

Ethnopharmacological survey, phytochemical screening and study of antioxidant and antibacterial activities of *Melissa officinalis* L. from northwestern Tunisia

Enquête ethnopharmacologique, criblage phytochimique et étude des activités antioxydante et antibactérienne de *Melissa officinalis* L. du Nord-Ouest Tunisien

Saber Jedidi,^{1,2*} Houcine Selmi,¹ Raoua Slim,¹ Hichem Sebai,² Foued Aloui¹

¹Laboratoire des Ressources Sylvo-Pastorales, Université de Jendouba, Institut Sylvo-Pastoral de Tabarka, Tunisie.

²Unité de Physiologie Fonctionnelle et Valorisation des Bio-Ressources, Université de Jendouba, Institut Supérieur de Biotechnologie de Béja, Tunisie.

*Corresponding author: jedidi_saber@yahoo.fr

Abstract - Currently, herbal medicine has proven its effectiveness and undeniable benefits in our daily lives, confirming that plants can prevent and treat. In this context, we are interested in carrying out an ethnopharmacological survey on the traditional use of *Melissa officinalis* in the Tabarka region as well as phytochemical screening and the study of antioxidant and antibacterial activities. The survey conducted in the Tabarka region revealed that lemon balm was used in traditional medicine to treat a whole range of pathologies. Indeed, we have shown that *Melissa officinalis* is traditionally used for the treatment of various diseases and particularly those of the digestive system pathologies and nervous disorders. The survey also revealed three methods of preparation: decoction, infusion and maceration. The method of administration is highly dependent on the pathology to be treated. In the present work, the phytochemical screening showed that *Melissa officinalis* leaves aqueous extract (MOAE) presents an important scavenging action against the DPPH radical. Importantly, MOAE presented a broad spectrum of antibacterial activity and Gram +ve were more sensitive than Gram-ve bacteria. Thus, the bioactive components of lemon balm can be used as antioxidant and antibacterial substances.

Key words: Ethnopharmacological survey, chemical composition, aqueous extract, antioxidant and antibacterial activities.

Résumé - Actuellement, la phytothérapie a prouvé son efficacité et ses bienfaits incontestables dans notre vie quotidienne, confirmant que les plantes peuvent prévenir et guérir. Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à la réalisation d'une enquête ethnopharmacologique sur l'utilisation traditionnelle de la mélisse officinale (*Melissa officinalis* L.) dans la région de Tabarka aussi bien que la composition phytochimique et l'étude des activités antioxydante et antibactérienne. L'enquête menée dans la région de Tabarka a révélé que la mélisse officinale est bel et bien utilisée en médecine traditionnelle pour traiter toute une panoplie de pathologies. En effet, nous avons montré que la mélisse est traditionnellement utilisée pour le traitement des pathologies du système digestif et les troubles nerveux. L'enquête a révélé également trois modes de préparation : décoction, infusion et macération. Le mode d'administration est fortement dépendant de la pathologie à traiter. Dans le présent travail, l'étude phytochimique a montré que l'extrait aqueux foliaire de *Melissa officinalis* (EAMO) présente une importante action de piégeage contre le radical DPPH et une forte activité antibactérienne. De façon plus importante, les bactéries gram (+) sont les plus sensibles à l'EAMO. Ainsi, les composants bioactifs de la mélisse peuvent être utilisés comme substances antioxydantes et antibactériennes.

Mots clés : Enquête ethnopharmacologique, composition chimique, extrait aqueux, activités antioxydante et antibactérienne

1. Introduction

Le bassin méditerranéen fait partie des principaux centres mondiaux de diversité des espèces végétales. Il héberge environ 25 000 phanérogames, soit près de 10 % de la flore mondiale (El-Mekki-Ben Brahim et al. 2014).

La Tunisie, par la diversité pédoclimatique, abrite une flore sauvage riche et variée de 2162 espèces (Nabli, 1989). Actuellement, le recours aux plantes médicinales est de plus en plus prononcé aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement (Sánchez et al. 2020). En raison de leurs richesses en principes actifs, les végétaux peuvent aider l'homme à préserver sa santé et agir contre les douleurs. Ils ont joué également un rôle important dans le traitement/la prévention des maladies (Changizi Ashtiyani et al. 2013). Ces composés sont les produits du métabolisme primaire (glucides, lipides, acides aminés, peptides et protéines) et secondaire tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes, les tanins, des caroténoïdes et les terpènes stéroïdes. Les molécules bioactives sont connues par leurs importantes activités biologiques comme les activités antivirales, antibactériennes, antifongiques, insecticides, antioxydantes et anticancéreuses (Batiha et al. 2022).

Dans ce contexte, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a mis en place une stratégie qui encourage à consolider le rôle de la médecine traditionnelle, en soulignant l'importance de promouvoir et d'inclure l'utilisation des plantes médicinales dans les systèmes de santé de ses pays membres (OMS 2013).

Des études antérieures sur les plantes médicinales en Tunisie sont alternativement basées sur leur utilisation traditionnelle (Jedidi et al. 2018 ; Brinsi et al. 2022). Tous ces travaux précédents visent à étudier les relations entre les plantes et les êtres humains, en se basant sur la compréhension des remèdes à base de plantes qui étaient traditionnellement utilisés pour traiter les troubles dans différentes situations de santé.

