum* L.), du millet sanguin (*Digitaria sanguinalis* L.), de fléole des prés (*Phleum pratense* L.), de laitue (*Lactuca sativa* L.) et d'ivraie multiflore (*Lolium multiflorum* Lain.). Ces plantes ont été choisies car leur processus de germination est bien connu. La fraction soluble dans l'eau est la plus efficace, la  $CI_{50}^*$  étant de 0,14 mg/ml (Kato-Noguchi, 2001).

### 5.2. Insecticide

Un extrait méthanolique de parties aériennes de mélisse a été testé sur *Spodoptera littoralis*, un ver ravageur du cotonnier. Il s'avère que cet extrait concentré à 10 % possède une légère toxicité (62 % de mortalité) sur les larves de ce papillon avec une  $CL_{50}$  de 3,74 %. Toutefois ceci reste très inférieur aux effets observés avec un extrait méthanolique de basilic, de marjolaine et de sauge, dont les  $CL_{50}$  respectives sont 0,36 %, 0,17 % et 0,47 %. Aucun effet de l'extrait de mélisse sur la chrysalide n'a été observé (Pavela, 2004). Cet extrait permettrait donc de lutter contre l'insecte adulte mais non d'empêcher sa transformation de l'état de larve à l'état adulte. Ce n'est pas un effet qui mérite d'être approfondi car l'efficacité est limitée.

## B. Propriétés de la valériane

La valériane est traditionnellement utilisée pour traiter les troubles du sommeil et apaiser les tensions nerveuses notamment lorsqu'elles sont associées à des contractures musculaires (Ollier, 2011). L'HMPC reconnaît un usage bien établi seulement pour les préparations à base de racine de valériane qui sont : l'extrait aqueux ou hydro-éthanolique et les teintures avec un DER [1 :5], le titre alcoolique étant au maximum 70 % v/v dans les deux cas. Leur usage dans le cas d'état de nervosité modérée et de difficultés d'endormissement est reconnu et le comité propose donc des doses (Tableau 4) à respecter pour ces indications (EMA, 2005).



## **1. Effets cliniques**

### **1.1. Anxiolytique**

#### **1.1.1. Thérapeutiques existantes**

Actuellement, il existe deux familles principales d'anxiolytiques : les benzodiazépines (majoritaires), les antihistaminiques H1 et autres. Les carbamates ont été retirés du marché début 2012 (Katzung, 2006 ; Dorosz et al., 2011 ; Vidal, 2012). Cela réduit d'autant plus le choix dans les traitements de l'anxiété C'est pourquoi il devient important de trouver des alternatives thérapeutiques, telle que la valériane par exemple. Les benzodiazépines facilitent la transmission GABAergique dont résultent les effets anxiolytique, myorelaxant, anticonvulsivant et sédatif. Parmi les effets secondaires relevés dans l'utilisation des benzodiazépines, il faut souligner les problèmes de dépendance physique et psychique, la somnolence (effets sédatifs dose-dépendants), les troubles de la cognition (amnésie antérograde et concentration), la tolérance (Vidal, 2012), etc.

#### **1.1.2. Activité anxiolytique sur le rat de laboratoire**

L'effet anxiolytique d'un extrait hydro-éthanolique 50 % v/v de racine de valériane a été prouvé chez les rats de laboratoire à hauteur de 3 ml/kg injectés en intra-péritonéal. L'effet était similaire à celui observé avec 1 ml/kg de diazépam, un anxiolytique de la famille des benzodiazépines. Les animaux étaient ensuite soumis au test *Elevated Plus Maze*, c'est-à-dire un labyrinthe surélevé en forme de croix dont deux bras sont murés sur trois côtés – ce sont les bras fermés – et les deux autres non – ce sont les bras ouverts. Il est ensuite compté le nombre d'entrées dans chacun des bras et le temps passé dessus. Ce modèle comportemental permet de "mesurer" l'anxiété du rat présent dans le labyrinthe. Ainsi, plus le rat passe de temps à explorer les bras ouverts et plus il y entre, moins son anxiété est considérée importante (Murphy *et al.*, 2010). Cet effet a aussi été montré par Hattesoehl et son équipe (2008) avec différents types d'extraits de racine de valériane (Hattesoehl *et al.*, 2008).

### **1.2. Anticonvulsivant**

#### **1.2.1. Thérapeutiques existantes**

Actuellement, il existe différents traitements contre l'épilepsie. En officine, les thérapeutiques sont variées. Il y a l'acide valproïque et le valproate de sodium qui sont des anticonvulsivants actifs dans tous les types d'épilepsies. Ils sont dans la plupart des cas



utilisés en première intention. Les benzodiazépines telles que le diazépam (Valium®), le clonazépam (Rivotril®) et le clobazam (Urbanyl®), ainsi que les barbituriques tels que le phénobarbital (Gardenal®, Alepsal®) et la primidone (Mysoline®) sont également utilisées. Ils possèdent une activité anticonvulsivante, sédatrice et hypnotique. Le topiramate (Epilex®), la tiagabine (Gabitril®), la gabapentine (Neurontin®) et la prégabaline (Lyrica®) interagissent avec le système GABAergique par différents mécanismes d'action. En dernière intention, le vigabatrin (Sabril®) peut être utilisé. Il inhibe la GABA-transaminase de façon irréversible ce qui a pour conséquence d'augmenter la concentration de GABA dans le cerveau. La lamotrigine (Lamictal®) permet une diminution de la libération des neuromédiateurs excitateurs ainsi que la stabilisation de la membrane cellulaire des neurones. Certains possèdent des mécanismes d'actions différents, pas toujours très bien déterminés, tels que la phénytoïne (Di-Hydan®, Dilantin®), l'éthosuximide (Zarontin®) et le lévétiracétam (Keppra®). Enfin, dans certains cas des modulateurs de l'activité des canaux sodium dépendants du potentiel peuvent être utilisés, tels que la carbamazépine (Tégréto®) par exemple. Il les maintiennent plus longtemps dans un état inactivé (Katzung, 2006 ; Dorosz *et al.*, 2011 ; Vidal, 2012). Le système GABAergique est une cible très importante dans le traitement de l'épilepsie.

### **1.2.2. Activité anticonvulsivante sur un modèle expérimental d'épilepsie**

La valériane est depuis longtemps utilisée pour ses propriétés antiépileptiques en Iran. Chez l'adulte, l'épilepsie du lobe temporal est la plus commune. C'est pourquoi Rezvani et son équipe (2010) ont étudié les effets d'un extrait aqueux de valériane et d'un extrait par de l'éther de pétrole de ces mêmes racines sur un modèle animal d'épilepsie obtenue après une lésion spécifique au niveau du lobe temporal. Dans ce cas, des cassures électriques et motrices ont été induites progressivement par stimulation de sites particuliers dans le cerveau du rat, en l'occurrence l'amygdale qui est fortement impliquée dans ce processus. L'effet antiépileptique observé serait en partie dû à l'activation du système adénosine. Les récepteurs à l'adénosine A<sub>1</sub> sont principalement pré-synaptiques. Leur activation induit une baisse de la libération de neurotransmetteurs. Ils constituent une cible potentielle dans le traitement de l'épilepsie (Rezvani *et al.*, 2010).

**Tableau 5 – Effet d'un extrait hydro-alcoolique de valériane sur les contractions de l'iléon du cochon d'Inde stimulé par 0,1 Hz**

D'après Emami-Abarghouei *et al.*, 2009

Extrait (mg/ml)	5	15	50	150	500
Diminution des contractions (%)	34,5	36,1	47,6	56,4	76,2

Un extrait hydro-alcoolique provoque une diminution des contractions de l'iléon de façon dose dépendante. La CE<sub>50</sub>\* est de près de 50 mg/ml, ce qui représente une concentration relativement importante.

### **1.3. Hypnotique**

Une méta-analyse d'études randomisées contrôlées par placebo révèle que la valériane améliore la qualité du sommeil si elle est évaluée qualitativement, c'est-à-dire s'il est seulement demandé aux volontaires si leur sommeil est amélioré ou non (variable dichotomique). En revanche, lorsque la qualité du sommeil est évaluée par une échelle visuelle (évaluation quantitative), il s'avère que la valériane n'apporte pas d'amélioration, ni n'induit le sommeil plus rapidement et que cette appréciation est très subjective. Le problème de la valériane serait son odeur. Elle biaiserait, en faveur de la valériane, les études menées contre placebo car de ce fait, les patients qui reçoivent la valériane et non le placebo en sont conscients (Bent *et al.*, 2006 ; Fernandez-San-Martin *et al.*, 2010). Les méta-analyses s'accordent toutes à montrer que la valériane ne présente pas de danger d'utilisation mais qu'elle est sans effet sur les troubles du sommeil (Taibi *et al.*, 2007 ; Salter & Brownie, 2010 ; Sarris & Byrne, 2010).

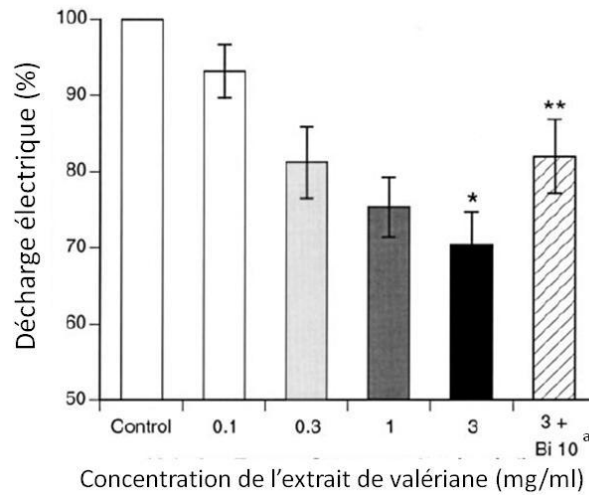
Il semblerait que l'effet "sédatif" de la valériane serait plus lié à son fort potentiel anxiolytique qu'à un quelconque effet hypnotique. De ce fait, le sommeil ne peut être induit et/ou amélioré que chez les patients dont l'anxiété est à l'origine de ces troubles (Hattesoehl *et al.*, 2008). Cela expliquerait peut-être pourquoi les extraits de valériane n'induisent pas de somnolence chez des sujets sains.

### **1.4. Myorelaxant**

Un extrait hydro-alcoolique de valériane possède un effet myorelaxant dose-dépendant sur l'iléon – partie de l'intestin grêle – de cochon d'Inde stimulé par 0,1 Hz qui est un modèle *in vitro* des mouvements intestinaux (Tableau 5). Emami-Abarghouei et son équipe précisent qu'une étude précédente montrait que ce type de contractions était dû à une libération d'acétylcholine, et pouvait être atténuées par l'administration d'atropine. Ceci les laisse supposer que l'extrait étudié pourrait posséder une activité anticholinergique qu'il serait intéressant d'approfondir par la suite (Emami-Abarghouei *et al.*, 2009).

## **2. Effets pharmacologiques**

Selon l'HMPC, les effets sédatifs et anxiolytiques des racines de valériane ont été démontrés au cours d'essais précliniques et des études cliniques. Il est donc admis que les préparations reconnues à base de racine de valériane réduisent le délai d'endormissement et améliorent la qualité du sommeil et le bien-être en journée. Cependant, le comité n'attribue pas ces activités à l'un ou l'autre des composants en particulier. Mais il propose l'intervention

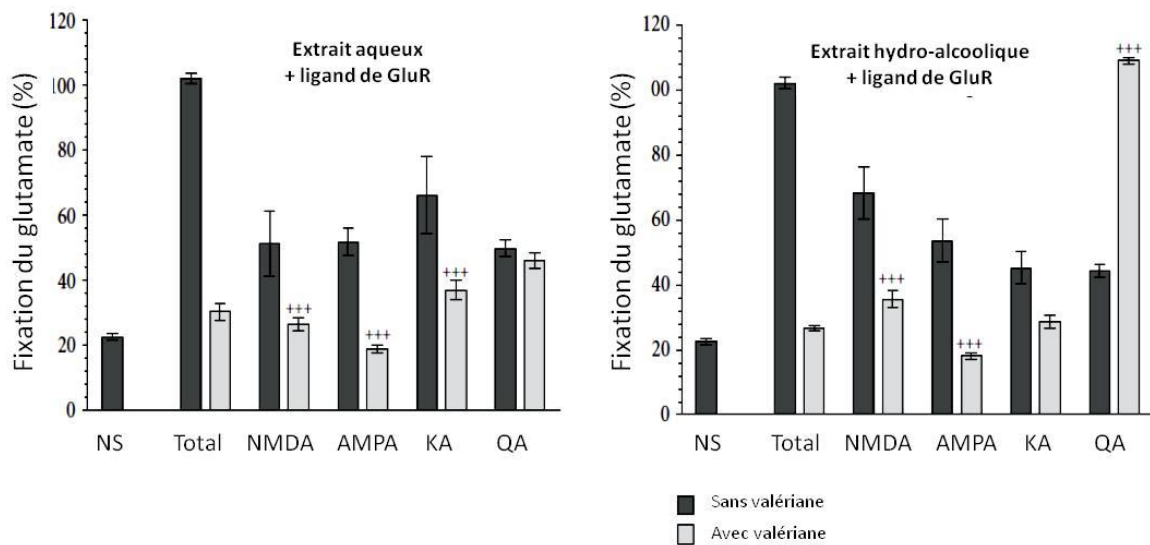


**Figure 7 – Effet inhibiteur concentration-dépendant d'un extrait de valériane sur l'excitabilité neuronale**

D'après Yuan *et al.*, 2004

a : essai avec 3 mg/ml d'extrait de valériane associé à 10  $\mu$ M de bicuculline.

Un extrait de valériane, standardisé à 0,3 % d'acide valérénique, inhibe de façon dose-dépendante l'excitation des neurones du tronc cérébral de rat. Un extrait à 3 mg/ml possède une activité inhibitrice de 29 %. La bicuculline antagonise l'effet observé avec l'extrait de valériane.



**Figure 8 – Effets d'un extrait aqueux et d'un extrait hydro-alcoolique de valériane sur la fixation du glutamate en présence d'agonistes des récepteurs au glutamate**

D'après Del Valle-Mojica *et al.*, 2010

1 mg/ml d'extrait aqueux ou hydro-alcoolique de valériane diminue l'effet du NMDA, de l'AMPA et du kainate (KA) sur la fixation du glutamate aux membranes synaptiques de rat. L'extrait hydro-alcoolique augmente cependant la fixation de l'acide quisqualique alors que l'extrait aqueux ne la modifie pas.

Au total, les extraits de valériane diminuent fortement la fixation du glutamate.

de mécanismes d'action faisant intervenir le système GABAergique, les récepteurs à l'adénosine A1 et les récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>1A</sub> (EMA, 2005).

### **2.1. Interaction avec le système GABAergique**

La valériane interagit avec le système GABAergique, le GABA étant un neurotransmetteur inhibiteur. Ceci explique les effets sédatifs et anxiolytiques observés lors de la consommation de valériane. Un extrait de valériane, standardisé à 0,3 % d'acide valérénique, inhibe *in vitro* l'activité neuronale des neurones du tronc cérébral de rat (Figure 7) avec une CI<sub>50</sub>\* de 240 µg/ml. Cet effet est en partie diminué en présence de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA-A, ou RGABA-A (Yuan *et al.*, 2004). Cela suggère donc que l'activité de l'extrait de valériane étudié est médiée par les RGABA.

### **2.2. Interaction avec le système glutamatergique**

Le glutamate est un neurotransmetteur exciteur du système nerveux central. Son activité est compensée par celle du GABA garantissant ainsi un état d'équilibre. Si un composé inhibait l'effet du glutamate, alors la balance pencherait vers le GABA et le système nerveux central se trouverait dans un état d'inhibition plus important. Or des extraits hydro-alcoolique et aqueux de racines de valériane ont montré une interaction avec les récepteurs glutamatergiques ionotropiques. Ils entraînent une diminution de la fixation du NMDA, de l'AMPA, et du kaïnate sur les récepteurs glutamatergiques (Figure 8). En revanche, l'extrait hydro-alcoolique augmente la fixation de l'acide quisqualique, un agoniste des récepteurs métabotropiques du groupe I, principalement post-synaptiques, qui pourrait se traduire par un effet exciteur exacerbé. La sélectivité dépend du type d'extrait et de leur durée de conservation. Toutefois, l'effet total des extraits de valériane se manifeste par une forte diminution de la fixation du glutamate sur ses récepteurs exprimés sur des membranes synaptiques de rat (Del Valle-Mojica *et al.*, 2010). Ceci doit se traduire par une augmentation de l'inhibition du système nerveux central puisqu'en parallèle, ce type d'extrait provoque une potentialisation de l'effet GABAergique.

**Tableau 6 – Évaluation des symptômes de l’hyperactivité et des troubles du sommeil à la première et la seconde consultations**

D’après Muller & Klement, 2006

Importance des symptômes	Hyperactivité		Évolution	Troubles du sommeil		Évolution
	1 <sup>ère</sup> visite (%)	2 <sup>ème</sup> visite (%)		1 <sup>ère</sup> visite (%)	2 <sup>ème</sup> visite (%)	
Pas d’informations	0,9	0,9	=	0,4	0,6	=
Absents	10,9	<b>29,6</b>	↗	6,2	<b>29,7</b>	↗
Légers	<b>18,1</b>	<b>45,5</b>	↗	<b>10,0</b>	<b>46,8</b>	↗
Modérés	<b>37,8</b>	<b>18,4</b>	↘	<b>35,6</b>	<b>18,5</b>	↘
Sévères	<b>28,1</b>	4,5	↘	<b>41,5</b>	3,6	↘
Très sévères	4,3	1,1	↘	6,21	0,7	↘
Total	100	100		100	100	

## C. Études d'une association mélisse-valériane

### 1. Effets sur les troubles du sommeil

Un traitement associant valériane et mélisse, Euvegal® forte<sup>14</sup>, a été testé pendant quatre semaines sur 918 enfants diagnostiqués hyperactifs de moins de douze ans et souffrant de troubles du sommeil (Muller & Klement, 2006). La posologie quotidienne était de deux comprimés, deux fois par jour soit une dose de 640 mg d'extrait sec hydro-alcoolique de racine de valériane et 320 mg d'extrait sec hydro-alcoolique de feuilles de mélisse. Les effets ont été observés d'un côté par les parents et de l'autre par les instigateurs de l'enquête. Une nette amélioration des troubles du sommeil et des symptômes liés à l'hyperactivité a été notée par ceux-ci (Tableau 6). Le traitement n'a pas révélé d'effets secondaires car la tolérance a été considérée comme bonne voire très bonne pour 96 % des patients. Toutefois, 157 patients ont stoppé prématurément le traitement, mais dans 50 % des cas, cela était dû à une rémission. En aucun cas, il n'a été suspendu pour des raisons de mauvaise tolérance (Muller & Klement, 2006).

### 2. Effets face à un stress induit

L'efficacité anxiolytique est parfaitement admise pour la mélisse et la valériane, mais il apparaît également très intéressant de comprendre les effets de l'association de ces deux plantes. C'est ce qu'ont fait Kennedy et son équipe en 2006. Vingt-quatre volontaires sains se sont prêtés à l'étude. Ils recevaient quotidiennement neuf gélules dont la quantité totale représentait soit 3, 6 ou 9 fois l'association de 120 mg d'extrait de racines de valériane [4,5:1] et 80 mg d'extrait de feuilles mélisse [5:1] – nature de l'extrait inconnue – ou un placebo, avant d'être soumis à un test facteur de stress<sup>15</sup>. Il apparaît que 600 mg de cette association réduisent l'anxiété du sujet. En revanche, 1800 mg ont provoqué une légère augmentation de celle-ci. Les trois doses ont perturbé les scores des volontaires aux tests (Kennedy *et al.*, 2006).

---

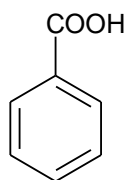
<sup>14</sup> Ce produit n'est pas commercialisé en France.

<sup>15</sup> Lors de ce type de test, il est demandé aux participants de réaliser quatre tâches simultanément. Celles-ci font intervenir leurs facultés cognitives et psychomotrices. A l'issue du test, ils obtiennent un score plus ou moins élevé selon leur degré de réussite.

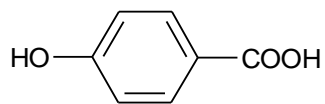


### **3. Effets sur des sujets sains**

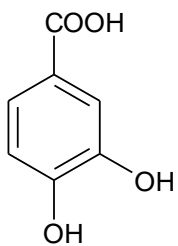
Afin de déterminer si une association de 120 mg d'extrait de racines de valériane [4,5:1] et 80 mg d'extrait de feuilles mélisse [5:1] – nature de l'extrait inconnue – était bien tolérée et sans effets secondaires, Cerny et Schmid (1999) ont étudié sur des volontaires sains de 20 à 70 ans les effets de l'administration de trois fois cette dose, une demi-heure avant le coucher pendant un mois. Au total, 98 participants ont été recrutés, un tiers a reçu le placebo et deux tiers ont reçu le traitement par mélisse et valériane. L'association a été très bien tolérée (97 %) et seulement 3 % ont jugé cette tolérance insatisfaisante, tout comme le placebo (respectivement 95 et 3 %). Dans les deux groupes, des effets secondaires de type fatigue et troubles du sommeil ont été observés chez 28 % des sujets. L'association n'a pas apporté de modification quant au bien-être des personnes, mais a montré une amélioration des troubles du sommeil pour un tiers des volontaires ayant reçu le traitement, alors qu'aucun d'eux ne s'en plaignait au début de l'étude (Cerny & Schmid, 1999). Cette étude montre bien que l'utilisation de ces deux plantes en thérapeutique présente un risque faible et que leur tolérance est très bonne.



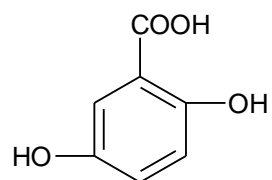
1



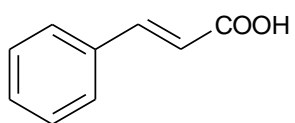
2



3



4



5

## II. Composition chimique de la mélisse et de la valériane

La mélisse et la valériane possèdent une composition chimique très variée. Les constituants de la drogue\* entière et ceux de l'huile essentielle\* diffèrent. La mélisse et la valériane dérivent de la même sous-classe : les Astéridées. Il n'est donc pas surprenant de trouver des similitudes dans leur composition (eugénol, pinène,  $\beta$ -caryophyllène, etc.).

Les structures moléculaires présentées ont été réalisées avec le logiciel ISIS/Draw 2.5.

### A. Composition chimique de la mélisse

#### 1. Composition chimique des feuilles de mélisse

Les feuilles de mélisse sont riches en acides-phénols (ou acides phénoliques) et en flavonoïdes (Annexe 7).

##### 1.1. Acides phénoliques

Un acide phénolique (ou acide-phénol) est un composé organique polaire constitué d'au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Dans le monde végétal, ce terme désigne les dérivés cinnamiques ( $C_6-C_3$ ) et les dérivés benzoïques ( $C_6-C_1$ ).

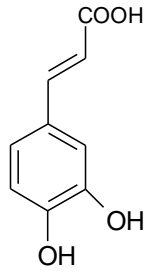
Ils peuvent être extraits par les solvants organiques en milieu légèrement acide. Les acides-phénols sont des molécules instables qui ont tendance à s'oxyder, notamment en milieu alcalin (Bruneton, 2009).

##### 1.1.1. Dérivés de l'acide benzoïque

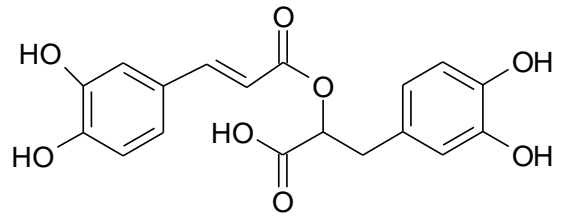
Les dérivés de l'acide benzoïque (**1**) sont des acides-phénols en  $C_6-C_1$  (Bruneton, 2009). Il y en a trois identifiés dans les feuilles de mélisse. Il s'agit de l'acide *para*-hydroxybenzoïque (**2**), de l'acide protocatéchique (**3**) et de l'acide gentisique (**4**) (Guignard *et al.*, 1985).

##### 1.1.2. Dérivés de l'acide cinnamique

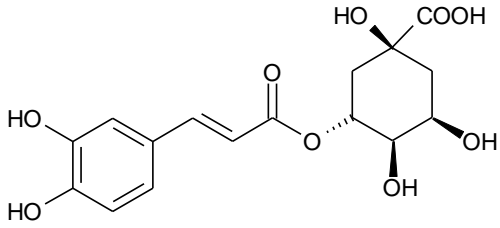
Les acides-phénols dérivés de l'acide cinnamique (**5**) un composé en  $C_6-C_3$ , le plus souvent estérifiés (Bruneton, 2009). Les feuilles de mélisse contiennent ce type d'acides-phénols, l'acide caféique (**6**), et des composés qui en sont dérivés : l'acide rosmarinique (**7**), l'acide chlorogénique (**8**) et les acides A et B mélitriques (**9** et **10**).



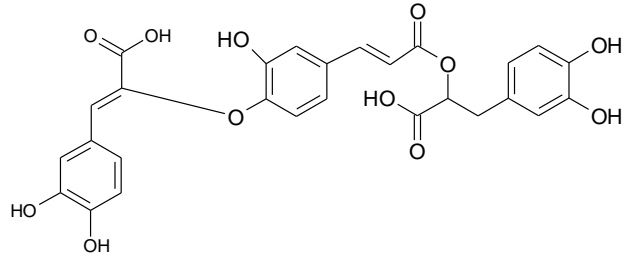
6



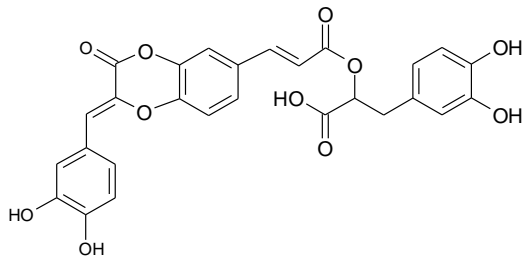
7



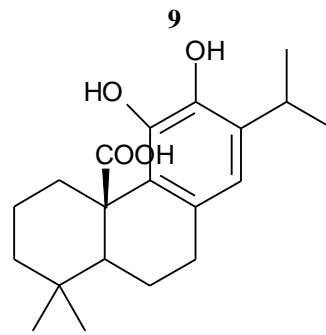
8



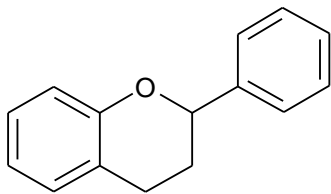
9



10



11



12

L'acide caféique (**6**) est un acide-phénol dérivé de l'acide cinnamique (Bruneton, 2009). Il peut être oxydé en quinone à l'occasion d'une blessure infligée à la plante (Guignard *et al.*, 1985).

L'acide rosmarinique (**7**), comme son nom l'indique, a été isolé et identifié pour la première fois à partir du romarin (*Rosmarinus officinalis*) par Scarpati et Oriente, en 1958 (Pereira *et al.*, 2005). Pourtant, il est présent en plus grande quantité dans les feuilles de mélisse, où sa concentration est de 3,9% contre 2,5% dans le romarin *Rosmarinus officinalis* (Geller *et al.*, 2010). Sa teneur peut toutefois atteindre les 4,7 % (Gruenwald *et al.*, 2007). L'acide rosmarinique est un ester de l'acide caféique et de l'acide 3,4-hydroxyphényllactique (Pereira *et al.*, 2005). C'est une molécule polaire (ce qui explique sa solubilité dans l'eau et l'éthanol). Il est présent chez les Lamiacées, les Borraginacées et les Apiacées (Penchev, 2010) et est supposé participer aux mécanismes de défense de la plante (Petersen & Simmonds, 2003).

L'acide chlorogénique (**8**), ou acide 5-caféoyl-quinique est un ester de l'acide quinique et de l'acide caféique. C'est une molécule très représentée dans le règne végétal qui a été détectée pour la première fois dans le café, en 1837 (Petersen *et al.*, 2009). Il s'isomériser par rapport à la position de l'ester en milieu alcalin ou acide et forme ainsi un mélange d'isomères de position, ce sont les acides chlorogéniques. Du fait de la présence de nombreux hydroxyles, l'acide chlorogénique est soluble dans l'eau (Bruneton, 2009).

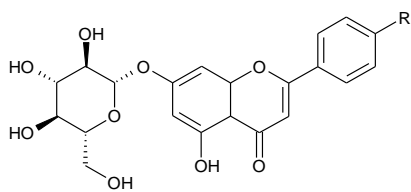
Les acides A (**9**) et B (**10**) mélitriques, dérivant de l'acide rosmarinique, peuvent être considérés comme des "trimères" de l'acide caféique (Agata *et al.*, 1993).

### **1.1.3. Acide carnosique**

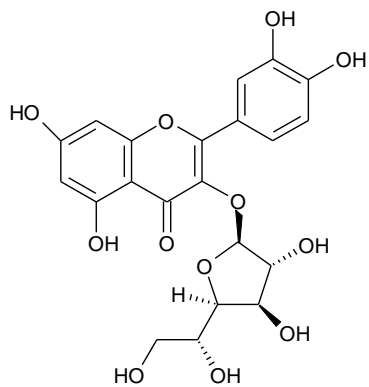
L'acide carnosique (**11**) ou rosmaricine est un diterpène phénolique (Penchev, 2010). Il est avec l'acide rosmarinique le marqueur du romarin dont des extraits sont autorisés dans l'UE comme antioxydants alimentaires par le biais d'une directive de l'Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire ou *EFSA, European Food Safety Authority* (EFSA, 2008).

## **1.2. Flavonoïdes**

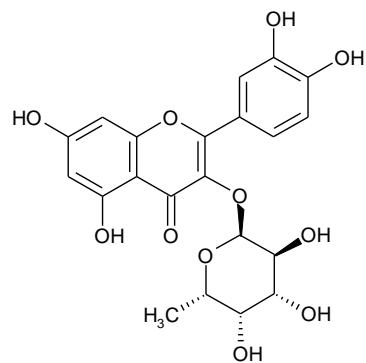
Les flavonoïdes sont des composés souvent polaires et donc solubles dans l'eau et dans l'alcool, qui possèdent tous la même structure de base (**12**) puisque qu'ils ont une origine biosynthétique commune. Leur teneur, dans les feuilles de mélisse, varie de 0,2 % à 0,7 % (Bruneton, 2009).



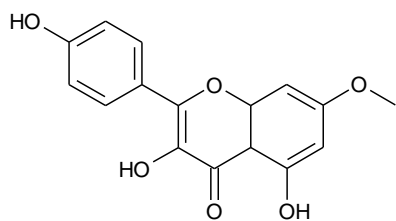
**13 : R = H**  
**14 : R = OH**



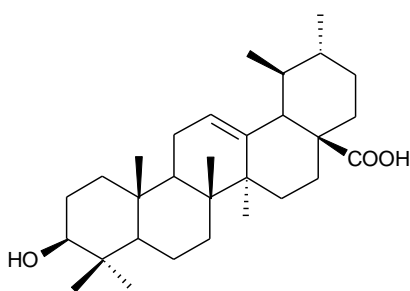
**15**



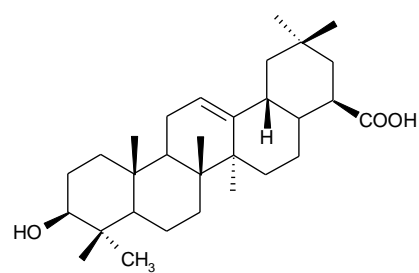
**16**



**17**



**18**



**19**

Ils ont un rôle dans le renouvellement de l'espèce car ils participent à la pollinisation en attirant les insectes. Au niveau des feuilles, ils constituent un filtre protecteur par rapport au rayonnement ultraviolet (Simmonds, 2003 ; Bruneton, 2009 ; Miller *et al.*, 2011).

### **1.2.1. Hétérosides flavoniques**

La cosmosiine (**13**) est un 7-glucoside de l'apigénol tandis que le cynaroside (**14**) est un 7-glucoside de lutéolol. Ces deux molécules sont constituées d'un noyau flavone (Bruneton, 2009).

### **1.2.2. Hétérosides flavonoliques**

Des hétérosides flavonoliques sont aussi présents dans les feuilles de mélisse. Il s'agit de l'isoquercitroside (**15**), le quercitroside (**16**) et la rhamnocitrine (**17**).

### **1.3. Triterpènes**

Les triterpènes sont des composés en C<sub>30</sub> issus de la cyclisation du squalène ou de l'époxysqualène. Ils possèdent le plus souvent une fonction oxygénée en 3. Ce sont des molécules fortement lipophiles, propres au monde végétal (Bruneton, 2009), tandis que les stéroïdes qui en dérivent sont communs aux deux règnes.

L'acide ursolique (**18**) et l'acide oléanolique (**19**) sont des triterpènes contenus dans les feuilles de mélisse (Bruneton, 2009). Ce sont deux isomères largement répandus dans le monde végétal (Liu, 1995).

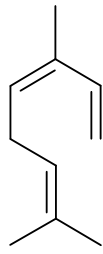
### **1.4. Autres**

Les feuilles de mélisse possèdent également des tanins catéchiques qui correspondent aux proanthocyanidols. Ils possèdent des propriétés sur l'éréthisme\* cardiaque (Thoby, 2009).

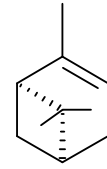
Comme beaucoup de plantes, la mélisse contient des vitamines, notamment B1 et B2 (Thoby, 2009), de la chlorophylle, des cires et des stérols, ainsi que de l'acide succinique (Penchev, 2010).

## **2. Composition chimique de l'huile essentielle\* de mélisse**

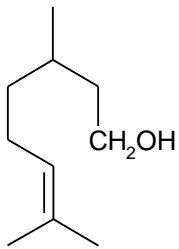
L'huile essentielle\* ne représente en moyenne que 0,05 pour cent des feuilles de mélisse sèches (Bruneton, 2009). Cette faible quantité explique son prix élevé (Sari & Ceylan, 2002) bien que la concentration en huile essentielle\* soit en fait très variable : de 0,02 à 0,8 p.



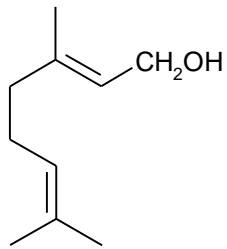
20



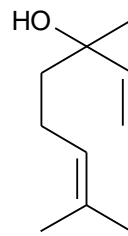
21



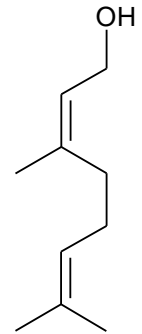
22



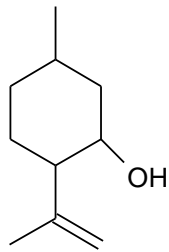
23



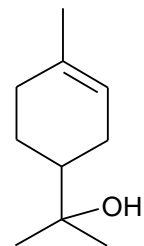
24



25



26



27

cent (Babulka, 2005 ; Gruenwald *et al.*, 2007). L'huile essentielle\*, de couleur jaune pâle, est riche en composés terpéniques volatils (Annexe 8) qui lui confèrent une légère odeur citronnée (Bahtiyarca Bagdat & Cosge, 2006).

