UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE

SCD UNIV. LIMOGES
D 035 026548 5

THESE N° 342/1

LE MELILOT OFFICINAL,
Melilotus officinalis (L.) LAM.

Bibliothèque de l'Université de Limoges
Section de Médecine et de Pharmacie

THESE

POUR LE

DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 15 décembre 1997

PAR

Laetitia LISSAC

Née le 6 juin 1972 à Le Raincy (93)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur CHULIA.....	PRESIDENT
Madame ALLAIS, Maître de Conférences.....	JUGE
Madame BONFANTI-JAN, Pharmacien	JUGE

1998 Phcm 342

ERRATA

re ***1. Isolement et purification*** au lieu de ***1. Isolation et purification***

ne ligne, lire : ***malonyl Co A*** au lieu de ***acétates***

gure, lire Et_2O au lieu de Et_2Ac

rmule, lire ***acide hydrocoumarique*** au lieu de ***acide hydrocoumarine***

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE	Monsieur le Professeur GHESTEM Axel
ASSESSEURS	Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard Monsieur DREYFUSS Gilles - Maître de Conférences

PROFESSEURS

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
BERNARD Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOGAMIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
OUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A notre Président de Thèse :

Monsieur Albert CHULIA,
Professeur de Pharmacognosie,

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider ce jury de soutenance.

Nous vous remercions pour la valeur de l'enseignement que vous nous avez dispensé tout au long de nos études.

Veuillez accepter l'expression de nos sentiments respectueux.

A notre Directeur de Thèse :

Madame Daovy ALLAIS,
Maître de Conférences de Pharmacognosie,

Vous nous avez fait l'honneur de diriger ce travail passionnant.

Nous vous remercions sincèrement pour votre accueil, votre disponibilité, vos conseils et vos critiques tout au long de cette étude.

Veuillez accepter ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Juge :

Madame Catherine BONFANTI-JAN,
Pharmacien,

Vous avez accepté avec gentillesse et spontanéité de faire partie des membres de ce jury.

Nous vous remercions pour votre sympathie et pour la qualité de vos conseils sur la profession de pharmacien.

Veuillez trouver ici l'assurance de notre respectueuse considération.

A mes parents,

auxquels je dois le meilleur de moi-même. Je les remercie pour m'avoir guidée et soutenue tout au long de mes études.
Je leur témoigne ma profonde affection.

A ma famille,

qui m'a apporté tout le réconfort moral et une aide inestimable tout au long de ces travaux.

A mes amis,

qui ont su me soutenir.
Recevez toute ma gratitude pour votre confiance et pour tous les bons moments passés ensemble.

A Vincent,

qui a réalisé les formules chimiques.

Je dédie ce travail

PLAN

INTRODUCTION

PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS

A - HISTORIQUE

B. PRESENTATION DE LA PLANTE

1. ETYMOLOGIE
2. SYNONYMES
3. NOMS VERNACULAIRES
4. DENOMINATIONS ETRANGERES

DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE BOTANIQUE

A. CLASSIFICATION

1. EMBRANCHEMENT : SPERMAPHYTES
2. SOUS-EMBRANCHEMENT : ANGIOSPERMES
3. CLASSE : DICOTYLEDONES
4. SOUS-CLASSE : DIALYPETALES
5. SERIE : CALICIFLORES
6. ORDRE : ROSALES
7. FAMILLE : LEGUMINEUSES
8. SOUS-FAMILLE : FABACEES
9. TRIBU : TRIFOLIEES
10. GENRE : *MELILOTUS*
11. ESPECE : *MELILOTUS OFFICINALIS* (L.) LAM.
12. AUTRES ESPECES DE CE GENRE

B. ETUDE DE LA PLANTE

1. APPAREIL VEGETATIF
2. APPAREIL REPRODUCTEUR
3. OBTENTION DE LA PLANTE
4. CONFUSIONS POSSIBLES

C. ETUDE DE LA DROGUE

1. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE
2. DESCRIPTION HISTOLOGIQUE
3. IDENTIFICATION
4. ESSAIS
5. CONSERVATION

D. CONCLUSION

TROISIÈME PARTIE : ÉTUDE CHIMIQUE

A. LES VITAMINES

1. VITAMINE C
2. VITAMINE E

B. LE COMPOSE AZOTE : LA TRIGONELLINE

C. LE D-GALACTO-D-MANNANE

1. ISOLATION ET PURIFICATION
2. STRUCTURE

D. LES COMPOSANTS VOLATILS

E. LES DERIVES TERPENIQUES : LES SAPONOSIDES

1. GENERALITES
2. LES SAPONOSIDES DE *MELILOTUS OFFICINALIS*

F. LES COMPOSES PHENOLIQUES

1. LES ACIDES PHENOLIQUES SIMPLES
2. LES FLAVONOÏDES
3. LES ISOFLAVONOÏDES (LES PTEROCARPANES)
4. LA COUMARINE ET SES DERIVES

G. AUTRES SUBSTANCES DE *MELILOTUS OFFICINALIS*

QUATRIEME PARTIE : ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

A. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DE LA COUMARINE ET SES DERIVES

1. ACTION ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANTI-ŒDEMATEUSE
2. ACTION CARDIO-VASCULAIRE
3. ACTION SUR LA COAGULATION SANGUINE
4. ACTION SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL
5. ACTION SUR LA GLYCEMIE
6. ACTION ANTIPYRETIQUE
7. ACTION ANTIBACTERIENNE
8. ACTION ANTHELMINTIQUE
9. ACTION TROPHIQUE

B. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES

C. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES HUMAINES D'UNE SPECIALITE ESBERIVEN FORT®

1. ACTION SUR LA VEINE
2. ACTION SUR LE CAPILLAIRE
3. ACTION SUR LE SYSTEME LYMPHATIQUE
4. MECANISME D'ACTION

D. CONCLUSION

QUATRIÈME PARTIE : UTILISATIONS DU MELILOT

A. INDICATIONS THERAPEUTIQUES DU MELILOT

I. EN ALLOPATHIE

1. USAGE INTERNE
2. USAGE EXTERNE

II. EN HOMEOPATHIE

1. GENERALITES
2. SOUCHE
3. ACTION GENERALE
4. TOPOLOGIE
5. MODALITES
6. INDICATIONS CLINIQUES
7. COMPARAISONS DIFFERENTIELLES

III. CONCLUSION

B. AUTRES USAGES DU MELILOT

1. EN PHARMACIE COSMETIQUE
2. EN PARFUMERIE
3. EN AGRICULTURE
4. EN USAGE ALIMENTAIRE
5. CONCLUSION

SIXIÈME PARTIE : TOXICOLOGIE

A. TOXICITE DU MELILOT A L'ETAT FRAIS

1. TOXICITE AIGUE
2. HEPATOTOXICITE
3. CARCINOGENICITE
4. TERATOGENICITE

B. TOXICITE DU MELILOT GATE

1. FAITS HISTORIQUES SUR LE MELILOT GATE
2. ETUDE DE L'AGENT RESPONSABLE
3. LA « MALADIE DU MELILOT GATE »
4. ESSAIS POUR LA CONSERVATION DU MELILOT

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

TABLE DES MATIERES

Mélilot Officinal - *Melilotus officinalis* (L.) LAM.

Le Mélilot

à Germaine REGNIER

Au bord du fleuve, quand finira Mai, l'îlot
Qui reste un souvenir si cher de mon enfance
Embaumera les airs de la douce fragrance
Qu'exhalent, le matin, les fleurs de Mélilot.

Chacune, dans l'or fin de sa corolle, enclot
Le pollen d'où l'abeille extrait la quintessence
Qui parfume le miel dont sa persévérance
Dans la ruche, bientôt, endiguera le flot.

Un réciproque amour unit l'herbe et l'insecte :
Tandis que ce dernier soigneusement inspecte
Le lieu qui lui fournit un si précieux butin,

La frêle plante, pour répondre à sa caresse,
Entr'ouvre largement son voile de satin
Et semble, à son contact, défaillir de tendresse.

Henri LECLERC

INTRODUCTION

Le mélilot officinal, *Melilotus officinalis* (L.) LAM., plante d'origine Euro-asiatique, appartenant à la famille des Fabacées (Légumineuses), est inscrit à la Pharmacopée depuis 1884. Son nom évoque l'attirance qu'il exerce sur les abeilles.

Qui ne l'a pas remarqué en été avec ses fleurs jaunes en grappes et ses feuilles trifoliolées ? Le mélilot se rencontre au bord des chemins, dans les pâtures et les friches. Ayant de modestes exigences, c'est une plante commune sur les sols calcaires et graveleux.

Ses fleurs exhalent un parfum agréable de coumarine qui est son constituant principal. De très nombreuses études ont été effectuées sur ce composé et c'est par sa présence que cette plante a une grande importance. Mais le mélilot renferme également comme principes chimiques des flavonoïdes, des saponosides ou encore des vitamines. A côté de ces composés figurent d'autres constituants, mais de moindre importance.

Toutes ces molécules chimiques lui confèrent de nombreuses activités pharmacologiques d'où son emploi en médecine depuis fort longtemps. En dehors de ses vertus thérapeutiques, le mélilot a été largement utilisé pour ses propriétés aromatiques dans le fromage et le tabac.

Cependant, c'est une plante qui peut être dangereuse pour le bétail lorsqu'elle est mal conservée : il s'agit de la « maladie du mélilot gâté ». Depuis cette découverte, le mélilot a connu une certaine célébrité.

Ce travail essaie de faire le point sur les connaissances acquises sur le mélilot jusqu'à ce jour. Après sa description botanique et son inventaire chimique, les propriétés pharmacologiques du mélilot seront décrites en vue de justifier son utilisation thérapeutique.

GENERALITES

A - HISTORIQUE

B - PRÉSENTATION DE LA PLANTE

A. HISTORIQUE

Par son odeur de coumarine, le mélilot a attiré l'attention bien avant J.C. D'après FOURNIER [1], lorsque les Hippocratiques (V^{ème} s. av. J.C.), Théophraste (IV^{ème} s. av. J.C.), Dioscoride (1er s.) et Galien (2ème s.) parlent du *Melilotos*, il est impossible de savoir avec certitude s'il s'agit bien du mélilot officinal.

Aux yeux de Matthiole, le mélilot correspondrait à l'*agrios lotos*, « lotier sauvage » de Dioscoride.

Le *Melilotus* de Pline (1er s.), qui servait à faire des couronnes, est le mélilot d'Italie, à fleurs plus petites que celles du mélilot officinal.

Les Anciens lui attribuaient la réputation de calmer les fureurs de l'ivresse : les Grecs l'utilisaient pour tresser des couronnes pendant les festins [2].

Au dire de Thibault Leispleigney, le mélilot était pour les oculistes d'un secours précieux :

« De mélilot prenons la fleur
Pour ouster des yeulx chault et pleur ».

Au XVIII^{è} siècle, le botaniste Linné a défini l'espèce *Melilotus officinalis*, signant l'intérêt thérapeutique de cette Légumineuse papilionacée de nos campagnes [3].

Plus tard, le mélilot fut l'objet des jugements les plus divers. Les avis étaient partagés sur ses propriétés. Haller (1768) l'a rangé parmi les plantes suspectes et Bulliard (1791) l'a fait figuré parmi les plantes vénéneuses du fait des inconvénients de la plante à doses excessives. D'autres, au contraire, ont vanté son efficacité. C'est le cas de Michaelis (1641) et de Tournefort (1717) qui estimaient son action contre les coliques, la dysurie, la néphrite, les rhumatismes et les douleurs utérines. D'autres enfin, comme Murray (1792) et Cazin (1858) préféraient suspendre leur jugement.

Actuellement, toutes ces opinions semblent conciliées par une meilleure connaissance du mélilot et plus particulièrement d'un de ses composants : la coumarine. Les travaux de E. Bourquelot, H. Hérissey, P. Guérin et A. Goris ont montré la présence de ce principe dominant dans le mélilot qui s'y produit soit au cours de la dessiccation, soit à la suite de traitements déterminant la plasmolyse des cellules, probablement en vertu du dédoublement d'un glucoside sous l'action d'un ferment soluble. C'est à la présence de ce principe actif que l'on attribuait les propriétés du mélilot : hypnotique, antispasmodique et diurétique.