Melissa officinalis L. (Famille des Lamiaceae) est une plante médicinale originaire d'Europe du Sud et d'Afrique du Nord (Zargari 1990). Elle préfère un climat tempéré, un lieu non cultivé et frais. Elle est spontanée dans les bois, les bords de chemins, le long des haies et de préfère les endroits humides et ombragés (Dastmalchi et al. 2008).

La mélisse officinale est considérée parmi les espèces tunisiennes rares, endémiques et menacées de disparition. Elle a été a disparu de nombreuses régions de la Tunisie (Pottier Alapetite 1981), mais certains sont encore préservés dans deux endroits du Nord-ouest du pays : Tabarka et Nefza (El Mekki-Ben Brahim et al. 2014). Cependant, *M. officinalis* a été cultivée dans certains pays européens et balkaniques (Dastmalchi et al. 2008).

En raison de sa richesse en composés organiques volatils et de ses composés actifs, les extraits de *M. officinalis* sont doués de plusieurs vertus médicinales, tels que les effets toniques, antioxydants, carminatifs antispasmodiques, antidépresseurs, antispasmodique,s antibactériens, neuroprotecteurs (Blumental et al. 2000 ; Dastmalchi et al. 2008 ; Sepand et al. 2013).

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la réalisation d'une enquête ethnopharmacologique sur l'utilisation traditionnelle de la mélisse officinale dans la région de Tabarka (Nord-Ouest Tunisien) aussi bien que l'étude de leurs activités antioxydante et antibactérienne.

2. Matériel et méthodes

2.1. Enquête ethnopharmacologique

2.1.1. Choix de la région

Nous avons choisi la région de Tabarka (**Figure 1**) qui se trouve dans le Nord-Ouest de la Tunisie en raison de leur richesse en Mélisse officinale.

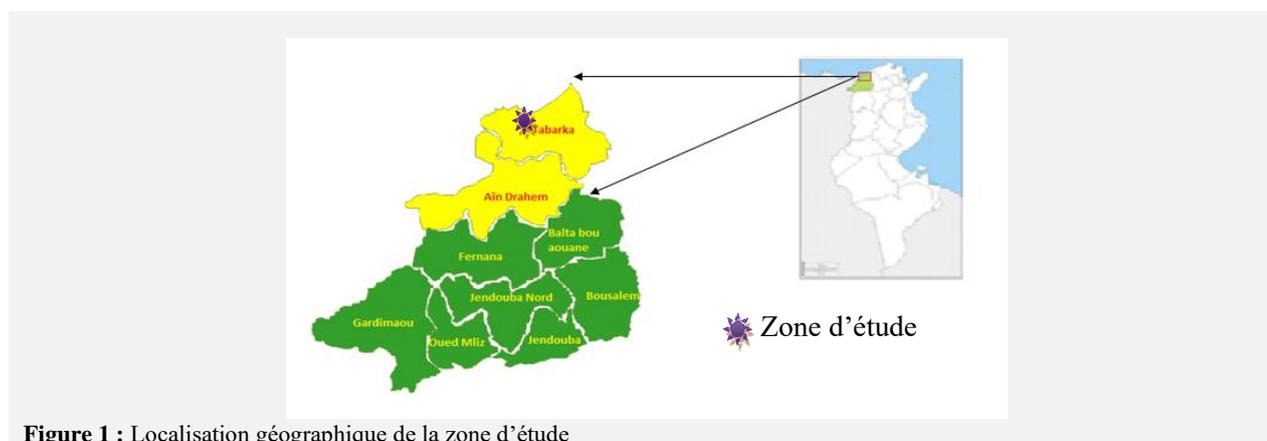


Figure 1 : Localisation géographique de la zone d'étude

2.1.2. Formulation du questionnaire et méthode d'étude

100 fiches d'enquête ont été préparées avec deux types de questions posées à des volontaires. Le premier type s'intéresse à l'identification et la civilité de la personne interrogée (nom, prénom, âge, profession,...) et le deuxième type concerne l'utilisation de la plante (pathologies traitées, stade de cueillette, préparation,

mode d'administration, ...). Nous avons ajouté une colonne d'observation à la fin du questionnaire où l'inventorié peut nous proposer des informations complémentaires sur l'utilisation de la plante.

Préalablement, avant le démarrage de la discussion, nous avons commencé par se présenter à l'aide d'un badge qui renferme les informations nécessaires de l'identité de l'enquêteur. Par la suite, nous avons présenté les objectifs du travail pour mettre en confiance les personnes interrogées. Les personnes âgées étaient prioritaires, les mères de famille, les agriculteurs et quelques guérisseurs recommandés. Le contact avec les gens s'est passé à leur domicile, dans les marchés, et les pépiniéristes. La personne est questionnée principalement sur l'utilisation de la mélisse officinale pour les différents traitements. Nous prenons du temps avec chaque personne surtout si celle-ci montre de bonnes connaissances. Même si la personne interrogée nous fournit des informations dont nous n'avons pas besoin, nous l'écoutons pour ne pas réduire sa volonté de continuer. Nous ne commençons à remplir le formulaire qu'après le démarrage de la conversation.