## **2.1. Terpénoïdes**

Les terpénoïdes sont des composés fortement lipophiles constitués d'unités isopréniques. Ils sont principalement représentés par les monoterpènes et les sesquiterpènes. Certains de ces produits sont très volatils (Bruneton, 2009) ce qui explique leur présence dans l'huile essentielle\*.

### **2.1.1. Monoterpènes réguliers**

Les monoterpènes constituent un groupe de molécules dont la structure terpénique est la plus simple (les hémiterpènes étant très rares) car ils sont issus du couplage de seulement deux unités d'isoprène (C<sub>5</sub>). Ils sont dits "réguliers" lorsqu'ils sont issus du couplage en tête-à-queue de deux unités en C<sub>5</sub>. Ils existent principalement à l'état libre dans l'huile essentielle\*, mais ils peuvent aussi parfois être conjugués avec un ose (Bruneton, 2009).

#### **2.1.1.1. Hydrocarbures monoterpéniques**

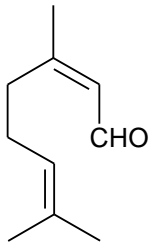
L'huile essentielle\* de mélisse contient deux hydrocarbures monoterpéniques : l'ocimène et l' $\alpha$ -pinène.

L'ocimène (**20**), dénominateur regroupant en fait les deux isomères *cis*- $\beta$ -ocimène et *trans*- $\beta$ -ocimène, est un monoterpène acyclique (Bruneton, 2009).

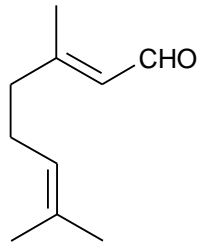
Quant à l' $\alpha$ -pinène (**21**), c'est un monoterpène cyclique (Bruneton, 2009). C'est un phytoncide, c'est-à-dire une substance volatile libérée par les arbres qui aurait des vertus sédative, anxiolytique et anticonvulsivante, ce qui expliquerait l'effet apaisant d'une promenade en forêt (Aoshima & Hamamoto, 1999).

#### **2.1.1.2. Alcools monoterpéniques**

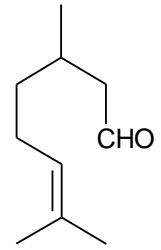
L'huile essentielle\* de mélisse contient des alcools monoterpéniques acycliques tels que le citronellol (**22**), le géraniol (**23**), le linalol (**24**) et le nérol (**25**) présent jusqu'à 5% (Teuscher *et al.*, 2005), et cycliques qui sont l'isopulégol (**26**), aussi nommé *p*-menth-3-èn-8-ol, et l' $\alpha$ -terpinéol (**27**) (Bruneton, 2009).



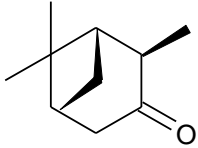
28



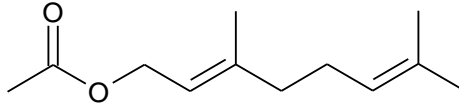
29



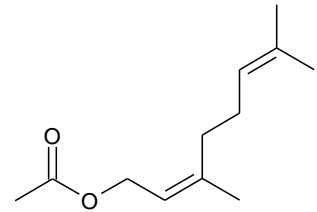
30



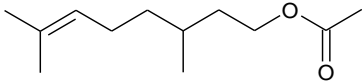
31



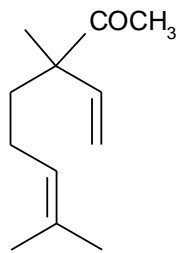
32



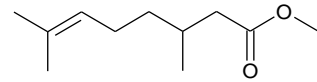
33



34



35



36

### 2.1.1.3. Aldéhydes monoterpéniques

Les aldéhydes monoterpéniques sont généralement acycliques (Bruneton, 2009). Ils contribuent à l'arôme de l'huile essentielle\* de mélisse. Ils représentent 50 à 97 % de cette dernière (Teuscher *et al.*, 2005).

#### a. Citral

Le citral est un mélange de deux isomères : le géraniol, ou citral a (**28**) et le néral, ou citral b (**29**). Sa quantité est variable dans l'huile essentielle\* de mélisse, toutefois le rapport géraniol/néral est assez stable, à savoir de 4/3 à 5/3 (Teuscher *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009). Le géraniol constitue le composé principal de l'huile essentielle\* de mélisse (Sari & Ceylan, 2002). Il est utilisé en agro-alimentaire comme exhausteur de goût ou arôme (Stotz *et al.*, 2008).

#### b. Citronellal

L'huile essentielle\* de mélisse contient du citronellal (**30**) constitué de près de 98 % de l'énantiomère (+) et 2 % de l'énantiomère (-) (Teuscher *et al.*, 2005). Il représente avec le citral 40 à 75 % de l'huile essentielle\* de mélisse, et est responsable de son arôme "citronné" (Gruenwald *et al.*, 2007).

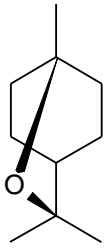
### 2.1.1.4. Cétones monoterpéniques

La pinocamphone (**31**) est une cétone monoterpénique bicyclique.

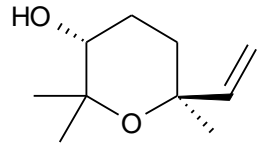
### 2.1.1.5. Esters terpéniques

L'huile essentielle\* de mélisse contient également des esters terpéniques car ce sont des molécules lipophiles. Celles-ci sont les acétates de géranyle (**32**), de néryle (**33**), de citronellyle (**34**) et de linalyle (**35**) et le citronellate de méthyle (**36**).

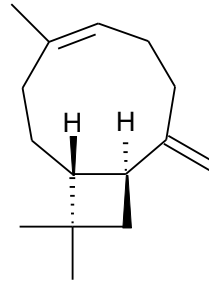
La teneur de l'acétate de géranyle atteint parfois 6 % (Teuscher *et al.*, 2005).



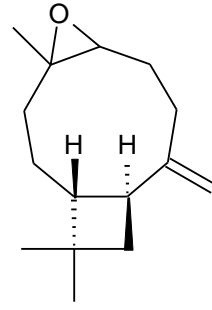
37



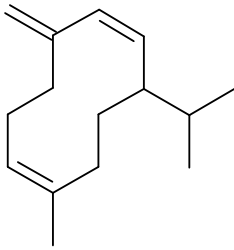
38



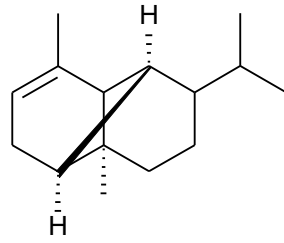
39



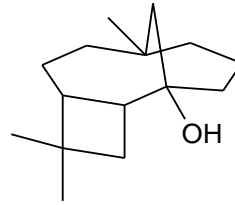
40



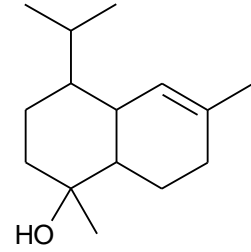
41



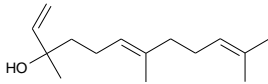
42



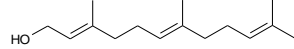
43



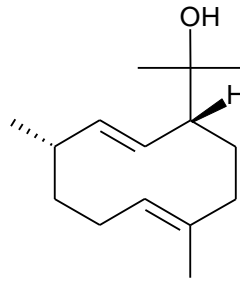
44



45



46



47

### 2.1.1.6. Éthers monoterpéniques

Le 1,8-cinéole (**37**), aussi appelé eucalyptol, est un monoterpène cyclique comportant un pont éther (Bruneton, 2009).

L'oxydation du linalol conduit à une cyclisation de la molécule. Le produit de cette transformation est l'oxyde de cis-linalol (**38**). Il joue un rôle dans l'arôme des fruits (Bruneton, 2009).

### 2.1.2. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des terpènes en C<sub>15</sub>.

#### 2.1.2.1. Hydrocarbures sesquiterpéniques

L'huile essentielle\* de mélisse contient de nombreux hydrocarbures sesquiterpéniques.

La teneur en  $\beta$ -caryophyllène (**39**) de l'huile essentielle\* de mélisse peut atteindre 28 %. Mais celle-ci diminue par transformation du  $\beta$ -caryophyllène en oxyde de caryophyllène(**40**), au fur et à mesure de la conservation (Teuscher *et al.*, 2005). Le  $\beta$ -caryophyllène est aussi présent dans de nombreuses plantes (l'isomère Z est moins présent) dont l'origan, la cannelle et le poivre noir. Il est utilisé comme fragrance dans les cosmétiques pour son odeur qualifiée de boisée et épicée. Son oxydation à l'air produit l'oxyde de caryophyllène (Skold *et al.*, 2006).

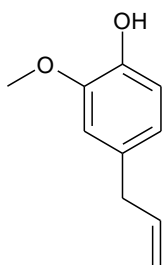
Le germacrène D (**41**), parfois absent, est également un composé important puisqu'il peut représenter jusqu'à 15 % de l'huile essentielle\* (Teuscher *et al.*, 2005).

L' $\alpha$ -copaène (**42**) représente 5% de l'huile essentielle\* (Teuscher *et al.*, 2005).

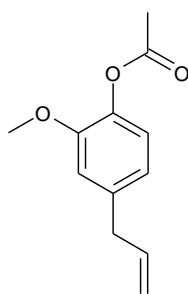
Les autres hydrocarbures sesquiterpéniques sont présents en quantité beaucoup plus négligeable (Annexe 9).

#### 2.1.2.2. Alcools sesquiterpéniques

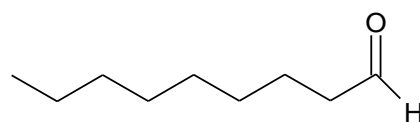
L'huile essentielle\* de mélisse contient cinq alcools sesquiterpéniques identifiés qui sont : le caryophyllénol (**43**), l' $\alpha$ -Cadinol (**44**), le nérolidol (**45**), le farnésol (**46**) et le germacradiénol (**47**).



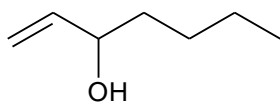
48



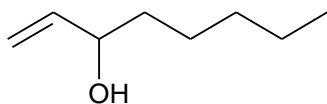
49



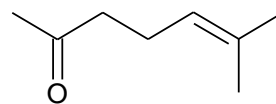
50



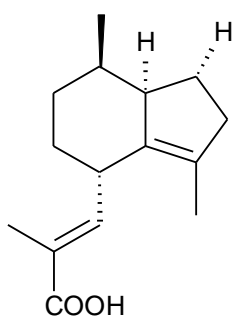
51



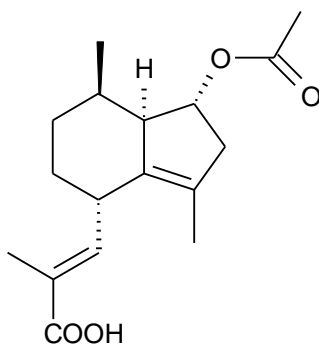
52



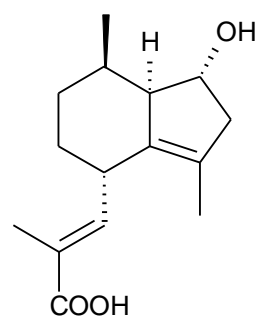
53



54



55



56

## 2.2. Composé aromatique

L'eugénol (**48**) est un allylphénol, dérivé du phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Il existe sous forme libre ou estérifiée, l'acétate d'eugényle (**49**) (Bruneton, 2009). Il est principalement présent dans l'huile essentielle\* de clou de girofle, *Eugenia carophyllata*. Il est employé en dentisterie pour ses propriétés analgésiques (Vriens *et al.*, 2008).

## 2.3. Composés aliphatiques

Ces composés correspondent probablement à des produits de dégradation naturels ou dus aux techniques d'extraction. Il s'agit d'aldéhyde, le nonanal (**50**), et d'alcools, l'hept-1-èn-3-ol (**51**), l'oct-1-èn-3-ol (**52**) et la 6-méthylhept-5-èn-2-one (**53**). Cette dernière constitue un produit de dégradation du citral (Bruneton, 2009). Sa teneur atteint parfois 9 % (Teuscher *et al.*, 2005).

# B. Composition chimique de la valériane

La valériane présente quelques similitudes chimiques avec la mélisse, c'est pourquoi les composés communs aux deux plantes ne sont pas développés de nouveau dans cette partie.

## 1. Composition chimique des racines de valériane

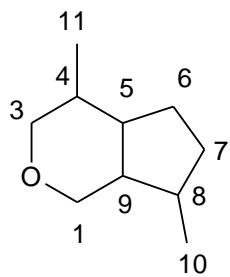
Les racines de valériane sont riches en composés sesquiterpéniques et en iridoïdes (Annexe 10).

### 1.1. Terpénoïdes

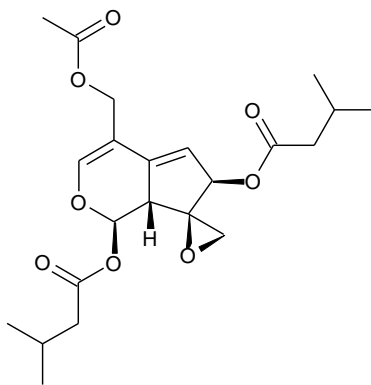
#### 1.1.1. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes présents dans la valériane sont des acides carboxyliques cyclopentaniques chimiquement stables et non volatils. Il s'agit de l'acide valérénique et ses dérivés (Bruneton, 2009).

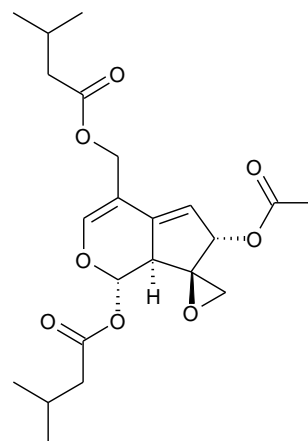
Chez certaines variétés cultivées de valériane, la concentration en acide valérénique (**54**), acide 2-acétoxyvalérénique (**55**) et acide 2-hydroxyvalérénique (**56**) oscille entre 0,2 et 0,7 %. Celle-ci est maximale en mars, où elle peut atteindre les 0,9 % (Bruneton, 2009). L'acide valérénique constitue un marqueur qualitatif et quantitatif de la valériane (DEQM, 2011).



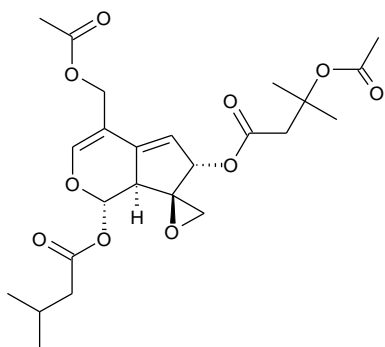
**57**



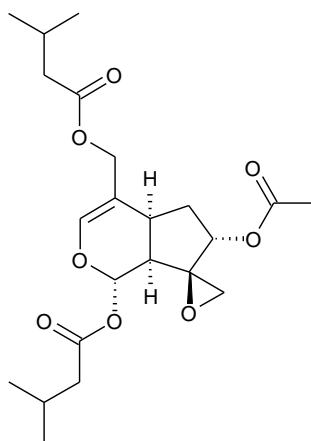
**58**



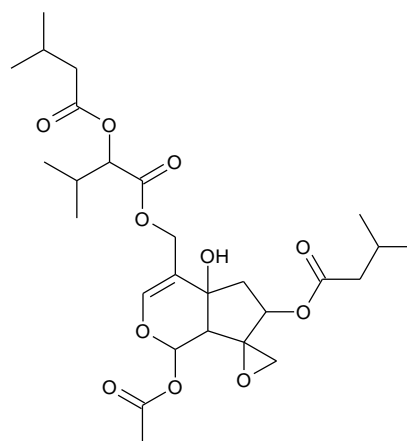
**59**



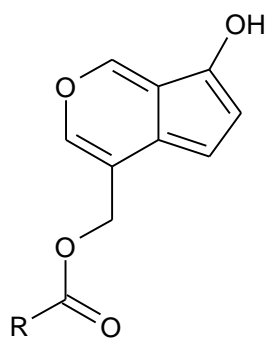
**60**



**61**



**62**



**63 : R= CH<sub>3</sub>**

**64 : R= C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>**

L'acide 2-hydroxyvalérénique est un produit de dégradation de l'acide valérénique présent seulement dans les racines mal conservées (Bruneton, 2009).

### 1.1.2. Iridoïdes

Les iridoïdes, au sens strict, sont des monoterpènes irréguliers particulièrement instables. Leur dégradation est à l'origine du brunissement rapide des plantes les renfermant, une fois récoltées. Ils prédominent sous une forme hétérosidique. Ils peuvent être extraits par des solvants polaires (Bruneton, 2009).

Les iridoïdes sont aussi retrouvés chez la cataire (*Nepeta cataria* L., Lamiacées), notamment la népétalactone qui a un effet sur les chats comme les phéromones sexuelles d'où les noms : chataire, cataire, herbe-aux-chats, *Katzenmelisse* (Tucker & Tucker, 1988 ; Bruneton, 2009).

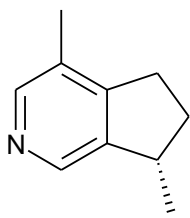
#### 1.1.2.1. Valépotriates

Les iridoïdes de la valériane ne sont pas hétérosidiques, ce sont les valépotriates ("val" pour valériane, "épo" pour époxydes et "tri" pour triesters). Ce sont des esters de triols dérivés de l'iridane (**57**) époxydés en 8 et 10 et comportant deux doubles liaisons en 3 et en 5, les rendant particulièrement instables. Ils ne peuvent être extraits des racines par l'eau mais seulement par des solutions hydroalcooliques contenant au moins 70 % d'éthanol (Bruneton, 2009). Ils ont été isolés pour la première fois en 1966 par Thies (Hazelhoff *et al.*, 1979). Ce sont des composés instables qui ne peuvent être retrouvés que dans la plante fraîche ou séchée à moins de 40°C (Capasso *et al.*, 2003).

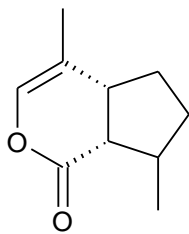
La valériane contient donc du valtrate (**58**), de l'isovaltrate (**59**), de l'acétovaltrate (**60**), du dihydrovaltrate (**61**) et de l'isovaléroxy-hydroxydihydrovaltrate, IVHD (**62**). Leur teneur varie de 0,5 à 2 % (Ghedira *et al.*, 2008). Le valtrate et l'isovaltrate représentent le plus souvent 90 % des valépotriates (OMS, 1999b).

#### 1.1.2.2. Baldrinals

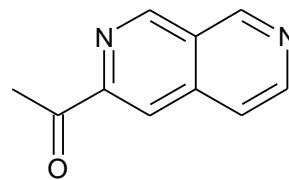
Les baldrinals, en l'occurrence le baldrinal (**63**) et l'homobaldrinal (**64**) sont les produits de décomposition (de couleur jaune) des valépotriates, issus de l'hydrolyse de ces derniers en milieu chaud (température supérieure à 40°C), humide et acide (pH inférieur à 3). Ils ont tendance à se polymériser (Bruneton, 2009).



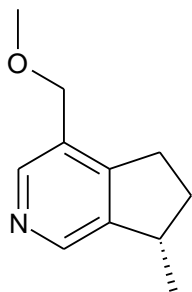
65



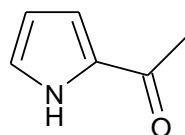
66



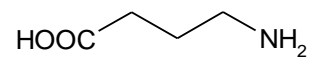
67



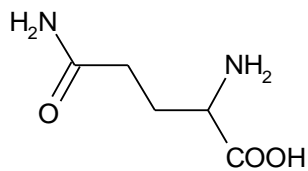
68



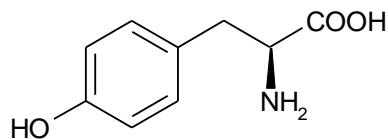
69



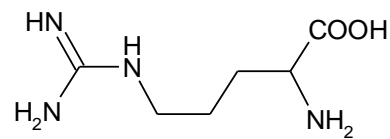
70



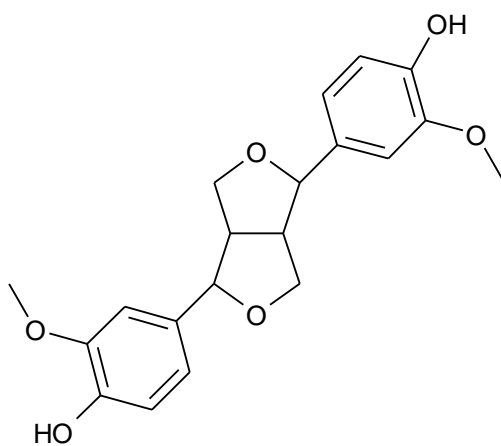
71



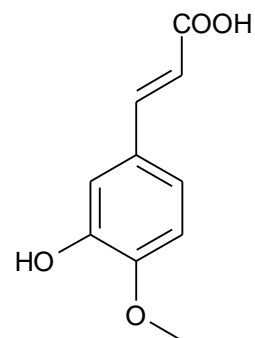
72



73



74



75

## 1.2. Composés azotés

### 1.2.1. Alcaloïdes pyridiniques

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés, à l'état de traces, dans les racines de valériane, notamment l'actinidine (**65**) et la naphtyridylméthylcétone (**67**) (Patočka & Jakl, 2010).

L'actinidine a été isolée pour la première fois par Torssel et Wahlberg en 1966. Cette molécule pourrait être à l'origine de l'attraction des chats pour la valériane (Tucker & Tucker, 1988). En effet, sa structure est similaire à celle de la népétalactone (**66**) présente chez la cataire, et à laquelle on attribue l'activité attractive sur les chats de *Nepetaria cataria*. L'actinidine a été isolée à l'état de traces dans les parties souterraines de la valériane (Bruneton, 2009), ainsi que la valérianine (**68**), c'est-à-dire la 8-méthoxyactinidine et l' $\alpha$ -méthylpyrrolcétone (**69**).

### 1.2.2. Acides aminés

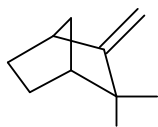
L'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA, **70**) a aussi été isolé des racines de valériane (Bruneton, 2009). Tout comme dans la majorité des plantes, d'autres acides aminés ont été identifiés tels que la glutamine (**71**), la tyrosine (**72**) et l'arginine (**73**).

## 1.3. Lignanes

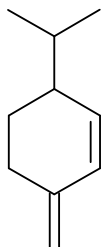
Les lignanes sont présents en faible quantité dans les racines de valériane. Ils dérivent de trois précurseurs phénylpropanoïdes : l'alcool *p*-coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique (Schroeder *et al.*, 2006). Dans les racines de valériane, ils sont représentés par le pinorésinol (**74**) et ses dérivés osidiques. Le pinorésinol est un dimère de l'alcool coniférylique. Il est très fréquent dans les plantes ligneuses ou fibreuses (Ghedira *et al.*, 2008).

## 1.4. Acides phénoliques

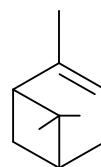
Des traces d'acides-phénols sont aussi retrouvées dans les parties souterraines de valériane (Bruneton, 2009), notamment l'acide chlorogénique et l'acide isoférulique (**75**).



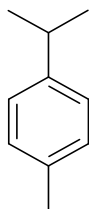
76



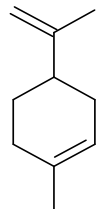
77



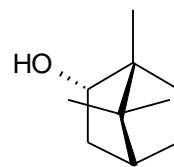
78



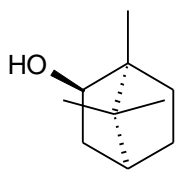
79



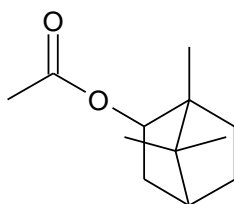
80



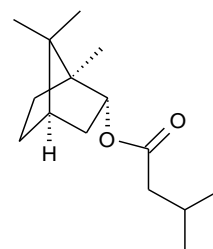
81



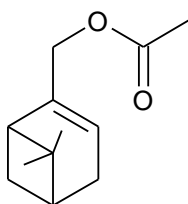
82



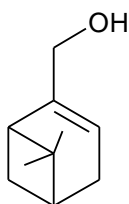
83



84



85



86

## 1.5. Autres

Il est aussi fait mention de la présence de flavonoïdes sans plus de détails.

## 2. Composition chimique de l'huile essentielle\* de valériane

L'huile essentielle\* représente de 0,2 à 1,5 pour cent de la drogue\* sèche. Il existe 4 chimiotypes principaux de l'huile essentielle\* de valériane : à valéranone, à valérianol (appelé d'abord "élémol type"), à cryptofauronol et à valéréal (Bos *et al.*, 1997). Comme toute plante aromatique, la composition de cette huile essentielle\*(Annexe 11) varie fortement selon la période à laquelle la plante est récoltée (Hazelhoff *et al.*, 1979).

### 2.1. Terpénoïdes

#### 2.1.1. Monoterpènes

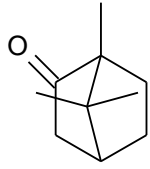
##### 2.1.1.1. Hydrocarbures monoterpéniques

Certains monoterpènes sont présents en grande quantité. Il s'agit du camphène (**76**) dont la concentration peut atteindre 6,4%, le  $\beta$ -phellandréne (**77**) jusqu'à 2,4 %, de l' $\alpha$ -pinène (**78**) qui peut atteindre 2,2 %, le *p*-cymène (**79**) jusqu'à 1,5 % et le limonène (**80**) 1,2 %. Les autres monoterpènes présents dans l'huile essentielle\* ne représentent pas plus de 1% chacun, voire à l'état de traces (Bos *et al.*, 1997). Ce sont le tricyclène, le sabinène, le  $\beta$ -pinène, le  $\beta$ -Myrcène, le fenchène, le  $\gamma$ -terpinène et le terpinolène (Annexe 12).

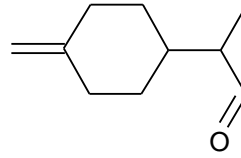
##### 2.1.1.2. Alcools monoterpéniques

Le bornéol est présent dans l'huile essentielle\* de valériane à hauteur de 0,1 à 0,6 % (Bos *et al.*, 1997). L'huile essentielle\* de nombreuses plantes médicinales contient également du bornéol, telle que celle du romarin (*Rosmarinus officinalis*) et du thym (*Thymus vulgaris*). Il possède deux énantiomères (Granger *et al.*, 2005) : le (+)-bornéol (**81**) et le (-)-bornéol (**82**). Le bornéol est peu présent dans l'huile essentielle\* de valériane alors que l'un de ses esters, l'acétate de bornyle (**83**) peut être présent en grande quantité, entre 2 et 36 % (Bos *et al.*, 1997). Le bornéol peut aussi être estérifié en isovalérate de bornyle (**84**).

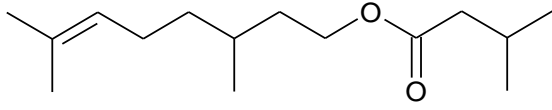
L'acétate de myrtényle (**85**) est retrouvé de l'état de traces à 9 % de l'huile essentielle\* (Bos *et al.*, 1997). Le myrténol (**86**) peut être estérifié en acétate de myrtényle, en hexanoate de myrtényle ou en isovalérate de myrtényle.



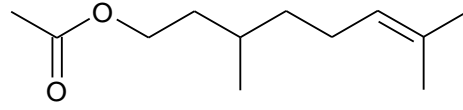
87



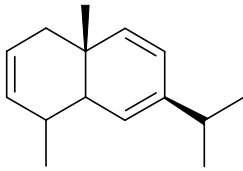
88



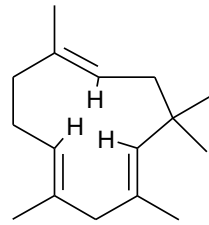
89



90



91



92

D'autres alcools monoterpéniques sont présents dans l'huile essentielle\* de valériane mais en beaucoup plus faibles quantités. Il s'agit du carvacrol (sous forme méthyléther), du terpinèn-4-ol, et du (-)-*cis* et (-)-*trans*-carvéol (Annexe 12).

#### **2.1.1.3. Cétone monoterpénique**

Le camphre (**87**) est un analogue structural du bornéol (Granger *et al.*, 2005). Il n'est présent qu'à l'état de traces dans l'huile essentielle\* de valériane (Bos *et al.*, 1997).

#### **2.1.1.4. Aldéhyde monoterpénique**

Le menthénal (**88**), aussi présent dans les racines de valériane, n'est retrouvé qu'en très petites quantités dans l'huile essentielle\* de *V. officinalis*, c'est-à-dire de l'état de trace à 0,3 % (Bos *et al.*, 1997).

#### **2.1.1.5. Esters terpéniques**

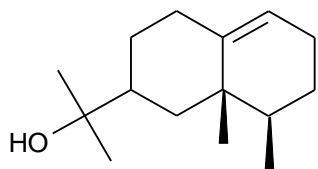
Des esters terpéniques retrouvés dans l'huile essentielle\* de valériane sont l'isovalérate de citronellyle (**89**), 0,2 à 2,1 %, et l'acétate de citronellyle (**90**), 0,1%.

### **2.1.2. Sesquiterpènes**

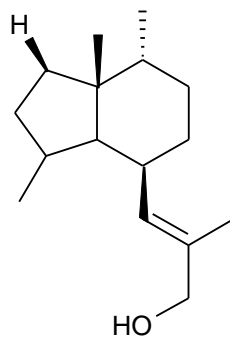
#### **2.1.2.1. Hydrocarbures sesquiterpéniques**

L'acide valérénique représente 0,3 à 3 % de l'huile essentielle\* de valériane. Un ester de l'acide valérénique est également présent, il s'agit du valérénate de méthyle.

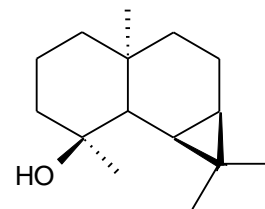
L'eudesmatriène (**91**) est un sesquiterpène volatil (Bruneton, 2009). L' $\alpha$ -humulène (**92**) est un synonyme d' $\alpha$ -caryophyllène. Il représente moins d'1 % de l'huile essentielle\* (Bos *et al.*, 1997).



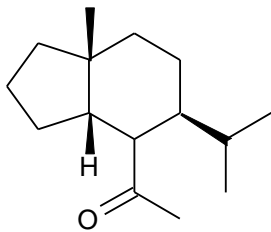
93



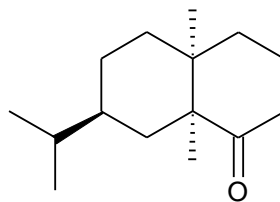
94



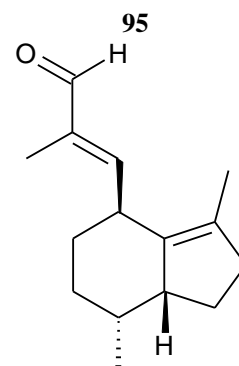
95



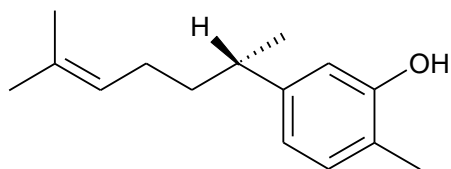
96



97



98



99

### **2.1.2.2. Alcools sesquiterpéniques**

Des alcools sesquiterpéniques sont également présents dans l'huile essentielle\* de valériane : le valérianol (93), le valérénol (94), le maaliol (95), etc (Annexe 12).

### **2.1.2.3. Cétones sesquiterpéniques**

Des cétones telles que la faurinone (96) et la valéranone (97) sont également présentes dans l'huile essentielle\* de valériane.

### **2.1.2.4. Aldéhyde sesquiterpénique**

Le valérénal (98) est un aldéhyde sesquiterpénique présent dans l'huile essentielle\* de valériane.

### **2.1.3. Sesquiterpénoïde**

Le xanthorrhizol (99) est un sesquiterpénoïde de type bisabolane également présent dans le rhizome de gingembre, *Curcuma xanthorrhiza*, plante asiatique à laquelle sont associés de nombreux bienfaits dont des vertus antioxydantes (Cho *et al.*, 2011).

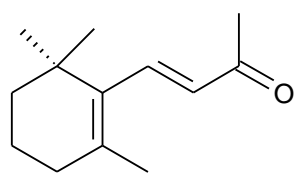
### **2.1.4. Iridoïdes**

#### **2.1.4.1. Valépotriates**

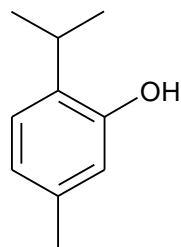
Il est incertain de retrouver des valépotriates dans l'huile essentielle\* puisque celle-ci est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau conformément à la définition de la Pharmacopée Européenne VII<sup>ème</sup> édition, ce qui implique un chauffage à plus de 100°C, or ils sont dégradés au-delà de 40°C. Il est fort probable, en revanche de retrouver leurs produits de dégradation : les baldrinals.

#### **2.1.4.2. Baldrinals**

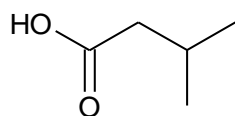
Les baldrinals (baldrinal et homobaldrinal) sont les produits de décomposition des valépotriates présents également dans les racines de valériane (cf. 1.1.2.2).



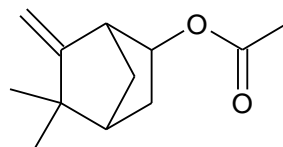
**100**



**101**



**102**



**103**

### 2.1.5. Caroténoïde : la $\beta$ -ionone

La  $\beta$ -ionone (**100**) provient de l'auto-oxydation du carotène (Bruneton, 2009).

## 2.2. Composés aromatiques

### 2.2.1. Eugénol (et esters)

L'eugénol est présent sous forme estérifiée, c'est-à-dire hexanoate et isovalérate d'eugényle, mais aussi isovalérate, valérénate et isovalérénate d'isoeugényle.

### 2.2.2. Thymol

Le thymol (**101**) ne représente que 0,1 % de l'huile essentielle\* de valériane. En revanche, le méthyléther de thymol peut être présent jusqu'à 0,4 % (Bos *et al.*, 1997).

## 2.3. Autres

L'odeur désagréable caractéristique de la valériane lui est conférée par la présence de l'acide isovalérique (**102**) (Khom *et al.*, 2010).

L'acétate de nojigiku (**103**) est présent à l'état de traces dans l'huile essentielle\* de valériane, mais certaines espèces peuvent en contenir jusqu'à 0,8 % (Bos *et al.*, 1997).



