

## COMPOSITION CHIMIQUE ET PROPRIÉTÉS ANTIOXYDANTES DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *MELISSA OFFICINALIS* L.

FEKNOUS Souad<sup>1\*</sup>, HAIANI Cherifa<sup>1</sup>, CHERIF Hamida<sup>1</sup> et SAIDI Fairouz<sup>1</sup>

1. Université de Blida1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Laboratoire de Recherche Biotechnologie, Environnement et Santé, B.P. 270, route de Soumaa, Blida Algérie

Reçu le 21/10/2017, Révisé le 24/12/2017, Accepté le 31/12/2017

### Résumé

**Description du sujet :** Le présent travail consiste à déterminer la composition chimique de l'huile essentielle de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) et évaluer son pouvoir antioxydant.

**Objectifs :** Cette étude apporte une contribution à la valorisation des plantes aromatiques de la flore algérienne, afin de trouver de nouveaux produits naturels bioactifs et remplacer ainsi les molécules de synthèse toxiques.

**Méthodes :** L'huile essentielle de la mélisse obtenue par entraînement à la vapeur d'eau de la plante sèche a été analysée par CG/SM. Le pouvoir antioxydant de cette huile a été évalué par le test de DPPH.

**Résultats :** L'huile essentielle de la mélisse contient une forte proportion en sesquiterpènes hydrocarbonés (Trans  $\beta$ -Caryophyllène 19,25%). Elle a présenté une activité antiradicalaire avec une  $IC_{50}=0,64\pm 0,01$  mg/ml.

**Conclusion :** L'huile essentielle de la mélisse présente une modeste activité antioxydante. Toutefois, vu la richesse de cette huile en composés très appréciés en pharmacologie, cette contribution ouvre de larges perspectives de recherche.

**Mots clés:** *Melissa officinalis* ; huile essentielle ; CG/SM ; effet antioxydant

## CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF *MELISSA OFFICINALIS* L. ESSENTIAL OIL

### Abstract

**Description of the subject:** The present work consists in determining the chemical composition of the essential oil of Melissa (*Melissa officinalis* L.) and evaluating its antioxidant power.

**Objective:** This study contributes to the valorisation of aromatic plants of Algerian flora, in order to find new bioactive natural products and thus replace the toxic synthetic molecules.

**Methods:** The essential oil of Melissa obtained by drifting to the steam of the dry plant was analyzed by GC/MS. The antioxidant power of this oil was evaluated by the DPPH test.

**Results:** The essential oil of Melissa contains a high proportion of hydrocarbon sesquiterpenes (Trans  $\beta$ -Caryophyllene 19,25%). It exhibited an antiradical activity with an  $IC_{50}=0,64\pm 0,01$  mg/ml.

**Conclusion:** The essential oil of Melissa has a modest antioxidant activity. However, given the richness of this oil in compounds highly appreciated in pharmacology, this contribution opens wide prospects for research.

**Keywords:** *Melissa officinalis* ; essential oil ; GC/MS ; antioxidant effect

\*Auteur correspondant: FEKNOUS Souad, E-mail: feknous.souad@yahoo.fr

## INTRODUCTION

Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies. Les médecins et les pharmaciens prescrivaient ou vendaient environ 90% de produits à base de plantes [1].

La préservation et la valorisation des ressources naturelles à intérêt médicinale et aromatique sont devenues des domaines très importants sur le plan économique [2]. De nos jours l'utilisation des plantes en médecine a évolué : les médicaments sont aujourd'hui le fruit d'une recherche longue et coûteuse qui passe de la cueillette au laboratoire, à la détermination du principe actif, son isolation ensuite la synthèse [3]. Cependant, les plantes restent encore sous-exploitées dans le domaine de la recherche de nouveaux antioxydants naturels, surtout que l'utilisation des substituants de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels [4]. Ces substances jouent un rôle important en agroalimentaire dans la préservation des aliments et contribuent en médecine à la prévention des maladies chroniques en combattant le stress oxydant [5]. La mélisse « *Melissa officinalis* » est une vieille plante mellifère, condimentaire et médicinale, importée par les Romains et les anciens Grecs [6]. Elle est originaire de la région méditerranéenne orientale. La mélisse pousse à l'état spontané dans les pays chauds [7]. C'est une plante commune dans toute l'Algérie, où on la retrouve dans des lieux incultes, ombragés, sur les terrains riches en humus, en marge des forêts et aux bords des chemins jusqu'à 1000 mètre d'altitude ainsi qu'aux alentours des maisons [8].