La découverte du dicoumarol isolé par Link du mélilot avarié et auquel des auteurs américains ont reconnu des propriétés anticoagulantes peut justifier l'usage que faisait E. Camel, officier de santé à Chaumont-en-Vexin. Il prescrivait des préparations de mélilot chez les sujets présentant une tendance aux embolies, dans les phlébites et dans les infarctus pleuro-pulmonaires.

H. LECLERC [2] a examiné le cas d'une malade que E. Camel avait guérie d'une thrombophlébite hémorroïdaire en lui administrant *per os* et en lui faisant appliquer une infusion très concentrée de fleurs de mélilot.

C'est cette action anticoagulante que H. LECLERC a mis à profit chez les sujets atteints d'affections ayant nécessité l'emploi d'antibiotiques au long cours qui occasionnaient des effets non négligeables sur la coagulabilité du sang. Ces inconvénients ont été signalés par MM. J. Bréhaut et C. Finas.

A titre préventif, H. LECLERC a prescrit aux malades sous antibiothérapie, la teinture de mélilot à la dose quotidienne de 4 à 6 grammes, qui emprunte au dicoumarol, sans en avoir la brutalité, la propriété de réduire la coagulabilité du sang.

Enfin, indépendamment de ses éminentes qualités mellifères, cette espèce aurait eu beaucoup d'usages pratiques : en Alsace, les sommités fleuries se

vendaient comme insecticides, usage qui semble avoir disparu aujourd'hui. En médecine, elle passait pour avoir des propriétés résolutives, émollientes, calmantes, sédatives et antispasmodiques ; on l'employait en infusion contre l'insomnie et la dysenterie, comme collyre pour les yeux ; on en faisait aussi des emplâtres et cataplasmes contre les rhumatismes et les tumeurs inflammatoires ; ses graines servaient pour la préparation de gargarisme [4].

Aujourd'hui, cette plante est inscrite à la Pharmacopée française ($X^{ème}$ édition) et est utilisée en allopathie sous forme de spécialités pharmaceutiques, en phytothérapie, en homéopathie, en pharmacie dermocosmétologique et en agro-alimentaire comme aromatisant.

B. PRESENTATION DE LA PLANTE

1. ETYMOLOGIE

Melilotus officinalis vient du grec *melilotos*, nom de la plante, de *meli* qui signifie miel et de *lotos*, substantif s'appliquant à des plantes très diverses [5].

Le latin *Melilotus* a donné à son tour le mot mélilot. Très recherché des abeilles, le mélilot est une « fleur à miel » par excellence et mérite bien son nom. En effet, le mélilot dégage une odeur agréable de miel qui s'accentue fortement par la dessiccation et ainsi on l'utilise dans certains pays pour aromatiser le tabac et pour parfumer le linge [6] [7].

2. SYNONYMES

Melilotus officinalis a trois synonymes : [8]

- *Melilotus arvensis* Walbr.

- *Melilotus kochiana* D.C.
- *Melilotus petitpierreana* Rchb.

3. NOMS VERNACULAIRES

Il existe de nombreuses appellations pour désigner *Melilotus officinalis* suivant les régions : [5] [9]

- mélilot
- mélilot des champs
- Petit trèfle jaune
- Couronne royale
- Luzerne bâtarde
- Pratelle
- Herbe aux mouches
- Herbe aux puces
- Trèfle de cheval
- Trèfle des mouches
- Meigle
- Mirlirot
- Casse-lunettes.

4. DENOMINATIONS ETRANGERES [5] [8]

- En anglais : Melilot, Field Melilot, Common Melilot, Common Sweet clover
- En allemand : Feld - Steinklee, Honigklee

Echter - Honigklee

Bärklee

Schotenklee

- En espagnol

Meliloto medicinal

Meliloto oficinal

Trebol de olor

Trebol oloroso

Corono de Rey

.Coronilla Real

- En italien

Erba - vetturina

Ghirlandetto - de - campagna

Meliloto - odorosa

Meliloto

Zolfaccio

Vincibovi

Lupinella

- En flamand

Honigklaver

Gemeene - Honigklaver

ETUDE BOTANIQUE

A - CLASSIFICATION

B - ETUDE DE LA PLANTE

C - ETUDE DE LA DROGUE

D - CONCLUSION

A. CLASSIFICATION

SYSTEMATIQUE DU MELILOT

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Série : Caliciflores

Ordre : Rosales

Famille : Légumineuses

Sous-famille : Fabacées

Tribu : Trifoliées

Genre : *Melilotus*

Espèce : *Melilotus officinalis* (L.) LAM.

1. EMBRANCHEMENT : SPERMAPHYTES

Les Spermaphytes (du grec *sperma*, graine et *phuton*, plante) comprennent les végétaux les plus perfectionnés du règne végétal. Ce sont les plantes à graines, encore appelées Phanérogames [10].

Ils forment deux sous-embranchements principaux : les Angiospermes et les Gymnospermes, auxquels on adjoint les Chlomidospermes.

2. SOUS-EMBRANCHEMENT : ANGIOSPERMES

C'est un groupe immense rassemblant la grande majorité des végétaux vasculaires vivants.

Les Angiospermes, par rapport aux Gymnospermes, sont définies par trois caractères :

- feuilles carpellaires entourant complètement les ovules,
- organes reproducteurs groupés en fleurs bisexuées,
- double fécondation.

3. CLASSE : DICOTYLEDONES

Les Angiospermes comprennent deux classes, les Dicotylédones et les Monocotylédones, selon que l'embryon possède deux ou un cotylédon. Les Dicotylédones sont divisées à leur tour en trois sous-classes d'après l'absence, la présence et les caractères du périanthe [11].

4. SOUS-CLASSE : DIALYPETALES

Les Dialypétales correspondent aux Dicotylédones à pétales libres. Certaines ont un réceptacle en forme de calice et portent le nom de Caliciflores.

5. SERIE : CALICIFLORES

Ce sont les caractères des carpelles qui permettent de les classer en différents ordres :

- carpelles indépendants, nE

  Rosales

- carpelles soudés et « fermés »
  - généralement concrescents au réceptacle

    ovaire infère, nE

    Myrtales
  - toujours concrescents au réceptacle

    ovaire infère, 5E

    Ombellales

6. ORDRE : ROSALES

L'ordre des Rosales est caractérisé par :

- un réceptacle contenant des carpelles libres entre eux,
- des étamines nombreuses, 10 au minimum.

Cet ordre contient un grand nombre de familles dont les principales sont : Légumineuses, Rosacées, Crassulacées, Saxifragacées, Ribésiacées et Hamamélidacées.

7. FAMILLE : LEGUMINEUSES

Chez les Légumineuses, seul un carpelle persiste : il est à l'origine d'une gousse appelée par les premiers botanistes « légumes » ; d'où le nom donné à la famille.

Les Légumineuses ont subi une évolution selon des voies qui leur sont propres :

- réduction du nombre des étamines,
- création d'une fleur à corolle zygomorphe.

Ces tendances évolutives, plus ou moins synchrones, conduisent à de très nombreux types floraux, des plus archaïques aux plus évolués. En réalité, les Légumineuses sont une « superfamille » qui doit être divisée en trois sous-familles proprement dites :

- les Césalpiniacées et les Mimosacées qui comprennent surtout des arbres des pays chauds : Mimosa, Acacia...
- les Fabacées (ou Papilionacées en raison de la forme de la corolle en « papillon »). De nombreux représentants habitent nos régions : les trèfles, les pois, les haricots, les mélilots, ...

8. SOUS-FAMILLE : FABACEES

Les Fabacées se distinguent par leur corolle irrégulière composée par :

- un pétale dorsal : l'étendard,
- deux pétales latéraux : les ailes,
- deux pétales ventraux formant la carène.

Dans cette sous-famille, on différencie plusieurs tribus selon la disposition des étamines [12].

9. TRIBU : TRIFOLIEES

L'androcée est diadelphe avec 9 étamines soudées et l'étamine postérieure libre.

Ce sont des herbes non volubiles, à feuilles trifoliolées. Les folioles sont dentées au sommet.

Parmi les 5 genres qui constituent cette tribu, on trouve le genre *Melilotus*.

10. GENRE : *MELILOTUS*

Les espèces de ce genre ont un calice en tube à 5 dents. La corolle est caduque et tombe lorsque le fruit se développe. Les étamines diadelphes ont leurs filets non dilatés au sommet. La gousse dépasse le calice ; elle est courte, globuleuse, droite, sans bec, indéhiscente, à 1 ou 2 graines. Ce sont des plantes herbacées dont les feuilles ont 3 folioles ; les stipules sont soudées au pétiole par leur base.

Les fleurs sont jaunes ou blanches, sont disposées en grappes allongées et ont une odeur de miel [13].

Plusieurs espèces sont des plantes fourragères.

11. ESPECE : *MELILOTUS OFFICINALIS*

Cette espèce est, en général, très commune dans toute l'étendue de notre flore où elle croît dans les champs, au bord des chemins, sur les talus, dans les endroits incultes et sablonneux.

C'est une plante de 0,30 à 1,50 m dont les grappes minces et allongées sont formées de nombreuses petites fleurs jaunes, odorantes, qui s'épanouissent depuis le mois de mai jusqu'au mois de septembre.

On reconnaît surtout cette espèce au fruit ridé en travers par des nervures à peine ça et là jointes les unes aux autres ; ce fruit est ovoïde, un peu pointu au sommet, vert ou vert noirâtre lorsqu'il est complètement mûr. Les grappes ont des fleurs qui ne sont pas très serrées les unes contre les autres, sauf vers le sommet ; elles sont plus longues que la feuille à l'aisselle de laquelle elles se trouvent et sont

prolongées par une fine et courte arête qui ne porte pas de fleurs. Les fleurs desséchées sont très odorantes. Le calice a 5 dents qui sont un peu inégales.

L'étendard est plus long que les ailes qui sont elles-mêmes plus longues que la carène.

C'est une plante annuelle ou bisannuelle, vivace, presque sans poils, à tiges dressées et à racine principale tenace [14].

12. AUTRES ESPECES DE CE GENRE

Environ 20 espèces constituent actuellement le genre *Melilotus* dont : [13] [15]

M. alba	*M. officinalis*
M. atissima	*M. parviflora*
M. elegans	*M. segetalis*
M. infesta	*M. sicula*
M. italica	*M. speciosa*
M. messanensis	*M. spicuta*
M. neapolitana	*M. sulcata*

Ces diverses espèces ont des répartitions géographiques très variées ; elles habitent l'Europe, l'Asie, l'Afrique, l'Amérique.

B. ETUDE DE LA PLANTE

1. APPAREIL VEGETATIF

1.1. Racine

C'est un organe souterrain, dont le rôle est de fixer la plante au sol et

d'absorber l'eau et les sels minéraux. La racine principale du mélilot est très développée par rapport aux radicelles pratiquement insignifiantes [16] [17].

La racine se dit pivotante en partie lignifiée. Elle porte des nodosités renfermant des bactéries. Ces bactéries vivent aux dépens de leur hôte, mais, fixant en excès l'azote atmosphérique, elles permettent également la formation de protéines. C'est ainsi que les cultures enrichissent, grâce à cette symbiose, le sol en azote [12].

1.2. Tige

La tige est définie comme un axe aérien prolongeant la racine. La tige du mélilot est verte et cannelée. Il s'agit d'une tige dressée, herbacée, rigide, fistuleuse et rameuse à la partie supérieure.

Elle peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur. Les tiges rameuses portent des feuilles dentées trifoliées en position alterne. Elles ne présentent pas de poils : les tiges sont dites glabres [1] [7] [18].

1.3. Feuille

Les feuilles sont des expansions latérales de la tige au niveau duquel se produit l'assimilation chlorophyllienne ainsi que les échanges gazeux avec le milieu extérieur. Les feuilles de mélilot sont alternes, composées - imparipennées et stipulées. Elles sont composées de 3 folioles dont les 2 latérales sont sessiles, la foliole centrale étant pétiolée.

Les folioles ont toutes trois les bords lisses jusqu'à la moitié de la feuille, le reste étant finement dentelé. Les feuilles supérieures ont des formes plus lancéolées à la base que les inférieures [17].

Les folioles sont oblongues, obtuses, glabres, d'un vert foncé et munies à la base du pétiole, de 2 stipules sétacées [7]. Les feuilles de mélilot dégagent après séchage une suave odeur de coumarine [16].