### **III. Activités pharmacologiques des composés de la mélisse et de la valériane**

Les constituants de la mélisse et de la valériane (cf. II) ont principalement été étudiés afin de déterminer s'ils concourent aux propriétés sédatives, anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques et antioxydantes des deux plantes. Les études scientifiques sont donc particulièrement focalisées sur la caractérisation de leur mode d'action. Les questions adressées par l'usage traditionnel de ces plantes sont les hypothèses de départ des études qui suivent. Celles-ci permettent d'objectiver l'usage médical qui est fait de la valériane et de la mélisse, sur la base de résultats obtenus à la lumière de nos connaissances actuelles en physiologie et pharmacologie. Ces études permettent également d'entrevoir d'autres usages, non connus, de ces plantes, et d'en comprendre la toxicité potentielle.

Certains composés ne seront pas abordés dans ce qui suit, notamment les vitamines et les acides aminés. En effet, ceux-ci sont impliqués dans de nombreuses réactions du métabolisme au sein de la plante et ils sont largement répandus au sein du règne végétal. De ce fait, il est peu probable qu'une activité particulière leur soit attribuée, mais si tel était le cas, elle ne serait pas spécifique à la mélisse ou la valériane. Les activités présentées ci-après sont celles des composés des deux plantes et leurs dérivés (esters, éthers, etc.) car il est fortement probable qu'ils soient métabolisés dans le tube digestif.

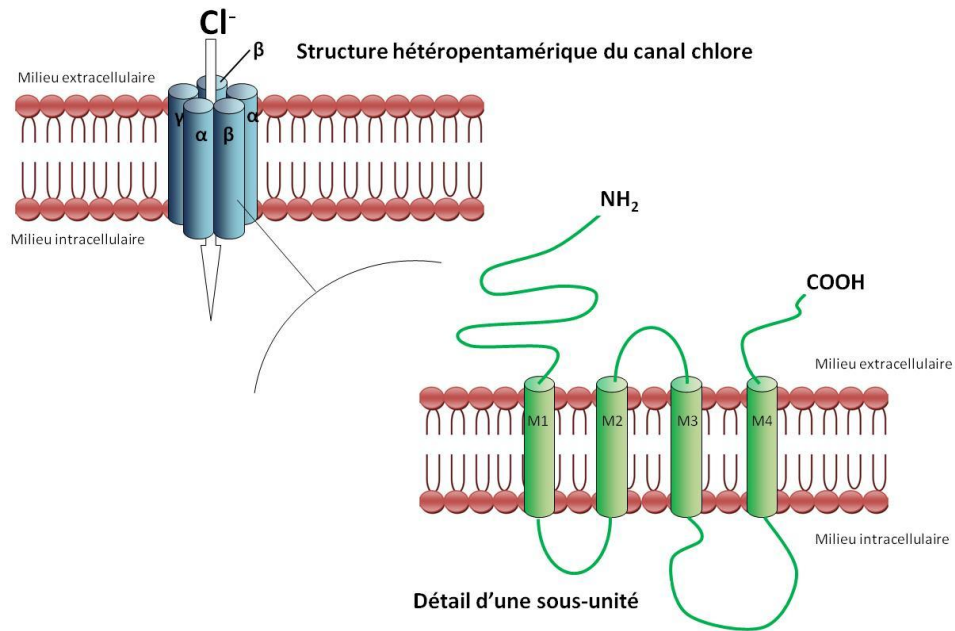
#### **A. Système nerveux**

##### **1. Interaction avec le système GABAergique**

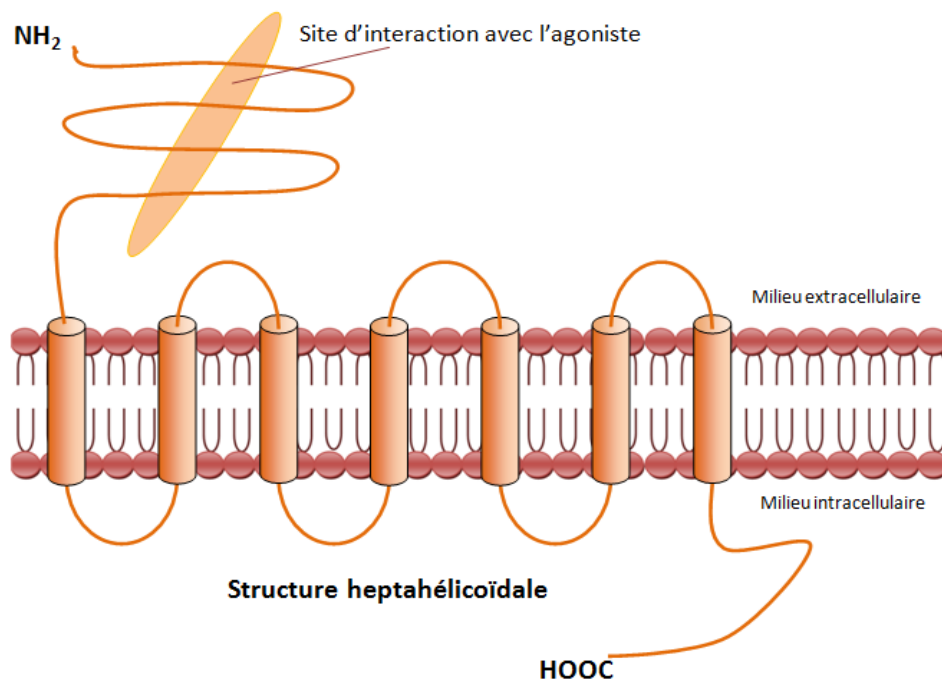
La mélisse et la valériane sont principalement réputées pour leurs vertus relaxante et anxiolytique. Partant de cette constatation, les chercheurs s'intéressent au mode d'action des extraits végétaux de chacune de ces plantes sur le système GABAergique.

##### **1.1. Pharmacologie des récepteurs GABA**

Le GABA, acide gamma-aminobutyrique, est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central. Il est synthétisé à partir du glutamate par les neurones, au sein de leur cytoplasme. Il est ensuite stocké dans des vésicules cytoplasmiques grâce à des transporteurs : les VGaT, *Vesicular GABA transporter*. Puis, il est libéré dans la fente synaptique où il agit sur ses récepteurs ou est recapturé dans les neurones GABAergiques grâce aux transporteurs GAT-1 et 4, ou les cellules gliales par les transporteurs GAT-2 et 3. Sa dégradation est ensuite assurée par les mitochondries par la GABA transaminase (Roth & Draguhn, 2012).



**Figure 9 – Structure du récepteur GABA-A**  
 D'après Olsen & Tobin, 1990 ; Enz & Cutting, 1998



**Figure 10 – Structure du récepteur GABA-B**  
 D'après Enz & Cutting, 1998

Il existe deux types de RGABA : les récepteurs-canaux à perméabilité anionique dits ionotropiques, GABA-A et GABA-C, et les récepteurs couplés aux protéines G dits métabotropiques, GABA-B.

### 1.1.1. Récepteurs ionotropiques du GABA

Les RGABA sont des protéines membranaires hétéropentamériques (Figure 9). Chaque sous-unité, ou monomère, est composée de quatre hélices transmembranaires à extrémités N- et C-terminales extracellulaires. La deuxième hélice transmembranaire (segment M2) de chaque monomère, borde le canal chlore. L'activation de ce type de récepteur permet une entrée des ions chlore dans la cellule,  $\text{Cl}^-$ , dépendante de la concentration du  $\text{Cl}^-$  en intracellulaire, entraînant une hyperpolarisation. Ainsi la probabilité de déclenchement d'un potentiel d'action est faible puisque le potentiel membranaire s'éloigne du seuil d'excitabilité neuronale. Ceci explique que le GABA est un neuromédiateur inhibiteur (Olsen & Tobin, 1990 ; Enz & Cutting, 1998).

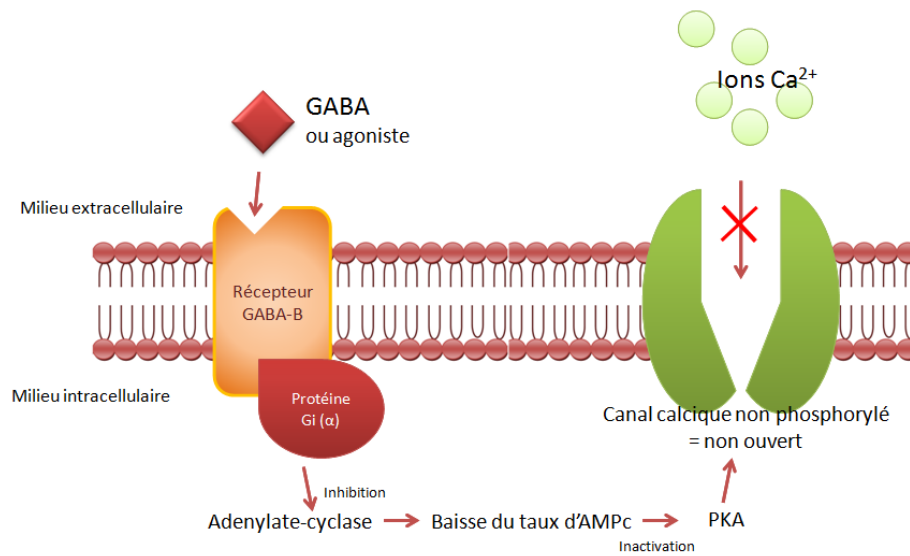
Les monomères (sous-unités) peuvent être de plusieurs types qui eux-mêmes possèdent plusieurs isoformes :  $\alpha_1$  à  $\alpha_6$ ,  $\beta_1$  à  $\beta_3$ ,  $\gamma_1$  à  $\gamma_3$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$ ,  $\pi$ ,  $\rho_1$  à  $\rho_3$  et  $\theta$ . Il existe trois groupes de récepteurs selon la répartition des différents types de sous-unités : GABA-A1 à 6, GABA-A0 et GABA-C.

Les RGABA-A1 à 6 sont numérotés en fonction de l'isoforme  $\alpha$  qui les constitue. Au niveau cérébral, la majorité des récepteurs sont de type GABA-A1 constitués de deux sous-unités  $\alpha_1$ , deux  $\beta_2$  et une  $\gamma_2$ . Quant aux RGABA0, ils sont constitués des isoformes  $\alpha\beta\delta$  et  $\alpha\beta\varepsilon$ . Les RGABA sont inhibés par la bicuculline et la picrotoxine (Enz & Cutting, 1998).

Les récepteurs GABA-C sont quant à eux constitués uniquement des sous-unités  $\rho_1$ ,  $\rho_2$  ou  $\rho_3$ . Leur affinité pour le GABA est dix fois supérieure à celle des RGABA. En revanche, le baclofène, la bicuculline, les barbituriques et les benzodiazépines n'ont aucun effet sur les récepteurs GABA-C (Enz & Cutting, 1998).

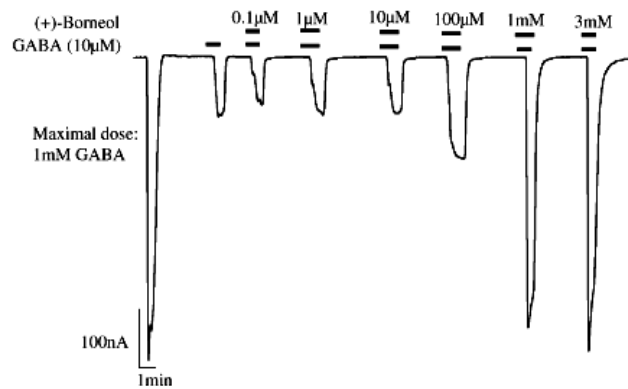
### 1.1.2. Récepteurs métabotropiques

Les récepteurs GABA-B sont des récepteurs couplés aux protéines G. Ils comportent sept hélices transmembranaires (Figure 10). Leur activation entraîne l'activation de la protéine  $G_i$  (sous-unité  $\alpha$ ). Cela induit l'inhibition de l'adénylate-cyclase, ce qui conduit à la diminution d'AMP cyclique, AMPc. Ceci a pour effet d'inactiver la protéine-kinase de type A, PKA. Les canaux calciques étant ainsi peu phosphorylés, il y a une baisse d'afflux des ions calcium  $\text{Ca}^{2+}$  (Figure 11). Il y a donc une baisse de l'exocytose du GABA dans la synapse. Ce



**Figure 11 – Mécanisme d'action du récepteur GABA-B**

D'après Bettler *et al.*, 2004



**Figure 12 – Effet du (+)-bornéol sur les RGABA-A  $\alpha_1\beta_2\gamma_{2L}$**

D'après Granger *et al.*, 2005

Le courant produit par 3mM de (+)-bornéol en présence de 10  $\mu$ M de GABA est similaire à celui produit par 1mM de GABA seul. La potentialisation de la réponse des RGABA-A est fonction de la concentration en (+)-bornéol.

rétrocontrôle de la libération de GABA permet de maintenir un équilibre entre inhibition et excitation neuronale. Ils sont insensibles aux modulateurs des RGABA mais sont activés de façon sélective par le baclofène (Enz & Cutting, 1998).

## 1.2. Action sur les RGABA-A

Plusieurs molécules présentes dans les deux plantes potentialisent la réponse des RGABA-A *in vitro* ou *in vivo* par modulation allostérique ou par effet agoniste. Ainsi, la fixation du GABA sur ces récepteurs induit une plus grande inhibition de l'activité neuronale. Plusieurs composés végétaux ont donc été étudiés afin de déterminer scientifiquement leur mécanisme d'action.

L'acide valérénique (cf. II.B.1.1.1) est considéré comme l'agent responsable des effets de *V. officinalis* par action sur les RGABA-A (Yuan *et al.*, 2004). Cependant, son site d'action restait inconnu. C'est pourquoi, Khom *et al.* (2007) ont étudié ses effets sur 13 combinaisons de sous-unités de RGABA-A différentes. Cette expérience a également montré que l'effet de l'acide valérénique n'est pas perturbé par la présence de flumazénil – antagoniste compétitif du site récepteur aux benzodiazépines – et donc que le "principe actif" de la valériane n'interagit pas avec le site de fixation des benzodiazépines (Khom *et al.*, 2007). Il est un modulateur spécifique de la sous-unité  $\beta_{2/3}$  des RGABA-A, ce qui lui confère un potentiel anxiolytique (Khom *et al.*, 2010). De plus, l'acide valérénique comme le valérénol favorise la fixation *in vitro* des benzodiazépines sur leur site (Benke *et al.*, 2009).

Le bornéol (cf. II.B.2.1.1.2), présent dans l'huile essentielle\* de la valériane, agit sur les récepteurs GABA ionotropes de type A (RGABA-A) par une action modulatrice positive. L'activation des RGABA-A par le GABA en présence de modulateurs allostériques (barbituriques, benzodiazépines, etc.) produit un effet anxiolytique, sédatif, anesthésique et myorelaxant. Les deux énantiomères, (+)- et (-)-bornéol, produisent une modulation positive dose-dépendante de la conductance au chlore générée par 10  $\mu\text{M}$  de GABA, à partir de 0,1  $\mu\text{M}$  de (+)- ou (-)-bornéol, sur les RGABA-A  $\alpha_1\beta_2\gamma_{2L}$  humains exprimés à la surface d'ovocytes de *Xenopus laevis*, sous-type prédominant dans le cerveau humain. Un effet équivalent à 1 mM de GABA seul peut même être obtenu avec 3 mM de bornéol associé à 10  $\mu\text{M}$  de GABA (Figure 12). L'expérience a révélé que le (+)-bornéol était plus actif que le (-)-bornéol. De façon inexplicite, cette différence d'activité s'observe à très faible et à très forte concentrations. L'étude montre également que le bornéol possède aussi un effet agoniste partiel des RGABA. Le flumazénil n'inhibe pas l'action du (+)-bornéol, ceci

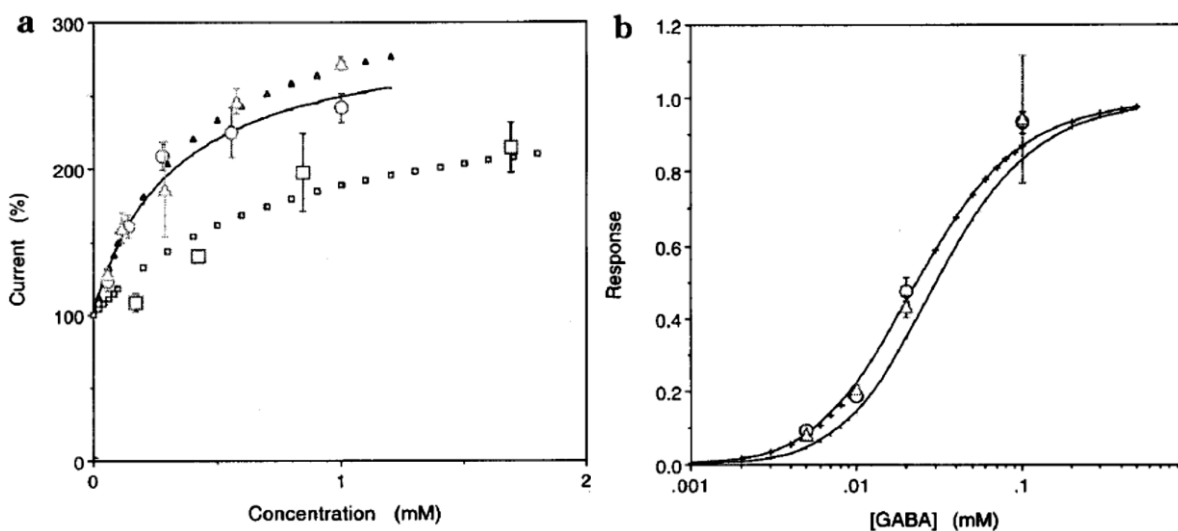
**Tableau 7 – Potentialisation de la réponse des RGABA par différentes molécules végétales**

Modifié d'après Aoshima & Hamamoto, 1999

Concentration du GABA	Réponse (%)			
	10 $\mu$ M	30 $\mu$ M	100 $\mu$ M	1mM
Composés				
Contrôle	100	100	100	100
*	(14,9)	(49,5)	(93,6)	(100)
0,63 mM d' $\alpha$ -pinène	149 $\pm$ 16	157 $\pm$ 9	98 $\pm$ 2	117 $\pm$ 12
0,65 mM d'eugénol	356 $\pm$ 58	234 $\pm$ 21	140 $\pm$ 3	102 $\pm$ 10
0,55 mM de citronellol	301 $\pm$ 32	146 $\pm$ 12	101 $\pm$ 5	92 $\pm$ 2
0,56 mM de citronellal	224 $\pm$ 11	123 $\pm$ 6	108 $\pm$ 7	90 $\pm$ 1

Contrôle : correspond à la réponse des récepteurs uniquement exposés au GABA  
 \* Si on considère qu'1mM de GABA provoque une réponse de 100%, alors la valeur entre parenthèses indique la réponse relative aux différentes concentrations de GABA.

La potentialisation de la réponse des RGABA est plus importante en présence de quantité plus faible de GABA. Ceci laisse supposer que les molécules étudiées possèdent une faible affinité pour le site d'action des RGABA.



**Figure 13 – Effets du géranol et du linalol sur les RGABA-A**

D'après Hossain *et al.*, 2002

(a) Potentialisation des RGABA en fonction de la concentration de linalol (O), de géranol ( $\Delta$ ), et d'alcool de feuilles de thé ( $\square$ ). (b) Courbe dose-réponse montrant l'effet potentialisateur de linalol à 0,28 mM (O) et de géranol à 0,29 mM ( $\Delta$ ) sur le courant induit par le GABA (valeur normalisée par rapport au courant maximal).

La réponse des RGABA-A augmente lorsque la concentration en linalol et géranol augmente (a). A dose équivalente, le linalol et le géranol potentialise les récepteurs dans les mêmes proportions (b).

laisse supposer que ce dernier n'agit pas sur le même site que les benzodiazépines (Granger *et al.*, 2005). Ceci accrédite l'utilisation du (+)-bornéol dans les médecines chinoises et japonaises en tant qu'anesthésique et antalgique et explique pourquoi il provoque une légère sédation en inhalation chez la souris (Buchbauer *et al.*, 1993).

L'eugénol, le pinène (il n'existe pas de différence pharmacologique notable entre les formes  $\alpha$  et  $\beta$ ), le citronellol et le citronellal potentialisent aussi l'action du GABA sur les RGABA-A (Tableau 7) de cerveau de rat exprimés dans des ovocytes de xénopes (Aoshima & Hamamoto, 1999). C'est aussi le cas pour le linalol et le géraniol (Figure 13) avec les RGABA-A sous-unités  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  (Hossain *et al.*, 2002).

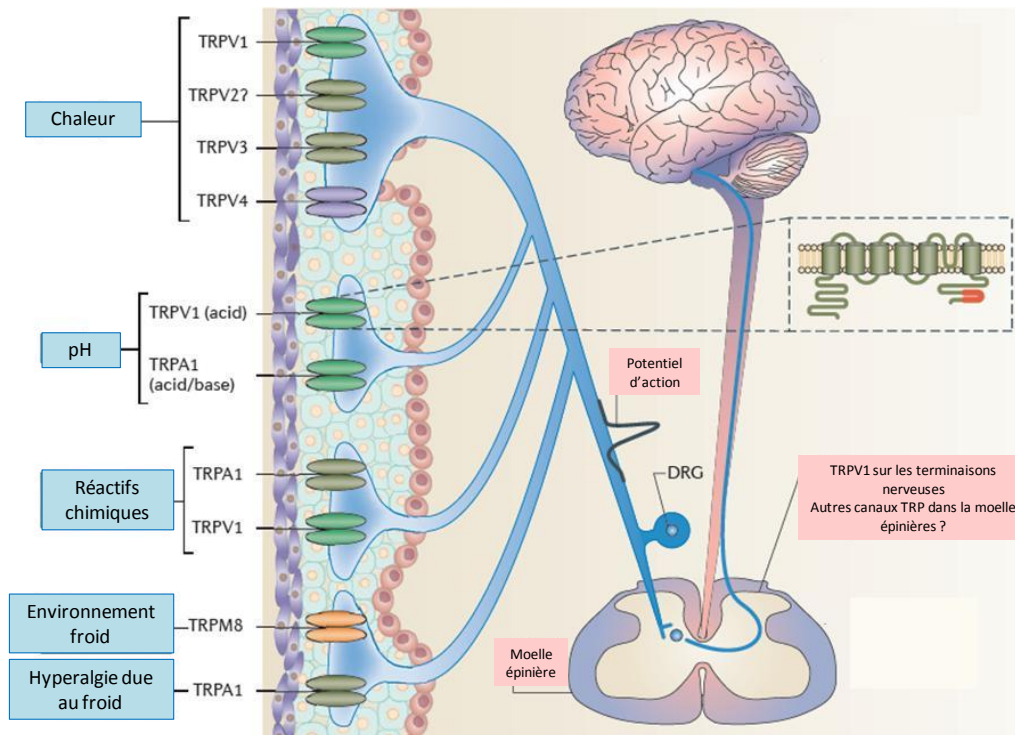
### **1.3. Inhibition de la GABA transaminase**

L'inhibition de la GABA-T par un extrait méthanolique de mélisse est attribuée à trois molécules : l'acide rosmarinique, l'acide ursolique et l'acide oléanolique. L'inhibition de la GABA-T atteint 40 % avec 100  $\mu\text{g/ml}$  d'acide rosmarinique. Ce dernier est présent à cette concentration dans l'extrait méthanolique, ce qui laisse supposer qu'il est à l'origine de l'activité inhibitrice observée. L'inhibition de la GABA-T est respectivement de 13 et 20 % pour 10  $\mu\text{g/ml}$  d'acide ursolique et d'acide oléanolique. (Awad *et al.*, 2009). L'activité observée est sûrement due à une synergie entre ces différents composés et éventuellement d'autres non étudiés dans ce cas.

## **2. Action sur les récepteurs de la vanilloïde**

### **2.1. Pharmacologie des récepteurs de la vanilloïde**

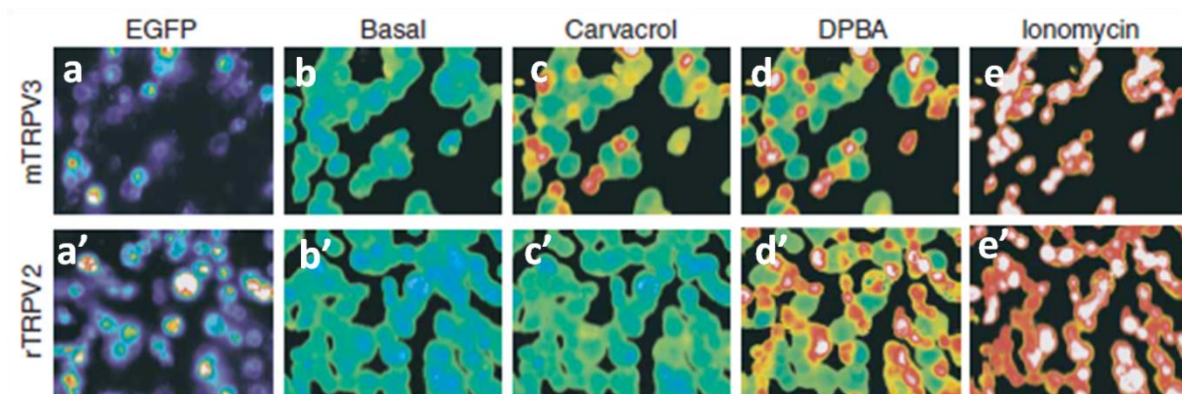
Il existe six récepteurs de la vanilloïde ou *Transient Receptor Potential Vanilloid* (TRPV) nommés TRPV 1 à TRPV6 (Annexe 13). TRPV1,2,3,4 sont des récepteurs-canaux à perméabilité cationique principalement exprimés par les neurones sensitifs périphériques (Pedersen *et al.*, 2005). Ils agissent comme des capteurs (Figure 14) sensibles aux changements de température, de pH, d'osmolarité, etc. Ils sont ainsi responsables des phénomènes de nociception, c'est-à-dire de douleur ressentie à cause des agents précédemment cités. De ce fait, ils constituent des cibles thérapeutiques de choix dans le traitement de la douleur (Moran *et al.*, 2011). Les TRPV1 à V4 sont sensibles à la chaleur. Les TRPV1 et V2 en particulier sont à l'origine de la douleur ressentie en cas de chaleur nociceptive – températures supérieures à 42 et 52 °C respectivement (Lumpkin & Caterina, 2007 ; Vay *et al.*, 2011).



**Figure 14 – Les canaux TRP sensibles aux paramètres de l’environnement (température, pH).**

D’après Moran *et al.*, 2011.

Les récepteurs de la vallinoïde (TRPV1, 2, 3, 4) sont exprimés dans des neurones sensoriels, en périphérie. TRPV1, V2, V3 et V4 répondent à des températures chaudes. Les pH acides activent TRPV1.



**Figure 15 – Augmentation de  $[Ca^{2+}]_i$  dans les cellules HEK293 exprimant TRPV3 ou TRPV2 après exposition au carvacrol.**

D’après Xu *et al.*, 2006

La fluorescence traduit ici la concentration intracellulaire en  $Ca^{2+}$ . (a) et (a') confirment l'expression de TRPV3 et TRPV2 par HEK293, par la technique EGFP, *Enhanced green fluorescence protein*. Les activités observées sont comparées à des témoins : (b) et (b') correspondant à l'activité des récepteurs sans exposition au carvacrol, ni au *diphenyl boronic anhydride* (DPBA), et (e) et (e') correspondant à l'activité maximale observée par exposition à la ionomycine. L'expérience montre donc que le carvacrol permet une augmentation de  $[Ca^{2+}]_i$  seulement lorsque la cellule exprime TRPV3 (c). Toutefois, celle-ci n'est pas maximale. Les TRPV2 semblent quant à eux insensibles à l'exposition au carvacrol (c') alors qu'ils le sont au DPBA (d').

## 2.2. Effets du carvacrol, du thymol et de l'eugénol

Le carvacrol, le thymol et l'eugénol ont pour particularité de provoquer une sensation de chaleur lorsque les plantes qui les contiennent sont ingérées, et qu'ils se retrouvent donc en contact avec la langue. Ces trois molécules sont aussi connues pour provoquer des dermo-sensibilisations car ce sont des allergènes. Xu *et al.* (2006) ont décidé d'étudier les mécanismes mis en jeu pour obtenir cette sensation. Afin d'observer les effets des trois molécules sur TRPV3, qui est très présent au niveau de la peau, de la langue et du nez, le récepteur a été exprimé dans un système par hybridation *in situ* de l'ARNm de souris codant pour ce récepteur, puis exprimé dans un système hétérologue classique, les cellules HEK293 (*Human Embryonic Kidney*). Les résultats montrent que 500  $\mu\text{M}$  de carvacrol provoquent une augmentation importante de calcium intracellulaire,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , consécutive à l'activation des récepteurs TRPV3 (Figure 15). La conclusion est que le carvacrol, le thymol et l'eugénol activent et sensibilisent TRPV3. (Xu *et al.*, 2006). L'eugénol est aussi reconnu pour activer TRPV1 (Vriens *et al.*, 2008).

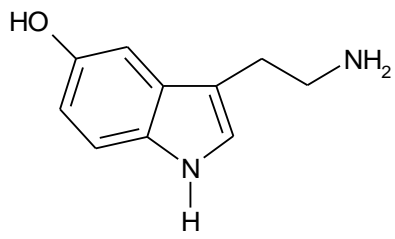
## 2.3. Effets du citral

Le citral interagit aussi avec les canaux TRP *in vitro* et notamment TRPV1 et TRPV3 en les inhibant de façon irréversible après les avoir faiblement activés – effet agoniste partiel – l'effet étant supérieur pour TRPV1 que pour TRPV 3. L'inhibition ne peut avoir lieu qu'une fois ces canaux ouverts, ce qui suggère que les sites d'activation et d'inhibition sont différents. Cette activité s'observe aussi bien avec les deux énantiomères du citral : le néral et le géranial, que leurs alcools : le nérol et le géranol indépendamment les uns des autres (Stotz *et al.*, 2008).

## 3. Interaction avec le système adénosine

### 3.1. Pharmacologie des récepteurs à l'adénosine

L'adénosine apparaît comme un des principaux neuromédiateurs sédatifs dans le cerveau. Elle permettrait l'induction du sommeil par interaction avec les récepteurs purinergiques A1 et A2<sub>A</sub> après accumulation dans le cerveau durant la journée. Les récepteurs à l'adénosine de type A1 sont très présents au niveau cérébral mais peuvent aussi être retrouvés au niveau périphérique en quantité beaucoup plus négligeable. Les récepteurs A2<sub>A</sub>, contrairement aux récepteurs A2<sub>B</sub> et A3, sont aussi très répandus au niveau cérébral (Lacher *et al.*, 2007).



**Figure 16 – La 5-hydroxytryptamine (5-HT), ou sérotonine**

### 3.2. Isovaltrate

Sur la base de test de fixation de radioligand de référence, il a été montré que des extraits de racine de valériane présentent une forte affinité pour les récepteurs A1. Cependant, il s'avère que les extraits hydrophiles agissent plutôt comme agonistes partiels alors que les extraits lipophiles agissent plutôt comme des antagonistes. Partant de cette constatation, Lacher et son équipe ont décidé de déterminer les composés présents dans les racines de valériane qui pourraient expliquer l'effet antagoniste des extraits lipophiles. Ils ont ainsi déterminé que l'isovaltrate possédait une activité agoniste inverse, c'est-à-dire que sa fixation au récepteur entraîne l'effet opposé à celui provoqué par l'adénosine. Ceci provoquerait *in vivo* une excitation plutôt qu'une sédation (Lacher *et al.*, 2007). La valériane étant traditionnellement ingérée sous forme d'infusion, dépourvues en isovaltrate qui est un composé lipophile, ces effets ne s'observent pas. Les extraits hydrophiles agissent comme des agonistes partiels des récepteurs A1, ce qui peut expliquer l'effet sédatif de la tisane.

## 4. Action sur les récepteurs sérotoninergiques

### 4.1. Pharmacologie des récepteurs sérotoninergiques

La sérotonine, ou 5-hydroxytryptamine (Figure 16), est une amine biogène dérivée d'un acide aminé essentiel : le tryptophane. Elle a une qualité de neurotransmetteur et d'hormone locale dont les récepteurs sont pour la plupart définis depuis la fin des années 70. Elle est présente à 80% au niveau de la muqueuse gastro-intestinale où elle est synthétisée par les cellules entérochromaffines qui la stockent également dans des vésicules cytoplasmiques, en quasi totalité. Les 20% restants sont répartis dans les plaquettes sanguines qui stockent la sérotonine mais ne la synthétisent pas, et au niveau du système nerveux central (Katzung, 2006 ; Nichols & Nichols, 2008). Une dépolarisation au niveau des terminaisons des neurones sérotoninergiques provoque une entrée massive de  $Ca^{2+}$  dans la cellule nerveuse. Cela a pour conséquence la migration des vésicules de stockage de la sérotonine vers la membrane cellulaire. Celles-ci fusionnent avec la membrane et ainsi le neuromédiateur est libéré dans la synapse. C'est à ce moment que la sérotonine peut interagir avec ses récepteurs ou être recaptée grâce à un transporteur protéique membranaire qui lui est spécifique. Ce dernier est la cible de la fluoxétine et de la paroxétine qui sont des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine, utilisés dans le traitement des dépressions. La sérotonine recaptée est soit de nouveau stockée dans des vésicules, soit dégradée au niveau des mitochondries par la monoamine oxydase (Nichols & Nichols, 2008).

**Tableau 8 – Les différents récepteurs sérotoninergiques identifiés et leurs caractéristiques**

Type	Famille	Sous-types	Localisation principale	Effet agoniste
Récepteur-canal à perméabilité cationique	5-HT3		Système nerveux périphérique et central <sup>b</sup> Pré et post-synapse <sup>b</sup>	Ouverture du canal cationique <sup>b</sup> Potentiel d'action Nausées <sup>b</sup> Anxiété <sup>b</sup>
Récepteur couplé à une protéine G	5-HT1	5-HT1 <sub>A</sub>	Entérocytes	Relaxation du tractus intestinal <sup>a</sup>
		5-HT1 <sub>B</sub>	Neurones sensoriels <sup>a</sup>	Contraction/relaxation du tractus intestinal <sup>a</sup>
		5-HT1 <sub>D</sub>	Muscles lisses <sup>a</sup>	
		5-HT1 <sub>E</sub>		
		5-HT1 <sub>F</sub>		
	5-HT2	5-HT2 <sub>A</sub>	Cerveau <sup>b</sup> Tissus cardiovasculaires <sup>b</sup> Neurones entériques <sup>a</sup>	Dépolarisation membranaire <sup>b</sup> Fermeture des canaux potassiques <sup>b</sup>
		5-HT2 <sub>B</sub>	Neurones entériques <sup>a</sup> Muscles lisses <sup>a</sup>	
		5-HT2 <sub>C</sub>		
	5-HT4		Système nerveux périphérique et central <sup>b</sup>	
	5-HT5	5-HT5 <sub>A</sub>	SNC <sup>b</sup>	Diminution d'AMPC
		5-HT5 <sub>B</sub>	Non exprimé chez l'homme <sup>b</sup>	
	5-HT6		SNC <sup>b</sup> Post-synapse <sup>b</sup>	Antagoniste provoque augmentation de la transmission acétylcholinergique <sup>b</sup>
5-HT7		Cortex cérébral <sup>b</sup> Vaisseaux sanguins périphériques <sup>b</sup> Muscles lisses (colon) <sup>b</sup>	Antagoniste augmente le temps d'apparition et la durée du sommeil paradoxal <sup>b</sup>	

a - Beattie & Smith, 2008

b - Nichols & Nichols, 2008

Il existe sept familles de récepteurs 5-HT, nommées de 5-HT1 à 5-HT7, comprenant au total 17 récepteurs différents (Tableau 8). Ce sont tous des récepteurs couplés à une protéine G, à l'exception du 5-HT3 qui est un récepteur couplé à un canal perméable aux cations mono- et divalents (Nichols & Nichols, 2008).