Elle est aussi largement cultivée dans les régions de la Kabylie néanmoins, elle est spontanée dans les montagnes du Tell. On l'observe dans les ravins humides des montagnes de Babors, du Djurdjura et de l'Atlas Blidéen [9, 10].

*Melissa* est une plante vivace de cinquante à soixante-dix centimètres de longueur. Il s'agit d'une plante herbacée robuste qui évolue en touffe, à rhizome court mais portant de nombreux bourgeons adventifs servant à perpétuer et multiplier la plante [11, 12]. Elle est également connue sous le nom de citronnelle car elle dégage une délicate odeur de citron lorsqu'on froisse ses feuilles [13].

La mélisse, malgré des références anciennes, est une nouvelle venue en phytothérapie moderne [14]. Elle est très largement préconisée par les herboristes en Algérie notamment pour son effet calmant.

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation des substances naturelles bioactives qui présentent un intérêt dans le domaine de la bio-pharmacologie afin de remplacer les molécules de synthèse toxiques. L'objectif principal de ce travail est de déterminer la composition chimique de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* et d'évaluer *in vitro* son activité antioxydante.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel végétal

La plante étudiée *Melissa officinalis* L., a été récolté dans la région montagneuse de Hammam Melouane dans la wilaya de Blida (Tableau 1). La récolte a été effectuée sur les parties aériennes au mois de mai 2014, avant la floraison.

Tableau 1: Coordonnées géographiques du site de récolte de *Melissa officinalis*

Région	Localisation	Altitude	Latitude	Longitude
Hammam Melouane	Blida - Algérie	266 m	36°28'46.06'' Nord	3°02'51.05'' Est

Son identification a été faite au niveau du *Parc National de Chréa* (Direction de Blida) et a été confirmée au laboratoire de biologie végétale du département des Biotechnologies de l'Université de Blida1. Le séchage de la plante a été effectué à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### 2. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle de mélisse a été faite par entraînement à la vapeur d'eau. Il s'agit d'une distillation continue en circuit fermé pendant un temps suffisant pour entraîner la totalité de l'huile essentielle contenue dans la plante. Les vapeurs en traversant la plante font éclater les cellules et entraînent avec elles l'huile. L'huile essentielle est recueillie par simple décantation du distillat.

### 3. Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle a été effectuée par un appareil de type Hewlett-Packard (6890N) couplé à un spectromètre de masse (HP 5973N) d'Agilent Technologies. La fragmentation est effectuée en mode électron-impact (E.I.) à 70eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m x 0,25 mm). La température de la colonne est programmée de 70 à 250°C à raison de 4°C.min<sup>-1</sup>. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1 ml.min<sup>-1</sup>. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse et piloté par un logiciel « Turbomass » qui permettra l'identification des constituants aromatiques de l'huile essentielle. La composition en pourcentage a été calculée à partir de la somme des hauteurs de pic de la composition totale de l'huile.

### 4. Evaluation de l'activité antioxydante

*Mesure de l'activité anti radicalaire (DPPH)* : L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par la méthode de piégeage du radical DPPH. Le pouvoir antioxydant des produits testés a été comparé à un antioxydant de synthèse (Butyl-hydroxy-toluène : BHT) et un antioxydant naturel (le tocophérol).

*-Principe* : La capacité de céder des hydrogènes par les huiles essentielles ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH\* (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) [15].

*-Mode opératoire* : Le test utilisant le DPPH a été réalisé en suivant la méthode décrite par Sanchez-Moreno et al [16, 17], où 50µl de chacune des dilutions des produits testés sont mélangés à 2ml d'une solution méthanolique de 60µM de DPPH (dissoudre 2,4mg de DPPH dans 100ml de méthanol). Après une période d'incubation de 30 minutes, à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 517nm. L'activité antioxydante est donnée par le pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH (A%) qui est calculé par la formule suivante :

$$A\% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{blanc}}] \cdot 100$$

Où:

$A_{\text{blanc}}$  : Absorbance du témoin (DPPH) au temps zéro avant addition de l'échantillon à tester.