2.1.3. Traitement des données

Les données enregistrées sur les fiches d'enquêtes ont été ensuite traitées et saisies sur le logiciel Excel version 2007. L'analyse des données a fait appel aux méthodes simples des statistiques descriptives. Ainsi, les variables quantitatives sont décrites en utilisant les effectifs. Les variables qualitatives sont décrites en utilisant les fréquences des réponses.

2.2. Etude phytochimique

2.2.1. Matériel végétal

Les feuilles de la mélisse officinale ont été collectées dans la région de Tabarka (Nord-Ouest de la Tunisie). La zone d'étude est caractérisée par une latitude de 36°55/N, une longitude de 8°48/N et une altitude de 110 m. Le matériel végétal a été séché à l'air libre et à l'obscurité. Ensuite, la matière sèche a été rigoureusement broyée. La poudre ainsi obtenue sera ultérieurement utilisée pour l'étude de la composition chimique, la préparation des extraits et les activités biologiques.

2.2.2. Détermination de la matière minérale et les composés pariétaux

La matière sèche a été déterminée suite au séchage des échantillons dans une étuve 48h à 105°C. Les teneurs en matière minérale (MM), matière organique (MO) et carbone total (Ct) sont déterminées suite à la calcination de 1 g poudre à 550°C dans un four à moufle durant 4 heures jusqu'à l'incinération totale. La perte du poids correspond à la MO et le résidu qui reste au sein du creuset correspond à la MM (AOAC 1990). La matière azotée totale est dosée selon la méthode de Kjeldahl (AOAC 1990).

La détermination des teneurs en constituants pariétaux (ADF, NDF, ADL, cellulose, hémicelluloses et lignine) a été évaluée selon la méthode de Van Soest et al. (1994) à l'aide d'un appareil FIBERTEST semi-automatique.

2.2.3. Détermination de la teneur en matière grasse

L'extraction des lipides a été réalisée selon la méthode décrite précédemment par Bligh et Dyer (1959). L'échantillon végétal est broyé dans un mortier en porcelaine et les lipides sont extraits par le mélange chloroforme-méthanol dans les proportions 2/1 (v/v). Le mélange est ensuite filtré dans des tubes à essai et déposé dans une étuve ventilée et réglée à 60°C pendant 48 heures. Après l'évaporation, on calcule le rendement en lipides.

2.2.4. Préparation de l'extrait aqueux

Nous avons préparé l'extrait aqueux des feuilles de *Melissa officinalis* (EAMO) par macération. Une prise d'essai de 1g de poudre est macérée dans 20 ml d'eau distillé sous agitation magnétique pendant 12 heures. Après filtration, la solution aqueuse a été lyophilisée. Le résidu ainsi obtenu a été pesé et repris par 3ml d'eau distillée.

2.2.5. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La détermination des polyphénols totaux au niveau de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* (EAMO) est effectuée selon la méthode de Singleton et al. (1999). 500 µL de Folin – Ciocalteu (10%) et 1 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5%) ont été ajoutés à 500 µL de l'extrait dilué. L'absorbance, à une longueur d'onde de 765 nm, est déterminée après une incubation de 1 heure à l'obscurité. La teneur totale en composés phénoliques a été exprimée en mg d'équivalents acide gallique par gramme de matière sèche (mg GAE/g de MS).

2.2.6. Flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium (Yi et al. 2007). Brièvement, 1 ml de l'extrait aqueux a été ajouté à 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2%. Après incubation à la température ambiante pendant 15 minutes, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de MS).

2.2.7. Tanins condensés

L'évaluation de la teneur totale en tanins condensés a été déterminée selon la méthode décrite par Sun et al. (1998). Brièvement, 50 μ L de l'extrait aqueux dilué ont été mélangés avec 3 ml d'une solution de vanilline (4%) et 1,5 ml d' H_2SO_4 concentré. Le produit a été incubé l'obscurité pendant 15 minutes et l'absorbance a été mesurée à 500 nm. La teneur en tanins condensés a été exprimée en mg d'équivalent catéchine par g de matière sèche (mg CE/g de MS).

2.3. Détermination du pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante de l'EAMO a été évaluée par le test DPPH, décrit par Ben Ammar et al. (2009). 1 ml de l'extrait aqueux à différentes concentrations sont ajoutés à 1 ml de la solution éthanolique du DPPH 0.06 mM (2.4mg/100ml). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 1 ml d'eau distillée avec 1 ml de la solution DPPH. La lecture est faite à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité. Les pourcentages d'inhibitions ont été estimés selon l'équation suivante :

$$I(\%) = \frac{A1 - A2}{A1} \times 100$$

Avec, I (%): pourcentage d'activité anti-radicalaire, A1: absorbance du témoin négatif (solution de DPPH sans extrait), A2: absorbance en présence d'extrait.