La sérotonine joue un rôle important dans le rythme circadien puisqu'un de ses métabolites est la mélatonine, uniquement synthétisée par l'épiphyse. Sa production et sa libération sont corrélées à la luminosité qui entoure l'individu. En effet, lorsque la lumière diminue, la concentration sanguine en mélatonine augmente. C'est pour cela que l'organisme observe des cycles jour/nuit. Il semblerait que les récepteurs 5-HT<sub>5A</sub> et 5-HT7 jouent un rôle dans le contrôle du rythme circadien (Nichols & Nichols, 2008).

Les récepteurs 5-HT3, quant à eux, constituent des cibles moléculaires pour la recherche d'antagonistes permettant de traiter les symptômes de manque lié au sevrage en diazépam, nicotine, alcool et cocaïne (Nichols & Nichols, 2008).

#### **4.2. Acide valérienique**

L'insomnie peut être due à la perturbation du rythme circadien. L'acide valérienique est un agoniste partiel des récepteurs 5-HT<sub>5A</sub> (80% d'affinité pour 50 µg/ml d'acide valérienique) *in vitro* (cellules CHO-KI humaines 5-HT<sub>5A</sub>-transfectées), or ces récepteurs sont impliqués dans la régulation du cycle veille-sommeil (Dietz *et al.*, 2005). L'acide valérienique pourrait donc lutter contre les troubles du sommeil en permettant le rétablissement d'un rythme circadien normal.

### **B. Myorelaxant**

De la même façon que la nifédipine – un inhibiteur calcique sélectif à effets vasculaires utilisé dans le traitement de l'hypertension et de l'angor – l'eugénol possède un effet inotrope\* négatif (CI<sub>50</sub> = 127 µmol/l) associé à une diminution du délai de contraction. Toutefois, contrairement à la nifédipine, l'eugénol à faible dose ne modifie pas la vitesse de contraction. L'effet inotrope\* négatif est aussi observé avec l'oxyde de β-caryophyllène (CI<sub>50</sub> = 36 µmol/l), mais le délai de contraction n'est diminué que pour un effet inotrope\* négatif supérieur à 50 % (Sensch *et al.*, 2000).

Le citral est myorelaxant vis-à-vis de l'iléon de rat stimulé par dépolarisation au KCl, à l'acétylcholine ou à la sérotonine. Les valeurs de CI<sub>50</sub>\* respectives sont 29 ng/ml, 32 ng/ml et 19 ng/ml (Sadraei *et al.*, 2003), indiquant une forte activité spasmolytique. Cet effet spasmolytique s'observe aussi sur les contractions utérines de rat induite par PGF2 avec une

**Tableau 9 – Médiateurs pro- et anti-inflammatoires**

D'après DeFranco *et al.*, 2009

	Médiateurs pro-inflammatoires			Médiateurs anti-inflammatoires		
<b>Cytokines</b>	TNF- $\alpha$ IL-12	IL-1 $\beta$ IL-18	IL-6 IFN- $\gamma$	IL-4 IL-13	IL-10	TNF- $\beta$
<b>Enzymes</b>	COX 2 (synthèse des prostaglandines)	iNOS	Lipoxygénases (synthèse des leucotriènes)			
<b>Autres substances</b>	<b>Vasodilatateurs</b>	Monoxyde d'azote		<b>Vasoconstricteurs</b>	Endothéline-1	
		PGI-2			Thromboxane A2	
		Histamine				
	<b>Médiateurs algogènes</b>	PGE2		<b>Facteurs de croissance</b>	TGF- $\beta$	
		Bradykinine			VEGF	
	<b>Autres</b>	Sérotonine			PDGF	
		PAF				
		NF- $\kappa$ B				
		Eicosanoïdes (PG et leucotriènes)				

TNF : *Tumor Necrosis Factor*  
 IL : Interleukine  
 IFN : Interféron  
 COX : Cyclooxygénase  
 iNOS : NO synthase inductible  
 PG : Prostaglandine

PAF : *Platelet Activating Factor*  
 TGF : *Tumor Growth Factor*  
 VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*  
 PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*  
 NF- $\kappa$ B : *Nuclear Factor  $\kappa$ B*

CI<sub>50</sub>\* de 20 µg/ml (Ponce-Monter *et al.*, 2010). Il peut donc être attribué au citral l'effet spasmolytique de l'huile essentielle\* de mélisse.

Le xanthorrhizol inhibe les contractions utérines du rat induite par du KCl, ou du CaCl<sub>2</sub>, ou du BAY K 8644. Il a été également démontré des effets relaxants endothélium-indépendant sur des préparations d'aorte thoracique de rat (Mata *et al.*, 2001).

## **C. Antioxydant**

La mélisse possède des propriétés antiradicalaires (Ollier, 2011). Or, un de ces constituants majeurs est l'acide rosmarinique. Il possède une forte activité antioxydante. Celle-ci a été mesurée par réduction d'un radical libre : le DPPH (1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyle). La CE<sub>50</sub>\* de l'acide rosmarinique est de 3,1 µg/ml alors que celle de l' $\alpha$ -tocophérol – une forme de la vitamine E – est de 10,1 µg/ml (Mencherini *et al.*, 2007). La forte activité antioxydante de l'acide rosmarinique est liée à ses quatre hydroxyles phénoliques, deux à deux en position *ortho* (Penchev, 2010).

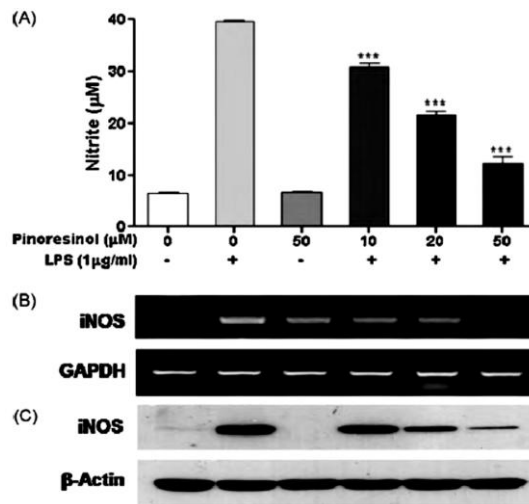
## **D. Anti-inflammatoire**

### **1. Mécanismes de l'inflammation**

L'inflammation est un ensemble d'activation de mécanismes de défenses de l'organisme qui inclut la reconnaissance, la destruction et l'élimination des substances qui lui sont étrangères. Les causes d'activation de ce processus sont nombreuses. Il peut s'agir d'un agent pathogène, d'une lésion tissulaire, d'une substance inerte, etc. L'inflammation se déroule selon trois phases successives : l'initiation, l'amplification et la réparation. L'initiation correspond à la phase de reconnaissance par les cellules locales, c'est-à-dire tissulaires. L'amplification est le résultat de la mobilisation des cellules circulantes du sang et de leurs médiateurs. La réparation consiste en la phagocytose, le remodelage tissulaire et la cicatrisation. Lors d'un processus inflammatoire, de nombreux médiateurs chimiques (Tableau 9) interviennent, ils peuvent être pro- ou anti-inflammatoires (DeFranco *et al.*, 2009).

### **2. Effet anti-inflammatoire**

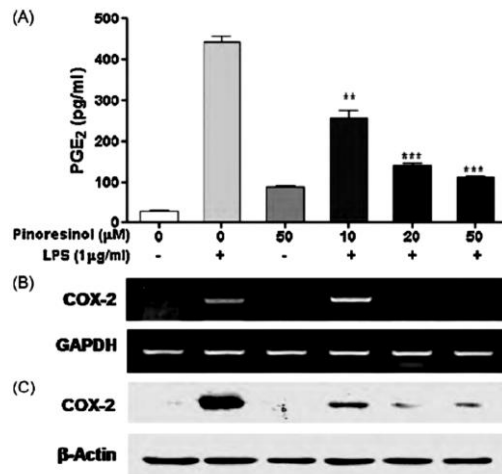
Plusieurs molécules de la mélisse et de la valériane montrent une forte activité anti-inflammatoire.



**Figure 17 – Effet du pinorésinol sur la production de NO induite par le LPS et l'expression par la microglie primaire d'iNOS**

*Jung et al., 2010*

La production de NO est nettement diminuée en présence de pinorésinol, de façon concentration-dépendante. Cette baisse s'explique par l'inhibition de l'iNOS.



**Figure 18 – Effet du pinorésinol sur la production de PGE2 induite par le LPS et l'expression par la microglie primaire de COX-2**

*Jung et al., 2010*

La production de PGE2 est diminuée de moitié dès 10 µM de pinorésinol. Ceci s'explique par une inhibition importante de la COX2 à l'origine de la PGE2.

## 2.1. Xanthorrhizol

Le xanthorrhizol atténue la rectocolite hémorragique induite chez la souris (par le dextran sulfate de sodium), en modulant l'expression de 34 gènes impliqués dans la réponse inflammatoire aiguë, jouant un rôle important dans la rectocolite (Cho *et al.*, 2011). Les médiateurs de l'inflammation, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , COX-2, l'iNOS sont inhibés par le xanthorrhizol chez les macrophages de souris stimulés par LPS ou IFN- $\gamma$  (Lee *et al.*, 2002 ; Cho *et al.*, 2008). L'expression de la COX 2 et de l'iNOS est très remarquablement diminuée chez la souris ayant une inflammation aiguë induite par TPA. De plus, le xanthorrhizol inhibe l'activation du gène codant pour NF- $\kappa$ B (Chung *et al.*, 2007).

## 2.2. Pinorésinol

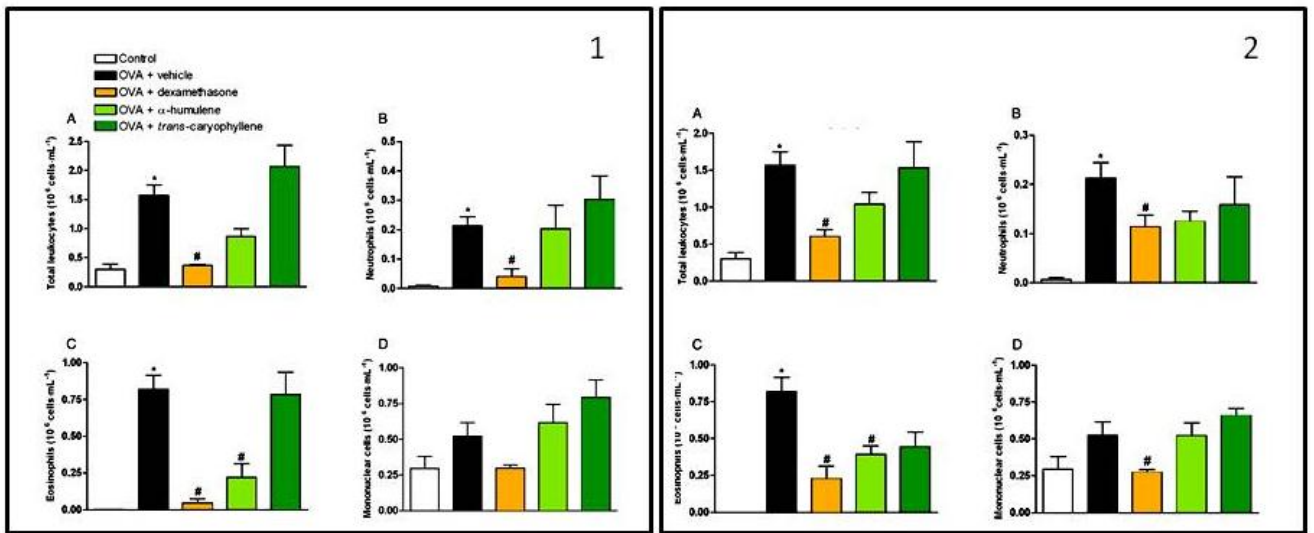
Le pinorésinol inhibe la réponse inflammatoire issue de l'activation des cellules de la microglie (macrophages présents au niveau du système nerveux central) par le LPS. La microglie produit des médiateurs inflammatoires tels que le monoxyde d'azote (NO), la prostaglandine E2 et les cytokines proinflammatoires IL-6, IL-1 $\beta$  et TNF $\alpha$ . Le pinorésinol, testé sur des cellules gliales de rats, agit en empêchant leur formation. En effet, il diminue de façon dose-dépendante l'ARNm codant pour la iNOS à l'origine de la production de NO, réduisant ainsi l'expression de l'enzyme (Figure 17). Il en va de même pour l'ARNm codant pour la COX-2 qui génère la prostaglandine E2 (Figure 18). L'effet est important (-65 % de nitrite et -70% de PGE2) dès 50  $\mu$ mol/l. Quant aux cytokines proinflammatoires, l'effet est aussi dose-dépendant, seulement il est plus important pour l'IL-6 que l'IL-1 $\beta$  et le TNF $\alpha$ . Des études chez l'animal sont nécessaires pour savoir si ces propriétés persistent à l'échelle de l'organisme (Jung *et al.*, 2010).

## 2.3. $\beta$ -caryophyllène

Le E- $\beta$ -caryophyllène se lie de façon sélective aux récepteurs cannabinoïdes de type 2 (CB2), exprimés essentiellement dans les tissus périphériques. Il inhibe l'expression d'une cytokine pro-inflammatoire induite par le LPS. A la dose de 5mg/kg *per os*, il réduit de façon conséquente l'inflammation induite par le carraghénane<sup>16</sup> chez la souris de type sauvage, mais non chez la souris à qui il manque les récepteurs CB2. Malgré son interaction avec les

---

<sup>16</sup> Le carraghénane est utilisé comme irritant, il induit un œdème de la patte. C'est une méthode pour obtenir un modèle inflammatoire (Fehrenbacher *et al.*, 2012).



**Figure 19 – Effet d'un traitement préventif (1) et curatif (2) par  $\alpha$ -humulène et  $\beta$ -caryophyllène**

D'après Rogerio *et al.*, 2009

(1) Bien que l'efficacité soit inférieure à celle observée avec la dexaméthasone, l' $\alpha$ -humulène montre une activité anti-inflammatoire préventive : baisse des leucocytes totaux, et baisse des éosinophiles.

(2) En traitement curatif, l'effet anti-inflammatoire se manifeste pour l' $\alpha$ -humulène par une baisse des leucocytes totaux, des éosinophiles et des neutrophiles (effet équivalent à la dexaméthasone).

récepteurs CB2, il ne serait pas psychoactif. C'est une molécule lipophile qui traverse donc aisément les membranes cellulaires. (Gertsch *et al.*, 2008). Le  $\beta$ -caryophyllène possède des propriétés anti-inflammatoires en curatif, et non en préventif, mais moins importantes que celles de l' $\alpha$ -humulène (Rogerio *et al.*, 2009).

#### **2.4. Acide oléanolique et acide ursolique**

L'acide oléanolique et l'acide ursolique ont des activités similaires car leurs structures chimiques sont très proches. Ils sont reconnus pour leur effet hépatoprotecteur, rapporté pour l'acide oléanolique dès 1975 par He et Shi (Hunan Medical Institute, 1975). Il a aussi été montré qu'un traitement d'au moins trois mois par acide oléanolique permet de diminuer le nombre d'hépatites chroniques évoluant en cirrhoses, et d'améliorer les symptômes de ces hépatites. Il semblerait que cette activité (aussi bien pour l'acide oléanolique qu'ursolique) soit due à la diminution de l'activité du cytochrome P-450 (notamment les CYP1A et CYP2A), cytochrome métabolisant bon nombre de produits toxiques. L'acide oléanolique pourrait aussi agir en augmentant les composés antioxydants du foie, notamment le glutathion (Liu, 1995). Les propriétés anti-inflammatoires de l'acide oléanolique ont été décrites pour la première fois par Gupta *et al.* en 1969 (Liu, 1995).

#### **2.5. Humulène**

L'asthme, caractérisé par une hyperréactivité des voies respiratoires (inflammation à éosinophiles et hypersécrétion de mucus bronchique), fait partie des troubles d'origine inflammatoire. Les éosinophiles constituent une cible thérapeutique évidente. L'humulène administré en préventif ou en curatif (Figure 19) réduit l'inflammation des voies aériennes, même s'il est moins efficace en prévention que la dexaméthasone utilisée en beaucoup plus faible quantité (Rogerio *et al.*, 2009).

#### **2.6. Flavonoïdes**

Le 7-glucoside de lutéolol (ou cynaroside) possède *in vitro* des propriétés inflammatoires. En effet, dosé à 50  $\mu\text{mol/l}$ , il réduit d'environ 50 % la libération de TNF $\alpha$  induite par endotoxine bactérienne, des macrophages de souris prétraitées par la molécule, pour une faible toxicité (viabilité cellulaire supérieure à 90 %). Cette propriété n'apparaît pas lorsque le cynaroside est administré après l'ajout de l'endotoxine. Il n'a donc pas d'action préventive. A cela s'ajoute une inhibition de 50 % de libération d'IL-6, à la même concentration de 7-glucoside de lutéolol (Xagorari *et al.*, 2001).

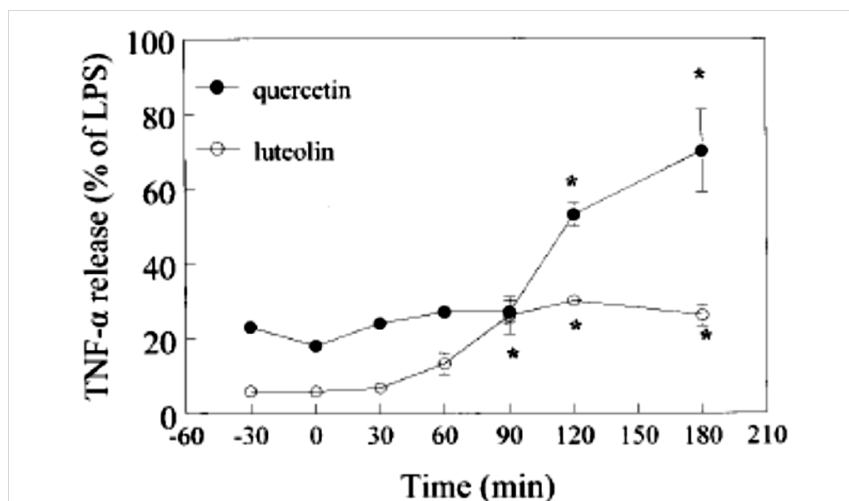


Figure 20 – Action temps-dépendante des flavonoïdes sur la libération de TNF $\alpha$  induite par le LPS

D'après Xagorari *et al.*, 2001

Plus les macrophages sont exposés tardivement aux flavonoïdes moins l'activité anti-inflammatoire est importante. Cette diminution d'activité est très significative pour la quercétine après 90 minutes. Il faudrait donc qu'elle soit administrée très rapidement après la stimulation des macrophages par le LPS.

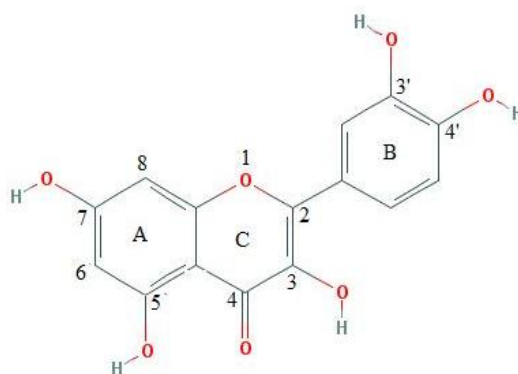


Figure 21 – Numérotation des carbones de la quercétine

Tableau 10 – Effets de la quercétine et de l'acétate de bornyle sur la gestation des souris

D'après Wang *et al.*, 2010

Groupe	0,4 ml de drogue* ou de PBS de J4 à J7 de gestation	0,2 ml de LPS ou de PBS à J7 de gestation	Taux d'avortement (%)	Taux de résorption (%)
A	PBS	PBS	20**	24,4**
B		LPS	100	100
C	Quercétine	LPS	50*	53,2**
D	Acétate de bornyle	LPS	60*	60,4*
E	Quercétine + Acétate de bornyle	LPS	30**	28,6**

\*  $P < 0,05$  et \*\*  $P < 0,01$  comparé au groupe B

Le groupe A est un groupe témoin, n'ayant reçu aucun traitement et n'ayant pas été exposé au LPS. Le groupe B correspond au modèle LPS, il a été exposé au LPS et n'a reçu aucun traitement. Les groupes C, D et E ont été exposés au LPS et ont reçu respectivement les traitements suivants : quercétine, acétate de bornyle et quercétine+acétate de bornyle. La quercétine est diluée dans le PBS donc les souris-témoins (groupes A et B) ont reçu du PBS seul.

La quercétine (quercitroside sans la partie osidique) possède des propriétés anti-inflammatoires. *In vitro*, elle inhibe la libération de TNF $\alpha$  par les macrophages de souris, qu'elle soit administrée avant (CI<sub>50</sub>\* < 1  $\mu$ mol/l) ou après l'ajout de LPS\* (Figure 20). La quercétine dosée à 10  $\mu$ mol/l inhibe de 70 % la libération de TNF $\alpha$  jusqu'à 90 minutes suivant l'activation des macrophages par l'endotoxine. Cette activité anti-inflammatoire se complète d'une inhibition de 75 % de la libération d'IL-6, avec une concentration de 50  $\mu$ mol/l de quercétine, et d'une diminution de la libération de NO, quel que soit le moment où les cellules sont exposées au flavonoïde. L'expérience montre que la présence d'une double liaison en C2-C3 (Figure 21) sur le cycle C associée à une fonction cétone en 4 et des hydroxyles en 3' et 4' sur le cycle B sont nécessaires pour inhiber la libération de TNF $\alpha$  induite par endotoxine (Xagorari *et al.*, 2001).

D'une certaine façon, l'effet anti-abortif de la quercétine est lié à ses propriétés anti-inflammatoires. En effet, il a été montré la présence en grande quantité de lymphocytes T et NK dans la caduque\* humaine qui peuvent devenir toxiques pour le trophoblaste s'ils sont activés par certaines cytokines. Ils induisent une apoptose de l'embryon, conduisant à un avortement spontané (Olivares *et al.*, 2002). Or, des souris exposées au LPS n'avortent que dans 50 % des cas avec une solution de quercétine dosée à 2,5 mg/ml et dans 30 % des cas seulement si la quercétine est associée à l'acétate de bornyle alors que le taux d'avortements naturels, dans le groupe A, est de 20 % (Tableau 10). Cet effet est dû aux propriétés anti-inflammatoires de la quercétine et de l'acétate de bornyle. En effet, chez les souris traitées, le taux d'IFN- $\gamma$  (cytokine pro-inflammatoire) est nettement diminué, alors que celui d'IL-4 (cytokine anti-inflammatoire) est augmenté. De plus, le nombre de lymphocytes T est inférieur chez les souris du groupe A et celles des groupes traitées par quercétine et/ou acétate de bornyle, et il s'avère que ceux-ci restent essentiellement dans le myomètre alors que chez les souris du groupe B ils sont majoritairement présents dans l'endomètre, ce qui explique l'avortement (Wang *et al.*, 2010).

## 2.7. Acide rosmarinique

Il a été montré *in vitro* et *in vivo* que l'acide rosmarinique possédait des effets anti-inflammatoires, antioxydant et antiviral. Il aurait donc des effets inhibiteurs sur la 5-lipoxygénase (en maintenant à l'état ferreux, donc inactif, le site actif de l'enzyme), la 12-lipoxygénase et l'expression des gènes codant pour COX- 2. Il agit aussi sur la p38 $\alpha$  MAPK, impliquée dans la libération de TNF $\alpha$  (Geller *et al.*, 2010).

**Tableau 11 – Activité antimicrobienne du xanthorrhizol**

Modifié d'après Mata *et al.*, 2001

Nom du micro-organisme	CMI* (µg/ml) <sup>c</sup>	
	Xanthorrhizol	Pénicilline G <sup>d</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	0,06
<i>Staphylococcus aureus</i> (MR <sup>a</sup> )	<b>32</b>	64
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	0,06
<i>Enterococcus faecium</i> (VR <sup>b</sup> )	<b>16</b>	32
<i>Enterococcus faecium</i>	<b>16</b>	32
<i>Bacillus subtilis</i>	<b>16</b>	32
<i>Escherichia coli</i>	32	2
<i>Escherichia coli</i>	>128	32
<i>Escherichia coli</i>	>128	128
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>32</b>	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>128	>128
<i>Candida albicans</i>	128	>128

a – MR : résistant à la méticilline

b – VR : résistant à la vancomycine

c – Méthode : microdilution en bouillon

d – Substance standard

## E. Antimicrobien

### 1. Bactéricide

Il semble que le xanthorrhizol soit efficace contre les staphylocoques méticillino-résistants (CMI\**S. aureus* (MR) = 32 µg/ml) et les entérocoques résistants à la vancomycine (CMI\**E. faecium* (VR) = 16 µg/ml), mais peu efficace contre les bactéries à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Cependant, il s'est révélé inefficace *in vivo* chez la souris infectée par *Staphylococcus aureus* (Tableau 11), la dose efficace n'a d'ailleurs pas été déterminée car elle était trop importante (Mata *et al.*, 2001).

L'activité antimicrobienne de l'acide rosmarinique a également été testée sur les bactéries *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. L'acide rosmarinique est plus efficace sur les staphylocoques. En effet, la CMI\* est 0,12 mg/ml contre 0,5 mg/ml pour *B. subtilis*. Elle est supérieure à 2 mg/ml pour *P. aeruginosa* et *E. coli* ce qui représente une concentration importante (Mencherini *et al.*, 2007).

Le carvacrol et le thymol possèdent également une activité antibactérienne. En effet, la croissance de diverses souches d'*Escherichia coli* est complètement absente à partir de 400 µg/ml de thymol ou de carvacrol (Kaloustian *et al.*, 2008).

### 2. Fongicide

Dans l'étude de Mata *et al.* (2001), le xanthorrhizol a également été testé sur *Candida albicans*. Une activité fongique a été montrée avec une CMI\* de 128 µg/ml (Mata *et al.*, 2001). Il a aussi été montré que le xanthorrhizol possède une activité antifongique, une toxicité contre *Artemia salina* (modèle de toxicité) et une cytotoxicité contre les cellules carcinomateuses nasopharyngées humaines.

L'acide rosmarinique ne possède qu'une faible activité antifongique sur *Candida albicans* et *Aspergillus niger* car la CMI\* observée est supérieure à 2 mg/ml, ce qui représente une dose importante (Mencherini *et al.*, 2007).



Du citral commercial, composé de 40% de néral et 60% de géranial, possède une activité antifongique à l'égard d'*Aspergillus fumigatus* et *Candida krusei* avec une CMI\* respective de 62.5 µg/ml et 39.4 µg/ml (Mesa-Arango et al., 2009).

Les huiles essentielles de mélisse et de valériane sont donc dotées d'un potentiel antifongique intéressant.

## **F. Phytosanitaire**

La mélisse et la valériane possèdent une activité thérapeutique marquée grâce à des composés aux actions pharmacologiques prouvées scientifiquement et pharmacologiquement expliqués. Pour les deux plantes ou leurs composés les plus actifs, de nouvelles perspectives d'utilisations dans le domaine médical se précisent. Leur développement dans le monde de la santé humaine est indéniable. Cependant, étant donné les effets pharmacologiques révélés, il peut être envisagé un autre usage, notamment dans le domaine de l'agriculture. Les cibles des produits phytosanitaires sont nombreuses et bien connues. Depuis l'Antiquité, l'homme s'est servi des plantes pour lutter contre certains végétaux, insectes, rongeurs et autres "nuisibles". Mais ces pesticides naturels ont laissé place aux pesticides de synthèse au cours de la Seconde Guerre Mondiale, car les matières premières végétales ne pouvaient fournir un rendement suffisant. Cependant, depuis quelques années, les produits naturels sont de nouveau sur le devant de la scène par souci écologique principalement – respect de l'environnement, impact sur la santé humaine – mais aussi parce que l'emploi des produits de synthèse a provoqué beaucoup de résistance chez les insectes (Regnault-Roger *et al.*, 2008).

### **1. Insecticide**

#### **1.1. Mécanismes d'action des insecticides**

La majorité des insecticides commercialisés aujourd'hui ciblent le système nerveux des insectes. Les cibles sont diverses. Par exemple, les pyréthriinoïdes interagissent avec les canaux sodium. D'autres agissent sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, c'est le cas de l'imidaclopride. Le fipronil agit sur les RGABA (Raymond & Sattelle, 2002) et l'ivermectine agit sur les récepteurs inhibiteurs du glutamate. Les organophosphorés sont quant à eux des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Raymond-Delpech *et al.*, 2005). D'autres produits aux propriétés insecticides pouvant être exploités sont les poisons respiratoires ou des molécules inhibant la mue.

**Tableau 12 – Effets du traitement oral par lignanes et néolignanes sur le quatrième stade larvaire de *Rhodnius prolixus***

Modifié d'après Cabral *et al.*, 2000

Composés	Dosage (µg/ml)	Sang ingéré (mg/insecte)	Durée inter-mues (jours)	Exuviation* (%)	Mortalité (%)
Podophyllotoxine	100	92,0 ± 17,2	0	0	90
Pinorésinol	1	92,0 ± 17,1	12-24	94	0
	10	78,9 ± 21,7	12-18	80	0
	100	72,5 ± 18,9	12-14	42	5
Contrôle	-	106,0 ± 13,7	12-16	100	0

## 1.2. Pinorésinol

Le pinorésinol a été testé sur *Rhodnius prolixus*, un des insectes hématophages vecteurs de la maladie de Chagas. Administré par voie orale à l'insecte (Tableau 12), c'est-à-dire en supplémentant le sang ingéré en lignanes, le pinorésinol se révèle moins efficace et donc beaucoup moins toxique que la podophyllotoxine<sup>17</sup> à la concentration 100 µg/ml. Le pinorésinol dosé à 100 µg/ml inhibe de 58 % l'exuviation\* tout en exerçant une faible toxicité (5 % de mortalité). L'inhibition de la mue est totale à 500 µg/ml, sans provoquer d'anomalies morphologiques extérieures au corps de l'insecte (Cabral *et al.*, 1999). En revanche, une application locale de la molécule n'inhibe pas la mue, mais il la retarde de 6 jours à la dose de 100 µg/ml. Donc, le pinorésinol pourrait agir sur le système neuroendocrinien et/ou les cellules épidermiques impliquées dans le développement de l'insecte et sa mue. Son action ne peut être systémique puisque la mortalité est faible (Cabral *et al.*, 2000). Il n'a pas non plus montré une activité sur la fonction excrétrice de l'insecte (Cabral *et al.*, 2000).

Le traitement topique de la punaise de l'asclépiade, *Oncopeltus fasciatus*<sup>18</sup>, par le pinorésinol présente une grande toxicité avec une DL<sub>50</sub>\* faible (DL<sub>50</sub>\*=16 µg/ml). L'inhibition de la mue est de 67 % à 25 µg/ml (DE<sub>50</sub>\*=20 µg/ml). En revanche, un contact continu entre la molécule et l'insecte provoque 90 % de mortalité à 25 µg/cm<sup>2</sup>. A cette même dose, la mue est inhibée pour 90 % des insectes survivants. Chez *O. fasciatus*, le pinorésinol montre donc une toxicité aiguë (Cabral *et al.*, 1999).

## 2. Insectifuge

De nombreux terpénoïdes possèdent des propriétés insectifuges vis-à-vis des tiques. C'est le cas du bornéol, du 1,8-cinéole, du carvacrol, de l' $\alpha$ -copaène, de l'eugénol, de l'humulène, du nonanal, du nérol, du nérolidol et du 4-terpinéol (Bissinger & Roe, 2010). Or ces composés sont présents dans l'huile essentielle\* de mélisse et de valériane. Ceci laisse supposer, notamment par synergie, une action répulsive envers les tiques.

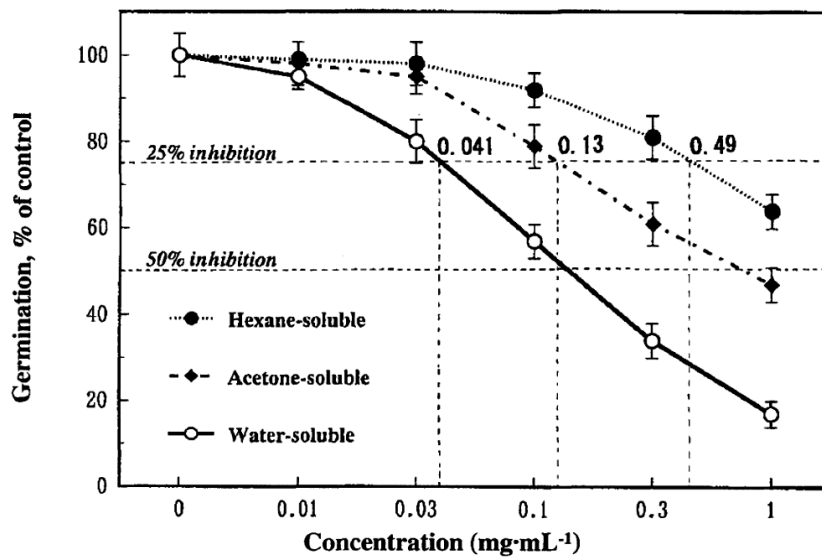
## 3. Effet Pheromon-like

L'actinidine présente dans la valériane agirait comme la népétalactone et aurait des effets attracteurs sur les chats. Par ailleurs, cet effet *pheromon-like* s'observerait aussi chez les

---

<sup>17</sup> La podophyllotoxine est un composé utilisé comme antimétabolite et cytolytique utilisé dans le traitement des condylomes acuminés (infection sexuellement transmissible), extrait de la résine produite par les rhizomes et racines de *Podophyllum peltatum* et *P. emodi* (Vidal, 2012).

<sup>18</sup> La punaise de l'asclépiade n'est pas un ravageur mais constitue un insecte utile en expérimentation car il est facile à élever et possède une grande capacité de reproduction (Ewen-Campen *et al.*, 2011).