$A_{\text{éch}}$  : Absorbance de l'échantillon testé.

Cette décoloration est représentative de la capacité des composés à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances [18].

Le paramètre IC<sub>50</sub> a été introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs. Il est défini comme étant la concentration de l'extrait efficace pour réduire 50 % de DPPH en solution [18]. Cette grandeur est déterminée graphiquement en traçant pour un échantillon donné la courbe A% en fonction de la concentration puis on détermine la concentration qui correspond à A% = 50.

Un autre paramètre exprimant la puissance anti-radicalaire à été calculé nommé « ARP » qui est égale à 1/IC<sub>50</sub> [19].

### 5. Analyse statistique

Toutes les mesures expérimentales ont été effectuées en triple répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne de trois analyses ± écart-type. L'analyse statistique a été exécutée en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (ANOVA) suivi par le test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de  $p \leq 0,05$  sont considérées significatives. Les régressions linéaires ont été obtenues en utilisant le logiciel (STATISTICA 8) et l'analyse statistique et l'importance de la corrélation entre les variables ont été exécutées en utilisant le logiciel (SigmaPlot 11.0).

## RÉSULTATS

### 1. Composition chimique de l'huile essentielle

Les résultats de l'analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) de la composition chimique de l'huile essentielle sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2: Composés de l'huile essentielle de *Melissa officinalis*

N°	Temps de rétention (mn)	Composé identifié*	Pourcentage (%)
1	12.48	Citronnellal	1,55
2	15.52	β-Citral (Néral ou citral b)	2,66
3	16.08	(S)-(-)- Acide Citronnelique, Ester méthylique	2,43
4	16.54	α-Citral (Géranial ou citral a)	5,31
5	18.20	Géranate de méthyle	0,66
6	19.89	α-Copaène	5,31
7	20.16	cis-Myrtanol	2,21
8	21.41	Trans β-Caryophyllène	19,25
9	22.37	α-Humulène	5,31
10	23.19	Germacrène D	2,88
11	24.20	γ-Muuroolène	1,33
12	24.47	δ-Cardinène	3,54
13	26.31	Oxyde de caryophyllène	18,58
14	27.04	Oxide de humulène	6,19
15	28.52	Caryophyllenol II (Caryophylla 3,8 (13) dien 5Beta-ol)	10,84
16	28.87	(4S-5R)-5, hydroxycaryophyl-8-(1-3) ene 4,12 époxyde	4,42
17	33.13	Hexahydrofarnesyl acétone (2-penta decanone 6, 10, 14 triméthyl	0,66
18	53.78	Phtalate de dioctyle	6,86
Classes biochimiques des composés identifiés dans l'huile essentielle			
Monoterpènes			-
Sesquiterpènes			37,62
Esters terpéniques			9,95
Oxydes terpéniques			29,19
Alcools terpéniques			13,05
Aldéhydes terpéniques			9,52
Cétones			0,66
TOTAL			99,99

\*Composés classés dans l'ordre d'éluion sur la colonne HP-5MS,

Au total 18 composés ont été identifiés. Le profil chromatographique est caractérisé par 3 pics majoritaires, avec une prédominance des sesquiterpènes hydrocarbonés et leurs dérivés, dont on cite : le sesquiterpène : β-caryophyllène (19,25%), l'oxyde terpénique : oxyde de carophyllène (18,58%) et l'alcool terpénique : caryophyllenol II (10,84%). On note la présence des sesquiterpènes suivant : α-copaène et α-humulène avec le même pourcentage (5,31%), δ-cardinène (3,54%), germacrène D (2,88%) et γ-muuroolène (1,33%).

Aussi une présence non négligeable des aldéhydes terpéniques : α-citral (5,31%), β-citral (2,66%) et citronnellal (1,55%). On note la présence des esters terpéniques, alors que les cétones sont minoritaires sous forme de traces.

## 2. Activité antioxydante

Les résultats de l'activité antioxydante (DPPH), exprimés en pourcentage d'activité anti-radicalaire, de l'huile essentielle de

*Melissa officinalis* L. ainsi que ceux du tocophérol et du Butyl-hydroxy-toluène (BHT) sont donnés dans le tableau 3.