2. APPAREIL REPRODUCTEUR

2.1. Inflorescence

Par inflorescence, on entend la disposition générale que les fleurs affectent sur la tige. Elle est caractéristique d'une espèce, d'un genre ou voire d'une famille comme c'est le cas ici.

En effet, toutes les Légumineuses ont une inflorescence en grappe. Les fleurs de mélilot forment des grappes minces, effilées, assez lâches. Une grappe compte 40 à 80 fleurs qui ne sont pas très serrées les unes contre les autres, sauf vers le sommet. Ces grappes sont plus longues que la feuille à l'aisselle de laquelle elles se trouvent, et sont prolongées par une fine et courte arête qui ne porte pas de fleurs [8] [10] [13] [19].

2.2. Fleurs

Elles sont petites, jaunes, irrégulières, hermaphrodites, disposées en grappe qui apparaissent de mai à août. Ce sont des fleurs très odorantes, même desséchées, qui dégagent une odeur de miel [7] [20]. Chaque fleur mesure jusqu'à 5 mm de long. Elles sont pendantes, à pédoncule court et donnent naissance à des petits fruits ovoïdes longs de quelques millimètres [1] [19]. Elles ont la forme typique des Fabacées : ce sont des fleurs à symétrie bilatérale. Cette zygomorphie est étendue à l'ensemble de la fleur (calice, corolle, androcée) suivant des modalités facilement reconnaissables, propres à la famille.

La formule est constante : 5 S + 5 P + (5 + 5) E + 1 C

En effet, les fleurs sont formées de 4 verticilles de pièces distinctes :

- le calice,
- la corolle,
- l'androcée
- le gynécée

2.2.1. Calice

Le verticille le plus extérieur, qui forme l'enveloppe du bouton est le calice. Il constitue l'ensemble des sépales dont la fonction éminente est un rôle protecteur.

Le calice est vert, caduque et pentadenté. Les 5 sépales sont soudés et forment un tube : le calice est gamosépale et tubulaire. Les 5 dents sont un peu inégales [5] [17] [19].

Figure 1 : Calice du mélilot [5]

2.2.2. Corolle

La corolle est formée par l'ensemble des pétales, de couleur jaune, plus grand que les sépales. La corolle, très zygomorphe, présente une forme dite « papilionacée » [10].

Elle est irrégulière avec :

- 1 pétale postérieur = l'étendard (ou vexillum)
- 2 pétales latéraux = les ailes
- 2 pétales inférieurs = la carène.

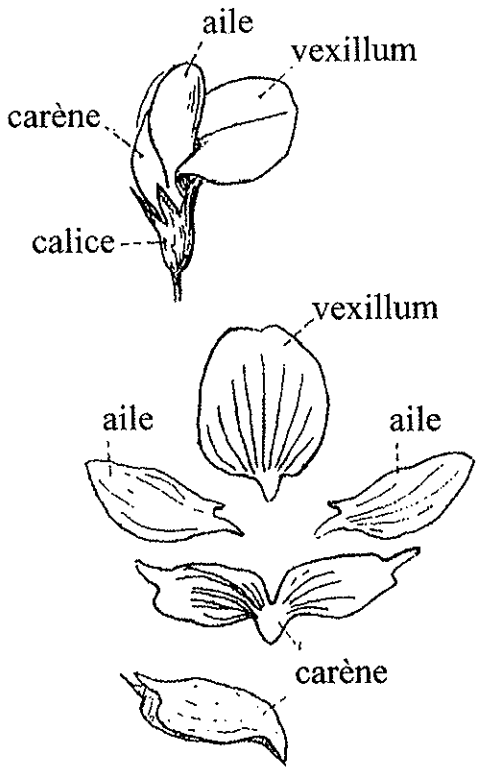


Figure 2 : Corolle « papilionacée » du mélilot [12]

L'étendard de 5,5 à 7 mm de long, très volumineux, est plus long que les ailes qui dépassent elles-mêmes la carène. Ces derniers comprimés par les autres pétales ont tendance à se souder plus ou moins longuement par leur bord commun [5].

La corolle est non persistante : elle tombe lorsque le fruit se développe [21].

2.2.3. Androcée

L'androcée regroupe l'ensemble des pièces fertiles mâles d'une fleur appelée étamines.

Une étamine se compose d'un pétiole long et grêle appelé filet, et d'un petit limbe divisé en deux moitiés par une nervure médiane appelé l'anthère. La poussière de grains colorée en jaune qui s'en échappe est le pollen [22].

L'androcée du mélilot compte 10 étamines : 9 soudées par leurs filets et la dixième libre jusqu'à la base, rarement soudée aux autres jusqu'au milieu. Les filets ne sont pas épaissis au sommet [5].

L'androcée est donc diadelphe et diplostémone (le nombre d'étamines étant le double de celui des pétales).

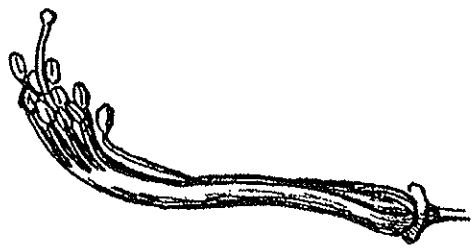


Figure 3 : L'androcée du mélilot [10]

2.2.4. Gynécée

Le gynécée, également appelé pistil, est représenté par un seul carpelle ventral allongé et pluriovulé dont les bords sont suturés dorsalement. Il constitue la partie femelle de la fleur [5] [10] [12] [22]. Le pistil montre 3 parties :

- le stigmate : partie terminale adaptée à la réception et à la rétention des grains de pollen ;
- le style : très allongé ;

- l'ovaire : partie basale, renflée contenant les ovules. Les ovules, campylotropes, sont disposées sur les placentas en 2 séries alternatives.

2.3. Fruit et graines

Le fruit est une gousse glabre ovoïde, indéhiscente, un peu pointue au sommet, brun-jaunâtre ou de couleur plus foncée lorsqu'elle est mûre, ridée transversalement par des nervures à peine jointes les unes aux autres. Ce fruit sec contient 1 à 2 graines, jaune-verdâtre, un peu arrondies, dépourvues d'albumen, non échancrées, lisses, de 1,7 à 2 mm de long sur 1,3 à 1,6 mm de large [5] [7] [8].

Les graines renferment un embryon courbe à cotylédons épais renfermant des matières de réserves : amidon , protéines et lipides [12].

Figure 4 : Fruit du mélilot [13]

3. OBTENTION DE LA PLANTE

3.1. Répartition géographique

Originaire d'Eurasie, le mélilot officinal se rencontre en Europe, dans le Nord et l'Ouest de l'Asie [20]. Il est devenu presque cosmopolite et s'est naturalisé en Amérique. Il peut s'élever jusqu'à 2 200 mètres d'altitude [23]. Cette espèce est répandue dans toute la France, sauf en haute montagne. Elle est rare en Bretagne, très commune en Suisse et assez commune dans les régions houillère et jurassique en Belgique. Elle est assez rare ailleurs [8].

3.2. Habitat

Très commune dans toute l'étendue de notre flore où elle croît dans les champs, au bord des chemins, sur les talus, dans les endroits incultes ou sablonneux, dans les prairies, les haies, les terrains vagues, les décombres. Elle est répandue surtout sur les sols calcaires et légèrement salés. C'est un indicateur d'azote [1] [8] [24].

3.3. Culture

Le mélilot croît partout dans la plaine et dans les Préalpes, sur les gravats et les éboulis, dans les terres sèches et pauvres. La culture en est possible par semis en lignes. On sème les graines au printemps ou à la fin de l'été, sur un sol bien préparé et fumé, en lignes écartées de 20 cm environ. Il est conseillé de laisser d'abord les graines tremper 8 à 10 heures avant le semis afin de faciliter la levée dans les jours qui suivent. Il faut biner et sarcler au cours de la végétation [25].

3.4. Récolte

Les inflorescences sont coupées de juin à août et ensuite réunies en bouquets. Le séchage se fait obligatoirement à l'ombre au-dessous de 40°C. Il ne doit pas être trop rapide car l'arôme ne se développe que peu à peu lors du séchage [26] [5].

4. CONFUSIONS POSSIBLES

Aucune en dehors du genre si l'on prend le temps de laisser sécher la plante : son odeur de coumarine est caractéristique, de même que sa saveur à l'état frais. On peut reconnaître les mélilots du premier coup d'œil à leurs grappes longues et minces.

En France, les autres espèces de mélilot sont de petites plantes que l'on ne rencontre guère que dans le Midi, à part le mélilot blanc (*Melilotus alba*) à fleurs blanches, et le mélilot à grosse racine (*Melilotus macrorhiza* ou *altissima*) à fleurs jaunes, répandues dans toutes nos régions [16].

Le mélilot à grosse racine, encore appelé grand mélilot, se distingue du mélilot officinal par ses fruits couverts de poils, ses grappes qui sont plus courtes à maturité et par ses feuilles qui sont plus longues et moins dentées. De plus, cette plante peut atteindre 2 mètres [1].

C. ETUDE DE LA DROGUE [27]

Le mélilot est officinal et la partie utilisée est constituée par la sommité fleurie séchée.

1. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE

La tige du mélilot est verte et cannelée ; elle porte des feuilles en position alterne. Les feuilles, pétiolées et trifoliées, sont accompagnées chacune de 2 stipules de forme lancéolée. De nombreux poils sont visibles à la base du pétiole. Les folioles sont plus vertes à la face supérieure qu'à la face inférieure ; elles sont de formes allongées, dentées, mesurant jusqu'à 30 mm de long et 20 mm de large.

L'inflorescence est une longue grappe de fleurs comportant un calice à 5 dents inégales et des pétales jaunes dont l'étendard est plus long que les ailes, elles-mêmes plus longues que la carène. La fleur peut atteindre 7 mm de long. Le fruit est un akène ovoïde, brun-jaunâtre ou de couleur plus foncée à maturité, terminé en pointe courte au sommet, ridé transversalement, fréquemment logé dans le calice, même après la maturité.

2. DESCRIPTION HISTOLOGIQUE

2.1. Caractères microscopiques de la feuille

La section transversale de la feuille présente une nervure principale proéminente à la face inférieure. L'épiderme, stomatifère sur les 2 faces, porte des poils tecteurs bicellulaires et courbés à angle droit ; des poils sécréteurs à tête globuleuse unicellulaire et à pied bicellulaire. Sous l'épiderme supérieur se trouvent 2 assises de cellules en palissade qui s'étendent de façon continue d'un bord à l'autre de la feuille. Les vaisseaux conducteurs de la nervure sont disposés en arc.

2.2. Caractères microscopiques de la tige

La section transversale de la tige jeune est quadrangulaire. Celle des tiges âgées présente des côtes. L'épiderme, stomatifère et cuticularisé, porte des poils tecteurs, rares, analogues à ceux de la feuille. Chaque côte correspond à la présence d'un amas de collenchyme dans le parenchyme cortical. Des faisceaux de fibres nacrées bordent extérieurement le liber. Le pachyte est continu. Des cristaux prismatiques d'oxalate de calcium sont présents dans le parenchyme cortical et dans la moelle.

2.3. Caractères microscopiques de la drogue pulvérisée

Le mélilot pulvérisé, vert-jaunâtre, est constitué par :

- des fragments de limbe comprenant, notamment, l'épiderme à cellules polygonales, stomatifère, portant des poils tecteurs, bicellulaires, échinulés et courbés à angle droit ainsi que des poils sécréteurs beaucoup plus rares, les stomates sont du type anomocytique ;
- des fragments de tige comprenant l'épiderme et ses poils tecteurs, des faisceaux conducteurs et des amas de fibres nacrées accompagnées de cellules oxalifères ;
- des bourgeons foliaires portent de nombreux poils tecteurs et de très nombreux poils sécréteurs analogues à ceux précédemment décrits ;
- des anthères remplies de grains de pollen ovoïdes à deux pores ;
- des fragments d'ovaire.

3. IDENTIFICATION

Dans un premier temps, l'identification se fait par les caractères macroscopiques et microscopiques de la drogue. Puis on procède à une réaction : à

1 g de mélilot pulvérisé, il faut ajouter 20 ml d'eau, chauffer au bain-marie et maintenir l'ébullition pendant 2 min puis filtrer.