**Figure 22 – Effets sur la germination des semences de laitue des différentes fractions d'un extrait hydro-acétonique de *M. officinalis***

D'après Kato-Noguchi, 2001

L'inhibition de la germination, après deux jours d'incubation à 25°C, des semences de laitue est beaucoup plus forte pour la fraction soluble dans l'eau de l'extrait (*water-soluble*) que pour les fractions soluble dans l'hexane (*hexane-soluble*) et dans l'acétone (*acetone-soluble*). En effet, avec 0,13 mg/ml, 50 % des semences ne germent pas, alors qu'elle est supérieure ou proche de 1 mg/ml pour les autres fractions.

insectes notamment des fourmis. En effet, l'actinidine est sécrétée par deux espèces de fourmis du genre *Conomyrma*, grâce à une glande anale (Patočka & Jakl, 2010) ce qui expliquerait qu'elles la reconnaissent et soient attirées par elle.

#### **4. Anti-germinatif**

L'effet anti-germinatif observé est une piste pour la lutte contre les "mauvaises herbes".

Un extrait hydro-acétonique de jeune pousse de mélisse inhibe la germination et la croissance des racines et des pousses d'amarante (*Amaranthus caudatus* L.), de cresson (*Lepidium sativum* L.), de digitale sanguine (*Digitaria sanguinalis* L.), de fléole des prés (*Phleum pratense* L.), de laitue (*Lactuca sativa* L.) et de l'ivraie (*Lolium multiflorum* Lam.). Des différentes fractions de cet extrait, c'est la fraction soluble dans l'eau qui s'est révélée la plus efficace (Figure 22) (Kato-Noguchi, 2001).

#### **5. Nématicide**

*In vitro*, le citral fait partie des monoterpènes les plus nématicides contre *Meloidogyne incognita* responsable de la formation de galle sur les plants de tomates. Il agit en diminuant l'éclosion des œufs de 51,8 % et la mobilité à J2 de 61,4 % pour une concentration de 250mg/l, cette activité étant supérieure à 90% pour une concentration de 500mg/l. La mobilité à J2 du nématode est inhibée à 80% pour une concentration de 60mg/l. De plus, toutes les larves dont la mobilité a été inhibée ne l'ont pas retrouvée une fois plongées dans l'eau. A 100mg/kg, il diminue la formation de galle sur les racines de plants de tomates, et à 250mg/kg il l'inhibe complètement et à plus fortes doses, le citral devient toxique pour les plants de tomates. Par conséquent, une huile essentielle\* riche en citral serait donc potentiellement nématicide, c'est le cas de la mélisse puisqu'elle associe au citral d'autres monoterpènes efficaces contre les nématodes tels que le citronellal, le linalol et le géraniol. Le mécanisme d'action n'est cependant pas complètement défini (Echeverrigaray *et al.*, 2009).

#### **G. Biodisponibilités et toxicités éventuelles**

Les différents composés végétaux étudiés montrent de réelles activités pharmacologiques. Cependant, il convient de se demander si celles-ci peuvent exister à l'échelle de l'organisme. En effet, une substance chimique aussi puissante soit-elle n'aura aucun effet si elle ne franchit pas la barrière intestinale. De ce fait, leur biodisponibilité doit



être évaluée. De même, leur toxicité doit être étudiée afin de déterminer si l'ingestion chronique de mélisse et de valériane est sans risque pour le patient.

## **1. Biodisponibilité**

L'étude de la pharmacocinétique des composés de *M. officinalis* et *V. officinalis* est primordiale pour savoir s'il y a une chance que les effets observés *in vitro* ou sur des modèles animaux puissent se reproduire dans l'organisme. Il est donc important de connaître leur biodisponibilité.

### **1.1. Acide valérénique**

La pharmacocinétique de l'acide valérénique a été étudiée chez la femme âgée, car les troubles du sommeil sont fréquents chez les femmes ménopausées. La pharmacocinétique de la molécule a été évaluée après une administration unique de 300 mg d'extrait de valériane et après une administration quotidienne pendant deux semaines.

Il semble que les paramètres pharmacocinétiques soient très dépendants de l'individu. En effet, la concentration sanguine maximale  $C_{\max}$  diminue si le poids de la patiente augmente alors que  $T_{\max}$ , la durée nécessaire pour obtenir  $C_{\max}$  diminue (Anderson *et al.*, 2010).

### **1.2. Pinorésinol**

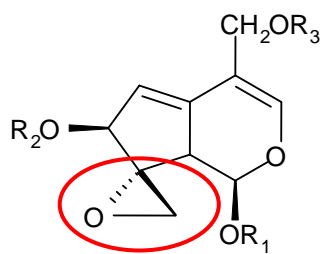
Le pinorésinol-diglucoside est transformé par la flore intestinale, notamment en (+)-pinorésinol (Xie *et al.*, 2003).

### **1.3. Acide caféique**

Les modèles d'absorption *in* ou *ex vivo* laissent supposer que l'acide caféique peut être absorbé au niveau de l'estomac et de l'intestin (jéjunum, iléon et colon) des rats. L'acide caféique est métabolisé au niveau de la muqueuse hépatique et par la flore commensale digestive. Une petite quantité de métabolites est excrétée dans la lumière intestinale et une faible quantité d'acide caféique sous forme inchangée est excrétée dans les urines (Zhao & Moghadasian, 2010).

### **1.4. Acide rosmarinique**

L'acide rosmarinique est absorbé rapidement au niveau du tube digestif. En effet, il est retrouvé dans le plasma, sous forme intacte, une demi-heure après son administration au rat, et sous forme méthylée, une heure après (Zhao & Moghadasian, 2010).



**Figure 23 – Structure générale des valépotriates, présence d'un cycle époxyde**

## 2. Toxicité éventuelle

Avant d'envisager une quelconque utilisation dans les domaines pharmaceutique et agricole, il faut bien sûr s'assurer de l'efficacité de la mélisse et de la valériane mais surtout évaluer les limites de l'innocuité ou la toxicité des différents extraits. Car si ces plantes n'ont pas montré d'effets secondaires lors de prise sur des durées limitées, qu'en est-il d'une prise répétée ou d'une exposition chronique ?

### 2.1. Hépatotoxicité

La valériane pourrait être à l'origine d'une toxicité hépatique à long terme à cause de la présence des valépotriates. Ceux-ci sont expérimentalement sédatifs et spasmolytiques, ce qui leur a valu d'être longtemps considérés comme les principes actifs de la drogue\* (Bos *et al.*, 1998). Cependant ils sont aussi cytotoxiques et mutagènes. Ils possèdent un potentiel alkylant du fait de la présence d'un cycle époxyde dans leur structure les rendant très instables et donc réactifs (Figure 23). La cytotoxicité de ces constituants a été testée sur les modèles cellulaires GLC4 et COLO 320. Malgré tout, il est fort probable que la plupart des formes commerciales de racine de valériane soient dépourvues de valépotriates car ceux-ci s'hydrolysent rapidement en baldrinals qui seraient 10 à 30 fois moins toxiques que la molécules dont ils dérivent (Bos *et al.*, 1998). Mais par principe de précaution, les extraits aqueux ou à faible titre alcoolique sont à privilégier.

### 2.2. Interaction avec la TSH

Il apparaît *in vitro* et chez l'animal, qu'un extrait aqueux de mélisse inhiberait l'activité de la *Thyroid Stimulating Hormon* (TSH) en empêchant sa fixation sur ses récepteurs, induisant une hypothyroïdie, mais cela n'a pas été montré dans les études cliniques (Santini *et al.*, 2003 ; EMA, 2007).

### 2.3. Dermo-allergie

L'oxyde de caryophyllène, produit de l'oxydation du  $\beta$ -caryophyllène présent dans l'huile essentielle\* de mélisse et de valériane, est à l'origine d'une sensibilisation de la peau chez les cochons d'inde. Cette activité allergisante est toutefois faible car il est rapidement dégradé en une molécule plus stable et donc moins réactive (Skold *et al.*, 2006). De même, en application locale, le citral (concentration supérieure à 1 %) provoque une sensibilisation de la peau (Mesa-Arango *et al.*, 2009). Comme toutes les huiles essentielles, il faut veiller à les diluer avant toute application externe afin de limiter le risque d'irritation cutanée.



## Conclusion et perspectives

Depuis des siècles, la mélisse et la valériane sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés sédatives. Des études sont menées depuis des dizaines d'années afin d'établir si les propriétés de ces deux plantes peuvent être argumentées scientifiquement. Il est donc désormais admis que de nombreux systèmes sont impliqués dans cette activité. Il s'avère que le système GABAergique intervient de façon prépondérante. Cependant, les systèmes sérotoninergique et glutamatergique participent aussi. La composition chimique de *M. officinalis* et *V. officinalis* est très riche, et nombre de leurs constituants ont été étudiés indépendamment dans le but de déterminer celui ou ceux qui seraient à l'origine de l'action pharmacologique. Plusieurs molécules, telles que l'acide valérénique, le citral et l'acide rosmarinique, jouent un rôle majeur. Des actions anti-inflammatoire, antioxydante, spasmolytique, entre autres, ont aussi été démontrées. Des perspectives autres que thérapeutiques ont également été explorées notamment dans le domaine phytosanitaire.

La mélisse et la valériane ont largement prouvé leur efficacité. Cependant, il peut être difficile d'utiliser ces plantes en thérapeutique car leur composition est extrêmement variable et dépend de nombreux facteurs dont le mode de culture, le lieu, la saison, etc. Or, il est nécessaire d'avoir une constance dans la composition des produits afin d'obtenir un résultat thérapeutique fiable. Peut-être serait-il plus judicieux d'avoir recours aux extraits aqueux, de préférence, car ils sont ceux qui se rapprochent le plus de l'utilisation traditionnelle et qui offrent donc un meilleur recul. Qu'il s'agisse de poudre de plante entière ou d'extrait, ceux-ci doivent être normalisés, c'est-à-dire que leur composition doit être stable d'un lot à l'autre. Dans ce cas, il convient de déterminer quelle(s) molécule(s) constitue(nt) la matière active de la plante afin de convenir d'une teneur minimale que doit contenir le produit pour garantir son efficacité.

De nombreux composés identifiés dans la mélisse et la valériane possèdent une activité pharmacologique démontrée. C'est le cas de l'acide valérénique, composé notable présent dans la valériane. Celui-ci possède en effet une forte affinité pour les récepteurs GABA, ce qui confère une activité sédative aux racines de valériane. Il en va de même pour l'acide rosmarinique présent dans les feuilles de mélisse et de sa puissante activité antioxydante. Par ailleurs, d'autres molécules apparaissent comme ayant des propriétés pharmacologiques similaires voire complémentaires. C'est le cas du citral, du  $\beta$ -caryophyllène, du bornéol, de l'eugénol, des acides ursolique et oléanolique entre autres. De ce fait, les activités décrites



s'expliquent sûrement, non pas par un ou deux composés actifs, mais plutôt par une synergie entre les constituants de la plante. Cependant au sein de la plante ou des extraits, il peut aussi exister des interactions entre les composés, les rendant moins disponibles et donc moins efficaces.

*M. officinalis* et *V. officinalis* possèdent donc une réelle activité pharmacologique et la plupart des études menées, sur la plante entière, un extrait ou leurs composés pris séparément, le prouvent. C'est avec assurance que l'on peut conseiller ces deux plantes à l'officine car elles ont prouvé leur efficacité dans le traitement des troubles mineurs du sommeil et de l'anxiété légère. La mélisse et la valériane ne font pas figure d'exception dans le monde végétal. D'autres plantes, déjà utilisées traditionnellement, offrent de nombreuses possibilités thérapeutiques. Il serait intéressant que d'autres plantes soient ainsi étudiées afin de conseiller au mieux les patients en phytothérapie\* notamment dans le domaine des troubles du sommeil et de l'anxiété afin de constituer une réelle alternative aux benzodiazépines. D'autres propriétés intéressantes, antioxydant et anti-inflammatoire notamment, méritent d'être plus approfondies afin d'envisager une extension de l'usage de la mélisse et de la valériane à d'autres pathologies.

Par ailleurs, l'action sur les récepteurs du GABA et du glutamate, chez l'insecte, ouvre de nouvelles perspectives d'utilisation, notamment en agriculture. L'avenir verra peut-être se multiplier les produits à base de mélisse et/ou de valériane dans la lutte contre les insectes. Pour les producteurs de mélisse et de valériane l'enjeu économique est important. En effet, si la mélisse et la valériane rencontrent un grand succès dans le domaine médical et agricole, la demande risque d'augmenter. Les produits phytosanitaires d'origine végétale présentent un intérêt majeur car il est parfaitement concevable qu'il existe des systèmes de dégradation déjà présents dans la nature pour ces composés végétaux puisqu'ils sont naturellement présents. De ce fait, ils pourraient être répandus dans l'environnement sans risque que cela n'affecte l'écosystème. Toutefois, des quantités maximales devraient être déterminées afin de ne pas saturer ces systèmes d'épuration et voir apparaître une éventuelle pollution. Malgré tout, des études de toxicité doivent être menées et un risque d'accumulation dans la chaîne alimentaire doit être éliminé, pour qu'ils puissent être utilisés sans danger pour l'homme. Les systèmes



pharmacologiques sur lesquels agissent ces biopesticides ne devraient pas être communs aux mammifères et aux insectes. L'idéal serait de trouver des composés naturels spécifiques des cibles visées. Les composés de la mélisse et de la valériane ne sont pas très efficaces contre les insectes, mais ils peuvent servir de base à la synthèse de molécules plus spécifiques. C'est tout l'enjeu de la recherche dans ce domaine.



## Bibliographie

**AFSSAPS** (1998) - *Les médicaments à base de plantes (avis aux fabricants) - Cahiers de l'Agence n°3* - Saint-Denis : - 81 p.

**AFSSAPS** (2011) - *Répertoire des spécialités pharmaceutiques* [En ligne] - <http://afssaps-prd.afssaps.fr/php/ecodex/index.php> (consulté le 19 septembre 2011)

**AGATA I., KUSAKABE H., HATANO T., NISHIBE S. et OKUDA T.** (1993) - *Melitic acids A and B, new trimeric caffeic acid derivatives from Melissa officinalis* - Chem. Pharm. Bull, 41 (9) - p. 1608-1611

**AHN J. et EHRENPREIS E. D.** (2002) - *Emerging treatments for irritable bowel syndrome* - Expert Opin Pharmacother, 3 (1) - p. 9-21

**AKHONZADEH S., NOROOZIAN M., MOHAMMADI M., OHADINIA S., JAMSHIDI A. H. et KHANI M.** (2003) - *Melissa officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease : a double blind, randomised, placebo controlled trial* - J Neurol Neurosurg Psychiatry, 74 - p. 863-866

**ALLAHVERDIYEV A., DURAN N., OZGUVEN M. et KOLTAS S.** (2004) - *Antiviral activity of the volatile oils of Melissa officinalis L. against Herpes simplex virus type-2* - Phytomedicine, 11 - p. 657-661

**ANDERSON G. D., ELMER G. W., TAIBI D. M., VITIELLO M. V., KANTOR E., KALHORN T. F., HOWALD W. N., BARNES S. et LANDIS C. A.** (2010) - *Pharmacokinetics of valerianic acid after single and multiple doses of valerian in older women* - Phytother Res, 24 - p. 1442-1446

**AOSHIMA H. et HAMAMOTO K.** (1999) - *Potentiation of GABA-A receptors expressed in Xenopus oocytes by perfume and phytoncid* - Biosci Biotechnol Biochem, 63 - p. 743-748

**AWAD R., LEVAC D., CYBULSKA P., MERALI Z., TRUDEAU V. et ARNASON J.** (2007) - *Effects of traditionally used botanicals on enzymes of the gamma-aminobutyric acid (GABA) system* - Can J Physiol Pharmacol, 85 - p. 933-942

**AWAD R., MUHAMMAD A., DURST T., TRUDEAU V. L. et ARNASON J. T.** (2009) - *Bioassay-guided fractionation of lemon balm (Melissa officinalis L.) using an in vitro measure of GABA transaminase activity* - Phytother Res, 23 - p. 1075-1081

**BABULKA P.** (2005) - *La mélisse (Melissa officinalis L.)* - Phytothérapie, 3 - p. 114-117

**BAHTIYARCA BAGDAT R. et COSGE B.** (2006) - *The essential oil of lemon balm (Melissa officinalis L.), its components and using fields* - OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21 (1) - p. 116-121

**BEATTIE D. T. et SMITH J. A.** (2008) - *Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract : a review* - Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 377 - p. 181-203

**BENKE D., BARBERIS A., KOPP S., ALTMANN K. H., SCHUBIGER M., VOGT K. E., RUDOLPH U. et MOHLER H.** (2009) - *GABA A receptors as in vivo substrate for the anxiolytic action of valerianic acid, a major constituent of valerian root extracts* - Neuropharmacology, 56 - p. 174-181

**BENT S., PADULA A., MOORE D., PATTERSON M. et MEHLING W.** (2006) - *Valerian for sleep : a systematic review and meta-analysis* - Am J Med, 119 - p. 1005-1012

**BETTLER B., KAUPMANN K., MOSBACHER J. et GASSMANN M.** (2004) - *Molecular structure and physiological functions of GABA-B receptors* - Physiol Rev, 84 - p. 835-867

**BISBY F. A., ROSKOV Y. R., ORRELL T. M., NICOLSON D., PAGLINAWAN L. E., BAILLY N., KIRK P. M., BOURGOIN T., BAILLARGEON G. et OUVREARD D.** (2011) - *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life : 2011 Annual Checklist* [En ligne] - <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2011> (consulté le 6 juillet 2011)

**BISSINGER B. W. et ROE R. M.** (2010) - *Tick repellents : Past, present, and future* - Pestic Biochem Phys, 96 - p. 63-79

**BOLKENT S., YANARDAG R., KARABULUT-BULAN O. et YESILYAPRAK B.** (2005) - *Protective role of Melissa officinalis L. extract on liver of hyperlipidemic rats : a morphological and biochemical study* - J Ethnopharmacol, 99 - p. 391-398

**BOS R.** (1997) - *Analytical and phytochemical studies on valerian and valerian based preparations* - Thèse de doctorat : Mathématiques et Sciences Naturelles, Groningen - 184 p.

**BOS R., HENDRIKS H., SCHEFFER J. J. C. et WOERDENBAG H. J.** (1998) - *Cytotoxic potential of valerian constituents and valerian tinctures* - Phytomedicine, 5 (3) - p. 219-225

**BOS R., WOERDENBAG H. J., HENDRIKS H. et SCHEFFER J. J. C.** (1997) - *Composition of the essential oils from underground parts of Valeriana officinalis L. s.l. and several closely related taxa* - Flavour and fragrance journal, 12 (5) - p. 359-370



- BRUNETON J.** (2009) - *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales* - 4<sup>ème</sup> édition - Paris : Editions Tec & Doc - 1269 p.
- BUCHBAUER G., JIROVETZ L., JAGER W., PLANK C. et DIETRICH H.** (1993) - *Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation* - J Pharm Sci, 82 - p. 660-664
- CABRAL M. M., AZAMBUJA P., GOTTLIEB O. R. et GARCIA E. S.** (2000) - *Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus** - Fitoterapia, 71 - p. 1-9
- CABRAL M. M. O., KELECOM A. et GARCIA E. S.** (1999) - *Effects of the lignan, pinoreosinol on the moulting cycle of the bloodsucking bug *Rhodnius prolixus* and of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus** - Fitoterapia, 70 - p. 561-567
- CAPASSO F., GAGINELLA T. S., GRANDOLINI G. et IZZO A. A.** (2003) - *Phytotherapy : A quick reference to herbal medicine* - Berlin : Springer - 424 p.
- CARNAT A. P., CARNAT A., FRAISSE D. et LAMAISON J. L.** (1998) - *The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea* - Pharm Acta Helv, 72 - p. 301-305
- CERNY A. et SCHMID K.** (1999) - *Tolerability and efficacy of valerian/lemon balm in healthy volunteers (a double-blind, placebo-controlled, multicentre study)* - Fitoterapia, 70 - p. 221-228
- CHO J. Y., HWANG J. K. et CHUN H. S.** (2011) - *Xanthorrhizol attenuates dextran sulfate sodium-induced colitis via the modulation of the expression of inflammatory genes in mice* - Life Sci, 88 - p. 864-870
- CHO Y. C., KIM H. J., KIM Y. J., LEE K. Y., CHOI H. J., LEE I. S. et KANG B. Y.** (2008) - *Differential anti-inflammatory pathway by xanthohumol in IFN-gamma and LPS-activated macrophages* - Int Immunopharmacol, 8 (4) - p. 567-573
- CHOI J. S.** (1991) - *Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus Davidiana** - J Nat Prod, 54 - p. 218-224
- CHUNG W. Y., PARK J. H., KIM M. J., KIM H. O., HWANG J. K., LEE S. K. et PARK K. K.** (2007) - *Xanthorrhizol inhibits 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced acute inflammation and two-stage mouse skin carcinogenesis by blocking the expression of ornithine decarboxylase, cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase through mitogen-activated protein kinases and/or the nuclear factor-kappa B* - Carcinogenesis, 28 - p. 1224-1231
- CLÉMENT R.-P.** (2005) - *Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1<sup>ère</sup> partie)* - Phytothérapie, 4 - p. 171-175
- COMMISSION EUROPÉENNE** (2011) - *Europa : Le portail de l'Union Européenne* [En ligne] - <http://www.europa.eu> (consulté le 19 juillet 2011)
- DASTMALCHI K., DORMAN H. J. D., OINONEN P. P., DARWIS Y., LAAKSO I. et HILTUNEN R.** (2008) - *Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract* - LWT, 41 - p. 391-400
- DASTMALCHI K., OLLILAINEN V., LACKMAN P., BOLJE AF GENNAS G., DORMAN H. J., JARVINEN P. P., YLI-KAUHALUOMA J. et HILTUNEN R.** (2009) - *Acetylcholinesterase inhibitory guided fractionation of *Melissa officinalis* L* - Bioorg Med Chem, 17 - p. 867-871
- DEFRANCO A. L., LOCKSLEY R. M. et ROBERTSON M.** (2009) - *Immunité : La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires* - Bruxelles : De Boeck Supérieur - 400 p.
- DEL VALLE-MOJICA L. M., CORDERO-HERNANDEZ J. M., GONZALEZ-MEDINA G., RAMOS-VELEZ I., BERRIOS-CARTAGENA N., TORRES-HERNANDEZ B. A. et ORTIZ J. G.** (2010) - *Aqueous and Ethanolic Valeriana officinalis Extracts Change the Binding of Ligands to Glutamate Receptors* - Evid Based Complement Alternat Med, 2011 - p. 1-7
- DELAMARE J.** (2006) - *Dictionnaire abrégé des termes de médecine* - 5<sup>ème</sup> édition - Paris : Editions Maloine - 510 p.
- DEQM** (2011) - *Pharmacopée Européenne* - VII<sup>ème</sup> édition - Strasbourg : Conseil de l'Europe - 2976 p.
- DICTIONNAIRE LAROUSSE** (2011) - *Larousse.fr : encyclopédie collaborative et dictionnaires gratuits en ligne* [En ligne] - <http://www.larousse.fr/> (consulté le 19 juillet 2011)
- DIETZ B. M., MAHADY G. B., PAULI G. F. et FARNSWORTH N. R.** (2005) - *Valerian extract and valerenic acid are partial agonists of the 5-HT<sub>5A</sub> receptor in vitro* - Brain Res Mol Brain Res, 138 - p. 191-7



- DOROSZ P., VITAL DURAND D. et LE JEUNNE C.** (2011) - *Guide pratique des médicaments - 30<sup>ème</sup> édition* - Paris : Maloine - 1892 p.
- EAU DES CARMES BOYER** (2011) - *Eau de mélisse* [En ligne] - <http://www.eaudemelisse.com> (consulté le 20 juillet 2011)
- ECHEVERRIGARAY S., ZACARIA J. et BELTRAO R.** (2009) - *Nematicidal activity of monoterpenoids against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita** - *Phytopathology*, 100 - p. 199-203
- EFSA** (2008) - *Utilisation d'extraits de romarin en tant qu'additif alimentaire : Avis du groupe scientifique sur les additifs alimentaires, les arômes, les auxiliaires technologiques et les matériaux en contact avec les aliments* - *The EFSA Journal*, 721 - p. 1-4
- EMA** (2005) - *Community Herbal Monograph on Valerian root (*Valeriana, radix*)* - Londres : EMA - 5 p.
- EMA** (2007) - *Community Herbal Monograph on *Melissa officinalis* L., Folium* - Londres : EMA - 5 p.
- EMAMGHOREISHI M. et TALEBIANPOUR M. S.** (2009) - *Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test* - *DARU J Pharm Sci*, 17 (1) - p. 42-47
- EMAMI-ABARGHOUEI M., A.VAFAEI A., AKHAVAN M. M., TAHERIAN A. A. et SABERIAN E.** (2009) - *The effect of hydro-alcoholic extract of *Valeriana officinalis* on the ileum movement of guinea pig* - *J Gorgan Uni Med Sci*, 11 (2) - p. 1-5
- ENZ R. et CUTTING G. R.** (1998) - *Molecular composition of GABA-C receptors* - *Vision Res*, 38 - p. 1431-1441
- EUROPEAN SCIENTIFIC COOPERATIVE ON PHYTOTHERAPY** (2009) - *ESCOP MONOGRAPHS The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products - 2<sup>nd</sup> edition* - United Kingdom : Thieme - 306 p.
- EWEN-CAMPEN B., SHANER N., PANFILIO K. A., SUZUKI Y., ROTH S. et EXTAVOUR C. G.** (2011) - *The maternal and early embryonic transcriptome of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus** - *BMC Genomics*, 12 - p. 61
- FEHRENBACHER J. C., VASKO M. R. et DUARTE D. B.** (2012) - *Models of Inflammation : Carrageenan - or Complete Freund's Adjuvant (CFA) - Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat* - John Wiley & Sons, Inc. - *Current Protocols in Pharmacology* - p. 5.4.1-5.4.7
- FERNANDEZ-SAN-MARTIN M. I., MASA-FONT R., PALACIOS-SOLER L., SANCHO-GOMEZ P., CALBO-CALDENTY C. et FLORES-MATEO G.** (2010) - *Effectiveness of Valerian on insomnia: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials* - *Sleep Med*, 11 - p. 505-511
- FILIERE DES PLANTES MÉDICINALES BIOLOGIQUES DU QUÉBEC** (2003) - *La mélisse officinale : Guide de production sous régie biologique* - Sherbrooke - 16 p.
- FILIERE DES PLANTES MÉDICINALES BIOLOGIQUES DU QUÉBEC** (2010) - *La valériane officinale : Guide de production sous régie biologique* - Québec - 17 p.
- GELLER F., SCHMIDT C., GOTTERT M., FRONZA M., SCHATTEL V., HEINZMANN B., WERZ O., FLORES E. M., MERFORT I. et LAUFER S.** (2010) - *Identification of rosmarinic acid as the major active constituent in *Cordia americana** - *J Ethnopharmacol*, 128 - p. 561-566
- GERTSCH J., LEONTI M., RADUNER S., RACZ I., CHEN J. Z., XIE X. Q., ALTMANN K. H., KARSAK M. et ZIMMER A.** (2008) - *Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid* - *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105 - p. 9099-9104
- GEUENICH S., GOFFINET C., VENZKE S., NOLKEMPER S., BAUMANN I., PLINKERT P., REICHLING J. et KEPPLER O. T.** (2008) - *Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density* - *Retrovirology*, 5 - p. 27
- GHEDIRA K., GOETZ P. et LE JEUNE R.** (2008) - **Valeriana officinalis* L.* - *Phytothérapie*, 6 - p. 253-257
- GRANGER R. E., CAMPBELL E. L. et JOHNSTON G. A.** (2005) - *(+)- And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant  $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$  GABA-A receptors* - *Biochem Pharmacol*, 69 - p. 1101-1111
- GRUENWALD J., BRENDLER T. et JAENICKE C.** (2007) - *Physician's Desk Reference (PDR) for herbal medicines - 4<sup>ème</sup> édition* - Montval : Thompson - 1026 p.
- GUIGNARD J.-L., COSSON L. et HENRY M.** (1985) - *Abrégé de phytochimie* - Paris : Masson - 224 p.
- HATTESOHL M., FEISTEL B., SIEVERS H., LEHNFELD R., HEGGER M. et WINTERHOFF H.** (2008) - *Extracts of *Valeriana officinalis* L. s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties* - *Phytomedicine*, 15 - p. 2-15



- HAZELHOFF B., SMITH D., MALINGRI T. M. et HENDRIKS H.** (1979) - *The essential oil of Valeriana officinalis L. s.l.* - Pharm Weekbl Sci, I - p. 71-77
- HERODEZ S. S., HADOLINB M., SKERGETA M. et KNEZ Z.** (2003) - *Solvent extraction study of antioxidants from Balm (Melissa officinalis L.) leaves* - Food Chem, 80 - p. 275 - 282
- HOSSAIN S. J., HAMAMOTO K., AOSHIMA H. et HARA Y.** (2002) - *Effects of tea components on the response of GABA-A receptors expressed in Xenopus Oocytes* - J Agric Food Chem, 50 - p. 3954-3960
- HUNAN MEDICAL INSTITUTE** (1975) - *Pharmacological studied of hepatoprotective compounds from Swertia mileensis* - Traditional Medicine (Zhong Chao Yao), 6 - p. 47-62
- JOHANSON J. F.** (2004) - *Options for patients with irritable bowel syndrome: contrasting traditional and novel serotonergic therapies* - Neurogastroenterol Motil, 16 (6) - p. 701-711
- JUNG H. W., MAHESH R., LEE J. G., LEE S. H., KIM Y. S. et PARK Y. K.** (2010) - *Pinosesinol from the fruits of Forsythia koreana inhibits inflammatory responses in LPS-activated microglia* - Neuroscience Letters, 480 - p. 215-220
- KALOUSTIAN J., CHEVALIER J., MIKAIL C., MARTINO M., ABOU L. et VERGNES M.-F.** (2008) - *Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne* - Phytothérapie, 6 - p. 160-164
- KATO-NOGUCHI H.** (2001) - *Effects of lemon balm (Melissa officinalis L.) extract on germination and seedling growth of six plants* - Acta Physiol Plant, 23 (1) - p. 49-53
- KATZUNG B. G.** (2006) - *Pharmacologie fondamentale et clinique - 9<sup>ème</sup> édition* - Padoue : Piccin Nuova Libreria - 1169 p.
- KENNEDY D. O., LITTLE W., HASKELL C. F. et SCHOLEY A. B.** (2006) - *Anxiolytic effects of a combination of Melissa officinalis and Valeriana officinalis during laboratory induced stress* - Phytother Res, 20 - p. 96-102
- KHOM S., BABURIN I., TIMIN E., HOHAUS A., TRAUNER G., KOPP B. et HERING S.** (2007) - *Valerenic acid potentiates and inhibits GABA-A receptors: molecular mechanism and subunit specificity* - Neuropharmacology, 53 - p. 178-187
- KHOM S., STROMMER B., RAMHARTER J., SCHWARZ T., SCHWARZER C., ERKER T., ECKER G. F., MULZER J. et HERING S.** (2010) - *Valerenic acid derivatives as novel subunit-selective GABA-A receptor ligands - in vitro and in vivo characterization* - Br J Pharmacol, 161 - p. 65-78
- KRAUSZ M.** (2009) - *Inventaire des superficies françaises en plantes aromatiques et médicinales : Résultats 2008* - France : Comité des Plantes à Parfum Aromatiques et Médicinales - 12 p.
- LACHER S. K., MAYER R., SICHARDT K., NIEBER K. et MÜLLER C. E.** (2007) - *Interaction of valerian extracts of different polarity with adenosine receptors : Identification of isovaltrate as an inverse agonist at A1 receptors* - Biochem Pharmacol, 73 - p. 248-258
- LAROUSSE** (2008) - *Le Larousse des noms propres* - Paris : Editions Larousse - 1526 p.
- LEBOUVIER T.** (2008) - *Système nerveux entérique et maladie de Parkinson* - Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine : DES de Neurologie, Nantes - 83 p.
- LEE S. K., HONG C. H., HUH S. K., KIM S. S., OH O. J., MIN H. Y., PARK K. K., CHUNG W. Y. et HWANG J. K.** (2002) - *Suppressive effect of natural sesquiterpenoids on inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) activity in mouse macrophage cells* - J Environ Pathol Toxicol Oncol, 21 (2) - p. 141-148
- LIU J.** (1995) - *Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid* - J Ethnopharmacol, 49 - p. 57-68
- LOPEZ V., MARTIN S., GOMEZ-SERRANILLOS M. P., CARRETERO M. E., JAGER A. K. et CALVO M. I.** (2009) - *Neuroprotective and neurological properties of Melissa officinalis* - Neurochem Res, 34 - p. 1955-1961
- LÜLLEMANN H., MOHR K. et HEIN L.** (2010) - *Atlas de poche de pharmacologie - 4<sup>ème</sup> édition* - Paris : Lavoisier - 394 p.
- LUMPKIN E. A. et CATERINA M. J.** (2007) - *Mechanisms of sensory transduction in the skin* - Nature, 445 - p. 858-865
- MATA R., MARTINEZ E., BYE R., MORALES G., SINGH M. P., JANSO J. E., MAIESE W. M. et TIMMERMANN B.** (2001) - *Biological and mechanistic activities of xanthorizol and 4-(1',5'-dimethylhex-4'-enyl)-2-methylphenol isolated from Iostephane heterophylla* - J Nat Prod, 64 - p. 911-914
- MENCHERINI T., PICERNO P., SCESA C. et AQUINO R.** (2007) - *Triterpene, antioxidant, and antimicrobial compounds from Melissa officinalis* - J Nat Prod, 70 - p. 1889-1894