Tableau 3: Activité antioxydante (DPPH) de l'huile essentielle, tocophérol et BHT

Concentration en mg/ml	Activité antioxydante en % *		
	Huile essentielle	Contrôles positifs	
		Tocophérol	BHT
0,1	11,27 ± 2,36	34,55 ± 0,46	71,02 ± 0,31
0,2	23,39 ± 2,49	41,27 ± 1,58	80,10 ± 0,25
0,4	35,56 ± 2,62	49,52 ± 0,68	83,36 ± 0,06
0,6	50,02 ± 0,60	59,06 ± 0,33	87,08 ± 0,19
0,8	63,32 ± 1,09	71,52 ± 0,30	89,18 ± 0,25
1	67,46 ± 2,96	84,47 ± 0,64	91,27 ± 0,20

\* moyenne de trois mesures ± écart-type,

Ces résultats révèlent que tous les substrats testés possèdent une activité anti-radicalaire dose dépendante.

Le pouvoir réducteur est proportionnel à la concentration des substrats.

Pour une concentration élevée de 1mg/ml, il atteint 67,46 % par l'huile essentielle et 84,47% par le tocophérol ainsi qu'une réduction presque totale de l'ordre de 91,27% par le BHT.

Les  $IC_{50}$  exprimant la concentration efficace du substrat antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de molécules de DPPH mises en solution dans le méthanol, ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

La validité de ces régressions est testée par les coefficients de corrélation qui doivent être très

proches de 1,00. Selon Ghedadba *et al.* [20], une valeur plus faible de l' $IC_{50}$  indique une activité antioxydante plus élevée.

Les valeurs des concentrations inhibitrices  $IC_{50}$  (Fig. 1) montrent une activité assez importante de l'huile essentielle ( $IC_{50} = 0,64 \pm 0,01$  mg/ml) et le tocophérol ( $IC_{50} = 0,39 \pm 0,01$  mg/ml) puisqu'ils agissent à des concentrations élevées. Toutefois, le BHT présente une activité antiradicalaire supérieure à 50% quelque soit la concentration utilisée. Par conséquent, le BHT présente un  $IC_{50}$  inférieur à 0,1mg/ml.

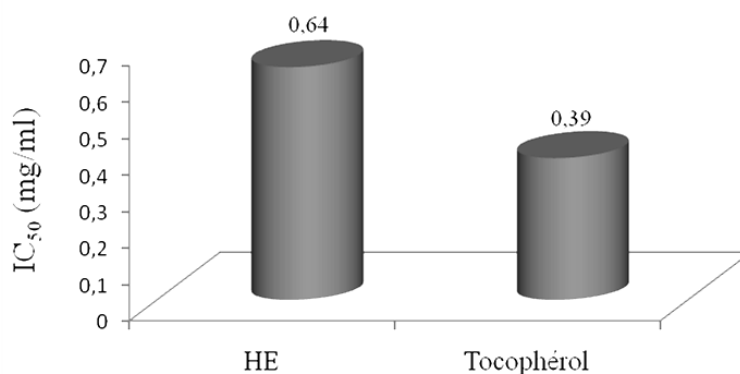


Figure 1 : Concentration inhibitrice à 50% de l'huile essentielle et du tocophérol

L'analyse des valeurs  $IC_{50}$  par ANOVA a révélé une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ). Le test post-hoc de Tukey a donné des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre l'huile essentielle et les deux standards. L'activité du BHT est significativement la plus élevée.

En comparant le résultat obtenu avec l'huile essentielle de la mélisse et les standards, on peut classer l'activité et la puissance antioxydante selon l'ordre suivant : BHT > Tocophérol > Huile essentielle (avec des ARP de  $2,57 \pm 0,05$  pour tocophérol et  $1,55 \pm 0,02$  pour l'huile essentielle).

L'huile essentielle a manifesté un pouvoir antioxydant en piégeant les molécules du radical libre DPPH mais cette capacité est d'une puissance faible en comparaison avec les contrôles positifs.

## DISCUSSION

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* a montré une grande diversité de constituants appartenant à différentes familles de composés chimiques avec une prédominance des sesquiterpènes.

Cependant, selon Ronat [21] les principaux travaux réalisés sur la composition de l'huile essentielle de mélisse émanant de chercheurs allemands, suisses et égyptiens (s'échelonnant de 1982 à 1997) ont obtenu des proportions élevées en monoterpènes.