On verse respectivement 2 ml de filtrat dans 2 tubes à essai. L'un sert de solution à examiner, l'autre de témoin. A la solution à examiner, sont ajoutés 2 ml d'un mélange à parties égales d'une solution d'acide sulfanilique R à 1% m/V et d'une solution de nitrite de sodium R à 0,2% m/V, préparée extemporanément. On agite et on ajoute avec précaution 0,2 ml d'acide chlorhydrique R1. Une coloration orangée apparaît. Elle vire progressivement au rouge par addition lente d'environ 0,3 g de carbonate de potassium R (coumarines).

4. ESSAIS

4.1. Eléments étrangers

Le taux des éléments étrangers n'est pas supérieur à 3,0% dont pas plus de 2,0% de tiges d'un diamètre supérieur à 3 mm.

4.2. Chromatographie

Il faut opérer par chromatographie sur couche mince en utilisant une plaque recouverte de gel de silice.

- Solution à examiner. A 0,3 g de mélilot pulvérisé, sont ajoutés 3 ml de méthanol R. L'ensemble est ensuite chauffé au bain-marie pendant 1 min.
- Solution témoin (a). 50 mg de coumarine R sont dissous dans du méthanol R et la solution est complétée à 50 ml avec le même solvant.
- Solution témoin (b). 50 mg d'acide *o*-coumarique R sont dissous dans du méthanol R et la solution est complétée à 50 ml avec le même solvant.

On dépose séparément sur la plaque, en bandes de 20 mm sur 3 mm, 25 µl de la solution à examiner et 10 µl de chacune des solutions témoins. Le développement se fait sur un parcours de 15 cm avec la phase supérieure d'un mélange de 10 volumes d'acide acétique dilué R, de 50 volumes d'éther R et de 50 volumes de toluène R. La plaque est laissée sécher à l'air. Une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium 2N R est pulvérisée. L'examen est réalisé en lumière ultraviolette à 365 nm. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente deux taches fluorescentes jaune-vert semblables respectivement quant à leurs positions et leurs fluorescences aux taches principales des chromatogrammes obtenus avecoin (a) et la solution témoin (b).

4.3. Perte à la dessiccation

Déterminée à l'étuve à 100-105°C sur 1,00g de mélilot pulvérisé, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 11,0%.

4.4. Cendres totales

Déterminé sur 1,00g de mélilot pulvérisé, le taux de cendres totales n'est pas supérieur à 5,0%.

5. CONSERVATION

Elle doit se faire à l'abri de la lumière et de l'humidité.

D. CONCLUSION

Avec quelques 12 000 espèces, les Légumineuses occupent l'une des

premières places parmi les familles de plantes phanérogames. Elles possèdent toutes en commun un fruit caractéristique dit gousse [28].

Melilotus officinalis est une grande Légumineuse, ordinairement bisannuelle : la première année, la plante reste stérile et disparaît à l'automne ; mais sa base demeure vivante et produit des bourgeons souterrains qui se développent et donnent des tiges florifères la seconde année ; après quoi, elle meurt [23]. Cette espèce de mélilot aux fleurs jaunes, nectarifères, qui ont la forme typique des papilionacées, se rencontre soit à l'état cultivé, comme plante fourragère, soit à l'état sauvage comme mauvaise herbe [29]. C'est une plante commune dans les prés de presque toute l'Europe, à feuilles trifoliées et à longues grappes dressées qui fleurissent de mai à août. Le mélilot officinal est très recherché par les abeilles pour son odeur de miel.

ETUDE CHIMIQUE

A - LES VITAMINES

B - LE COMPOSE AZOTE : LA TRIGONELLINE

C - LE D-GALACTO-D-MANNANE

D - LES COMPOSANTS VOLATILS

E - LES DERIVES TERPENIQUES : LES SAPONOSIDES

F - LES COMPOSES PHENOLIQUES

G - AUTRES SUBSTANCES DE *MELILOTUS OFFICINALIS*

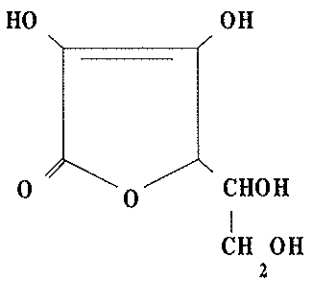
Les principes chimiques ont été diversement étudiés. Dans les grands groupes chimiques, *Melilotus officinalis* fournit des saponosides dont les génines sont dérivées de l'oléanène et des flavonoïdes. De très nombreuses études ont été effectuées sur la coumarine, constituant principal du mélilot. Cette plante renferme également des traces d'huiles essentielles, de l'acide mélilotique, du coumarinate d'acide mélilotique qui, à l'hydrolyse, se décompose en acide mélilotique et en acide coumarique, de la mélilotine, du mélilotol, du tanin, de l'amidon, un composé azoté (la trigonelline), et des vitamines [1] [30].

A. LES VITAMINES

1. VITAMINE C

Dans les feuilles de mélilot, Charonnat et Beauquesne, selon GARNIER, ont trouvé jusqu'à 87 mg de vitamine C pour 100 g d'organe frais [5].

La vitamine C ou acide ascorbique possède la formule développée suivante :

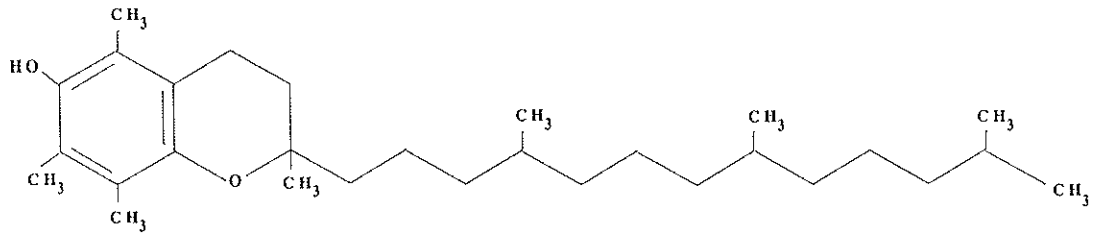


Elle présente une très grande solubilité dans l'eau.

2. VITAMINE E

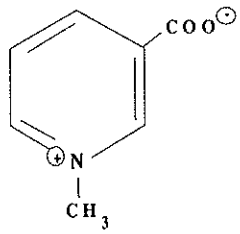
AKOPYAN a noté que le mélilot fait partie des plantes les plus riches en vitamine E parmi un ensemble de 146 espèces appartenant à 9 familles différentes [31].

C'est une vitamine liposoluble qui a une structure saturée. La formule développée est [32] :



B. LE COMPOSE AZOTE : LA TRIGONELLINE

Un composé azoté a été isolé du mélilot. Il s'agit de la trigonelline de formule développée [33] :



D'après GLASBY, la trigonelline a la formule globale : $C_7H_7O_2N$ [34].

Son point de fusion est à 218°C. Ce composé cristallise dans l'éthanol. Il est spontanément soluble dans l'eau ou dans l'éthanol chaud. Il est très peu soluble dans l'éthanol froid et seulement très légèrement soluble dans le chloroforme et l'éther éthylique.

C. LE D-GALACTO-D-MANNANE

Reid et Meier ont déterminé en 1970 les constituants glucosés de ce polysaccharide sans donner de détails sur sa structure. Par la suite, GUPTA et GRASDALEN ont étudié l'extraction, la purification et l'analyse structurale de ce galactomannane issu des graines de *Melilotus officinalis* [35].

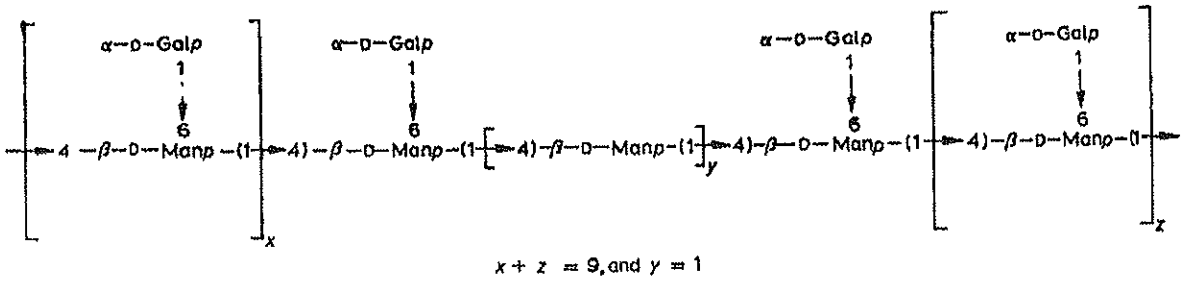
1. ISOLATION ET PURIFICATION

Les graines de *Melilotus officinalis* sont concassées dans le but d'ôter les cosses et les cotylédons. L'endosperme est finalement réduit en poudre et séché. Trois extractions successives ont été réalisées, chacune durant 12 heures, avec de l'eau à 50°C. La solution visqueuse résultante, après refroidissement, est filtrée, centrifugée et acidifiée avec de l'acide acétique (CH_3COOH). Le polysaccharide brut est précipité avec de l'éthanol, recueilli par centrifugation et séché par passage successif dans l'acétone puis l'éthanol. Ensuite le polysaccharide purifié est passé sur une résine échangeuse d'ions. Le liquide effluent est précipité avec de l'éthanol et déshydraté par l'acétone et l'éthanol absolu.

Le séchage est réalisé, sous vide, dans un dessiccateur à température ambiante. En prenant au départ 200 g de graines de mélilot, le rendement est de 13,34 g. Le polysaccharide obtenu est soluble dans l'eau, neutre (pH 6,7) et dépourvu d'halogène, de méthoxyle, d'azote, de pentose, de soufre et d'acide uronique.

2. STRUCTURE

Les études structurales du polysaccharide indiquent que la chaîne principale est composée de 12 unités β–D–mannopyranosyle. Cette chaîne est ramifiée par 11 unités de α–D–galactopyranosyle. Le polysaccharide a donc pour structure de base le galactomannane.



$x + z = 9$, and $y = 1$

D. LES COMPOSANTS VOLATILS

WOERNER et SCHREIER ont déterminé 84 composants volatils dans un extrait de *Melilotus officinalis* par chromatographie gazeuse capillaire à haute résolution et par spectrométrie de masse.

La séparation et l'identification de ces constituants volatils ont été réalisées à partir de fractions volatiles obtenues par chromatographie liquide à partir d'un extrait sec de *Melilotus officinalis* avec un mélange de pentane (C_5H_{12}) et de dichlorométhane (CH_2Cl_2) (2/1 V/V). Parmi ces composants, plus de 89% sont représentés par la coumarine, constituant majeur [36].

En tout, ont été trouvés :

- 23 composants carboxylés
- 18 dérivés d'alcools
- 9 esters
- 10 hydrocarbures
- 6 lactones
- 9 acides carboxyliques
- 9 composants non identifiés.

E. LES DERIVES TERPENIQUES : LES SAPONOSIDES

1. GENERALITES

1.1. Définition

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes dont les solutions aqueuses ont des propriétés tensioactives (abaissement de la tension superficielle) et aphrogènes (pouvoir moussant ; le préfixe "*sapo*" vient du latin et signifie "savon"). Ce sont des composés très répandus dans le règne végétal.

Présents dans tous les organes (surtout dans les racines), ils sont localisés dans les vacuoles [37].

1.2. Constitution chimique

Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé. Par hydrolyse, ils libèrent un ou plusieurs oses et une génine.

Les oses sont de nature très diverse.