- MESA-ARANGO A. C., MONTIEL-RAMOS J., ZAPATA B., DURAN C., BETANCUR-GALVIS L. et STASHENKO E.** (2009) - *Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian Lippia alba (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity* - Mem Inst Oswaldo Cruz, 104 - p. 878-884
- MEYER S., REEB C. et BOSDEVEIX R.** (2008) - *Botanique : Biologie et physiologie végétales - 2ème édition* - Paris : Editions Maloine - 490 p.
- MILLER R., J.OWENS S. et RØRSLETT B.** (2011) - *Plants and colour : Flowers and pollination* - Opt Laser Technol, 43 - p. 282-294
- MORAN M. M., MCALEXANDER M. A., BIRO T. et SZALLASI A.** (2011) - *Transient receptor potential channels as therapeutic targets* - Nat Rev Drug Discov, 10 - p. 601-620
- MULLER S. F. et KLEMENT S.** (2006) - *A combination of valerian and lemon balm is effective in the treatment of restlessness and dyssomnia in children* - Phytomedicine, 13 - p. 383-387
- MURPHY K., KUBIN Z. J., SHEPHERD J. N. et ETTINGER R. H.** (2010) - *Valeriana officinalis root extracts have potent anxiolytic effects in laboratory rats* - Phytomedicine, 17 - p. 674-678
- NADJI B.** (2010) - *Dérivés phénolique à activités antiathérogènes* - Thèse de doctorat : Chimie - Biologie - Santé, Université de Toulouse - 244 p.
- NICHOLS D. E. et NICHOLS C. D.** (2008) - *Serotonin receptors* - Chem Rev, 108 - p. 1614-1641
- OLIVARES E. G., MUNOZ R., TEJERIZO G., MONTES M. J., GOMEZ-MOLINA F. et ABADIA-MOLINA A. C.** (2002) - *Decidual lymphocytes of human spontaneous abortions induce apoptosis but not necrosis in JEG-3 extravillous trophoblast cells* - Biology of Reproduction, 67 - p. 1211-1217
- OLLIER C.** (2011) - *Le conseil en phytothérapie - 2ème édition* - Reuil-Malmaison : Editions Pro-Officina - 178 p.
- OLSEN R. W. et TOBIN A. J.** (1990) - *Molecular biology of GABAA receptors* - Faseb J, 4 - p. 1469-1480
- OMS** (1999a) - *WHO monographs on selected medicinal plants - Volume 2* - Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) - 357 p.
- OMS** (1999b) - *WHO monographs on selected medicinal plants - Volume 1* - Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) - 295 p.
- OMS** (2011a) - *Dix faits et chiffres sur le VIH/sida* [En ligne] - <http://www.who.int/features/factfiles/hiv/fr/index.html> (consulté le 21 mars 2012)
- OMS** (2011b) - *The world medicines situation 2011 : Traditionnal medicines : Global Situation, issues and challenges - 3ème édition* - Genève : Department for International Development (DFID) - 12 p.
- ORHAN I. et ASLAN M.** (2009) - *Appraisal of scopolamine-induced antiamnesic effect in mice and in vitro antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of some traditionally used Lamiaceae plants* - J Ethnopharmacol, 122 - p. 327-332
- PATOČKA J. et JAKL J.** (2010) - *Biomedically relevant chemical constituents of Valeriana officinalis* - J Appl Biomed, 8 - p. 11-18
- PAVELA R.** (2004) - *Insecticidal activity of certain medicinal plants* - Fitoterapia, 75 - p. 745-749
- PEDERSEN S. F., OWSIANIK G. et NILIUS B.** (2005) - *TRP channels : an overview* - Cell Calcium, 38 - p. 233-252
- 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 : Génie des Procédés et de l'Environnement, Université de Toulouse - 239 p.
- PEREIRA P., TYSKA D., OLIVEIRA P., DA SILVA BRUM L. F., PICADA J. N. et ARDENGHI P.** (2005) - *Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid* - Pharmacol Res, 52 - p. 199-203
- PERROT E. et PARIS R.** (1971) - *Les plantes médicinales - Tome 2* - France : Presses Universitaires de France - 117 p.
- PETERSEN M., ABDULLAH Y., BENNER J., EBERLE D., GEHLEN K., HUCHERIG S., JANIAK V., KIM K. H., SANDER M., WEITZEL C. et WOLTERS S.** (2009) - *Evolution of rosmarinic acid biosynthesis* - Phytochemistry, 70 - p. 1663-1679
- PETERSEN M. et SIMMONDS M. S. J.** (2003) - *Rosmarinic acid* - Phytochemistry, 62 - p. 121-125
- PONCE-MONTER H., FERNANDEZ-MARTINEZ E., ORTIZ M. I., RAMIREZ-MONTIEL M. L., CRUZ-ELIZALDE D., PEREZ-HERNANDEZ N. et CARIÑO-CORTES R.** (2010) - *Spasmolytic and anti-inflammatory effects of Aloysia triphylla and citral, in vitro and in vivo studies* - J Smooth Muscle Res, 46 (6) - p. 309-319



- RAYMOND-DELPECH V., MATSUDA K., SATTELLE B. M., RAUH J. J. et SATTELLE D. B.** (2005) - *Ion channels : molecular targets of neuroactive insecticides* - *Invert Neurosci*, 5 - p. 119-133
- RAYMOND V. et SATTELLE D. B.** (2002) - *Novel animal-health drug targets from ligand-gated chloride channels* - *Nat Rev Drug Discov*, 1 - p. 427-436
- REGNAULT-ROGER C., PHILOGÈNE B. et VINCENT C.** (2008) - *Biopesticides d'origine végétale - 2ème édition* - Paris : Tec & Doc - 546 p.
- REZVANI M. E., ROOHBAKHSH A., ALLAHTAVAKOLI M. et SHAMSIZADEH A.** (2010) - *Anticonvulsant effect of aqueous extract of Valeriana officinalis in amygdala-kindled rats: possible involvement of adenosine* - *J Ethnopharmacol*, 127 - p. 313-318
- RIBEIRO M. A., BERNARDO-GIL M. G. et ESQUIVEL M. M.** (2001) - *Melissa officinalis L.: study of antioxidant activity in supercritical residues* - *J Supercrit Fluid*, 21 - p. 51-60
- ROGERIO A. P., ANDRADE E. L., LEITE D. F. P., FIGUEIREDO C. P. et CALIXTO J. B.** (2009) - *Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene  $\alpha$ -humulene in experimental airways allergic inflammation* - *Brit J Pharmacol*, 158 - p. 1074-1087
- ROTH F. C. et DRAGUHN A.** (2012) - *GABA metabolism and transport : effects on synaptic efficacy* - *Neural Plast*, 2012 - p. 1-12
- SADRAEI H., GHANNADI A. et MALEKSHAHI K.** (2003) - *Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions* - *Fitoterapia*, 74 - p. 445-452
- SALTER S. et BROWNIE S.** (2010) - *Treating primary insomnia - the efficacy of valerian and hops* - *Aust Fam Physician*, 39 - p. 433-437
- SANTINI F., VITTI P., CECCARINI G., MAMMOLI C., ROSELLINI V., PELOSINI C., MARSILI A., TONACCHERA M., AGRETTI P., SANTONI T., CHIOVATO L. et PINCHERA A.** (2003) - *In vitro assay of thyroid disruptors affecting TSH-stimulated adenylate cyclase activity* - *J Endocrinol Invest*, 26 (10) - p. 950-955
- SARI A. O. et CEYLAN 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 - p. 217-224
- SARRIS J. et BYRNE G. J.** (2010) - *A systematic review of insomnia and complementary medicine* - *Sleep Med Rev*, 15 - p. 99-106
- SCHNITZLER P., SCHUHMACHER A., ASTANI A. et REICHLING J.** (2008) - *Melissa officinalis oil affects infectivity of enveloped herpesviruses* - *Phytomedicine*, 15 - p. 734-740
- SCHROEDER F. C., DEL CAMPO M. L., GRANT J. B., WEIBEL D. B., SMEDLEY S. R., BOLTON K. L., MEINWALD J. et EISNER T.** (2006) - *Pinosresinol: A lignol of plant origin serving for defense in a caterpillar* - *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 - p. 15497-15501
- SECRETARIAT GÉNÉRAL DU GOUVERNEMENT** (2011) - *Légifrance - Le service public de la diffusion du droit* [En ligne] - <http://www.legifrance.gouv.fr/> (consulté le 13 avril 2012)
- SENSCH O., VIERLING W., BRANDT W. et REITER M.** (2000) - *Effects of inhibition of calcium and potassium currents in guinea-pig cardiac contraction: comparison of beta-caryophyllene oxide, eugenol, and nifedipine* - *Br J Pharmacol*, 131 - p. 1089-1096
- SIMMONDS M. S.** (2003) - *Flavonoid-insect interactions : recent advances in our knowledge* - *Phytochemistry*, 64 - p. 21-30
- SKOLD M., KARLBERG A. T., MATURA M. et BORJE A.** (2006) - *The fragrance chemical beta-caryophyllene - air oxidation and skin sensitization* - *Food Chem Toxicol*, 44 - p. 538-545
- SMITH G. D., GUNTHORPE M. J., KELSELL R. E., HAYES P. D., REILLY P., FACER P., WRIGHT J. E., JERMAN J. C., WALHIN J. P., OOI L., EGERTON J., CHARLES K. J., SMART D., RANDALL A. D., ANAND P. et DAVIS J. B.** (2002) - *TRPV3 is a temperature-sensitive vanilloid receptor-like protein* - *Nature*, 418 - p. 186-190
- STOTZ S. C., VRIENS J., MARTYN D., CLARDY J. et CLAPHAM D. E.** (2008) - *Citral sensing by Transient receptor potential channels in dorsal root ganglion neurons* - *PLoS One*, 5 (3) - p. 1-14
- TAIBI D. M., LANDIS C. A., PETRY H. et VITIELLO M. V.** (2007) - *A systematic review of valerian as a sleep aid : safe but not effective* - *Sleep Med Rev*, 11 - p. 209-230
- TALBERT M., WILLOQUET G. et GERVAIS R.** (2008) - *Guide Pharmaco : Pharmaciens et étudiants en pharmacie - 8ème édition* - Rueil-Malmaison : Wolters Kluwer France - 1285 p.



- TEUSCHER E., ANTON R. et LOBSTEIN A.** (2005) - *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles* - Paris : Editions Tec&Doc - 522 p.
- THOBY C.** (2009) - *La mélisse officinale, Melissa officinalis L.* - Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes, n°18 - 136 p.
- TUCKER A. O. et TUCKER S. S.** (1988) - *Catnip and the catnip response* - *Econ Bot*, 42 (2) - p. 214-231
- VAY L., GU C. et MCNAUGHTON P. A.** (2011) - *The thermo-TRP ion channel family : properties and therapeutic implications* - *Br J Pharmacol*, 165 - p. 787-801
- VIAL B.** (1998) - *Botanique médicale* - Paris : Editions Similia - 415 p.
- VIDAL** (2011) - *eVidal* [En ligne] - <http://www.evidal.net> (consulté le 2 septembre 2011)
- VIDAL** (2012) - *eVidal* [En ligne] - <http://www.evidal.net> (consulté le 11 juillet 2012)
- VOGT-EISELE A. K., WEBER K., SHERKHELI M. A., VIELHABER G., PANTEN J., GISSELMANN G. et HATT H.** (2007) - *Monoterpenoid agonists of TRPV3* - *Br J Pharmacol*, 151 - p. 530-540
- VRIENS J., NILIUS B. et VENNEKENS R.** (2008) - *Herbal compounds and toxins modulating TRP channels* - *Curr Neuropharmacol*, 6 - p. 79-96
- WANG X., MA A., SHI W., GENG M., ZHONG X. et ZHAO Y.** (2010) - *Quercetin and Bornyl Acetate Regulate T-Lymphocyte Subsets and INF-gamma/IL-4 Ratio In Utero in Pregnant Mice* - *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011 - p. 1-7
- WICHTL M. et ANTON R.** (2003) - *Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique* - 2<sup>ème</sup> édition - Paris : Editions Tec&Doc - 691 p.
- XAGORARI A., PAPAPETROPOULOS A., MAUROMATIS A., ECONOMOU M., FOTSIS T. et ROUSSOS C.** (2001) - *Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages* - *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 296 - p. 181-187
- XIE L.-H., AKAO T., HAMASAKI K., DEYAMA T. et HATTORI M.** (2003) - *Biotransformation of Pinorensinol Diglucoside to Mammalian Lignans by Human Intestinal Microflora, and Isolation of Enterococcus faecalis Strain PDG-1 Responsible for the Transformation of (+)-Pinorensinol to (+)-Lariciresinol* - *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 51 - p. 508-515
- XU H., DELLING M., JUN J. C. et CLAPHAM D. E.** (2006) - *Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels* - *Nat Neurosci*, 9 (5) - p. 628-635
- YUAN C. S., MEHENDALE S., XIAO Y., AUNG H. H., XIE J. T. et ANG-LEE M. K.** (2004) - *The gamma-aminobutyric acidergic effects of valerian and valerenic acid on rat brainstem neuronal activity* - *Anesth Analg*, 98 - p. 353-358
- ZHAO Z. et MOGHADASIAN M. H.** (2010) - *Bioavailability of hydroxycinnamates : a brief review of in vivo and in vitro studies* - *Phytochem Rev*, 9 - p. 133-145



# Table des matières

<b>SOMMAIRE</b>	<b>11</b>
<b>TABLE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES</b>	<b>15</b>
<b>LEXIQUE</b>	<b>19</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>23</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	<b>25</b>
<b>AVANT-PROPOS</b>	<b>27</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>31</b>
<b>A. LA MÉLISSE (<i>MELISSA OFFICINALIS</i> L.)</b> .....	<b>33</b>
1. DESCRIPTION BOTANIQUE	33
2. HABITAT	35
3. CULTURE ET RÉCOLTE	35
4. UTILISATION TRADITIONNELLE ET CONTEMPORAINE	37
5. AUTHENTIFICATION ET ANALYSE DE LA DROGUE*	39
<b>B. LA VALÉRIANE (<i>VALERIANA OFFICINALIS</i> L.)</b> .....	<b>39</b>
1. DESCRIPTION BOTANIQUE	39
2. HABITAT	41
3. CULTURE	41
4. UTILISATION TRADITIONNELLE ET CONTEMPORAINE	43
5. AUTHENTIFICATION ET ANALYSE DE LA DROGUE*	43
<b>I. USAGES TRADITIONNELS ET ÉTUDES DES PROPRIÉTÉS THÉRAPEUTIQUES DE LA MÉLISSE ET DE LA VALÉRIANE</b>	<b>45</b>
<b>A. PROPRIÉTÉS DE LA MÉLISSE</b> .....	<b>45</b>
1. ANTALGIQUE DANS LES DOULEURS D'ORIGINE DIGESTIVE	45
1.1. Origine de la spasticité intestinale	47
1.2. Effet antispasmodique de la mélisse	47
2. EFFETS SUR LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	49
2.1. Effet anxiolytique	49
2.2. Effet antidépresseur	49
2.3. Sédatif et inducteur du sommeil	51
2.4. Intérêt chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer	51
3. ANTIOXYDANT	53
3.1. Intérêt dans le traitement des maladies neurodégénératives	53
3.2. Intérêt dans le traitement des hyperlipidémies	53
4. VIRUCIDE	55
4.1. Action sur le Virus d'Immunodéficience Humaine	55
4.1.1. Thérapeutiques existantes	55
4.1.2. Activité de la mélisse sur le VIH	55
4.2. Action sur l' <i>Herpes simplex virus</i>	57
4.2.1. Thérapeutiques existantes	57
4.2.2. Activité de la mélisse sur l'HSV	57
5. PHYTOSANITAIRE	59
5.1. Herbicide	59
5.2. Insecticide	59
<b>B. PROPRIÉTÉS DE LA VALÉRIANE</b> .....	<b>59</b>
1. EFFETS CLINIQUES	61
1.1. Anxiolytique	61



1.1.1. Thérapeutiques existantes	61
1.1.2. Activité anxiolytique sur le rat de laboratoire	61
1.2. Anticonvulsivant	61
1.2.1. Thérapeutiques existantes	61
1.2.2. Activité anticonvulsivante sur un modèle expérimental d'épilepsie	63
1.3. Hypnotique	65
1.4. Myorelaxant	65
2. EFFETS PHARMACOLOGIQUES	65
2.1. Interaction avec le système GABAergique	67
2.2. Interaction avec le système glutamatergique	67
<b>C. ÉTUDES D'UNE ASSOCIATION MÉLISSE-VALÉRIANE .....</b>	<b>69</b>
1. EFFETS SUR LES TROUBLES DU SOMMEIL	69
2. EFFETS FACE À UN STRESS INDUIT	69
3. EFFETS SUR DES SUJETS SAINS	71
<b>II. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MÉLISSE ET DE LA VALÉRIANE</b>	<b>73</b>
<hr/>	
<b>A. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA MÉLISSE .....</b>	<b>73</b>
1. COMPOSITION CHIMIQUE DES FEUILLES DE MÉLISSE	73
1.1. Acides phénoliques	73
1.1.1. Dérivés de l'acide benzoïque	73
1.1.2. Dérivés de l'acide cinnamique	73
1.1.3. Acide carnosique	75
1.2. Flavonoïdes	75
1.2.1. Hétérosides flavoniques	77
1.2.2. Hétérosides flavonoliques	77
1.3. Triterpènes	77
1.4. Autres	77
2. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE* DE MÉLISSE	77
2.1. Terpénoïdes	79
2.1.1. Monoterpènes réguliers	79
2.1.1.1. Hydrocarbures monoterpéniques	79
2.1.1.2. Alcools monoterpéniques	79
2.1.1.3. Aldéhydes monoterpéniques	81
a. Citral	81
b. Citronellal	81
2.1.1.4. Cétones monoterpéniques	81
2.1.1.5. Esters terpéniques	81
2.1.1.6. Éthers monoterpéniques	83
2.1.2. Sesquiterpènes	83
2.1.2.1. Hydrocarbures sesquiterpéniques	83
2.1.2.2. Alcools sesquiterpéniques	83
2.2. Composé aromatique	85
2.3. Composés aliphatiques	85
<b>B. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA VALÉRIANE .....</b>	<b>85</b>
1. COMPOSITION CHIMIQUE DES RACINES DE VALÉRIANE	85
1.1. Terpénoïdes	85
1.1.1. Sesquiterpènes	85
1.1.2. Iridoïdes	87
1.1.2.1. Valépotriates	87
1.1.2.2. Baldrinals	87
1.2. Composés azotés	89
1.2.1. Alcaloïdes pyridiniques	89
1.2.2. Acides aminés	89
1.3. Lignanes	89



1.4. Acides phénoliques	89
1.5. Autres	91
2. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE* DE VALÉRIANE	91
2.1. Terpénoïdes	91
2.1.1. Monoterpènes	91
2.1.1.1. Hydrocarbures monoterpéniques	91
2.1.1.2. Alcools monoterpéniques	91
2.1.1.3. Cétone monoterpénique	93
2.1.1.4. Aldéhyde monoterpénique	93
2.1.1.5. Esters terpéniques	93
2.1.2. Sesquiterpènes	93
2.1.2.1. Hydrocarbures sesquiterpéniques	93
2.1.2.2. Alcools sesquiterpéniques	95
2.1.2.3. Cétones sesquiterpéniques	95
2.1.2.4. Aldéhyde sesquiterpénique	95
2.1.3. Sesquiterpénoïde	95
2.1.4. Iridoïdes	95
2.1.4.1. Valépotriates	95
2.1.4.2. Baldrinals	95
2.1.5. Caroténoïde : la $\beta$ -ionone	97
2.2. Composés aromatiques	97
2.2.1. Eugénol (et esters)	97
2.2.2. Thymol	97
2.3. Autres	97

### **III. ACTIVITÉS PHARMACOLOGIQUES DES COMPOSÉS DE LA MÉLISSE ET DE LA VALÉRIANE** **99**

<b>A. SYSTÈME NERVEUX.....</b>	<b>99</b>
1. INTERACTION AVEC LE SYSTÈME GABAERGIQUE	99
1.1. Pharmacologie des récepteurs GABA	99
1.1.1. Récepteurs ionotropiques du GABA	101
1.1.2. Récepteurs métabotropiques	101
1.2. Action sur les RGABA-A	103
1.3. Inhibition de la GABA transaminase	105
2. ACTION SUR LES RÉCEPTEURS DE LA VANILLOÏDE	105
2.1. Pharmacologie des récepteurs de la vanilloïde	105
2.2. Effets du carvacrol, du thymol et de l'eugénol	107
2.3. Effets du citral	107
3. INTERACTION AVEC LE SYSTÈME ADÉNOSINE	107
3.1. Pharmacologie des récepteurs à l'adénosine	107
3.2. Isovaltrate	109
4. ACTION SUR LES RÉCEPTEURS SÉROTONINERGIQUES	109
4.1. Pharmacologie des récepteurs sérotoninergiques	109
4.2. Acide valérénique	111
<b>B. MYORELAXANT.....</b>	<b>111</b>
<b>C. ANTIOXYDANT .....</b>	<b>113</b>
<b>D. ANTI-INFLAMMATOIRE .....</b>	<b>113</b>
1. MÉCANISMES DE L'INFLAMMATION	113
2. EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE	113
2.1. Xanthorrhizol	115
2.2. Pinorésinol	115
2.3. $\beta$ -caryophyllène	115
2.4. Acide oléanolique et acide ursolique	117
2.5. Humulène	117
2.6. Flavonoïdes	117



2.7. Acide rosmarinique	119
<b>E. ANTIMICROBIEN .....</b>	<b>121</b>
1. BACTÉRICIDE	121
2. FONGICIDE	121
<b>F. PHYTOSANITAIRE.....</b>	<b>123</b>
1. INSECTICIDE	123
1.1. Mécanismes d'action des insecticides	123
1.2. Pinorésinol	125
2. INSECTIFUGE	125
3. EFFET <i>PHEROMON-LIKE</i>	125
4. ANTI-GERMINATIF	127
5. NÉMATOCIDE	127
<b>G. BIODISPONIBILITÉS ET TOXICITÉS ÉVENTUELLES.....</b>	<b>127</b>
1. BIODISPONIBILITÉ	129
1.1. Acide valérienique	129
1.2. Pinorésinol	129
1.3. Acide caféique	129
1.4. Acide rosmarinique	129
2. TOXICITÉ ÉVENTUELLE	131
2.1. Hépatotoxicité	131
2.2. Interaction avec la TSH	131
2.3. Dermo-allergie	131
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>133</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>139</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b>	<b>153</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>I</b>
<b>ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT</b>	<b>LI</b>



## DIRECTIVE 2004/24/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL

du 31 mars 2004

modifiant, en ce qui concerne les médicaments traditionnels à base de plantes, la directive 2001/83/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain

LE PARLEMENT EUROPÉEN ET LE CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE,

vu le traité instituant la Communauté européenne, et notamment son article 95,

vu la proposition de la Commission <sup>(1)</sup>,vu l'avis du Comité économique et social européen <sup>(2)</sup>,statuant conformément à la procédure visée à l'article 251 du traité <sup>(3)</sup>,

considérant ce qui suit:

- (1) La directive 2001/83/CE <sup>(4)</sup> dispose que les demandes d'autorisation de mise sur le marché d'un médicament doivent être accompagnées d'un dossier contenant des renseignements et des documents relatifs notamment aux résultats des essais physicochimiques, biologiques ou microbiologiques, ainsi que des essais pharmacologiques et toxicologiques et des essais cliniques réalisés sur le produit et qui, partant, démontrent sa qualité, sa sécurité et son efficacité.
- (2) Si le demandeur peut démontrer, au moyen d'une bibliographie scientifique détaillée, que le ou les composants d'un médicament sont d'un usage médical bien établi et présentent une efficacité reconnue ainsi qu'un niveau acceptable de sécurité au sens de la directive 2001/83/CE, il ne devrait pas être tenu de fournir les résultats d'essais précliniques ni d'essais cliniques.
- (3) De nombreux médicaments, même anciens, ne répondent pas au critère d'un usage médical bien établi avec une efficacité reconnue et un niveau acceptable de sécurité

rité et ne peuvent pas bénéficier d'une autorisation de mise sur le marché. Pour maintenir ces produits sur le marché, les États membres ont mis en œuvre des procédures et dispositions différentes. Les disparités actuelles entre les dispositions des États membres peuvent entraver le commerce des médicaments traditionnels dans la Communauté et entraîner une discrimination et des distorsions de concurrence entre les fabricants de ces médicaments. Elles peuvent également affecter la protection de la santé publique dans la mesure où actuellement les garanties de qualité, de sécurité et d'efficacité nécessaires n'existent pas toujours.

- (4) Compte tenu des caractéristiques particulières de ces médicaments et, notamment, de leur ancienneté, il convient de prévoir une procédure d'enregistrement simplifiée spéciale pour certains médicaments traditionnels. Cependant, cette procédure simplifiée ne devrait être utilisée que si une autorisation de mise sur le marché au titre de la directive 2001/83/CE ne peut pas être obtenue, en particulier en l'absence d'une bibliographie scientifique suffisante démontrant un usage médical bien établi avec une efficacité reconnue et un niveau acceptable de sécurité. Elle ne devrait pas non plus s'appliquer aux médicaments homéopathiques soumis à une autorisation de mise sur le marché ou à un enregistrement au titre de la directive 2001/83/CE.
- (5) L'ancienneté du médicament permet de réduire la nécessité de réaliser des essais cliniques puisque son efficacité est plausible du fait de l'ancienneté de l'usage et de l'expérience. Les essais précliniques ne semblent pas nécessaires dès lors que le médicament, sur la base des informations relatives à son usage traditionnel, démontre son innocuité dans les conditions d'emploi spécifiées. Cependant, même l'ancienneté n'écarte pas toute préoccupation liée à la sécurité du produit, de sorte que les autorités compétentes devraient être habilitées à demander toutes les données nécessaires pour évaluer la sécurité. L'aspect qualitatif du médicament est indépendant de son usage traditionnel, ce qui explique qu'aucune dérogation ne devrait être prévue en ce qui concerne les essais physicochimiques, biologiques et microbiologiques requis. Les produits devraient respecter les normes de qualité des monographies pertinentes de la pharmacopée européenne ou celles de la pharmacopée d'un État membre.
- (6) L'immense majorité des médicaments ayant une tradition suffisamment longue et cohérente sont obtenus à partir de substances végétales. Il convient donc, dans un premier temps, de limiter le champ d'application de l'enregistrement simplifié aux médicaments traditionnels à base de plantes.

<sup>(1)</sup> JO C 126 E du 28.5.2002, p. 263.<sup>(2)</sup> JO C 61 du 14.3.2003, p. 9.<sup>(3)</sup> Avis du Parlement européen du 21 novembre 2002 (JO C 25 E du 29.1.2004, p. 222), position commune du Conseil du 4 novembre 2003 (JO C 305 E du 16.12.2003, p. 52) et position du Parlement européen du 17 décembre 2003 (non encore parue au Journal officiel) et décision du Conseil du 11 mars 2004.<sup>(4)</sup> JO L 311 du 28.11.2001, p. 67. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2003/63/CE de la Commission (JO L 159 du 27.6.2003, p. 46).



- (7) L'enregistrement simplifié ne devrait être acceptable que si le médicament à base de plantes peut se prévaloir d'un usage médical d'une durée suffisamment longue dans la Communauté. L'usage médical à l'extérieur de la Communauté ne devrait être pris en considération que si le médicament a été utilisé dans la Communauté pendant une période déterminée. Dans les cas où l'usage dans la Communauté n'est pas suffisamment établi, il est nécessaire d'évaluer avec soin la validité et le caractère approprié de l'usage à l'extérieur de la Communauté.
- (8) En vue de faciliter davantage l'enregistrement de certains médicaments traditionnels à base de plantes et de renforcer l'harmonisation, il convient de prévoir la possibilité d'établir une liste communautaire de substances végétales répondant à certaines conditions, telles qu'un usage médical d'une durée suffisamment longue, et qui, partant, sont considérées comme n'étant pas nocives dans les conditions normales d'emploi.
- (9) Compte tenu des caractéristiques particulières des médicaments à base de plantes, il y a lieu d'instituer un comité des médicaments à base de plantes relevant de l'Agence européenne pour l'évaluation des médicaments instituée par le règlement (CEE) n° 2309/93 du Conseil<sup>(1)</sup>, ci-après dénommée «Agence». Le comité devrait assumer des tâches liées à l'enregistrement simplifié et à l'autorisation des médicaments visés par la présente directive. Il devrait notamment être chargé de l'établissement des monographies communautaires de plantes médicinales pertinentes pour l'enregistrement et l'autorisation des médicaments à base de plantes. Il devrait être composé d'experts dans le domaine des médicaments à base de plantes.
- (10) Il importe d'assurer la parfaite cohérence entre le nouveau comité et le comité des médicaments à usage humain existant déjà dans le cadre de l'Agence.
- (11) Afin de promouvoir l'harmonisation, les États membres devraient reconnaître les enregistrements des médicaments traditionnels à base de plantes délivrés par un autre État membre sur la base des monographies communautaires de plantes médicinales ou composés de substances, de préparations ou d'associations de celles-ci inscrites sur une liste à établir. Pour les autres produits, les États membres devraient dûment tenir compte de ces enregistrements.
- (12) La présente directive permet aux produits non médicamenteux à base de plantes satisfaisant aux critères de la législation sur les denrées alimentaires d'être régis, dans la Communauté, par cette législation.
- (13) Il convient que la Commission présente au Parlement européen et au Conseil un rapport sur l'application du
- chapitre relatif aux médicaments traditionnels à base de plantes, y compris une évaluation de l'extension éventuelle de l'enregistrement de l'usage traditionnel à d'autres catégories de médicaments.
- (14) Il y a donc lieu de modifier la directive 2001/83/CE en conséquence.
- ONT ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:
- Article premier*
- La directive 2001/83/CE est modifiée comme suit.
- 1) À l'article 1<sup>er</sup>, les points suivants sont ajoutés:
- «29) *médicament traditionnel à base de plantes:*
- tout médicament à base de plantes qui répond aux conditions énumérées à l'article 16 bis, paragraphe 1;
- 30) *médicament à base de plantes:*
- tout médicament dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes ou une association d'une ou de plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes;
- 31) *substances végétales:*
- l'ensemble des plantes, parties de plantes, algues, champignons, lichens, principalement entiers, fragmentés ou coupés, utilisés en l'état, le plus souvent desséchés, mais parfois frais. Certains exsudats n'ayant pas subi de traitements spécifiques sont également considérés comme des substances végétales. Les substances végétales sont précisément définies par la partie de la plante utilisée et la dénomination botanique selon le système à deux mots (genre, espèce, variété et auteur);
- 32) *préparations à base de plantes:*
- les préparations obtenues par traitement de substances végétales, tel que l'extraction, la distillation, l'expression, le fractionnement, la purification, la concentration ou la fermentation. Elles comprennent les substances végétales concassées ou pulvérisées, les teintures, les extraits, les huiles essentielles, les jus obtenus par pression et les exsudats traités.»

<sup>(1)</sup> JO L 214 du 24.8.1993, p. 1. Règlement modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 1647/2003 (JO L 245 du 29.9.2003, p. 19).



2) Le chapitre suivant est inséré au titre III:

**-CHAPITRE 2 bis**

**Dispositions particulières applicables aux médicaments traditionnels à base de plantes**

**Article 16 bis**

1. Une procédure d'enregistrement simplifiée (ci-après dénommée "enregistrement de l'usage traditionnel") est instaurée pour les médicaments à base de plantes qui répondent à l'ensemble des critères suivants:

- a) ils ont des indications exclusivement appropriées à des médicaments traditionnels à base de plantes qui, de par leur composition et leur destination, sont conçus pour et destinés à être utilisés sans la surveillance d'un médecin à des fins de diagnostic, de prescription ou de suivi du traitement;
- b) ils sont exclusivement destinés à être administrés selon un dosage et une posologie spécifiés;
- c) il s'agit de préparations administrées par voie orale, externe et/ou par inhalation;
- d) la durée d'usage traditionnel visée à l'article 16 quater, paragraphe 1, point c), est écoulée;
- e) les données sur l'usage traditionnel du médicament sont suffisantes; en particulier, l'innocuité du produit est démontrée dans les conditions d'emploi spécifiées et les effets pharmacologiques ou l'efficacité du médicament sont plausibles du fait de l'ancienneté de l'usage et de l'expérience.

2. Nonobstant l'article 1<sup>er</sup>, point 30, la présence dans le médicament à base de plantes de vitamines ou de minéraux dont la sécurité est dûment établie n'empêche pas le produit de pouvoir bénéficier de l'enregistrement conformément au paragraphe 1, pour autant que l'action des vitamines et des minéraux soit accessoire à celle des composants actifs à base de plantes pour ce qui concerne les indications spécifiées revendiquées.

3. Toutefois, lorsque les autorités compétentes estiment qu'un médicament traditionnel à base de plantes répond aux critères d'autorisation conformément à l'article 6 ou d'enregistrement conformément à l'article 14, le présent chapitre n'est pas applicable.

**Article 16 ter**

1. Le demandeur et le titulaire de l'enregistrement doivent être établis dans la Communauté.

2. En vue de l'enregistrement de l'usage traditionnel, le demandeur introduit une demande auprès de l'autorité compétente de l'État membre concerné.

**Article 16 quater**

1. À la demande sont joints:

a) les renseignements et documents:

i) visés à l'article 8, paragraphe 3, points a) à h), et points j) et k);

ii) les résultats des essais pharmaceutiques visés à l'article 8, paragraphe 3, point i), second tiret;

iii) le résumé des caractéristiques du produit sans les données visées à l'article 11, paragraphe 4;

iv) en ce qui concerne les associations visées à l'article 1<sup>er</sup>, point 30), et à l'article 16 bis, paragraphe 2, les données visées à l'article 16 bis, point e), relatives à l'association en tant que telle; les données doivent également se référer aux diverses substances actives si elles ne sont pas suffisamment connues;

b) toute autorisation ou tout enregistrement déjà délivré(e) au demandeur dans un autre État membre ou dans un pays tiers en vue de la mise sur le marché du médicament et les données relatives aux décisions de refus d'autorisation ou d'enregistrement rendues dans la Communauté ou dans un pays tiers, et les motifs de ces décisions;

c) les éléments bibliographiques ou rapports d'expert établissant que le médicament ou un produit équivalent est d'un usage médical au moins trentenaire avant la date de la demande, dont au moins quinze ans dans la Communauté. Sur demande de l'État membre auquel la demande d'enregistrement de l'usage traditionnel a été présentée, le comité des médicaments à base de plantes émet un avis sur la validité des preuves attestant l'ancienneté de l'usage du produit ou du produit équivalent. L'État membre transmet les pièces pertinentes à l'appui du dossier soumis au comité;

d) une étude bibliographique des données de sécurité accompagnée d'un rapport d'expert ainsi que, en cas de demande complémentaire de l'autorité compétente, les données nécessaires à l'évaluation de la sécurité du médicament.

L'annexe I s'applique par analogie aux renseignements et documents visés au point a).



2. Un produit est équivalent, comme indiqué au paragraphe 1, point c), lorsqu'il est identique au médicament faisant l'objet de la demande en ce qui concerne les substances actives, quels que soient les excipients utilisés, ou lorsqu'il est identique ou similaire en ce qui concerne l'effet recherché, le dosage ou la posologie et la voie d'administration.

3. L'usage médical trentenaire visé au paragraphe 1, point c), est démontré même si la mise sur le marché du produit n'a pas été fondée sur une autorisation spécifique. Il est également établi si le nombre des composants du médicament ou leur dosage a été réduit au cours de la période de trente ans visée au présent paragraphe.

4. Si le produit a été utilisé dans la Communauté depuis moins de quinze ans, mais qu'il peut, par ailleurs, bénéficier de l'enregistrement simplifié, l'État membre auquel la demande d'enregistrement de l'usage traditionnel a été présentée soumet le produit au comité des médicaments à base de plantes. L'État membre transmet les pièces pertinentes à l'appui du dossier soumis au comité.