2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les activités antimicrobiennes de l'EAMO ont été inspectées contre quatre souches bactériennes : deux Gram négatives (*Escherichia coli* et *Salmonella enterica*) et deux Gram positives (*Listeria monocytogenes* et *Bacillus subtilis*). Les souches bactériennes ont été cultivées dans une solution gélosée et incubées à 37 ° C pendant 24 h.

Les potentiels antimicrobiens de l'EAMO ont été étudiés à l'aide d'un test de diffusion sur milieu gélosé, selon la méthode de Sacchetti et al. (2005). Dans chaque puits, nous avons introduit 40 μ l de l'extrait avec des concentrations d'odore croissante (2,5 ; 5 et 10 mg/ml). En parallèle, nous avons préparé un puits qui renferme la Gentamicine, utilisée comme molécule antibiotique de référence et un dernier imbibé par l'eau distillée comme témoin négatif. Enfin, les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C dans une étuve microbiologique pendant 48h. L'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition (mm) qui entoure les puits à l'aide d'un pied à coulisse.

5. Analyses statistiques

Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm écart type à la moyenne ETM. Les analyses de l'activité antibactérienne ont été réalisées en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par analyse de la variance en utilisant le logiciel SAS 9.1. Les résultats étaient considérés comme statistiquement significatifs lorsque $P < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Enquête ethnopharmacologique

3.1.1. Répartition des inventories en fonction de la tranche d'âge, du sexe et du niveau d'étude

Les extrêmes d'âges des enquêtés variaient entre 20 et 72 ans. La majorité d'entre eux appartenait à la tranche d'âge (30-50 ans) soit 45,45%.

Les femmes représentaient 57% de la population étudiée, par rapport aux hommes (43%).

Concernant le niveau d'étude, 27% des enquêtés étaient universitaire, 36% était analphabètes, les 37% restant se répartissaient entre une scolarisation primaire (21%) et secondaire (14%).

3.1.2. Usage traditionnel et médicinal de *Melissa officinalis*

La mélisse peut être utilisée pour le traitement des troubles nerveux (stress, dépression, anxiété, angoisse, insomnie et crise des nerfs), troubles gastro-intestinaux (33.33%). Les autres enquêtés ont mentionnés qu'ils l'utilisent pour attirer les essaims des abeilles et pour que les abeilles ouvrières ne s'éloignent pas de leur demeure, ainsi qu'avec un usage culinaire (Figure 2).



Figure 2. Fréquence des différents usages traditionnels et médicaux de la mélisse dans la région de Tabarka

3.1.3. Stade de cueillette et partie utilisée

Les enquêtés ont mentionnés que la partie la plus utilisée est la feuille (55.55%), suivis par les tiges et les sommités fleuries (44.44%). La majorité des inventoriés (66.67%) ont indiquées qu'ils sont indifférents quant au stade de cueillette.

3.1.4. Mode de préparation

L'enquête révèle quatre modes de préparation :

- Une décoction à partir des feuilles, des poudres asséchées à l'ombre ;
- Une infusion réalisée à partir d'une poudre sèche de toute la partie aérienne de la plante et des feuilles fraîches ;
- Une macération à partir des feuilles après séchage et broyage ;
- Poudre seule ou avec vecteur (Figure 3).

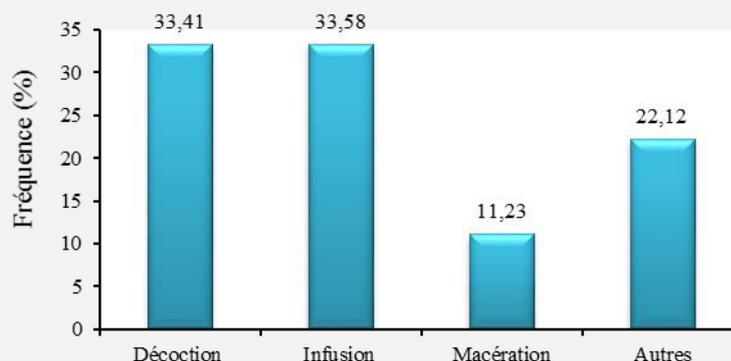


Figure 3. Fréquence des différents modes de préparation de la mélisse officinale dans la région de Tabarka

3.1.5. Mode d'administration

Généralement, la prise de la préparation est orale (50%) en décoction et infusion, sous forme de thé de mélisse, pour le traitement des troubles nerveux et des troubles gastro-intestinaux, ainsi que les applications local sont favorisés pour traiter certaine blessures et les lésions cutanés (33.33) (Figure 4).

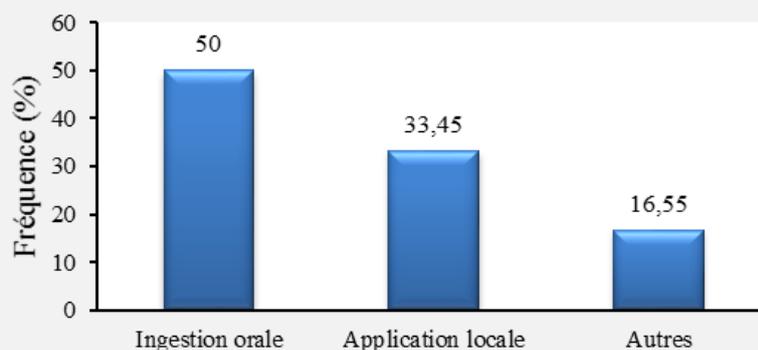


Figure 4. Fréquence des différents modes d'administration de la mélisse officinale dans la région de Tabarka

3.1.6. Taux de satisfaction

La majorité des enquêtés (85%) était satisfaite et très satisfaite par le résultat des prescriptions, 15% de la population était peu satisfaits, et aucune personne n'était déçu (Figure 5).