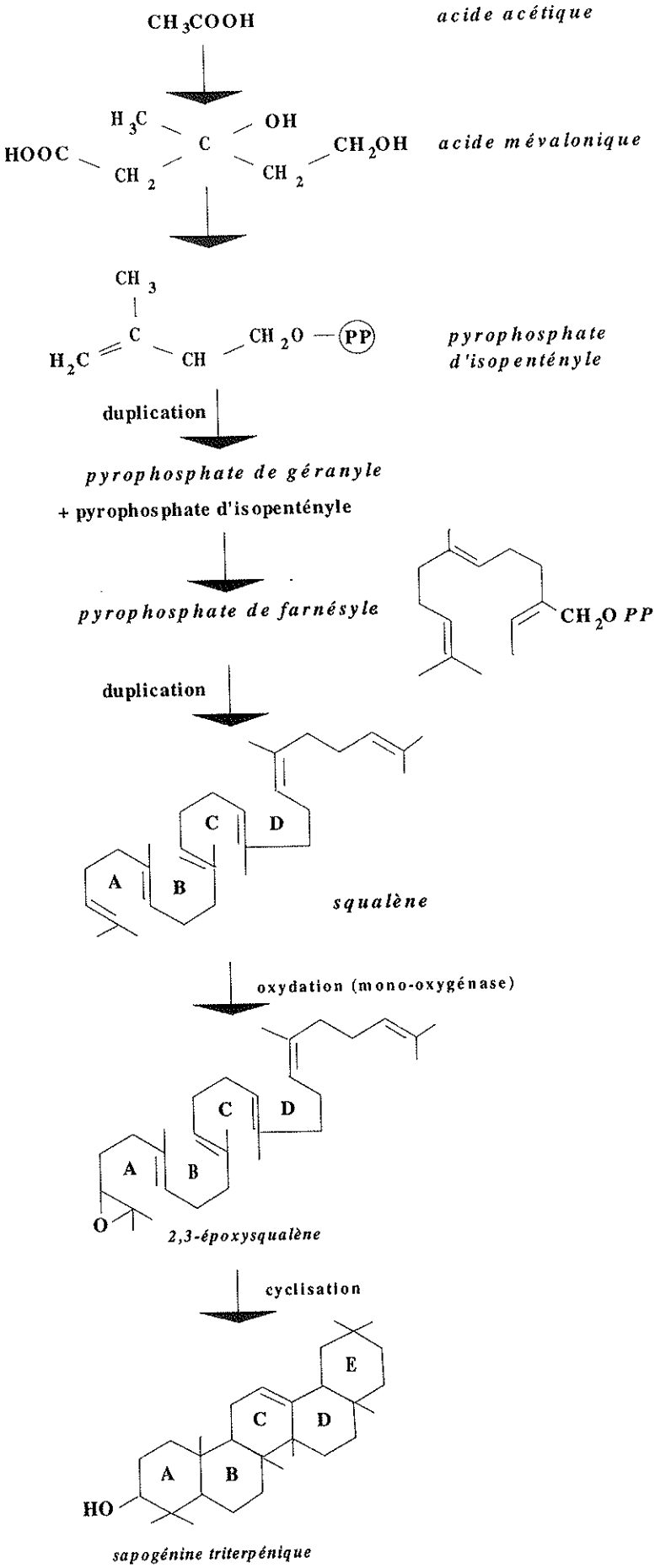
Les génines appartiennent à deux types structuraux : les stéroïdes (présents surtout chez les monocotylédones) et les triterpènes (présents surtout chez les dicotylédones).

Seuls des saponosides triterpéniques ont été retrouvés dans *Melilotus officinalis*. Ils dérivent de l'oléanane et sont de structure pentacyclique.

1.3. Biogénèse

Les saponosides ont tous la même origine biogénétique : le squalène. Le squalène provient de la transformation de l'isopentényl–pyrophosphate au cours de différentes réactions. Cet isopentényl est doublé afin de fournir la série des monoterpènes (C_{10}) dont le prototype est le géranyl–pyrophosphate ou triplé pour donner à la série des sesquiterpènes (C_{15}) dont le prototype est le farnésyl–pyrophosphate. La dimérisation "tête à tête" du pyrophosphate de farnésyle en présence de NADPH et de la squalène synthase fournit le squalène.

Cette molécule aliphatique très insaturée est à son tour oxydée par une mono-oxygénase pour former du squalène 2,3–oxyde ou 2,3–époxysqualène. Et la cyclisation de l'époxysqualène conduit aux triterpènes pentacycliques [38].


CH3COOH
acide acétique
H3C
OH
HOOC
C
CH2OH
CH2
CH2
acide mévalonique
CH3
C
H2C
CH
CH2O
PP
pyrophosphate d'isopenténylе
duplication
pyrophosphate de géranyle
+ pyrophosphate d'isopenténylе
pyrophosphate de farnésyle
CH2O PP
duplication
C
D
A
B
squalène
oxydation (mono-oxygénase)
C
D
A
B
O
2,3-époxysqualène
cyclisation
E
C
D
A
B
HO
sapogénine triterpénique

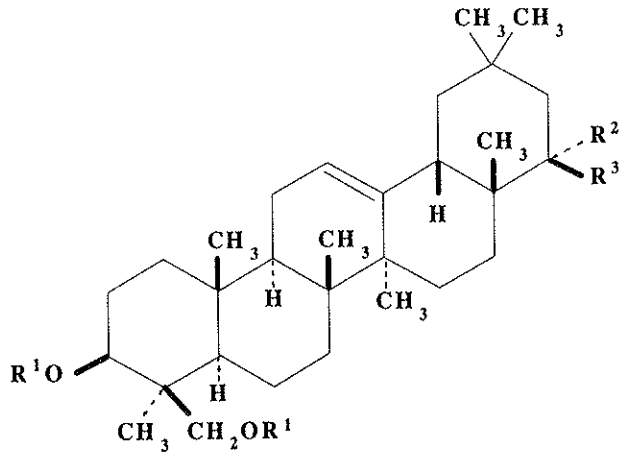
1.4. Propriétés physico-chimiques

Les hétérosides, difficilement cristallisables, sont solubles dans l'eau, dans l'alcool dilué et insolubles dans les solvants organiques apolaires [37].

2. LES SAPONOSIDES DE *MELILOTUS OFFICINALIS*

2.1. Soyasapogénols B et E

En 1987, KANG a isolé, dans la fraction issue de l'hydrolyse acide de *Melilotus officinalis*, deux soyasapogénols [39].

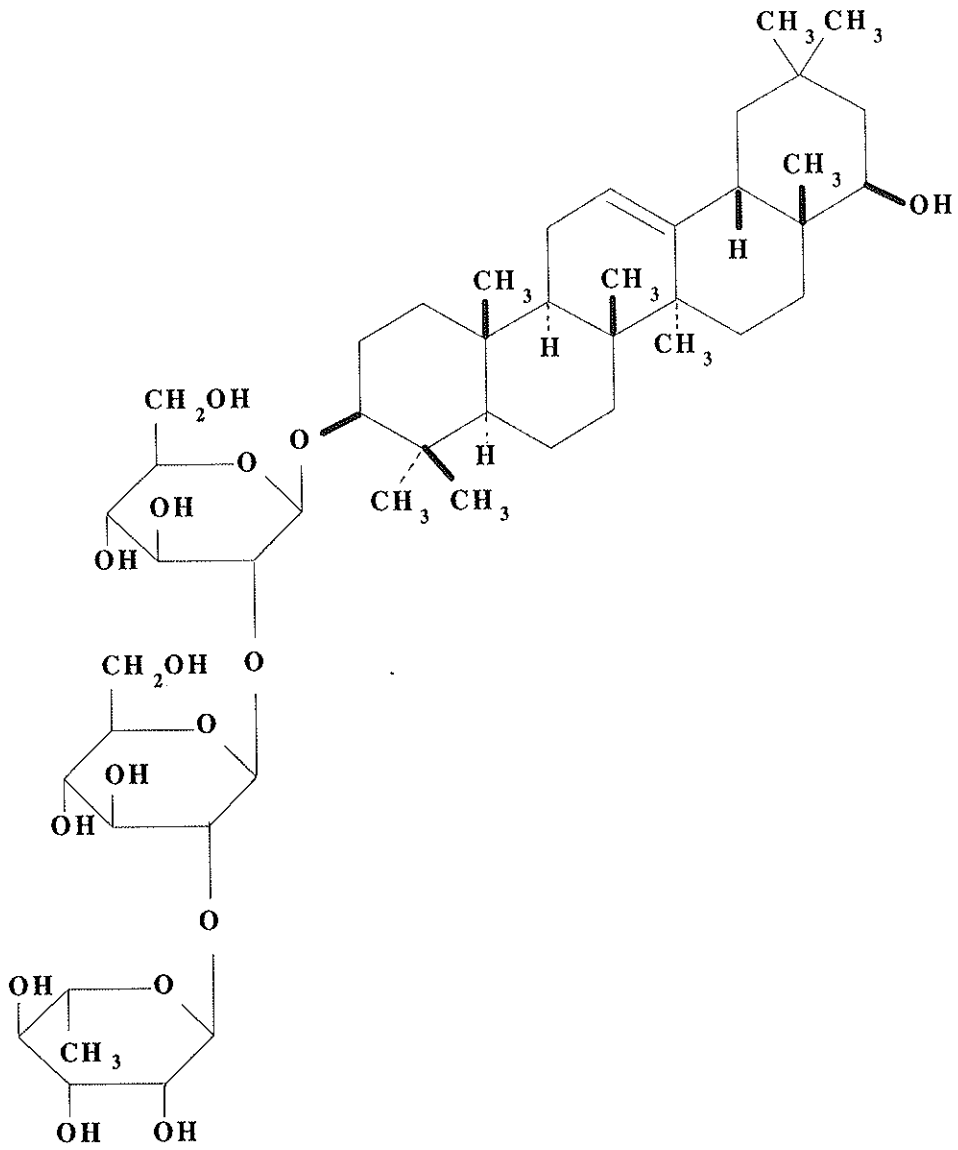


soyasapogénol B : $R^1 = R^2 = H$ et $R^3 = OH$

soyasapogénol E : $R^1 = H$ et $R^2 = R^3 = O$

2.2. Azukisaponine V

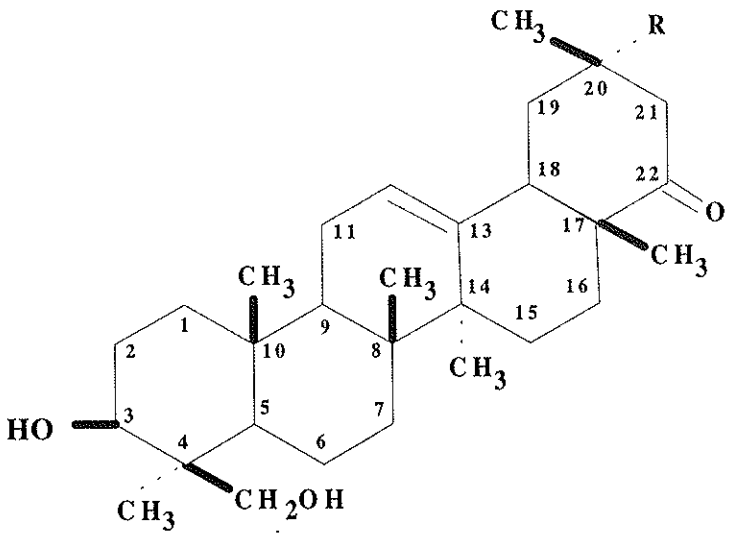
Des expérimentations chimiques portant sur le composant inhibiteur de la migration des leucocytes ont conduit en 1987 à l'isolement et la caractérisation de l'azukisaponine V par KANG et LEE [40].



2.3. Mélilotigénine

En 1988, KANG et ses collaborateurs ont isolé une nouvelle sapogénine trouvée sous sa forme ester dans les feuilles et le fleurs séchées de *Melilotus officinalis* [41].

La mélilotigénine a pour formule développée :



mélilotigénine : R = COOH

forme ester : R = $COOCH_3$

F. LES COMPOSES PHENOLIQUES

1. LES ACIDES PHENOLIQUES SIMPLES

En 1991, DOMBROWICZ et ses collaborateurs ont réalisé une étude afin de déterminer tous les constituants appartenant au groupe des acides phénoliques présents dans *Melilotus officinalis* [42].

Acides phénols simples	Proportions (mg/100 g de mélilot sec)
acide salicylique*	29,6
p–hydroxybenzoïque*	5,7
acide mélilotique	167,8
p–hydroxyphényl acétique*	26,3
acide vanillique*	15,2
acide gentisique*	3,8

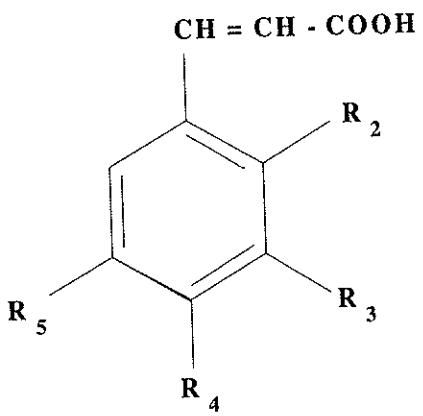
Acides phénols simples	Proportions (mg/100 g de mélilot sec)
acide *o*–coumarique	30,9
acide protocatéchique*	14,3
acide syringique*	10,9
p–hydroxyphényl lactique*	9,9
acide *p*–coumarique	44,3
acide gallique*	11,9
acide férulique	44,4
acide caféique*	84,9
acide sinapique	19,9

* : acides phénoliques trouvés pour la première fois dans le mélilot

Certains acides phénols avaient déjà été mis en évidence en 1967 par Delaveau. En effet, il avait détecté la présence chez les mélilots de molécules voisines d'acides hydroxycinnamiques tels que les acides *o* et *p*–coumarique, l'acide mélilotique, l'acide férulique et sinapique.