Le comité examine si les autres critères d'enregistrement simplifié visés à l'article 16 bis sont pleinement remplis. Si le comité l'estime possible, il établit une monographie communautaire de plantes médicinales telle qu'elle est prévue à l'article 16 nonies, paragraphe 3, dont l'État membre tient dûment compte lorsqu'il prend sa décision finale.

#### Article 16 quinquies

1. Sans préjudice de l'article 16 nonies, paragraphe 1, le chapitre 4 du titre III s'applique par analogie aux enregistrements délivrés conformément à l'article 16 bis, à condition:

- a) qu'une monographie communautaire des plantes médicinales ait été établie conformément à l'article 16 nonies, paragraphe 3, ou
- b) que le médicament à base de plantes soit composé de substances végétales, de préparations à base de plantes ou d'associations de celles-ci inscrites sur la liste visée à l'article 16 septies.

2. Pour les autres médicaments à base de plantes visés à l'article 16 bis, chaque État membre, lorsqu'il évalue une demande d'enregistrement de l'usage traditionnel, tient dûment compte des enregistrements délivrés par un autre État membre conformément au présent chapitre.

#### Article 16 sexies

1. L'enregistrement de l'usage traditionnel est refusé si la demande n'est pas conforme aux articles 16 bis, 16 ter ou

16 quater ou si au moins l'une des conditions suivantes est remplie:

- a) la composition qualitative et/ou quantitative ne correspond pas à celle qui est déclarée;
- b) les indications ne sont pas conformes aux conditions établies à l'article 16 bis;
- c) le produit pourrait être nocif dans les conditions normales d'emploi;
- d) les données sur l'usage traditionnel sont insuffisantes, en particulier si les effets pharmacologiques ou l'efficacité ne sont pas plausibles du fait de l'ancienneté de l'usage et de l'expérience;
- e) la qualité pharmaceutique n'est pas démontrée de manière satisfaisante.

2. Les autorités compétentes des États membres notifient au demandeur, à la Commission et, sur demande, aux autorités compétentes les décisions de refus d'enregistrement de l'usage traditionnel adoptées par elles et leurs motifs.

#### Article 16 septies

1. Une liste des substances végétales, des préparations à base de plantes et associations de celles-ci est établie conformément à la procédure visée à l'article 121, paragraphe 2, en vue de leur utilisation dans des médicaments traditionnels à base de plantes. Cette liste contient, au regard de chaque substance végétale, l'indication, le dosage spécifié et la posologie, la voie d'administration et toute autre information nécessaire pour une utilisation sûre de la substance végétale comme médicament traditionnel.

2. Si une demande d'enregistrement de l'usage traditionnel concerne une substance végétale, une préparation à base de plantes ou une association de celles-ci inscrites sur la liste visée au paragraphe 1, les données visées à l'article 16 quater, paragraphe 1, points b), c) et d), ne doivent pas être fournies. L'article 16 sexies, paragraphe 1, points c) et d), ne s'applique pas.

3. Si une substance végétale, une préparation à base de plantes ou une association de substances est retirée de la liste visée au paragraphe 1, les enregistrements de médicaments à base de plantes contenant cette substance, délivrés au titre du paragraphe 2, sont retirés à moins que les renseignements et documents visés à l'article 16 quater, paragraphe 1, ne soient présentés dans les trois mois.



**Article 16 octies**

1. L'article 3, paragraphes 1 et 2, l'article 4, paragraphe 4, l'article 6, paragraphe 1, l'article 12, l'article 17, paragraphe 1, les articles 19, 20, 23, 24, 25, 40 à 52, 70 à 85, 101 à 108, l'article 111, paragraphes 1 et 3, les articles 112, 116 à 118, 122, 123, 125, l'article 126, deuxième alinéa, et l'article 127 de la présente directive ainsi que la directive 91/356/CEE (\*) de la Commission s'appliquent par analogie à l'enregistrement de l'usage traditionnel délivré au titre du présent chapitre.

2. Outre ce qui est exigé aux articles 54 à 65, l'étiquetage et la notice contiennent une mention indiquant:

- a) que le produit est un médicament traditionnel à base de plantes ayant une ou des indication(s) spécifiée(s) sur la base exclusive de l'ancienneté de l'usage, et
- b) que l'utilisateur est invité à consulter un médecin ou un professionnel de la santé qualifié si les symptômes persistent pendant l'utilisation du médicament ou si des effets indésirables non mentionnés sur la notice se produisent.

Un État membre peut demander que l'étiquetage et la notice mentionnent également la nature de la tradition en question.

3. Outre ce qui est exigé aux articles 86 à 99, toute publicité pour un médicament enregistré au titre du présent chapitre contient la mention suivante: médicament traditionnel à base de plantes à utiliser pour une ou des indication(s) spécifiée(s) sur la base exclusive de l'ancienneté de l'usage.

**Article 16 nonies**

1. Il est institué un comité des médicaments à base de plantes. Le comité relève de l'Agence et est doté des compétences suivantes:

- a) en ce qui concerne les enregistrements simplifiés, il est chargé:
  - d'accomplir les tâches découlant de l'article 16 *quater*, paragraphes 1 et 4,
  - d'accomplir les tâches découlant de l'article 16 *quinquies*,
  - de préparer un projet de liste des substances végétales, préparations à base de plantes et associations de celles-ci conformément à l'article 16 *septies*, paragraphe 1, et

— d'établir des monographies communautaires pour les médicaments traditionnels à base de plantes conformément au paragraphe 3 du présent article;

- b) en ce qui concerne les autorisations des médicaments à base de plantes, il a pour tâche d'établir les monographies communautaires de plantes médicinales pour les médicaments à base de plantes conformément au paragraphe 3 du présent article;
- c) en ce qui concerne les soumissions à l'Agence, en vertu du chapitre 4 du titre III, des médicaments à base de plantes visés à l'article 16 *bis*, il est chargé d'accomplir les tâches mentionnées à l'article 32;
- d) dans les cas où d'autres médicaments contenant des substances végétales sont soumis à l'Agence en vertu du chapitre 4 du titre III, il a pour mission de donner, s'il y a lieu, son avis sur la substance végétale.

Enfin, le comité des médicaments à base de plantes remplit toute autre fonction qui lui est dévolue par le droit communautaire.

La coordination appropriée avec le comité des médicaments à usage humain est assurée par une procédure qui sera mise en place par le directeur exécutif de l'Agence conformément à l'article 57, paragraphe 2, du règlement (CEE) n° 2309/93.

2. Chaque État membre nomme, pour une période de trois ans renouvelable, un membre et un suppléant au comité des médicaments à base de plantes.

Les suppléants représentent les membres et votent pour ces derniers en leur absence. Les membres et les suppléants sont choisis en fonction de leur rôle et de leur expérience dans l'évaluation des médicaments à base de plantes et représentent les autorités nationales compétentes.

Ledit comité peut nommer par cooptation au maximum cinq membres supplémentaires choisis en fonction de leurs compétences scientifiques particulières. Ces membres sont nommés pour une période de trois ans renouvelable et n'ont pas de suppléants.

En vue de la cooptation de ces membres, ledit comité détermine les compétences scientifiques particulières complémentaires du ou des membre(s) supplémentaire(s). Les membres cooptés sont choisis parmi des experts désignés par les États membres ou l'Agence.

Les membres dudit comité peuvent être accompagnés d'experts dans des domaines scientifiques ou techniques particuliers.



3. Le comité des médicaments à base de plantes établit les monographies communautaires de plantes médicinales pour les médicaments à base de plantes en vue de l'application de l'article 10, paragraphe 1, point a) ii), ainsi que pour les médicaments traditionnels à base de plantes. Ledit comité assume toute autre responsabilité qui lui est confiée en vertu des dispositions du présent chapitre et d'autres actes communautaires.

Dès leur établissement, les monographies communautaires de plantes médicinales au sens du présent paragraphe sont prises en compte par les États membres lorsqu'ils examinent une demande. Lorsqu'aucune monographie communautaire de plantes médicinales n'a encore été établie, il est possible de se référer à d'autres monographies, publications ou données appropriées.

Dès l'établissement d'une nouvelle monographie communautaire de plantes médicinales, le titulaire de l'enregistrement détermine s'il est nécessaire de modifier le dossier d'enregistrement en conséquence. Le titulaire de l'enregistrement notifie toute modification éventuelle à l'autorité compétente de l'État membre concerné.

Les monographies de plantes médicinales sont publiées.

4. Les dispositions générales du règlement (CEE) n° 2309/93 concernant le comité des médicaments à usage humain s'appliquent par analogie au comité des médicaments à base de plantes.

#### Article 16 decies

Avant le 30 avril 2007, la Commission présente au Parlement européen et au Conseil un rapport sur l'application du présent chapitre.

Le rapport évalue notamment la possibilité d'étendre l'enregistrement de l'usage traditionnel à d'autres catégories de médicaments.

(\*) JO L 193 du 17.7.1991, p. 30.

#### Article 2

1. Les États membres prennent les mesures nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 30 octobre 2005. Ils en informent immédiatement la Commission.

Lorsque les États membres adoptent ces dispositions, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.

2. En ce qui concerne les médicaments traditionnels à base de plantes visés à l'article 1<sup>er</sup> qui sont déjà mis sur le marché à la date d'entrée en vigueur de la présente directive, les autorités compétentes appliquent la présente directive dans un délai de sept ans à compter de son entrée en vigueur.

#### Article 3

La présente directive entre en vigueur le jour de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

#### Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Strasbourg, le 31 mars 2004.

Par le Parlement européen

P. COX

Le président

Par le Conseil

D. ROCHE

Le président



à tête ovoïde bisériée comportant 4 cellules indistinctes ; des fragments de pétales dispersés présentant des papilles ; des fragments de tissu vasculaire de la tige associés à des fibres cloisonnées, non lignifiées, contenant des prismes d'oxalate de calcium ; des fragments de l'assise fibreuse des anthères ; des grains de pollen sphériques à ovoïdes d'une longueur d'environ 25 µm, à 3 pores germinatifs et à exine lisse.

C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** A 0,3 g de mélilot pulvérisé (355) (2.9.12), ajoutez 3 mL de méthanol R. Chauffez dans un bain-marie à 60 °C pendant 1 min. Filtrez.

**Solution témoin.** Dissolvez 50 mg de coumarine SCR et 20 mg d'acide o-coumarique R dans 50 mL de méthanol R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R.

**Phase mobile :** phase supérieure du mélange suivant : acide acétique dilué R, éther R, toluène R (10:50:50 V/V/V).

**Dépôt :** 25 µL en bandes de 10 mm.

**Développement :** sur un parcours de 12 cm.

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez de la solution alcoolique d'hydroxyde de potassium 2 MR puis examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

**Résultats :** voir ciaprès la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de couleurs diverses et de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

**Phase mobile :** acétonitrile R, solution d'acide phosphorique R à 5 g/L (22:78 V/V).

**Débit :** 1,7 mL/min.

**Détection :** spectrophotomètre à 275 nm.

**Injection :** 20 µL.

**Conformité du système :**

– temps de rétention : coumarine = environ 7,8 min.

Calculez la teneur pour cent en coumarine à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = surface du pic dû à la coumarine dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

$A_2$  = surface du pic dû à la coumarine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,

$m_1$  = masse de mélilot dans la solution à examiner, en grammes,

$m_2$  = masse de coumarine SCR dans la solution témoin, en grammes.

01/2011:1447

Haut de la plaque	
Coumarine : une bande de fluorescence jaune-vert	Une bande de fluorescence jaune-vert (coumarine)
Acide o-coumarique : une bande de fluorescence jaune-vert	Une bande de fluorescence bleue
	Une bande de fluorescence jaune-vert (acide o-coumarique) peut être présente
Solution témoin	Solution à examiner

## MÉLISSE (FEUILLE DE)

### Melissae folium

#### DÉFINITION

Feuille séchée de *Melissa officinalis* L.

**Teneur :** au minimum 1,0 pour cent d'acide rosmarinique ( $C_{18}H_{16}O_8$ ;  $M_r$  360,3) (drogue desséchée).

#### CARACTÈRES

Odeur rappelant celle du citron.

#### IDENTIFICATION

A. Les feuilles ont un pétiole de longueur variable ; le limbe est approximativement ovale, acuminé au sommet, en coeur ou arrondi à la base, sa longueur atteint 8 cm et sa largeur 5 cm ; les bords sont crénelés à dentés. La face supérieure est d'un vert intense, la face inférieure, d'un vert plus pâle, présente une nervure médiane très développée et une nervation proéminente, réticulée ; une pilosité éparses apparaît sur la face supérieure et le long des nervures sur la face inférieure qui est de plus finement ponctuée.

B. Réduisez la feuille de mélisse en poudre (355) (2.9.12). La poudre est verdâtre. Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chlorure R. La poudre présente les éléments suivants (figure 1447-1) : des fragments de l'épiderme supérieur, vus de face, à parois sinuées [A, B, G], parfois accompagnés de parenchyme palissadique [Aa] ; des fragments de l'épiderme inférieur [D] portant des stomates de type diacytique (2.8.3) [Db] ; des poils tecteurs unicellulaires coniques, courts et droits, à cuticule finement striée, libres [E] ou sur un épiderme [Da] ; des poils tecteurs pluricellulaires, unisériés, à extrémité pointue, à cuticule épaisse et verruqueuse [C] ; des poils sécréteurs octocellulaires de type *lamiaceae*, vus de face [Ga] ; des poils sécréteurs à pied unicellulaire à tricellulaire et à tête unicellulaire ou bicellulaire plus rarement, vus de face [Ba] ou en section transversale [F].

#### ESSAI

**Éléments étrangers** (2.8.2) : au maximum 2 pour cent de tiges d'un diamètre supérieur à 3 mm et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers.

**Perte à la dessiccation** (2.2.32) : au maximum 12,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h sur 1,000 g de mélilot pulvérisé (355) (2.9.12).

**Cendres totales** (2.4.16) : au maximum 10,0 pour cent.

#### DOSAGE

Chromatographie liquide (2.2.29).

**Solution à examiner.** Pulvérisez complètement environ 50 g de mélilot (500) (2.9.12). A 5,00 g de mélilot pulvérisé, ajoutez 90 mL de méthanol R et chauffez à reflux pendant 30 min. Laissez refroidir. Filtrez sous vide sur un filtre en fibre de verre. Reprenez le résidu et le filtre fragmenté par 90 mL de méthanol R. Traitez comme précédemment. Réunissez les filtrats et complétez à 250,0 mL avec du méthanol R.

**Solution témoin.** Dissolvez 25,0 mg de coumarine SCR dans du méthanol R et complétez à 250,0 mL avec le même solvant.

**Colonne :**

– dimensions :  $l = 0,25$  m,  $\varnothing = 4$  mm,

– phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé postgreffé pour chromatographie R (5 µm).



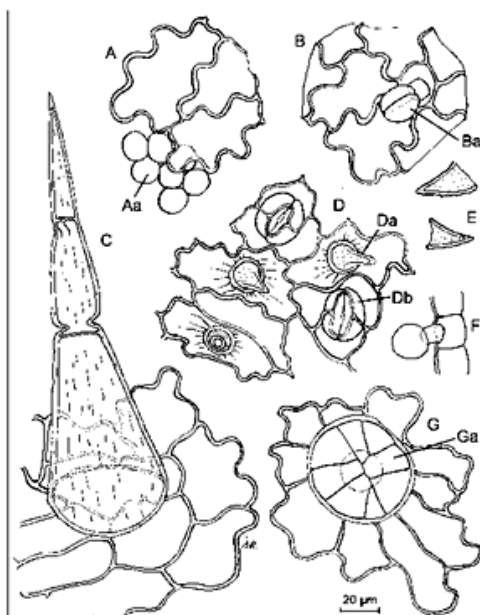


Figure 1447-1.- Dessin pour l'identification B de la feuille de mélisse pulvérisée

#### C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** Placez 2,0 g de feuille de mélisse pulvérisée (355) (2.9.12) dans un ballon à fond rond de 250 mL. Ajoutez 100 mL d'eau R. Distillez pendant 1 h en utilisant l'appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales (2.8.12) et 0,5 mL de xylène R dans le tube gradué. Après distillation, transférez la phase organique dans un ballon jaugé de 1 mL, rincez le tube gradué de l'appareil à l'aide d'un peu de xylène R et complétez à 1,0 mL avec le même solvant.

**Solution témoin.** Dissolvez 1,0 µL de citronellal R et 10,0 µL de citral R (composé de néral et de gèranial) dans 25 mL de xylène R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (2-10 µm)].

**Phase mobile :** acétate d'éthyle R, hexane R (10:90 V/V).

**Dépôt :** 20 µL [ou 4 µL], en bandes.

**Développement :** dans une cuve non saturée sur un parcours de 15 cm [ou 6 cm].

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez à 100-105 °C pendant 10-15 min ; examinez à la lumière du jour.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Citronellal : une bande grise ou violet-gris à la frontière entre le tiers supérieur et le tiers moyen	Une bande grise ou violet-gris (citronellal) à la frontière entre le tiers supérieur et le tiers moyen Une bande violet-rouge
Citral : 2 bandes violet-gris ou violet-bleu à la frontière entre le tiers moyen et le tiers inférieur	2 bandes violet-gris ou violet-bleu (citral) à la frontière entre le tiers moyen et le tiers inférieur
Solution témoin	Solution à examiner

#### ESSAI

**Éléments étrangers (2.8.2) :** au maximum 10 pour cent de tiges de section supérieure à 1 mm et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers, déterminé sur 20 g de feuille de mélisse.

**Perte à la dessiccation (2.2.32) :** au maximum 10,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h sur 1,000 g de feuille de mélisse pulvérisée (355) (2.9.12).

**Cendres totales (2.4.16) :** au maximum 12,0 pour cent.

#### DOSAGE

**Chromatographie liquide (2.2.29).**

**Solution à examiner.** Utilisez des flacons de verre brun. Dispersez 0,100 g de feuille de mélisse pulvérisée (355) (2.9.12) dans 90 mL d'éthanol à 50 pour cent V/V R. Chauffez à reflux au bain-marie pendant 30 min. Refroidissez et filtrez dans une fiole jaugée de 100 mL. Rincez la fiole et le filtre avec 10 mL d'éthanol à 50 pour cent V/V R et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Filtrez sur un filtre de 0,45 µm.

**Solution témoin (a).** Dissolvez 20,0 mg d'acide rosmarinique SCR dans de l'éthanol à 50 pour cent V/V R et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 20,0 mL de cette solution et complétez à 100,0 mL avec de l'éthanol à 50 pour cent V/V R.

**Solution témoin (b).** Dissolvez 5,0 mg d'acide férulique R dans la solution témoin (a) et complétez à 50,0 mL avec la même solution.

**Colonne :**

- dimensions : l = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

**Phase mobile :**

- phase mobile A : acide phosphorique R, acétonitrile R, eau R (1:19:80 V/V/V),
- phase mobile B : acide phosphorique R, méthanol R, acétonitrile R (1:40:59 V/V/V),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 20	100 → 55	0 → 45
20 - 25	55 → 0	45 → 100
25 - 30	0 → 100	100 → 0

**Débit :** 1,2 mL/min.

**Détection :** spectrophotomètre à 330 nm.

**Injection :** 20 µL.

**Rétention relative par rapport à l'acide rosmarinique (temps de rétention - environ 11 min) :** acide férulique - environ 0,8.

**Conformité du système :** solution témoin (b) :

- résolution : au minimum 4,0 entre les pics dus à l'acide férulique et à l'acide rosmarinique.



Calculez la teneur pour cent en acide rosmarinique à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 0,2}{A_2 \times m_1}$$

- $A_1$  – surface du pic dû à l'acide rosmarinique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,  
 $A_2$  – surface du pic dû à l'acide rosmarinique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a),  
 $m_1$  – masse de feuille de mélisse utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,  
 $m_2$  – masse d'acide rosmarinique SCR utilisée pour préparer la solution témoin (a), en grammes,  
 $p$  – teneur pour cent en acide rosmarinique de l'acide rosmarinique SCR.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes fluorescentes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de plus faible fluorescence peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Acide rosmarinique : une bande de fluorescence bleu clair	Une bande de fluorescence bleu clair intense (acide rosmarinique) Une bande de fluorescence bleu e
_____	_____
_____	Une bande de fluorescence bleu e
Hypéroside : une bande de fluorescence orange ou jaune-vert	_____
_____	Une bande de fluorescence bleu clair
Rutine : une bande de fluorescence orange ou jaune-vert	_____
Solution témoin	Solution à examiner

01/2010:2524

### MÉLISSE (FEUILLE DE), EXTRAIT SEC DE

#### Melissae folii extractum siccum

#### DÉFINITION

Extrait sec produit à partir de *Feuille de mélisse* (1447).

**Teneur :** au minimum 2,0 pour cent d'acide rosmarinique ( $C_{18}H_{16}O_8$ ;  $M_r$  360,3) (extrait sec).

#### PRODUCTION

L'extrait est produit à partir de la drogue végétale, par une méthode appropriée, avec de l'eau chaude (au minimum 70 °C) ou un solvant hydroalcoolique au plus équivalent en concentration à l'éthanol à 70 pour cent V/V.

#### CARACTÈRES

**Aspect :** poudre amorphe, brune ou brun-vert.

#### IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** A 0,2 g d'extrait à examiner, ajoutez 5 mL de méthanol R. Traitez aux ultrasons pendant 5 min et filtrez.

**Solution témoin.** Dissolvez 1,0 mg d'hypéroside R, 1,0 mg de rutine R et 5,0 mg d'acide rosmarinique R dans 10 mL de méthanol R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (2-10 µm)].

**Phase mobile :** acide formique anhydre R, eau R, acétate d'éthyle R (6:6:90 V/V/V).

**Dépôt :** 10 µL [ou 2 µL] en bandes de 15 mm [ou 8 mm].

**Développement :** sur un parcours de 8 cm [ou 6 cm].

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** chauffez à 100 °C pendant 5 min ; pulvérisez sur la plaque encore chaude une solution de diphénylborate d'aminoéthanol R à 5 g/L dans l'acétate d'éthyle R ; examinez en lumière ultraviolette à 365 nm.

#### ESSAI

**Perte à la dessiccation (2.8.17) :** au maximum 6,0 pour cent

#### DOSAGE

Chromatographie liquide (2.2.29).

**Solution à examiner.** Utilisez des flacons de verre brun. A 0,200 g d'extrait à examiner, ajoutez 50 mL d'éthanol à 50 pour cent V/V R. Traitez aux ultrasons pendant 10 min et complétez à 100,0 mL avec de l'éthanol à 50 pour cent V/V R. Filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

**Solution témoin (a).** Dissolvez 20,0 mg d'acide rosmarinique SCR dans de l'éthanol à 50 pour cent V/V R et complétez à 100,0 mL avec le même solvant. Prélevez 20,0 mL de cette solution et complétez à 100,0 mL avec de l'éthanol à 50 pour cent V/V R.

**Solution témoin (b).** Dissolvez 5 mg d'acide férulique R dans la solution témoin (a) et complétez à 50 mL avec la solution témoin (a).

**Colonne :**

- dimensions :  $l = 0,25$  m,  $\emptyset = 4,6$  mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

**Phase mobile :**

- phase mobile A : acide phosphorique R, acétonitrile R, eau R (1:19:80 V/V/V),
- phase mobile B : acide phosphorique R, méthanol R, acétonitrile R (1:40:59 V/V/V),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 20	100 → 55	0 → 45
20 - 25	55 → 0	45 → 100

**Débit :** 1,2 mL/min.

**Détection :** spectrophotomètre à 330 nm.

**Injection :** 20 µL.

**Rétention relative** par rapport à l'acide rosmarinique (temps de rétention = environ 11 min) : acide férulique = environ 0,8.

**Conformité du système :** solution témoin (b) :

- résolution : au minimum 4,0 entre les pics dus à l'acide férulique et à l'acide rosmarinique.



Calculez la teneur pour cent en acide rosmarinique à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 0,2}{A_2 \times m_1}$$

- $A_1$  = surface du pic dû à l'acide rosmarinique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_2$  = surface du pic dû à l'acide rosmarinique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a),
- $m_1$  = masse d'extrait à examiner utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,
- $m_2$  = masse d'acide rosmarinique SCR utilisée pour préparer la solution témoin (a), en grammes,
- $p$  = teneur pour cent en acide rosmarinique de l'acide rosmarinique SCR.

01/2008:1838



## VALÉRIANE (RACINE DE)

### Valerianae radix

#### DÉFINITION

Organes souterrains séchés, entiers ou fragmentés de *Valeriana officinalis* L. s.l., comprenant le rhizome entouré des racines et les stolons.

#### Teneur :

- *huile essentielle* : au minimum 4 mL/kg (drogue desséchée),
- *acides sesquiterpéniques* : au minimum 0,17 pour cent m/m, exprimés en acide valérénique (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> ; M, 234,3) (drogue desséchée).

#### IDENTIFICATION

- A. Le rhizome, gris-jaune ou gris-brun clair, est conique ou cylindrique et peut atteindre environ 50 mm de longueur et 30 mm de diamètre ; atténué ou comprimé à la base, il possède de nombreuses racines qui le recouvrent le plus souvent entièrement ; l'apex présente habituellement une cicatrice concave, laissée par les parties aériennes ; la base des tiges est rarement présente. La section longitudinale du rhizome montre une moelle lacuneuse et des cloisons transversales. Les racines sont abondantes, de même teinte que le rhizome, presque cylindriques ; leur diamètre est de 1-3 mm, leur longueur peut dépasser 100 mm ; les racines latérales, filiformes et fragiles, sont peu nombreuses ; la cassure est courte. Les stolons présentent des noeuds saillants séparés par des entre-noeuds striés longitudinalement, d'une longueur de 20-50 mm ; leur cassure est fibreuse.
- B. Réduisez la racine de valériane en poudre (355) (2.9.12). La poudre est gris-jaune clair ou brun-gris clair. Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chloral R. La poudre présente les éléments suivants : des cellules contenant une résine brun clair ou des gouttelettes d'huile essentielle ; des groupes de petits sclérites rectangulaires à paroi épaisse et à lumen étroit et canaliculé ; quelques groupes de cellules scléreuses de plus grande taille, à paroi

mince, provenant des bases de tiges ; des vaisseaux lignifiés aux épaississements réticulés, isolés ou en petits groupes ; des cellules allongées, à paroi mince, de l'assise pilifère, portant parfois des poils absorbants ; quelques fragments de suber. Examinez au microscope en utilisant une solution de glycéril R à 50 pour cent V/V. La poudre présente de nombreux grains d'amidon, pour la plupart composés de 4-6 éléments, mais souvent séparés, de forme arrondie ou irrégulière et d'un diamètre pouvant atteindre environ 15 µm ; la plupart des grains présentent un hile en fente ou étoilé assez peu distinct.

#### C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** Mettez en suspension 1 g de racine de valériane pulvérisée (355) (2.9.12) dans 10 mL de méthanol R et traitez aux ultrasons pendant 10 min. Filtrez le surnageant à travers une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm). Utilisez le filtrat comme solution à examiner.

**Solution témoin.** Dissolvez 5 mg d'acide acétoxyvalérénique R et 5 mg d'acide valérénique R dans 20 mL de méthanol R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (2-10 µm)].

**Phase mobile :** acide acétique glacial R, acétate d'éthyle R, cyclohexane R (2:38:60 V/V/V).

**Dépôt :** 20 µL [ou 5 µL] en bandes de 10 mm [ou 8 mm].

**Développement :** sur un parcours de 10 cm [ou 6 cm].

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez à 100-105 °C pendant 5-10 min. Examinez à la lumière du jour.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes violettes peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Acide valérénique : une bande violette	Une bande violette (acide valérénique)
Acide acétoxyvalérénique : une bande violette	Une bande violette (acide acétoxyvalérénique)
	2 bandes violettes pâles ou très pâles
Solution témoin	Solution à examiner

#### ESSAI

**Éléments étrangers (2.8.2) :** au maximum 5 pour cent de bases de tiges et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers.

**Perte à la dessiccation (2.2.32) :** au maximum 12,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h sur 1,000 g de racine de valériane pulvérisée (355) (2.9.12) bien homogénéisée.

**Cendres totales (2.4.16) :** au maximum 12,0 pour cent.

**Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (2.8.1) :** au maximum 5,0 pour cent.

#### DOSAGE

**Huile essentielle (2.8.12).** Utilisez 40,0 g de racine de valériane récemment pulvérisée (500) (2.9.12), un ballon de 2000 mL et 500 mL d'eau R comme liquide d'entraînement. Introduisez 0,50 mL de xylène R dans le tube gradué. Distillez à un débit de 3-4 mL/min pendant 4 h.

**Acides sesquiterpéniques.** Chromatographie liquide (2.2.29). **Solution à examiner.** Dans un ballon à fond rond à col rodé de 100 mL, introduisez 1,50 g de racine de valériane pulvérisée (710) (2.9.12). Ajoutez 20 mL de méthanol R1, mélangez et chauffez à reflux au bain-marie pendant 30 min. Laissez



refroidir, puis filtrer. Placez le filtre avec le résidu dans le ballon à fond rond. Ajoutez 20 mL de méthanol RI et chauffez à reflux au bain-marie pendant 15 min. Laissez refroidir puis filtrez. Réunissez les filtrats et complétez à 50,0 mL avec du méthanol RI, en rinçant le ballon à fond rond et le filtre.

**Solution témoin.** Dissolvez une quantité d'extrait sec de valériane ERV correspondant à 1,0 mg d'acide valérénique dans du méthanol RI et complétez à 10,0 mL avec le même solvant. Traitez aux ultrasons pendant 10 min puis filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

**Colonne :**

- dimensions :  $l = 0,25$  m,  $\varnothing = 4,6$  mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

**Phase mobile :**

- phase mobile A : acétonitrile RI, solution d'acide phosphorique R à 5 g/L (20:80 V/V),
- phase mobile B : solution d'acide phosphorique R à 5 g/L, acétonitrile RI (20:80 V/V),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 5	55	45
5 - 18	55 → 20	45 → 80
18 - 22	20	80

**Débit :** 1,5 mL/min.

**Détection :** spectrophotomètre à 220 nm.

**Injection :** 20 µL.

**Identification des pics :** utilisez le chromatogramme fourni avec l'extrait sec de valériane ERV et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin pour identifier les pics dus à l'acide acétoxyvalérénique et à l'acide valérénique.

**Conformité du système :** solution témoin :

- rétention relative par rapport à l'acide valérénique (temps de rétention - environ 19 min) : acide acétoxyvalérénique - environ 0,5.

Calculez la teneur pour cent en acides sesquiterpéniques, exprimés en acide valérénique, à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{(A_1 + A_2) \times m_2 \times p \times 5}{A_3 \times m_1}$$

- $A_1$  – surface du pic dû à l'acide acétoxyvalérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_2$  – surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_3$  – surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,
- $m_1$  – masse de la prise d'essai utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,
- $m_2$  – masse d'extrait sec de valériane ERV utilisée pour préparer la solution témoin, en grammes,
- $p$  – teneur pour cent en acide valérénique de l'extrait sec de valériane ERV.

07/2010:2526

## VALÉRIANE (RACINE DE) DIVISÉE

*Valeriana radix minutata*

### DÉFINITION

Organes souterrains séchés, divisés de *Valeriana officinalis* L. s.l., comprenant le rhizome, les racines et les stolons.

La racine de valériane divisée est produite à partir de la *Racine de valériane (0453)* et destinée à être utilisée en tisane.

**Teneur :**

- huile essentielle : au minimum 3 mL/kg (drogue desséchée),
- acides sesquiterpéniques : au minimum 0,10 pour cent m/m, exprimés en acide valérénique ( $C_{15}H_{22}O_2$ ; M, 234,3) (drogue desséchée).

### IDENTIFICATION

- A.** Réduisez la racine de valériane en poudre (355) (2.9.12). La poudre est gris-jaune clair ou brun-gris clair. Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chloral R. La poudre présente les éléments suivants : des cellules contenant une résine brun clair ou des gouttelettes d'huile essentielle ; des groupes de petits sclérites rectangulaires à paroi épaisse et à lumen étroit et canaliculé ; quelques groupes de cellules scléreuses de plus grande taille, à paroi mince, provenant des bases de tiges ; des vaisseaux lignifiés à épaississements réticulés, isolés ou en petits groupes ; des cellules allongées, à paroi mince, de l'assise pilifère, portant parfois des poils absorbants ; quelques fragments de suber. Examinez au microscope en utilisant une solution de glycéril R à 50 pour cent V/V. La poudre présente de nombreux grains d'amidon, pour la plupart composés de 4-6 éléments, mais souvent séparés, de forme arrondie ou irrégulière et d'un diamètre pouvant atteindre environ 15 µm ; la plupart des grains présentent un hile en fente ou étoilé, assez peu distinct.

- B.** Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** Mettez en suspension 1 g de racine de valériane pulvérisée (355) (2.9.12) dans 10 mL de méthanol R et traitez aux ultrasons pendant 10 min. Filtrez le surnageant à travers une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm). Utilisez le filtrat comme solution à examiner.

**Solution témoin.** Dissolvez 5 mg d'acide acétoxyvalérénique R et 5 mg d'acide valérénique R dans 20 mL de méthanol R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (2-10 µm)].

**Phase mobile :** acide acétique glacial R, acétate d'éthyle R, cyclohexane R (2:38:60 V/V/V).

**Dépôt :** 20 µL [ou 5 µL] en bandes de 10 mm [ou 8 mm].

**Développement :** sur un parcours de 10 cm [ou 6 cm].

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez à 100-105 °C pendant 5-10 min. Examinez à la lumière du jour.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes violettes peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Acide valérénique : une bande violette	Une bande violette (acide valérénique)
Acide acétoxyvalérénique : une bande violette	Une bande violette (acide acétoxyvalérénique)
	2 bandes violettes pâles ou très pâles
Solution témoin	Solution à examiner

### ESSAI

**Éléments étrangers (2.8.2) :** au maximum 5 pour cent de bases de tiges et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers, déterminé sur la drogue végétale avant division.



**Perte à la dessiccation (2.2.32) :** au maximum 12,0 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C pendant 2 h sur 1,000 g de racine de valériane pulvérisée (355) (2.9.12) bien homogénéisée.

**Cendres totales (2.4.16) :** au maximum 12,0 pour cent.

**Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (2.8.1) :** au maximum 5,0 pour cent.

#### DOSAGE

**Huile essentielle (2.8.12).** Utilisez 40,0 g de racine de valériane récemment pulvérisée (500) (2.9.12), un ballon de 2000 mL et 500 mL d'eau R comme liquide d'entraînement. Introduisez 0,50 mL de xylène R dans le tube gradué. Distillez à un débit de 3-4 mL/min pendant 4 h.

**Acides sesquiterpéniques.** Chromatographie liquide (2.2.29).

**Solution à examiner.** Dans un ballon à fond rond à col rodé de 100 mL, introduisez 1,50 g de racine de valériane pulvérisée (710) (2.9.12). Ajoutez 20 mL de méthanol RI, mélangez et chauffez à reflux au bain-marie pendant 30 min. Laissez refroidir, puis filtrez. Placez le filtre avec le résidu dans le ballon à fond rond de 100 mL. Ajoutez 20 mL de méthanol RI et chauffez à reflux au bain-marie pendant 15 min. Laissez refroidir puis filtrez. Réunissez les filtrats et complétez à 50,0 mL avec du méthanol RI, en rinçant le ballon à fond rond et le filtre.