Nos résultats sont aussi différents de ceux obtenus par Schnitzler *et al.* [22], qui ont examiné la composition chimique de l'huile essentielle de la mélisse d'origine Allemande. Ils ont trouvé une dominance des aldéhydes monoterpéniques.

Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de la récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction [23].

Selon Anton et Wichtl [24], la teneur en  $\beta$ -Caryophyllène peut atteindre jusqu'à 28% et au cours de la conservation elle se transforme en époxydes de caryophyllène et germacrène D jusqu'à 15%, ce qui concorde avec nos résultats.

Le caryophyllène (ou  $\beta$ -caryophyllène, ou encore (-)-trans-caryophyllène) est un sesquiterpène bicyclique. Il a un effet anti-inflammatoire et antiallergique et possède une activité analgésique avec des effets gastriques cytoprotectifs. Cela le rend utilisable dans les domaines de la pharmacie et de la médecine [25, 26, 27, 28].

Par ailleurs, nos résultats de l'activité antiradicalaire sont en accord avec ceux de De Sousa *et al.* [29] qui ont confirmé que l'huile essentielle de la mélisse d'origine Brésilienne présente une activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH et sont aussi similaires aux résultats de Bounihi [30] qui a montré que l'huile essentielle de la mélisse d'origine Marocaine présente une faible activité antioxydante avec une  $IC_{50} = 1,75 \pm 0,03$  mg/ml.

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant [31, 32]. Quelques composés réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant [33], ce qui explique la puissance élevée du BHT et du tocophérol par rapport à notre extrait.

L'huile essentielle de *Melissa officinalis* possède une activité antiradicalaire qui est liée à sa composition chimique, et il est difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés peut avoir lieu. Les travaux de Ruberto et Baratta [34] relatifs à l'activité antioxydante de 98 composants chimiques purs des huiles essentielles ont montré que les hydrocarbures terpéniques avaient un effet antiradicalaire significatif et selon Legault et Pichette [35] le  $\beta$ -caryophyllène est un antioxydant.

## CONCLUSION

L'utilisation de la technique de CG/SM nous a permis d'identifier les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* notamment les sesquiterpènes. L'étude du pouvoir antioxydant par le test de DPPH a confirmé les propriétés modestes que possède l'huile essentielle de la mélisse à réduire les radicaux libres. Les résultats obtenus ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives.

Des études complémentaires seront nécessaires afin d'en déterminer les mécanismes d'action et les applications possible en industrie agro-alimentaire et pharmaceutique.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Iserin. P., Masson. M., Restellini. J-P., Ybert. E., De La Roque. R., Vican. P. & Ybert. E. (2001). *Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparations, soins.* Larousse / VUEF, Paris. 335 p, pp : 8- 143.
- [2]. Teuscher. E., Anton. R. & Lobstein. A. (2005). *Les plantes aromatiques : Epices, aromates condiments et huiles essentielles.* Lavoisier, technique et documentation. 519 P, 3 – 480.
- [3]. Anonyme. (2003). Plantes et médicaments Semences la lettre gnis. Bulletin de l'institut biotechnologique des plantes. Conseil national de recherches. Canada, IBP.CNRC. Numéro 01. Avril 2003.
- [4]. Tadhani. M.B., Patel. V.H. & Subhash. R. (2007). In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J Food Compos Analysis.* 20:323–9.
- [5]. Meddour. A., Yahia. M., Benkiki. N., Ayachi. A. (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L.. *Lebanese Science Journal*, 14(1): 49-60
- [6]. Padrini. F. & Lucheroni. M.T. (2003). *Le grand livre des huiles essentielles.* Editions De Vecchi S.A., Paris. dépôt légal : Avril 2006, 206p.
- [7]. Hayon. (2007). *Les plantes médicinales qui nous soignent, tradition et thérapeutique.* Edition Ouest France. p 22, 23.
- [8]. Delille. L. (2007). *Les plantes médicinales d'Algérie.* Berti éditions. Alger. 240p.
- [9]. Halimi. A. (2004). *Les plantes médicinales d'Algérie.* Edition Berti. p304.
- [10]. Beloued. A. (2005). *Plantes médicinales d'Algérie.* Edition office des publications universitaires. 284p.
- [11]. Bardeau F. (2009). *La pharmacie du bon dieu.* Edition LANOR. p169.