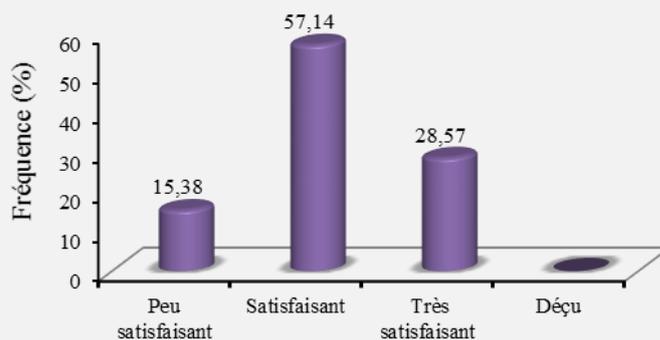


Figure 5. Taux de satisfaction des enquêtés à propos la mélisse officinale dans la région de Tabarka

3.1.7. Raison de la phytothérapie

La majorité des inventoriés (50%) mentionnaient que l'utilisation de la mélisse est efficace, 37.5% en raison du faible cout et 12.5% témoignaient que la phytothérapie par *Melissa officinalis* L. est meilleure que la médecine moderne (Figure 6).

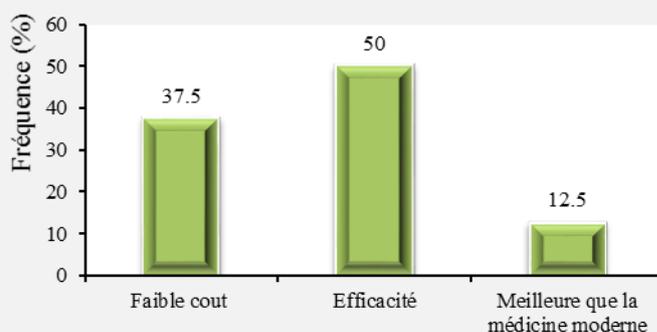


Figure 6. Fréquence des raisons de phytothérapie par la mélisse dans les régions de Tabarka et Ain Draham

3.2. Propriétés phytochimiques et activité antioxydante *in vitro* de l'EAMO

Les résultats de la composition minérale, des constituants pariétaux et des métabolites secondaires sont présentés dans le Tableau 1. Nous avons tout d'abord montré que la mélisse est pourvue d'abondantes teneurs en matière minérale, matière organique et carbone total. En revanche, la mélisse présente une teneur modérée en fibres (constituants pariétaux) telles que fibres détergentes neutres ($29,21 \pm 0,41$ % de MS), acide détergents fibres ($20,12 \pm 0,08$ de MS), cellulose ($11,65 \pm 0,17$ % de MS), hémicelluloses ($9,09 \pm 0,04$ % de MS) et fraction soluble ($70,79 \pm 0,14$ % de MS). En outre, les feuilles de la mélisse renferment une teneur élevée en lipides totaux.

D'autre part, l'EAMO renferme également des niveaux élevés en polyphénols totaux, flavonoïdes et une concentration modérée en tanins condensés ($8,42 \pm 0,14$ mg EC/g MS).

Concernant la capacité antioxydante, nous avons montré que les pourcentages d'inhibition de l'EAMO et de l'acide gallique (AG) contre le radical DPPH augmentaient d'une manière significative et dose-dépendante. Cependant, l'EAMO a révélé une importante activité antiradicalaire ($CI_{50} = 110,12 \pm 4,54$ µg/ml), mais inférieur à celle de l'AG ($CI_{50} = 63,78 \pm 2,46$ µg/ml) utilisé comme molécule antioxydante de référence (Tableau 1).

Tableau 1. Composition phytochimique et valeurs CI_{50} des activités anti-radicalaires de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* (EAMO) et l'acide gallique (AG) vis-à-vis du radical DPPH; CI_{50} : la concentration inhibitrice de l'EAMO et de l'AG qui inhibe 50 % de la concentration DPPH