1.1. Série cinnamique

Ils ont pour structure de base :

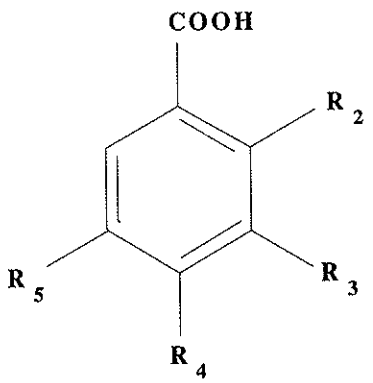


Noms	R_2	R_3	R_4	R_5
acide *o*–coumarique	OH	H	H	H
acide *p*–coumarique	H	H	OH	H
acide caféique	H	OH	OH	H
acide férulique	H	OCH_3	OH	H
acide sinapique	H	OCH_3	OH	OCH_3

Ces composés se distinguent entre eux par le nombre et la disposition des groupements -OH et -OCH_3.

1.2. Série benzoïque

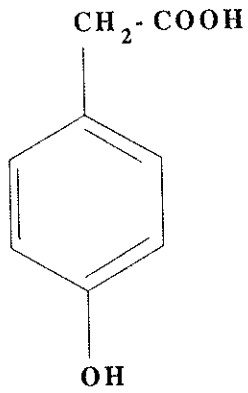
Ce sont des acides phénols qui ont pour structure de base :



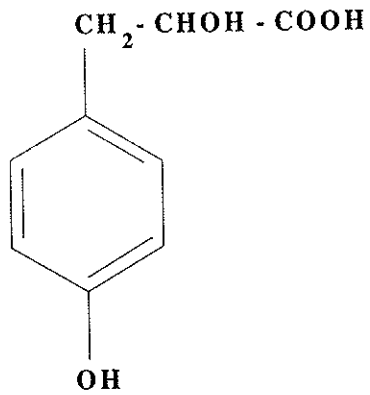
Noms	R_2	R_3	R_4	R_5
acide salicylique	OH	H	H	H
acide *p*–hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
acide gentisique	OH	H	H	OH
acide protocatéchique	H	OH	OH	H
acide vanillique	H	OCH_3	OH	H
acide gallique	H	OH	OH	OH
acide syringique	H	OCH_3	OH	OCH_3

1.3. Divers

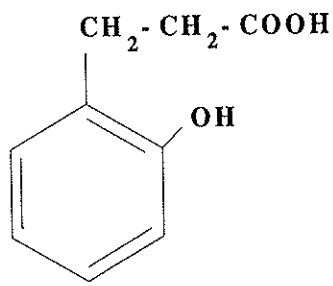
- Acide *p*–hydroxy–phényl–acétique :



- Acide *p*–hydroxy–phényl–lactique :



- Acide mélilotique



2. LES FLAVONOÏDES

2.1. Généralités

2.1.1.Définition

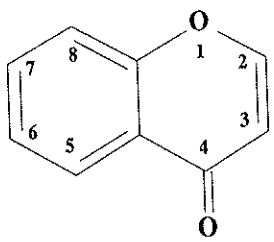
Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Présentes dans tous les organes aériens, les formes hétérosidiques des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espèces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle.

Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques. Ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes [43].

2.1.2.Constitution chimique

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir la 2-phénylchromone encore nommée la 2-phénylbenzo γ–pyrone.

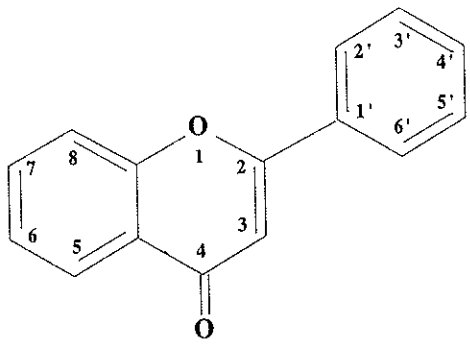


noyau chromone

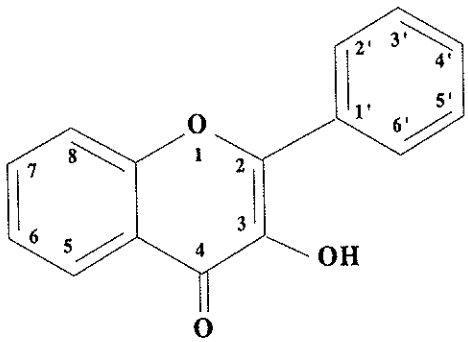
Ils peuvent être regroupés en plusieurs classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central [37] [43] :

2.1.2.1.Dérivés de la 2-phénylchromone

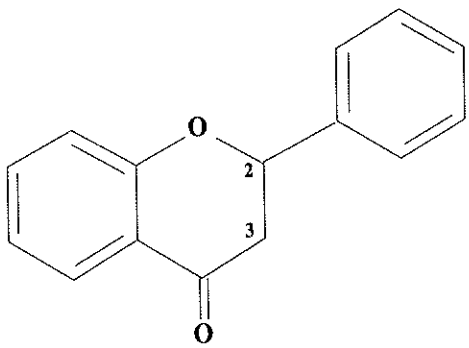
- Flavones



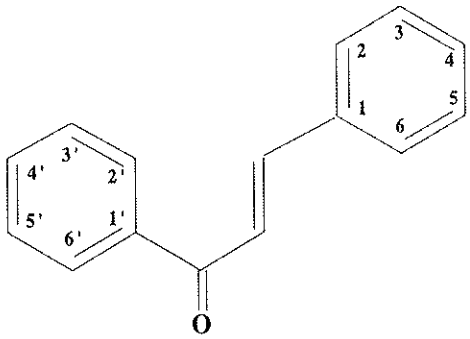
- Flavonols : possédant un hydroxyle alcoolique en 3 (OH–3–flavones)



- Flavanones : ne comportant pas de double liaison en 2–3

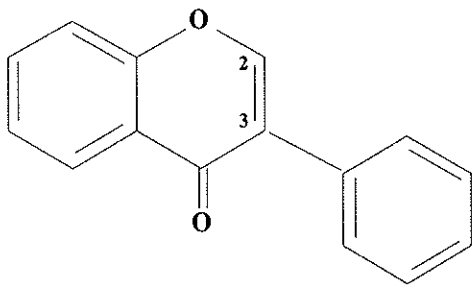


- Chalcones : le cycle pyronique est ouvert (isomère instable des flavanones)



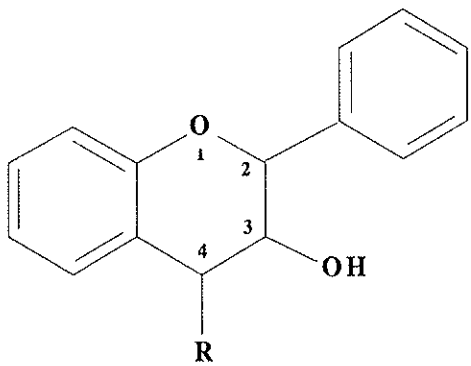
2.1.2.2.Dérivés de la 3-phénylchromone

- Isoflavones :



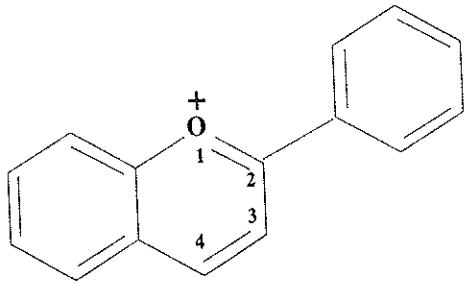
2.1.2.3.Dérivés de la 2-phénylchromane

- Flavanol : R = H
- Flavane–diol : R = OH



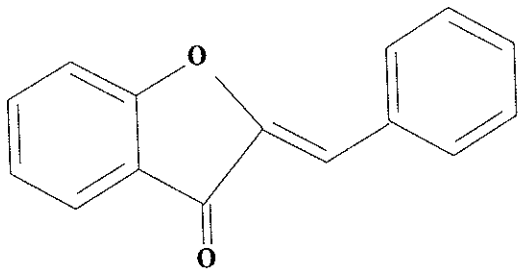
2.1.2.4.Dérivés de la 2–phénylbenzopyrilium

- Anthocyanes



2.1.2.5.Dérivés de la 2–benzylidène coumaranone

- Aurones



Les composés flavoniques sont présents chez les végétaux sous forme hétérosidique : on parle alors, de flavonosides ou d'hétérosides flavoniques. Ces hétérosides flavoniques comprennent donc :

- d'une part, les génines ou aglycones correspondant aux structures de base vues ci-dessus (soit flavone, flavonol, isoflavone, flavanone, ...),
- d'autre part, les oses. Ces sucres sont presque exclusivement des aldoses (soit glucose, galactose, rhamnose, arabinose, xylose et acide glucuronique).

2.1.3.Biogénèse

L'origine des flavonoïdes est inscrite dans leur structure.

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation catalysée par la chalcone synthase, de trois molécules de malonyl–CoA avec le *p*–coumaroyl–CoA. Le produit de la réaction est une chalcone qui constitue un véritable carrefour dans la biogénèse de tous les dérivés regroupés sous le nom général de flavonoïdes [43] (Figure 5).

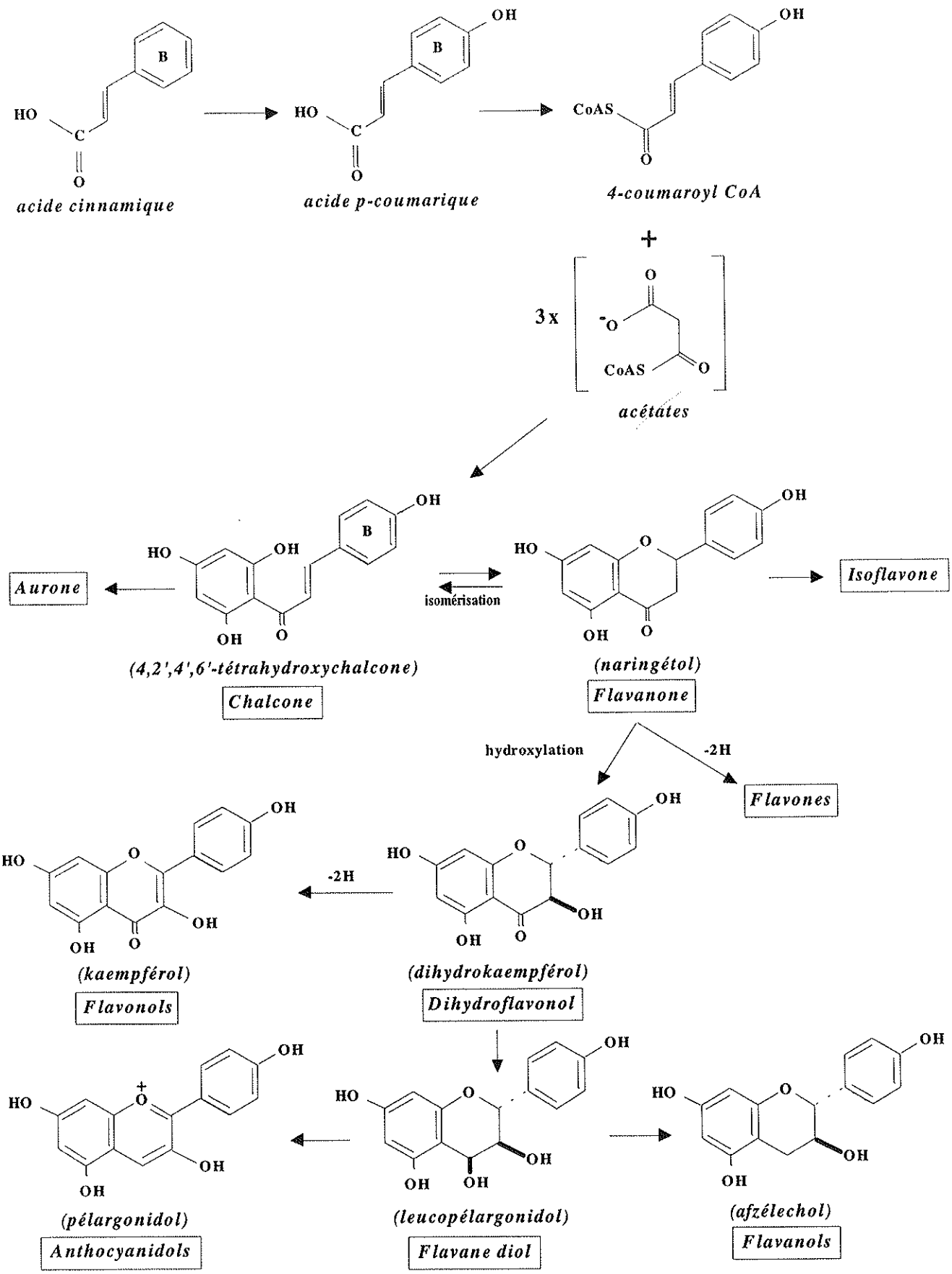


Figure 5 : Origine biosynthétique des flavonoïdes

2.1.4.Propriétés physico-chimiques

Les hétérosides sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool, les autres solvants organiques polaires et insolubles dans les solvants organiques apolaires.