- [12]. **Teuscher. E., Anton. R. & Lobstein. A. (2005).** *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles.* 522p.
- [13]. **Delaveau. P. (2001).** *Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique.* Edition Louis Pariente.
- [14]. **Babulka. P. (2005).** Les plantes de nos tisanes : La mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Phytothérapie*, 3: 114-117.
- [15]. **Talbi. H., Boumaza. A., El-mostafa. K., Talbi. J. & Hilali. A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci.* 6 (4): 1111-1117.
- [16]. **Sanchez Moreno. C., Larrauri. J.A. & Saura Calixto. F. (1998).** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Of The Science Of Food & Agriculture.* 76(2): 270-276.
- [17]. **Hazzit. M. (2008).** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de doctorat en chimie, Faculté de chimie, université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, 130p.
- [18]. **Molyneux. P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) of estimating antioxidant activity. *Journal of science technology*, 26(2): 211-219.
- [19]. **Touaibia. M. & Chaouch. Z. (2013).** Evaluation de l'effet anti-oxydant des extraits de *Myrtus communis* L. obtenus *in situ* et *in vitro*. *Revue Agrobiologia*, 3(1): 64-71.
- [20]. **Ghedadba. N., Bousselfela. H., Hambaba. L., Benbia. S. & Mouloud. Y. (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Pharmacognosie. Phytothérapie.* 12:15-24.
- [21]. **Ronat. N. (2001).** La mélisse (*Melissa officinalis* L.). Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université Joseph Fourier. Faculté de pharmacie de Grenoble. 99p.
- [22]. **Schnitzler. P., Schuhmacher. A., Astani. A. & Reichling. J. (2008).** *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Science Direct. Phytomedicine* 15: 734-740.
- [23]. **LAIB. I. & BARKAT. M. (2011).** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs séchées de *Lavandula officinalis*. *Agriculture* 2: 89-101.
- [24]. **Anton. R. & Wichtl. M. (2003).** *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* 2 ème édition, Lavoisier. 692p.
- [25]. **Ghelardini. C., Galeotti. N., Di Cesare Mannelli L., Mazzanti. G. & Bartolini. A. (2001).** Local anaesthetic activity of  $\beta$ -caryophyllene, *Il Farmaco* 56 387–389.
- [26]. **Skold. M., Karlberg. A.-T., Matura. M. & Borje. A. (2006).** The fragrance chemical  $\beta$ -caryophyllene—air oxidation and skin sensitization. *Food and Chemical Toxicology* 44 538–545.
- [27]. **Fernandes. E. S., Passos. G. F., Medeiros. R., Da Cunha. F. M., Ferreira. J., Campos. M. M., Pianowski. L. F. & Calixto. J. B. (2007).** Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*, *European Journal of Pharmacology* 569: 228–236.
- [28]. **Michielin. E. M. Z., Rosso. S. R., Franceschi. E., Borges. G. R., Corazza. M. L., Oliveira. J. V. & Ferreira. S. R.S. (2009).** High-pressure phase equilibrium data for systems with carbon dioxide,  $\alpha$ -humulene and trans-caryophyllene, *J. Chem. Thermodynamics* 41 :130–137.
- [29]. **De Sousa. AC., Alviano. DS., Blank. AF., Alves. PB., Alviano. CS. & Gattass. CR. (2004).** *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *J Pharm Pharmacol.* 56(5) :677-81.
- [30]. **Bounihi. A. (2015).** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de doctorat national. Université Mohammed V. Faculté de médecine et de pharmacie. Rabat. 199p.
- [31]. **Tsimogiannis. D.I. & Oreopoulou. V. (2004).** Free-radical scavenging and antioxidant activity of 5, 7, 3', 4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5:523-528.

- [32]. **Kouri. G., Tsimogiannis. D., Bardouki. H. & Oreopoulou. V. (2007).** Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8:155-162.
- [33]. **Bondet. V., Williams. W.B. & Berset C. (1997).** Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel -Wissenschaft and Technologie*. 30:609-615.
- [34]. **Ruberto. G. & Baratta. M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oils components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69:167–174.
- [35]. **Legault. J. & Pichette. A. (2007).** Potentiating effect of beta-caryophyllene on anticancer activity of alpha-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 59(12): 1643-1647.