Paramètres		Teneurs
Matière sèche (%)		33,39 ± 0,85
Composition minérale et organique	Matière minérale (MM %)	13,01 ± 0,07
	Matière organique (MO %)	86,99 ± 0,75
	Carbone totale (Ct %)	50,46 ± 0,04
	Matière azotée totale (MAT %)	17,94 ± 0,52
	Phosphore total (ppm)	62,70 ± 0,46
Composition pariétale	Neutral Detergent Fiber (NDF %)	29,21 ± 0,41
	Acid Detergent Fiber (ADF %)	20,12 ± 0,08
	Acid Detergent Lignin (ADL%)	8,47 ± 0,09
	Cellulose brute vraie (CBV %)	11,65 ± 0,17
	Hémicelluloses (HC %)	9,09 ± 0,04
	Fraction soluble (FS %)	70,79 ± 0,14
Composés phénoliques	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	80,47 ± 4,26
	Flavonoïdes (mg EAQ/g MS)	39,62 ± 0,86
	Tanins condensés (mg EC/g MS)	8,42 ± 0,14
Lipides totaux (mg/g MS)		23,91 ± 0,85
DPPH (CI_{50} , µg/ml)		110,12 ± 4,54
Acide gallique (CI_{50} , µg/ml)		63,78 ± 2,46

Les données sont exprimées en moyenne ± écart type à la moyenne (ETM (n = 3) ; MS : matière sèche

3.3. Activité antibactérienne de l'EAMO

L'évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'EAMO est effectuée par la méthode des puits. Les résultats enregistrés dans le Tableau 2 montrent que les différents doses étudiées possèdent une activité antibactérienne significative contre les 4 souches bactériennes testés ($P < 0.05$) et les diamètres des zones d'inhibition ont augmenté d'une manière dose-dépendante. Il est important de signaler que les bactéries gram (-) ont montré une certaine résistance que celles de gram (+).

Tableau 2. Activité inhibitrice de différentes doses de *Melissa officinalis* et de la gentamicine vis-à-vis de quatre souches bactériennes.

Concentrations (mg/mL)	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i>
2.5	1,42±0,11 ^c	1,37±0,15 ^b	0,91±0,2 ^c	1,11±0,17 ^b
5	1,81±0,15 ^c	1,55±0,11 ^b	1,65±0,1 ^b	1,63±0,05 ^b
10	3,28±0,05 ^b	3,48±0,11 ^a	2,28±0,2 ^b	2,49±0,05 ^a
Gentamicine	4,12±0,98 ^a	3,98±1,08 ^a	3,27±0,23 ^a	3,48±0,09 ^a

Les moyennes présentées dans la même colonne et portant les lettres différentes en exposant sont significativement différentes au seuil $P < 0,05$.

4. Discussion

L'enquête ethnopharmacologique menée dans la région de Tabarka a révélé que la mélisse officinale est utilisée bel et bien en médecine traditionnelle pour traiter toute une panoplie de pathologies. En effet, nous avons montré que la mélisse est traditionnellement utilisée pour le traitement des pathologies du système digestif comme la diarrhée et l'ulcère. Nos résultats sont en accord avec ceux établis par Luță et al. (2020) qui ont démontré que cette plante est bien utilisée pour soigner les sujets qui souffrent des maladies gastro-intestinales (spasmes de l'estomac et du colon, flatulence), car elle résorbe les gaz intestinaux et apaise les spasmes abdominaux. Le questionnaire a également dévoilé que la mélisse est utilisée contre les troubles nerveux comme les stress, la dépression, l'anxiété, l'angoisse, l'insomnie et la crise de nerfs (Sepand et al. 2013). D'autre part, les inventoriés ont mentionné qu'ils l'utilisent également pour attirer les essaims des abeilles. En effet, les apiculteurs des abords de la méditerranée avaient l'habitude d'en enduire les ruches afin que les abeilles ouvrières ne s'éloignent pas de leur demeure (Papoti et al. 2019).

L'enquête a également révélé quatre modes de préparation : décoction (33%), infusion (33%), poudre seule ou avec vecteur (22%) et macération (11%). Le mode d'administration est fortement dépendant de la pathologie à traiter. Dans le même contexte, les travaux de Dastmalchi et al. (2008) et Papoti et al. (2019) ont suggéré que les différents extraits ont exercé des fortes activités antioxydante. En outre, composés bioactifs de la mélisse sont doués de forts pouvoirs antibactériens (Carvalho et al. 2021). Dans le même respect, des activités de recherches antérieures ont exhibé que l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* exerce des effets antioxydants et anti-angiogéniques et améliore les paramètres physiologiques de la peau (Sipos et al. 2021).

Les analyses physico-chimiques ont montré que les feuilles de mélisse renferment des teneurs élevées en matière minérale et en azote totale. A cet égard, plusieurs études ont montré que l'azote total est un acteur essentiel dans la synthèse des composés pariétaux et la résistance des plantes aux microorganismes pathogènes. Il intervient également dans les processus de l'expression de gènes de défense. En outre, les constituants azotés sont impliqués dans la synthèse de phytoalexines, et la protection contre les stress oxydatifs (Benhamou et Rey 2012 ; Thalineau 2016).

En revanche, la mélisse présente une teneur modérée en fibres. Ces composés pariétaux sont nécessaires et très demandés dans la médecine. En effet, une teneur importante en fibres (NDF) au niveau des aliments fonctionnels peut être utilisée comme agent laxatif chez les gens qui souffrent des constipations. Il a été démontré que les fibres agissent (par une action physique) en tant que laxatif majeur provoquant l'accélération du processus de transit gastro-intestinal (Rtibi et al. 2016). Ces constituants sont également recherchés dans la nutrition animale (Selmi et al. 2018).