Les génines, au contraire, sont peu solubles dans l'eau et solubles dans l'éther [37].

2.1.5.Extraction

Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools (éthanol, méthanol) additionnés d'eau (20 à 50% selon que la drogue est fraîche ou sèche). Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et, lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau : par de l'éther de pétrole qui élimine chlorophylle et lipides ; par du diéthyléther qui extrait les génines libres ; par de l'acétate d'éthyle qui entraîne la majorité des hétérosides.

La séparation et la purification des différents flavonoïdes sont fondées sur les techniques chromatographiques habituelles (sur polyamide, sur cellulose, sur gel de sephadex, ...) ou sur la chromatographie phase liquide avec des solvants du type eau (ou acétonitrile ou tétrahydrofurane) + méthanol + acide acétique [43].

2.1.6.Caractérisation

- De nombreuses réactions colorées existent pour caractériser les flavonoïdes [37] :
  - en solution alcaline (ammoniaque ou potasse), ils donnent une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide.

- il existe une coloration plus spécifique dite réaction de la cyanidine : les hétérosides flavoniques en solution alcoolique, mis en présence d'hydrogène naissant, donnent des dérivés diversement colorés selon la structure chimique des flavonoïdes mis en jeu : orangé (flavones), rouge cerise (flavonols) et rouge violacé (flavanones).

• L'étude des chromatogrammes peut se faire [43] :

- directement : chalcones et aurones sont habituellement directement visibles sur les chromatogrammes. En présence d'ammoniaque, les taches passent à l'orange et au rouge,
- par un examen en lumière ultraviolette avant et après pulvérisation de trichlorure d'aluminium, avant et après exposition aux vapeurs d'ammoniaque : la nature et les changements des fluorescences observées donnent des renseignements utiles sur le type de flavonoïde présent,
- après pulvérisation d'une solution à 1% de l'ester du 2–aminoéthanol et de l'acide diphénylborique, suivie d'un examen en lumière ultraviolette puis dans le visible (on peut améliorer la sensibilité en pulvérisant en plus une solution méthanolique à 5% de polyéthylène glycol 400),
- après pulvérisation d'autres révélateurs : chlorure ferrique, d'anisaldéhyde, d'acide sulfanilique diazoté ou autres.

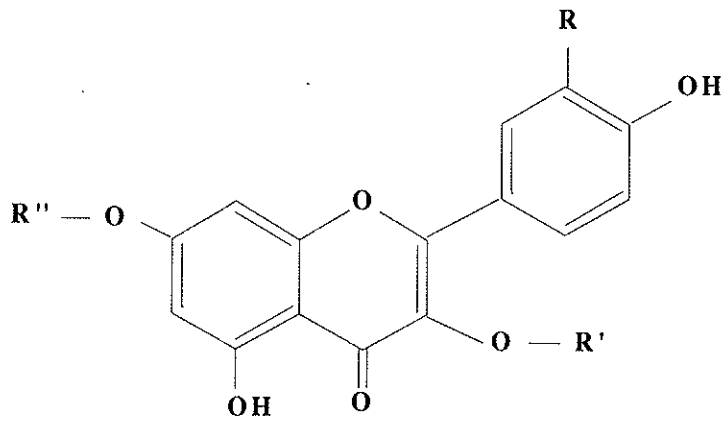
2.2. Les flavonoïdes de *Melilotus officinalis*

• Pour la recherche de ces composés, on peut citer principalement, les travaux de TORCK, BEZANGER-BEAUQUESNE et PINKAS sur les Légumineuses (1969). Les études se sont donc intéressées aux fleurs blanches du

Melilotus alba , espèce très voisine du *Melilotus officinalis* [44]. La chromatographie sur papier a révélé la présence de 3 flavonoïdes, au niveau des feuilles et des gousses du mélilot blanc et également dans les organes correspondants du mélilot jaune.

Les différents hétérosides sont les suivants :

- Rhamnogalactoside–3 quercétol (structure 1),
- Rhamnoglucoside–3 rhamnoside–7 kaempférol (=robinoside) (structure 2),
- Digalactoside rhamnoside de kaempférol.



structure 1 : R = OH
R' = rhamnogalactosyl
R'' = H

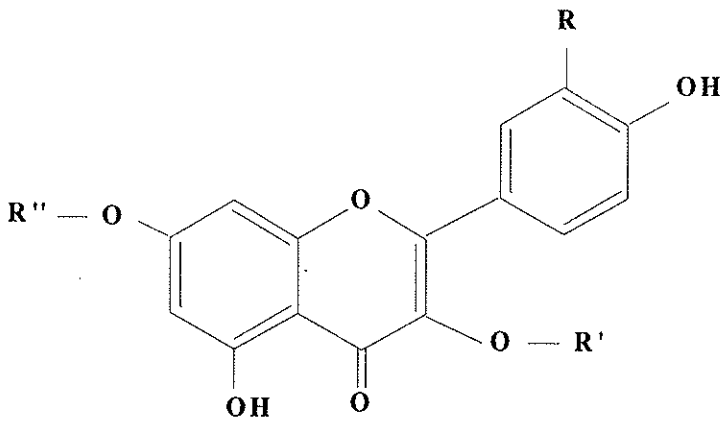
structure 2 : R = H
R' = rhamnoglucosyl
R'' = rhamnosyl

La structure du troisième hétéroside n'a pu être précisée en raison de sa faible teneur dans la plante.

• En 1971, TORCK et ses collaborateurs signalent un autre hétéroside qui est décrit comme un rhamnogalactoside de kaempférol [45].

• En 1982, NICOLLIER et THOMPSON ont isolé deux autres flavonoïdes dans *Melilotus alba* [46] [47] :

- galactoglucoside–3 dirhamnoside–7 kaempférol ou mélitine (structure 3),
- rhamnogalactoside–3 rhamnoside–7 quercérol ou clovine (structure 4).



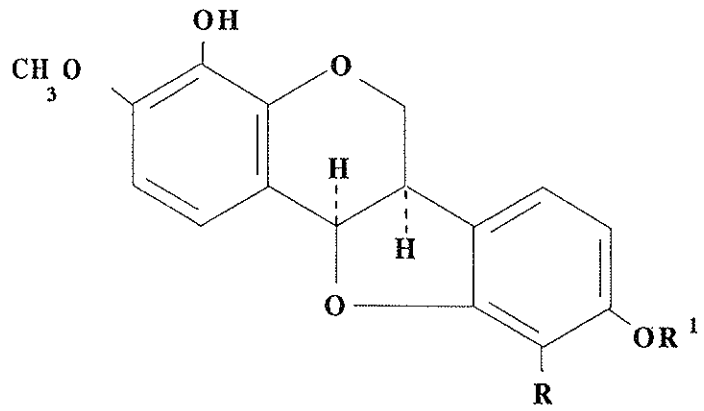
structure 3 : R = H
R' = galactoglucosyl
R'' = dirhamnosyl

structure 4 : R = OH
R' = rhamnogalactosyl
R'' = rhamnosyl

3. LES ISOFLAVONOÏDES (LES PTEROCARPANES)

Des mélitocarpanes A et E ont été isolés du mélilot officinal [48].

Leurs structures ont été déterminées par des données chimiques et spectrales.



mélitocarpane A : R = H et $R^1 = CH_3$

mélitocarpane E : R = OCH_3 et R^1 = H

Ces composés ont une structure ptérocarpanique dérivée du noyau des isoflavonoïdes et tirent leur nom d'une Légumineuse, le genre *Pterocarpus*.

Ces constituants sont des phytoalexines antifongiques présentes après infestation par des champignons.

4. LA COUMARINE ET SES DERIVES

4.1. Introduction

La coumarine est une substance très répandue dans le règne végétal. Mais en fait, peu de plantes médicinales contiennent ce composé et ses dérivés à des concentrations utilisables. Sur 129 huiles essentielles et extraits observés par Lawrence entre 1988 et 1993, seulement 4 d'entre eux contiennent de la coumarine en quantité suffisante pour la quantifier. Ces 4 plantes sont les suivantes :

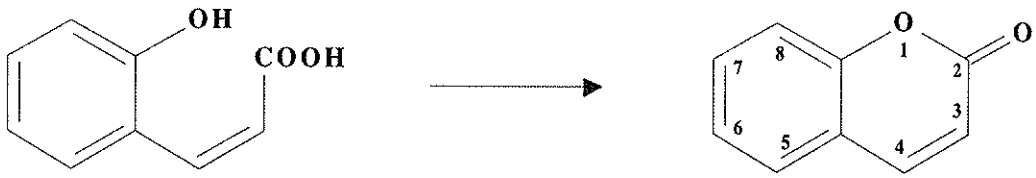
- *Dipteryx odorata*
- *Trilisia odoratissima*
- *Asperula odorato* (ou *Galium odoratum)*
- *Melilotus officinalis* et *alba*

Toutes les autres plantes détiennent de la coumarine à l'état de traces. Le nom de coumarine vient d'un arbre d'Amérique du Sud, le *Dipteryx odorata*, qui produit la fève tonka que les indigènes nomment coumarou. La coumarine fut isolée, en 1820, de la fève tonka qui constitue la meilleure source connue de ce principe actif, et pourtant le taux ne dépasse pas 1 à 3% [49].

La coumarine et ses dérivés ont fait l'objet de nombreuses études tant au niveau de l'analyse des principes chimiques qu'au niveau de leurs actions et de leur toxicité éventuelle.

4.2. Structure chimique de base

Les coumarines sont des dérivés du noyau benzopyrone que l'on peut considérer comme étant les lactones des acides *o*-hydroxy-2-cinnamiques [43].



acide O-hydroxycinnamique — *coumarine*

Les dérivés offrent de grandes possibilités de variations structurales : ils ont pour structure de base la coumarine proprement dite substituée en 7. Les coumarines les plus répandues portent des substitutions -OH ou -OCH_3 en position 6 et 7. Ce sont l'esculétine, l'esculine, l'herniarine, la scopolétine et l'umbelliférone. A côté de ces « coumarines simples », il existe aussi des coumarines de structures plus complexes où un noyau furanne ou pyranne est associé au noyau coumarinique. Ce sont les furocoumarines et les pyrannocoumarines [37].

4.3. Répartition

Elle est répartie aussi bien dans les feuilles que dans les fruits, les graines et les racines.

MURRAY, MENDEZ et BROWN ont observé en 1982 des fluctuations quotidiennes du point de vue de la composition en coumarine dans les parties aériennes du mélilot. On constate un maximum à midi et la plus basse concentration se situe le soir. Les jours courts, la quantité de coumarine contenue dans les feuilles est plus faible que pendant les jours longs [50].

4.4. Biogénèse de la coumarine

Gorz et Haskins, en 1962, ont montré que les feuilles jaunes sont le siège de la biogénèse la plus active. Les tiges et les racines ne paraissent jouer qu'un rôle secondaire. Cette biogénèse a été obtenue à l'aide de cultures de tissus de racine de mélilot.