**Solution témoin.** Dissolvez une quantité d'extrait sec de valériane ERV correspondant à 1,0 mg d'acide valérénique dans du méthanol RI et complétez à 10,0 mL avec le même solvant. Traitez aux ultrasons pendant 10 min puis filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

**Colonne :**

- dimensions : l = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

**Phase mobile :**

- phase mobile A : acétonitrile RI, solution d'acide phosphorique R à 5 g/L (20:80 V/V),
- phase mobile B : solution d'acide phosphorique R à 5 g/L, acétonitrile RI (20:80 V/V),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 5	55	45
5 - 18	55 → 20	45 → 80
18 - 22	20	80

**Débit :** 1,5 mL/min.

**Détection :** spectrophotomètre à 220 nm.

**Injection :** 20 µL.

**Identification des pics :** utilisez le chromatogramme fourni avec l'extrait sec de valériane ERV et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin pour identifier les pics dus à l'acide acétoxyvalérénique et à l'acide valérénique.

**Conformité du système :** solution témoin :

- rétention relative par rapport à l'acide valérénique (temps de rétention = environ 19 min) : acide acétoxyvalérénique = environ 0,5.

Calculez la teneur pour cent en acides sesquiterpéniques, exprimée en acide valérénique, à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{(A_1 + A_2) \times m_2 \times p \times 5}{A_3 \times m_1}$$

- $A_1$  - surface du pic dû à l'acide acétoxyvalérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_2$  - surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_3$  - surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,
- $m_1$  - masse de la prise d'essai utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,
- $m_2$  - masse d'extrait sec de valériane ERV utilisée pour préparer la solution témoin, en grammes,
- $p$  - teneur pour cent en acide valérénique de l'extrait sec de valériane ERV.

07/2010:1899

## VALÉRIANE (TEINTURE DE)

### Valerianae tinctura

#### DÉFINITION

Teinture produite à partir de *Racine de valériane* (0453).

**Teneur :** au minimum 0,015 pour cent m/m d'acides sesquiterpéniques, exprimés en acide valérénique (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> ; M, 234,3).

#### PRODUCTION

La teinture est produite à partir de 1 partie de drogue et de 5 parties d'éthanol de 60 à 80 pour cent V/V, par une méthode appropriée.

#### CARACTÈRES

**Aspect :** liquide brun.

#### IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** Diluez 5 mL de teinture à examiner avec 5 mL d'éthanol à 70 pour cent V/V R.

**Solution témoin.** Dissolvez 5 mg d'acide acétoxyvalérénique R et 5 mg d'acide valérénique R dans 20 mL de méthanol R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (3-10 µm)].

**Phase mobile :** acide acétique glacial R, acétate d'éthyle R, cyclohexane R (2:38:60 V/V/V).

**Dépôt :** 20 µL [ou 5 µL] en bandes de 10 mm [ou 8 mm].

**Développement :** sur un parcours de 10 cm [ou 6 cm].

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez à 100-105 °C pendant 5-10 min. Examinez à la lumière du jour.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes violettes peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.



Haut de la plaque	
Acide valérique : une bande violette	Une bande violette (acide valérique)
Acide acétoxyvalérique : une bande violette	Une bande violette (acide acétoxyvalérique)
	2 bandes violet pâle ou très pâle
Solution témoin	Solution à examiner

- $m_1$  = masse de la prise d'essai utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,  
 $m_2$  = masse d'extrait sec de valériane ERV dans la solution témoin, en grammes,  
 $P$  = teneur pour cent en acide valérique de l'extrait sec de valériane ERV.

01/2008:1426  
 corrigé 6.0

#### ESSAI

**Ethanol (2.9.10)** : 95 pour cent à 105 pour cent de la valeur indiquée sur l'étiquette.

#### DOSAGE

Chromatographie liquide (2.2.29).

**Solution à examiner.** Prélevez 10,0 g de teinture à examiner et complétez à 50,0 mL avec du méthanol RI.

**Solution témoin.** Dissolvez une quantité d'extrait sec de valériane ERV correspondant à 1,0 mg d'acide valérique dans du méthanol RI et complétez à 10,0 mL avec le même solvant. Traitez aux ultrasons pendant 10 min puis filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

Colonne :

- dimensions :  $l = 0,25$  m,  $\varnothing = 4,6$  mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

Phase mobile :

- phase mobile A : acétonitrile RI, solution d'acide phosphorique R à 5 g/L (20:80 V/V),
- phase mobile B : solution d'acide phosphorique R à 5 g/L, acétonitrile RI (20:80 V/V),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 5	55	45
5 - 18	55 → 20	45 → 80
18 - 22	20	80

Débit : 1,5 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 220 nm.

Injection : 20 µL.

Identification des pics : utilisez le chromatogramme fourni avec l'extrait sec de valériane ERV et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin pour identifier les pics dus à l'acide acétoxyvalérique et à l'acide valérique.

Conformité du système : solution témoin :

- rétention relative par rapport à l'acide valérique (temps de rétention = environ 19 min) : acide acétoxyvalérique = environ 0,5.

Calculez la teneur pour cent en acides sesquiterpéniques, exprimée en acide valérique, à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{(A_1 + A_2) \times m_2 \times p \times 5}{A_3 \times m_1}$$

- $A_1$  = surface du pic dû à l'acide acétoxyvalérique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,  
 $A_2$  = surface du pic dû à l'acide valérique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,  
 $A_3$  = surface du pic dû à l'acide valérique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,



**Teneur** : au minimum 0,02 pour cent d'acides sesquiterpéniques, exprimés en acide valérénique (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> ; M, 234,3) (extrait desséché).

**PRODUCTION**

L'extrait est produit à partir de la drogue végétale, par une méthode appropriée, avec de l'eau au minimum à 60 °C.

**CARACTÈRES**

**Aspect** : poudre brune ou brunâtre, hygroscopique.

**IDENTIFICATION**

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** Mettez en suspension 1,0 g d'extrait à examiner dans 10 mL de méthanol R et traitez aux ultrasons pendant 10 min. Filtrez le surnageant sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm). Utilisez le filtrat comme solution à examiner.

**Solution témoin.** Dissolvez 5 mg d'acide acétoxyvalérénique R et 5 mg d'acide valérénique R dans 20 mL de méthanol R.

**Plaque** : plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (2-10 µm)].

**Phase mobile** : acide acétique glacial R, acétate d'éthyle R, cyclohexane R (2:38:60 V/V/V).

**Dépôt** : 20 µL [ou 5 µL] en bandes de 10 mm [ou 8 mm].

**Développement** : sur un parcours de 10 cm [ou 6 cm].

**Séchage** : à l'air.

**Détection** : pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez à 100-105 °C pendant 5-10 min. Examinez à la lumière du jour.

**Résultats** : voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Une bande violette faible due à l'acide valérénique peut être présente dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Acide valérénique : une bande violette	_____
Acide acétoxyvalérénique : une bande violette	Une bande violette (acide acétoxyvalérénique)
_____	Une bande violette (acide hydroxyvalérénique)
Solution témoin	Solution à examiner

**ESSAI**

**Perte à la dessiccation (2.8.17)** : au maximum 6,0 pour cent.

**DOSAGE**

Chromatographie liquide (2.2.29).

**Mélange de solvants** : méthanol R, eau R (50:50 V/V).

**Solution à examiner.** Dans une fiole conique de 300 mL, mettez en suspension 1,00 g d'extrait à examiner dans 40 mL d'eau R, tout en agitant. Ajoutez 40 mL de méthanol R et agitez pendant 1 h à 200 tr/min. Filtrez la suspension dans une fiole jaugée et rincez la fiole conique avec 3 fois 5 mL du mélange de solvants. Complétez à 100,0 mL avec le mélange de solvants.

**Solution témoin (a).** Dissolvez une quantité d'extrait sec de valériane ERV correspondant à 1,0 mg d'acide valérénique dans du méthanol R et complétez à 10,0 mL avec le même solvant. Traitez aux ultrasons pendant 10 min puis filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

**Solution témoin (b).** Prélevez 1,0 mL de solution témoin (a) et complétez à 50,0 mL avec du méthanol R.

**VALÉRIANE (EXTRAIT AQUEUX SEC DE)**

Valerianae extractum aquosum siccum

**DÉFINITION**

Extrait produit à partir de Racine de valériane (0453).



**Colonne :**

- dimensions :  $l = 0,25 \text{ m}$ ,  $\varnothing = 4 \text{ mm}$ ,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R ( $5 \mu\text{m}$ ).

**Phase mobile :**

- phase mobile A : acétonitrile R1, solution d'acide phosphorique R à  $5 \text{ g/L}$  (20:80 V/V),
- phase mobile B : solution d'acide phosphorique R à  $5 \text{ g/L}$ , acétonitrile R1 (20:80 V/V),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0 - 5	55	45
5 - 18	55 → 20	45 → 80
18 - 22	20	80

Débit :  $1,5 \text{ mL/min}$ .

Détection : spectrophotomètre à  $220 \text{ nm}$ .

Injection :  $20 \mu\text{L}$ .

**Identification des pics :** utilisez le chromatogramme fourni avec l'extrait sec de valériane ERV et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) pour identifier les pics dus à l'acide acétoxyvalérénique et à l'acide hydroxyvalérénique.

**Rétention relative** par rapport à l'acide valérénique (temps de rétention = environ  $19 \text{ min}$ ) : acide hydroxyvalérénique = environ  $0,2$  ; acide acétoxyvalérénique = environ  $0,5$ .

Calculez la teneur pour cent en acides sesquiterpéniques, exprimés en acide valérénique, à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{(A_1 + A_2) \times m_2 \times p \times 0,2}{A_3 \times m_1}$$

- $A_1$  - surface du pic dû à l'acide hydroxyvalérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_2$  - surface du pic dû à l'acide acétoxyvalérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_3$  - surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b),
- $m_1$  - masse de l'extrait à examiner utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,
- $m_2$  - masse de l'extrait sec de valériane ERV utilisée pour préparer la solution témoin (a), en grammes,
- $p$  - teneur pour cent en acide valérénique de l'extrait sec de valériane ERV.

01/2008:1898



**VALÉRIANE (EXTRAIT  
HYDROALCOOLIQUE SEC DE)**

*Valerianae extractum hydroalcoholicum  
siccum*

**DÉFINITION**

Extrait produit à partir de *Racine de valériane* (0453).

*Teneur* : au minimum 0,25 pour cent *m/m* d'acides sesquiterpéniques, exprimés en acide valérénique (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> ; M<sub>r</sub> 234,3) (extrait desséché).

**PRODUCTION**

L'extrait est produit à partir de la drogue végétale, par une méthode appropriée, avec de l'éthanol à 30-90 pour cent *V/V* ou du méthanol à 40-55 pour cent *V/V*.

**CARACTÈRES**

*Aspect* : poudre brune, hygroscopique.

**IDENTIFICATION**

Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

*Solution à examiner*. Mettez en suspension 1 g d'extrait à examiner dans 10 mL de méthanol R et traitez aux ultrasons pendant 10 min. Filtrez le surnageant sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm). Utilisez le filtrat comme solution à examiner.

*Solution témoin*. Dissolvez 5 mg d'acide acétoxyvalérénique R et 5 mg d'acide valérénique R dans 20 mL de méthanol R.

*Plaque* : plaque au gel de silice pour CCM R (5-40 µm) [ou plaque au gel de silice pour CCM R (2-10 µm)].

*Phase mobile* : acide acétique glacial R, acétate d'éthyle R, cyclohexane R (2.38.60 *V/V/V*).

*Dépôt* : 20 µL [ou 5 µL] en bandes de 10 mm [ou 8 mm].

*Développement* : sur un parcours de 10 cm [ou 6 cm].

*Séchage* : à l'air.

*Détection* : pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez à 100-105 °C pendant 5-10 min. Examinez à la lumière du jour.

*Résultats* : voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes violettes peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Acide valérénique : une bande violette	Une bande violette (acide valérénique)
Acide acétoxyvalérénique : une bande violette	Une bande violette (acide acétoxyvalérénique)
	2 bandes violet pâle ou très pâle
Solution témoin	Solution à examiner

**ESSAI**

*Perte à la dessiccation* (2.8.17) : au maximum 6,0 pour cent.

**DOSAGE**

Chromatographie liquide (2.2.29).

*Solution à examiner*. Mettez en suspension 1,00 g d'extrait à examiner dans 50,0 mL de méthanol R1, traitez aux ultrasons pendant 10 min puis filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

*Solution témoin*. Dissolvez une quantité d'extrait sec de valériane ERV correspondant à 0,5 mg d'acide valérénique dans du méthanol R1 et complétez à 10,0 mL avec le même solvant. Traitez aux ultrasons pendant 10 min puis filtrez sur une membrane filtrante (diamètre nominal des pores 0,45 µm).

*Colonne* :

- dimensions : l = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,
- phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5 µm).

*Phase mobile* :

- phase mobile A : acétonitrile R1, solution d'acide phosphorique R à 5 g/L (20.80 *V/V*),
- phase mobile B : solution d'acide phosphorique R à 5 g/L, acétonitrile R1 (20.80 *V/V*),

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent <i>V/V</i> )	Phase mobile B (pour cent <i>V/V</i> )
0 - 5	55	45
5 - 18	55 → 20	45 → 80
18 - 22	20	80

*Débit* : 1,5 mL/min.

*Détection* : spectrophotomètre à 220 nm.

*Injection* : 20 µL.

*Identification des pics* : utilisez le chromatogramme fourni avec l'extrait sec de valériane ERV et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin pour identifier les pics dus à l'acide hydroxyvalérénique, à l'acide acétoxyvalérénique et à l'acide valérénique.

*Conformité du système* : solution témoin :

- rétention relative par rapport à l'acide valérénique (temps de rétention = environ 19 min) : acide hydroxyvalérénique = environ 0,2 ; acide acétoxyvalérénique = environ 0,5.



Calculez la teneur pour cent en acides sesquiterpéniques, exprimés en acide valérénique, à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{(A_1 + A_2 + A_3) \times m_2 \times p \times 5}{A_4 \times m_1}$$

- $A_1$  - surface du pic dû à l'acide hydroxyvalérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,  
 $A_2$  - surface du pic dû à l'acide acétoxyvalérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,  
 $A_3$  - surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

- $A_4$  - surface du pic dû à l'acide valérénique dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,  
 $m_1$  - masse de l'extrait à examiner utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,  
 $m_2$  - masse d'extrait sec de valériane ERV utilisée pour préparer la solution témoin, en grammes,  
 $p$  - teneur pour cent en acide valérénique de l'extrait sec de valériane ERV.

## Annexe 7 – Composition chimique des feuilles de mélisse

Flavonoïdes <sup>a</sup>		
Cosmosiine <sup>d,e,f,g</sup> Cynaroside <sup>d,e,f,g</sup>	Isoquercitrine/Isoquercitroside <sup>d,e,f,g</sup> Rhamnocitrine <sup>b,d,e,f,g</sup>	
Acides phénoliques <sup>d</sup>		
Dérivés de l'acide benzoïque	Acide carnosique <sup>g</sup> Acide gentisique <sup>g</sup>	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque <sup>g</sup> Acide protocatéchique <sup>g</sup>
Dérivés de l'acide cinnamique	Acide caféique <sup>c,f</sup> Acide chlorogénique <sup>c,f</sup>	Acide rosmarinique <sup>c,d,e,f,g</sup> Acides A et B mélitriques <sup>a,e</sup>
Acides de triterpènes		
Acide oléanolique <sup>b,c,f,g</sup>	Acide ursolique <sup>b,c,d,f,g</sup>	
Tanins		
Tanins catéchiques <sup>f</sup>		
Vitamines		
B1 et B2 <sup>f</sup>		
Autres		
Acide succinique <sup>f</sup> , stérols <sup>g</sup> , chlorophylles <sup>g</sup> , cires <sup>g</sup> , etc.		

a - Agata *et al.*, 1993b - Herodez *et al.*, 2003

c - Wichtl &amp; Anton, 2003

d - Gruenwald *et al.*, 2007

e - Bruneton, 2009

f - Thoby, 2009

g - Penchev, 2010



Annexe 8 – Composition chimique de l'huile essentielle\* de mélisse

<b>Terpénoïdes</b>		
<b>Monoterpènes réguliers</b>		
<b>Hydrocarbures</b>	$\alpha$ -pinène <sup>e</sup>	<i>Cis</i> - et <i>trans</i> - $\beta$ -ocimène <sup>b,c,d,e</sup>
<b>Alcools</b>	$\alpha$ -terpinéol <sup>d</sup> Citronellol <sup>a,d,e</sup> Géranol <sup>a,b,d,e</sup>	Isopulégol <sup>d,e</sup> Linalol <sup>a,b,d,e</sup> Nérol <sup>a,d</sup>
<b>Esters</b>	Acétate de citronellyle <sup>d</sup> Acétate de géranyle <sup>a,b,d,e</sup> Acétate de linalyle <sup>d</sup>	Acétate de néryle <sup>d,e</sup> Citronellate de méthyle <sup>a,b</sup>
<b>Oxydes</b>	1,8-cinéole <sup>d</sup>	Oxyde de <i>cis</i> -linalol <sup>e</sup>
<b>Aldéhydes</b>	Citronellal <sup>a,b,c,d,e</sup> Géranial (citral a) <sup>a,b,c,d,e</sup>	Néral (citral b) <sup>a,b,c,d,e</sup>
<b>Cétones bicycliques</b>	Pinocamphone	
<b>Sesquiterpènes</b>		
<b>Hydrocarbures</b>	$\alpha$ -bisabolène <sup>d</sup> $\alpha$ -copaène <sup>a,d</sup> $\alpha$ -cubébène <sup>e</sup> / $\beta$ -cubébène <sup>d</sup> $\alpha$ -humulène <sup>d</sup> $\beta$ -bourbonène <sup>d</sup> $\beta$ -cadinène	$\beta$ -caryophyllène <sup>a,b,c,d,e</sup> et oxyde de caryophyllène <sup>a,b,c,d,e</sup> $\beta$ -cédrene <sup>d</sup> $\beta$ -élémente / $\gamma$ -élémente <sup>d</sup> Calarène Germacrène D <sup>a,b,c,d,e</sup>
<b>Alcools</b>	Cadinol <sup>d</sup> Caryophyllénol <sup>d</sup> Farnésol <sup>d</sup>	Germacradiénol <sup>c</sup> Nérolidol
<b>Composés aromatiques</b>		
Eugénol et acétate d'eugényle <sup>b,d,e</sup>		
<b>Composés aliphatiques</b>		
<b>Aldéhydes</b>	Nonanal	
<b>Alcools</b>	Hept-1-èn-3-ol	Oct-1-èn-3-ol <sup>b,e</sup>
	6-méthylhept-5-èn-2-one <sup>a,b,c,d,e</sup>	

a - Wichtl & Anton, 2003

b - Gruenwald *et al.*, 2007

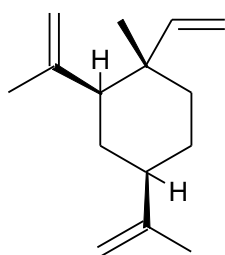
c - Bruneton, 2009

d - Thoby, 2009

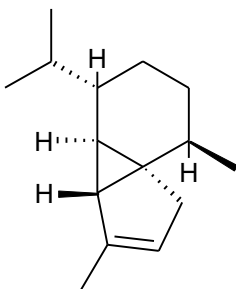
e - Penchev, 2010



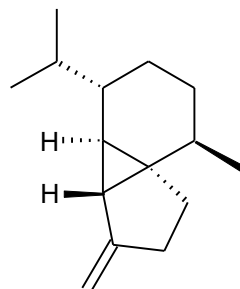
Annexe 9 – Composés minoritaires de l'huile essentielle\* de mélisse



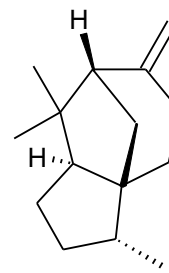
$\beta$ -Élémène



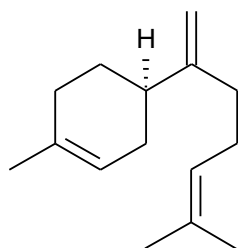
$\alpha$ -cubébène



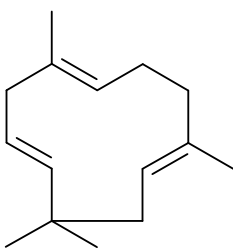
$\beta$ -cubébène



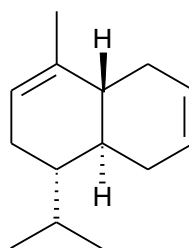
$\beta$ -Cédrène



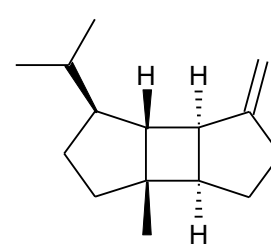
$\alpha$ -Bisabolène



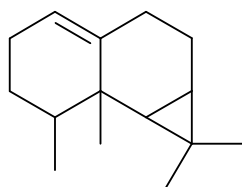
$\alpha$ -Humulène



$\beta$ -Cadinène



$\beta$ -Bourbonène



Calarène



## Annexe 10 – Composition chimique des racines de valériane

<b>Terpénoïdes</b>	
<b>Sesquiterpènes</b>	Acide valérienique <sup>a,b,c,d</sup> Acide 2-acétoxyvalérienique <sup>a,b,c,d</sup> Acide 2-hydroxyvalérienique <sup>a,b,c,d</sup>
<b>Iridoïdes</b>	
Valépotriates	Valtrate <sup>a,b,c</sup> Isovaltrate <sup>a,b,c</sup> Acévaltrate <sup>a,b,c</sup> Dihydrovaltrate <sup>a,b,c</sup> Isovaléroxy-hydroxydihydrovaltrate IVHD <sup>a,b,c</sup>
Baldrinals	Baldrinal <sup>a,e</sup> Homobaldrinal <sup>a,e</sup>
<b>Composés azotés</b>	
<b>Alcaloïdes pyridiniques</b>	Actinidine et valérianine <sup>b,c,d,f</sup> Naphtyridylméthylcétone <sup>f</sup> Alpha-méthylpyrrylcétone <sup>c,d</sup>
<b>Acides aminés</b>	GABA <sup>a,d</sup> Glutamine <sup>a,e</sup> Tyrosine <sup>a</sup> Arginine <sup>a,e</sup>
<b>Lignanes</b>	
Pinorésinol <sup>b</sup>	
<b>Acides phénoliques <sup>d</sup></b>	
Acide isoféruleique	Acide chlorogénique <sup>c</sup>
<b>Autres</b>	
Flavonoïdes	

a - Bos, 1997

b - Wichtl & Anton, 2003

c - Gruenwald *et al.*, 2007

d - Bruneton, 2009

e - European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 2009

f - Patočka & Jakl, 2010



Annexe 11 – Composition chimique de l'huile essentielle\* de valériane

<b>Terpénoïdes</b>			
<b>Monoterpènes</b>			
Hydrocarbures	Camphène <sup>a,c,e</sup> $\beta$ -Cymène Fenchène <sup>a</sup> $\beta$ -Myrcène <sup>a</sup>	$\alpha$ - $\beta$ -pinène <sup>a,e</sup> Sabinène <sup>b</sup> $\gamma$ -Terpinène <sup>a</sup> $\alpha$ - et $\beta$ -phellandrène <sup>a</sup>	Terpinolène <sup>a</sup> Tricyclène <sup>a,b</sup> Limonène <sup>a</sup> P-Cymène <sup>a,b</sup>
Alcools	Bornéol (et esters) <sup>a</sup> Carvacrol (méthyléther de) <sup>a</sup> Cis- et trans-carveol <sup>b</sup>	Linalol et acétate de linalyle <sup>a</sup> Myrténol (et esters) <sup>a</sup>	Terpinèn-4-ol <sup>a</sup> $\alpha$ -Terpinéol <sup>a</sup>
Aldéhydes	Menthénal <sup>b</sup>		
Cétone	Camphre <sup>b</sup>		
Esters	Acétate de citronellyle <sup>a,b</sup> Acétate de bornyle <sup>a,c,d,e</sup>	Isovalérate de citronellyle <sup>a,b</sup>	
Oxydes	1,8-cinéole <sup>a</sup>		
<b>Sesquiterpènes</b>			
Hydrocarbures	Acide valérénique (et ester) <sup>a</sup> $\beta$ -bisabolène <sup>a,b</sup> $\beta$ -caryophyllène <sup>a,c</sup> $\alpha$ -copaène = $\alpha$ -ylangène <sup>a</sup> $\delta$ -et $\gamma$ -cadinène <sup>a</sup> , 1,4,9-cadinatriène $\alpha$ -curcumène <sup>a</sup> $\beta$ -, $\delta$ - et $\gamma$ -élémente <sup>a</sup>	Eudesma-2,6,8-triène <sup>e</sup> $\beta$ -farnésène <sup>a</sup> Germacrène D <sup>a</sup> $\alpha$ -guaïène <sup>a</sup> $\beta$ -gurjunène <sup>a</sup> $\alpha$ -humulène <sup>b</sup>	
Alcools	Alcool kessylique (et esters) <sup>e</sup> Epi- $\alpha$ -bisabolol <sup>b</sup> Cryptofaurinol <sup>b,c,d</sup> et acétate de cryptofauronyle <sup>b</sup> Drimérol <sup>b</sup> Élémol <sup>a</sup> $\beta$ -eudesmol et $\gamma$ -eudesmol <sup>a</sup>	Lédol <sup>b</sup> Maaliol <sup>b</sup> Pacifigorgiol <sup>b</sup> Valérénol (et esters) <sup>e</sup> Valérianol <sup>b,e</sup>	
Cétones	Faurinone <sup>b</sup>	Valéranone <sup>b,d,e</sup>	
Aldéhyde	Valérénal <sup>a,c,d,e</sup>		
Sesquiterpénoïdes	Xanthorrhizol <sup>b</sup>		
<b>Iridoïdes</b>			
Baldrinals	Baldrinal <sup>b,c,f</sup>	Homobaldrinal <sup>b,f</sup>	
<b>Caroténoïdes</b>			
$\beta$ -ionone <sup>a</sup>			
<b>Composés aromatiques</b>			
Eugénoïdes	Isoeugényle isovalérénate et isoeugényle valérénate <sup>b,d</sup>	Thymol <sup>b</sup>	
<b>Autres</b>			
Acétate de nojigiku <sup>b</sup>	Acide isovalérique <sup>a,d</sup>		

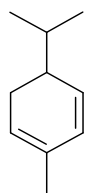
a - Hazelhoff *et al.*, 1979  
d - Gruenwald *et al.*, 2007

b - Bos, 1997  
e - Bruneton, 2009

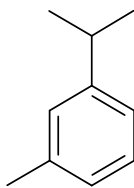
c - Wichtl & Anton, 2003  
f - European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 2009



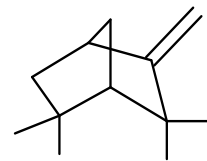
Annexe 12 – Composés minoritaires de l'huile essentielle\* de valériane



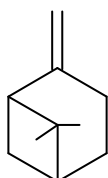
**$\alpha$ -Phellandrène**



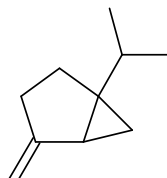
**$\beta$ -Cymène**



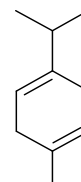
**Fenchène**



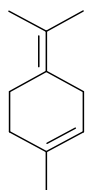
**$\beta$ -Pinène**



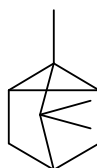
**Sabinène**



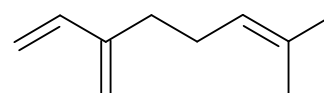
**$\gamma$ -Terpinène**



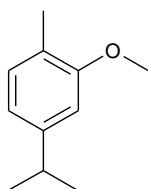
**Terpinolène**



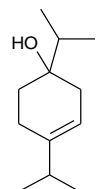
**Tricyclène**



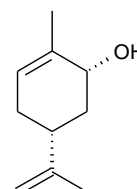
**$\beta$ -Myrcène**



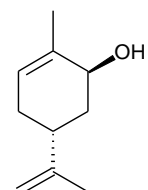
**Méthyléther de carvacrol**



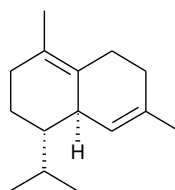
**Terpinèn-4-ol**



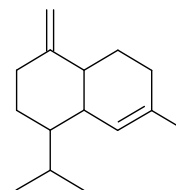
**(-)-cis-carvéol**



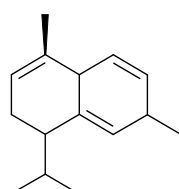
**(-)-trans-carvéol**



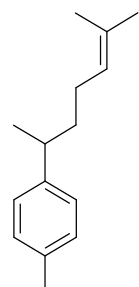
**$\delta$ -cadinène**



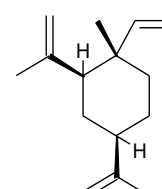
**$\gamma$ -cadinène**



**cadinatriène**

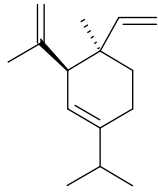


**$\alpha$ -curcumène**

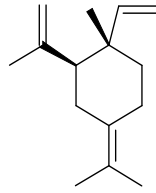


**$\beta$ -élémente**

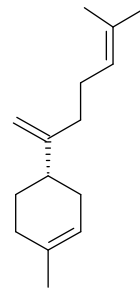




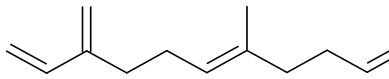
**$\delta$ -élémente**



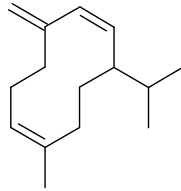
**$\gamma$ -élémente**



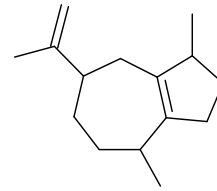
**$\beta$ -bisabolène**



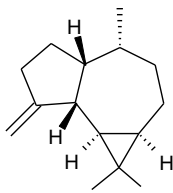
**$\beta$ -farnésène**



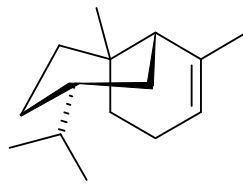
**Germacrène D**



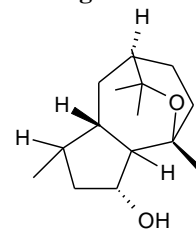
**$\alpha$ -guaiène**



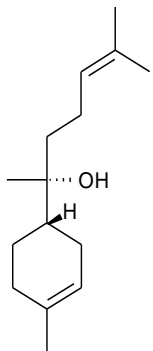
**$\beta$ -gurjunène**



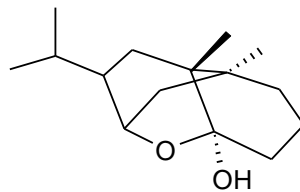
**$\alpha$ -copaène**



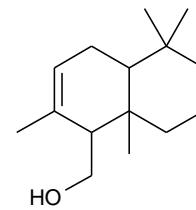
**Alcool kessylique**



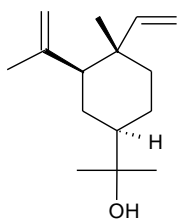
**Epi  $\alpha$ -bisabolol**



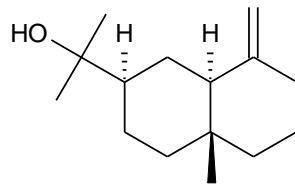
**Cryptofauronol**



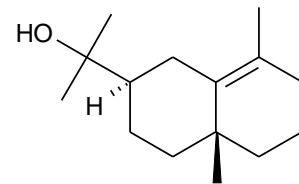
**Driménol**



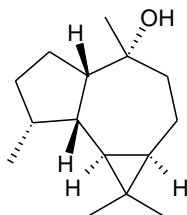
**Élémol**



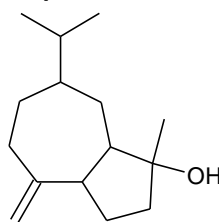
**$\beta$ -eudesmol**



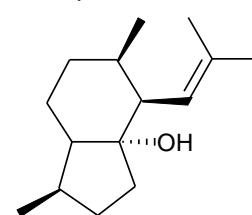
**$\gamma$ -eudesmol**



**Lédol**



**Nardol**



**Pacifigorgiol**



### Annexe 13 – Les différents récepteurs TRPV identifiés et leurs principales caractéristiques

Type de récepteur	Perméabilité cationique	Site d'expression	Sensibilité à la température	Agoniste/Activation par
TRPV1	Perméabilité aux ions $\text{Ca}^{2+}$ non sélective, $P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}}$ allant de 1 à $10^6$	Cellules épidermiques <sup>e</sup> Ganglions spinaux <sup>b,e</sup> Ganglion trigéminal <sup>b,c</sup> Terminaisons nerveuses périphériques <sup>b</sup> Moelle épinière <sup>e</sup> Tissu non-neuronal <sup>b</sup>	$\geq 42^\circ\text{C}$ <sup>d</sup>	Capsaïcine <sup>e</sup> pH acide <sup>e</sup> Étirement de la membrane cellulaire <sup>d</sup>
TRPV2		Ganglions spinaux <sup>b,d</sup> Tractus gastro-intestinal <sup>b</sup> Muscles lisses <sup>b</sup> Cerveau (quelques régions) <sup>b</sup>	$\geq 52^\circ\text{C}$ <sup>d</sup>	Étirement mécanique <sup>d</sup> Stress osmotique <sup>d</sup>
TRPV3		Kératinocytes <sup>e</sup> Ganglions spinaux <sup>b</sup> Ganglion trigéminal <sup>b,c</sup> Cerveau <sup>b</sup> Langue <sup>b</sup> Testicules <sup>b</sup>	$32 - 39^\circ\text{C}$ <sup>a,d</sup>	Camphre <sup>e</sup> , carvacrol <sup>d</sup> , thymol <sup>d</sup> , eugénol <sup>d</sup>
TRPV4		Endothélium urinaire <sup>e</sup> Detrusor <sup>e</sup>	$27 - 34^\circ\text{C}$ <sup>d</sup>	Acide arachidonique Urine hypo-osmolaire <sup>e</sup> Distension vésicale <sup>e</sup>
TRPV5		Haute sélectivité aux ions $\text{Ca}^{2+}$ <sup>b</sup>	Reins <sup>b</sup> Intestins <sup>b</sup>	Non
TRPV6				

a - Smith *et al.*, 2002

b - Pedersen *et al.*, 2005

c - Vogt-Eisele *et al.*, 2007

d - Vay *et al.*, 2011

e - Moran *et al.*, 2011



## Engagement de non plagiat



ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) Stéphanie PINEAU,  
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un  
document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation  
des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer  
toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

Signature :