Le criblage phytochimique a montré que l'EAMO présente une importante action de piégeage contre le radical DPPH. Cette activité antioxydante pourrait être, en partie, attribuée à des niveaux élevés en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins condensés au niveau de l'EAMO. Ces molécules sont définies par leur forte activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* (Sipos et al. 2021). L'analyse de l'EAMO par la méthode LC-MS a permis d'identifier 5 composés phénoliques, notamment des acides phénoliques (acides chlorogénique, cafféique et férulique) et des flavonoïdes tels que l'apigénine et la rutine. Ces composés sont caractérisés d'importantes propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires et peuvent protéger vis-à-vis de l'installation des stress oxydatif et les réactions inflammatoires (Sipos et al. 2021 ; Jedidi et al. 2019 ; Jedidi et al. 2022a).

Dans la présente étude, nous avons également démontré que l'EAMO a exercé une forte activité antibactérienne. Cette activité est due à la richesse de la plante en composés biologiquement actifs. Nos résultats sont en ligne avec ceux de Carvalho et al. (2021) qui ont rapporté que la mélisse peut être potentiellement utilisée dans la conservation des aliments.

Il est important de signaler que les bactéries gram (+) sont les plus sensibles à l'EAMO que celles gram (-). Ce qui corrobore les résultats de Aloui et al. (2019) et Jedidi et al. (2022b). Ce constat peut être expliqué par le fait que ces microorganismes disposent du lipopolysaccharide hydrophobe dans la partie externe de leur membrane, qui assure une protection vis-à-vis des différents agents (Bertani et Ruiz 2018).

5. Conclusion

La présente étude a démontré la position de la mélisse officinale dans les pratiques médicinales de la région de Tabarka (Nord-Ouest Tunisien). Les résultats obtenus constituent une source d'informations très précieuse pour la flore médicinale nationale. Ils pourraient être une base de données pour les recherches ultérieures dans les domaines de la pharmacologie. Le criblage phytochimique a montré que l'EAMO présente une source de composants fonctionnels bioactifs, et par conséquent des agents antioxydants et antimicrobiens importants, d'où vient la nécessité de valoriser les différentes sources naturelles renfermées dans la flore locale Tunisienne.

Références

- Aloui, F, Baraket, M, Jedidi, S, Hosni, K, Bouchnak, R, Salhi, O, Jdaidi, N, Selmi, H, Ghazghazi, H, Khadhri, A, Abbes, C (2021) Chemical composition, anti-radical and antibacterial activities of essential oils from needles of *Pinus halepensis* Mill., *P. pinaster* Aiton., and *P. pinea* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(3), 453–460.
- AOAC (1990) Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, Washington, DC.
- Batiha, GES, Teibo, JO, Shaheen, HM, Akinfe, OA, Awad, AA, Teibo, TKA, Papadakis, M (2022) Bioactive compounds, pharmacological actions and pharmacokinetics of *Cupressus sempervirens*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 1-15.
- Ben Ammar, R, Bhouri, W, Ben Sghaier, M, Boubaker, J, Skandrani, I, Neffati, A, Bouhlel, I, Kilani, S, Mariotte, A-M, Chekir-Ghedira, L, Dijoux-Franca, M-G, Ghedira, K (2009) Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116, 258–264.
- Benhamou, N, Rey, P (2012) Stimulateurs des défenses naturelles des plantes: Une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection*, 92(1), 1–23.
- Bligh, EG, Dyer, WJA (1959) Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Blumental, M, Goldberg A, Brinckmann, J (2000) Herbal medicine. *Expanded Commission E Monographs*. Integrative Medicine Communications.

- Brinsi, C, Selmi, H, Jedidi S, Sebai, H (2022)** Ethnopharmacological survey on the traditional use of Dill (*Anethum graveolens* L.) in Northwest Tunisia. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 10(2), 282–286.
- Bertani, B, Ruiz, N (2018)**. Function and biogenesis of lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*, 8(1).
- Carvalho, F, Duarte, AP, Ferreira, S (2021)** Antimicrobial activity of *Melissa officinalis* and its potential use in food preservation. *Food Bioscience*, 44, 101437.
- Changizi Ashtiyani S, Najafi H, Jalalvandi S, Hosseinei, F (2013)** Protective effects of Rosa canina L fruit extracts on renal disturbances induced by reperfusion injury in rats. *Iran Journal of Kidney Diseases*, 7 (4), 290 –298
- Dastmalchi, K, Dorman, HD, Oinonen, PP, Darwis, Y, Laakso, I, Hiltunen, R (2008)** Chemical composition and *in vitro* antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 391–400.
- El Mekki-Ben Brahim, N, Chaabane, A, Toumi, L, Sebei H (2014)** Rare plants of northern and central Tunisia. *Annales de l'INRAT*, 87, 128–145.
- Ghiulai, R, Pană, RD, Șoica, CM, Borcan, F, Dehelean, CA, Crăiniceanu Z (2021)** *Melissa officinalis* L. aqueous extract exerts antioxidant and antiangiogenic effects and improves physiological skin parameters. *Molecules*, 26(8), 2369.
- Jedidi, S, Selmi, H, Aloui, F, Rtibi, K, Sammari, H, Abbes, C, Sebai, H (2022a)** Antioxidant properties, phytoactive compounds and potential protective action of *Salvia officinalis* flowers against combined gastro-intestinal ulcer and diarrhea experimentally induced in rat. *Dose-Response*, 20(2), 15593258221102313.
- Jedidi, S, Selmi, H, Aloui, F, Dhifallah, A, Sammeri, H, Abbes, C, Sebai, H (2022b)** Antioxidant and antibacterial properties of *Salvia officinalis* essential oils and their effects on *in vitro* feed fermentation with goat rumen liquor. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 22, 297–310.
- Jedidi S, Rtibi K, Selmi S, Aloui F, Selmi H, Wannas D, Sammari H, Dhawefi N, Abbes C, Sebai H (2019)** Phytochemical/antioxidant properties and individual/synergistic actions of *Salvia officinalis* L. Aqueous extract and loperamide on gastrointestinal altering motor function. *Journal of Medicinal Food*, 22(12), 1235–1245.
- Jedidi, S, Aloui, F, Selmi, H, Rtibi, K, Dallali, S, Sebai H (2018)** Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (*Salvia officinalis* L.) in Tabarka and Ain Drahem (Northwestern of Tunisia). *Journal of New Science, Agriculture and Biotechnology*, 18, 3402–3412.
- Luță, EA, Ghica, MANUELA, Costea, T, Gîrd, CE (2020)** Phytosociological study and its influence on the biosynthesis of active compounds of two medicinal plants *Mentha piperita* L. and *Melissa officinalis* L. *Farmacia*, 68, 919–924.
- Nabli, MA (1989)** Essai de Synthèse sur la Végétation et la Phyto-Ecologie Tunisiennes. Eléments de Botanique et de phyto-écologie. Programme Flore et Végétation Tunisiennes. Volumes 4 à 6. 247 p.
- Papoti, VT, Totomis, N, Atmatzidou, A, Zinoviadou, K, Androulaki, A, Petridis, D, Ritzoulis, C (2019)** Phytochemical content of *Melissa officinalis* L. herbal preparations appropriate for consumption. *Processes*, 7(2), 88.
- Pottier Alapetite, G (1981)** Flore de la Tunisie. Angiospermes- Dicotyledones Gamopetales. Tunis): Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et de la Ministère de l'Agriculture. 655-1190.
- Rtibi, K, Selmi, S, Jabri, M-A, Mamadou, G, Limas-Nzouzi, N, Sebai, H, El-Benna, J, Marzouki L, Eto, B, Amri M (2016)** Effects of aqueous extracts from *Ceratonia siliqua* L. pods on small intestinal motility in rats and jejunal permeability in mice. *RSC Advances*, 6, 44345–44353.
- Sacchetti, G, Maietti, S, Muzzoli, M, Scaglianti, M, Manfredini, S, Radice, M, Bruni, R (2005)** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antibacterials and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621–632.
- Sánchez, M, González-Burgos, E, Iglesias, I, Lozano, R, Gómez-Serranillos, MP (2020)** Current uses and knowledge of medicinal plants in the Autonomous Community of Madrid (Spain): A descriptive cross-sectional study. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 1–13.
- Selmi, H, Khaldi, Z, Tiboui, G, Ben Gara, A, Rekik, B, Rouissi, H (2011)** Nutritional preliminary characterization of some varieties of dates and palm downgraded as ruminant feed. *Online J Anin Feed Res*, 1, 73–76.
- Sepand, MR, Soodi M, Hajimehdipoor, H, Soleimani, M, Sahraei, E (2013)** Comparison of neuroprotective effects of *Melissa officinalis* total extract and its acidic and non-acidic fractions against a β -induced toxicity. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 12(2), 415.

- Singleton, VL, Orthofer, R, Lamuela-Raventos, RM (1999)** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- Sipos, S, Moacă, EA, Pavel IZ, Avram Ș, Crețu, OM, Coricovac, D, Crăiniceanu, Z (2021)** *Melissa officinalis* L. aqueous extract exerts antioxidant and antiangiogenic effects and improves physiological skin parameters. *Molecules*, 26(8), 2369.
- Sun B, Richardo-da-Silvia JM, Spanger I (1998)** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267–4274.
- Thalineau, E (2016)** Effet de la nutrition azotée sur la résistance de la légumineuse *Medicago truncatula* à *Aphanomyces euteiches* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).
- Van Soest, PJ, Maraus, WC (1994)** Method for the determination of cell wall constituents in forage, using detergents, and the relationship between this fraction and voluntary intake and digestibility. *Journal of Dairy*, 58, 704–705.
- World Health Organization (2013)** WHO traditional medicines strategy 2014–2023. Geneva: WHO; 2013.
- Yi ZB, Yu, Y, Liang, YZ, Zeng, B (2007)** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new *Citrus cultivar* and its main flavonoids. *LWT-Food Science and Technology*, 4, 1000–1016.
- Zargari, A (1990)** Herbal medicines. Publication of Tehran University, Tehran, 1990. 83.