Les coumarines sont issues du métabolisme de la phénylalanine donnant un acide cinnamique puis l'acide coumarique. La spécificité du processus est l'hydroxylation en 2' (en *ortho* du chaînon tricarboné) ; il y a ensuite isomérisation photocatalysée de la double liaison et enfin une lactonisation (réaction spontanée). Dans quelques cas, la glucosylation de l'acide cinnamique intervient, empêchant ainsi la lactonisation. Dans ce cas, la coumarine ne se forme qu'après lésion des tissus et hydrolyse enzymatique. C'est le cas du mélilotoside, glucoside en 2' de l'acide *o*-hydroxycinnamique qui, s'hydrolysant facilement, engendre par lactonisation la coumarine. Ainsi l'acide *trans*-cinnamique conduit à la coumarine selon 2 voies distinctes visualisées sur la figure 6 [43] [49].

Les tissus de *Melilotus officinalis* contiennent une β-glucosidase naturelle qui est spécifique de l'acide *cis*-glucosylhydroxycinnamique et qui ne réagit pas avec la forme *trans*.

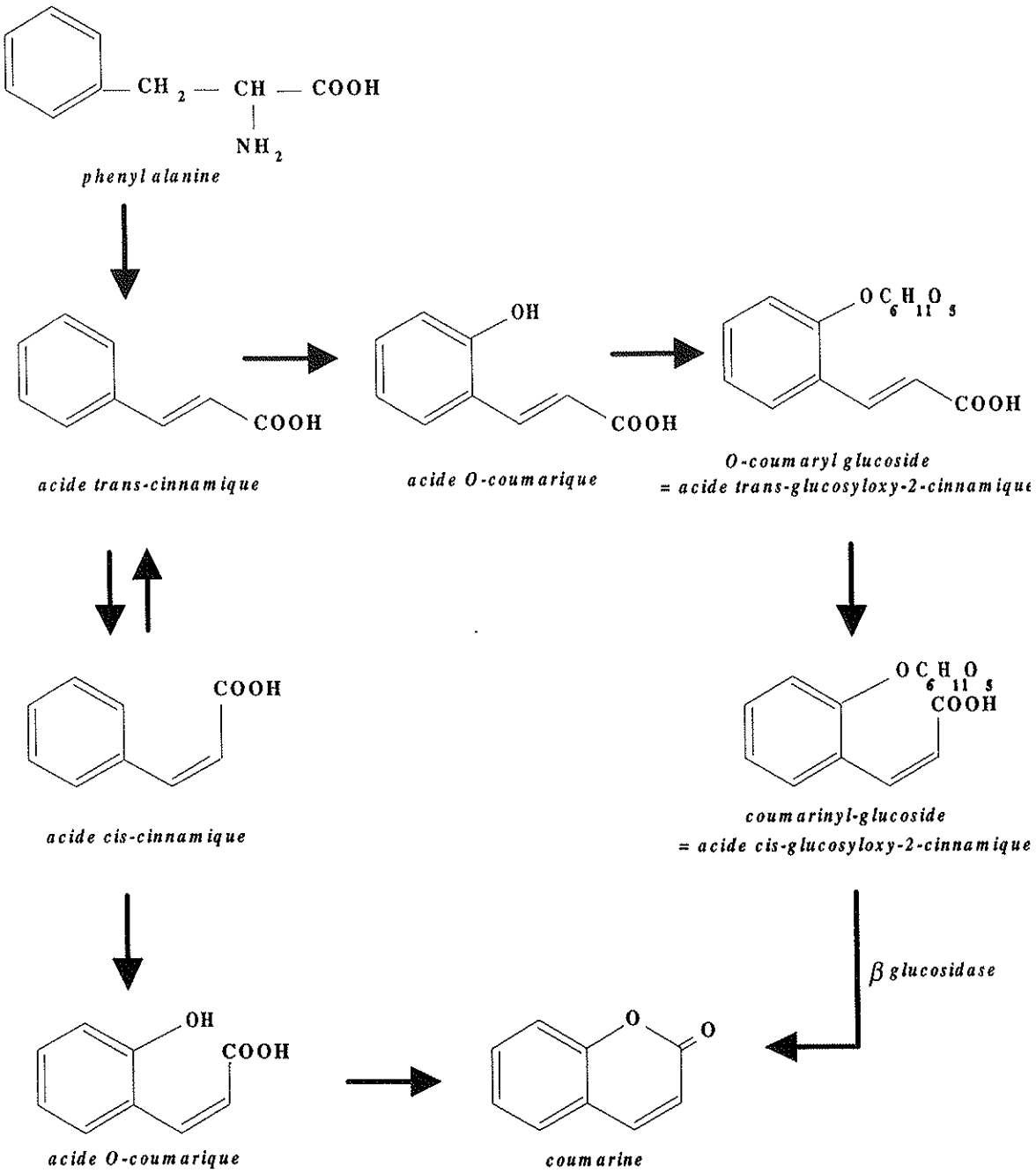


Figure 6 : Les 2 voies de synthèse de la coumarine à partir de l'acide *trans*-cinnamique

4.5. Propriétés physico-chimiques de la coumarine

• C'est une substance cristalline, blanche, d'odeur agréable, de saveur généralement amère. Son point de fusion est de 67°C.

Peu soluble dans l'eau froide (1,8 g pour 1 l d'eau à 15°C), elle l'est davantage à chaud.

C'est un composé très soluble dans l'alcool (à 15°C, 142 g dans 1 l d'alcool à 96% (V/V)), dans l'éther et dans le benzène.

La coumarine se dissout facilement dans les solutions alcalines en donnant une solution de couleur jaune et en se transformant peu à peu en sel de l'acide coumarique.

- C'est un composé volatil qui peut être isolé par entraînement à la vapeur d'eau [51] [37] [52].

- La coumarine absorbe les rayonnements ultraviolets. Les valeurs maximales des bandes d'absorption se situent à 209, 272 et 310 nm pour la solution dans l'éthanol à 95% (V/V) [53] et à 278 et 310 nm pour la solution méthanolique [54].

Il est à noter que l'acide *o*-coumarique présente des bandes d'absorption comparables avec des valeurs maximales à 215, 272 et 325 nm pour la solution éthanolique.

- La fluorescence de la coumarine a été observée à 77°K en solution dans l'éthanol [55].

A température ambiante, les solutions alcalines de coumarine soumises à une irradiation U.V. sont fluorescentes. En effet, l'hydrolyse alcaline du noyau benzopyrone conduit à la formation d'acide coumarique dont l'isomère *trans* présente une structure fluorescente [56].

- La coumarine peut être identifiée par son spectre d'absorption dans l'infrarouge et également par le spectre de masse et le spectre de résonance magnétique nucléaire.

4.6. Extraction de la coumarine

Bien que la teneur en coumarine soit fréquemment reportée dans la littérature, chaque auteur utilise une méthode d'extraction spécifique quelquefois très différente les unes des autres. BOURGAUD, POUTARAUD et GUCKERT ont comparé 7 méthodes d'extraction utilisées pour quantifier la coumarine et les glucosides correspondant du mélilot. Le but de l'étude était de reconnaître la meilleure méthode en terme quantitatif et également de déterminer une méthode simple et rapide donnant des résultats reproductibles [57].

Ces 7 méthodes ont été réalisées sur des échantillons de plantes préalablement séchées à 60°C pendant 4 jours et réduites en poudre. Trois extractions ont été effectuées avec chaque méthode.

Ces différentes méthodes sont les suivantes :

- Méthode de référence :

Elle a été décrite par Villeneuve et Abravanel en 1982. Il s'agit de l'extraction avec de l'éthanol. 1 g de poudre est immergé dans 500 ml d'éthanol à 80% et agité pendant 1 heure à température ambiante. Après filtration, la phase liquide est évaporée sous vide à une température inférieure à 30°C. Après dissolution du résidu dans une solution tampon (pH 5), la solution est hydrolysée pendant 4 heures avec l'émulsine (0,3%) à 37°C et acidifiée (pH 2) avec l'acide chlorhydrique (1 N). La coumarine et ses dérivés ont été séparés par chromatographie liquide haute performance (HPLC) selon la méthode décrite par Vande Casteele et Von Sumere (1983). Les composants ont été identifiés par un détecteur diode U.V.

• Extraction avec l'eau :

Un gramme de poudre est immergé dans 25 ml d'eau bouillante et agité pendant 30 minutes durant le refroidissement.

• Extraction avec le méthanol à température ambiante :

Un gramme de poudre est immergé dans 25 ml de méthanol et remué pendant 30 minutes.

• Extraction par reflux avec des solvants :

Le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'éther éthylique et le chloroforme ont été testés séparément en utilisant la méthode d'extraction par reflux. Des échantillons d'1 g ont été utilisés et l'extraction a duré 24 heures dans 100 ml de solvant.

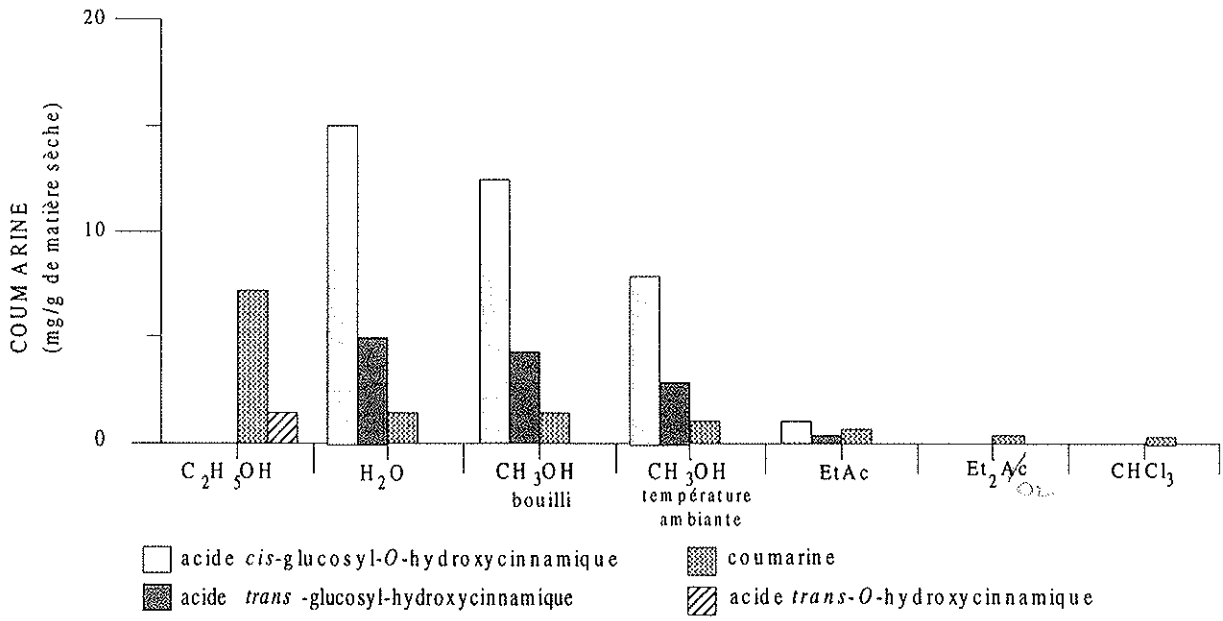


Figure 7 : La quantité totale de coumarine (mg/g de matière sèche) d'un échantillon de *Melilotus officinalis* suivant différentes méthodes d'extraction.

Les concentrations sont calculées comme si les molécules avaient le même poids moléculaire.

L'extraction des coumarines avec les solvants polaires (eau, éthanol et méthanol) a montré être plus efficace.

La méthode d'extraction de Villeneuve et Abravanel (extraction avec l'éthanol) permet d'extraire 2 composants : la coumarine et l'acide *o*-hydroxycinnamique (forme *trans*). Cette méthode donne la plus forte concentration en coumarine libre par rapport aux 6 autres méthodes et c'est la seule permettant d'extraire l'acide *trans* *o*-hydroxycinnamique. Cependant, l'extraction avec l'eau fournit le plus haut taux d'acide *cis*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique.

Afin de clarifier ces résultats, une version modifiée de la méthode de Villeneuve et Abravanel a été employée dans laquelle l'hydrolyse a été omise. L'acide *trans* *o*-hydroxycinnamique n'a pas été observé avec cette méthode modifiée :

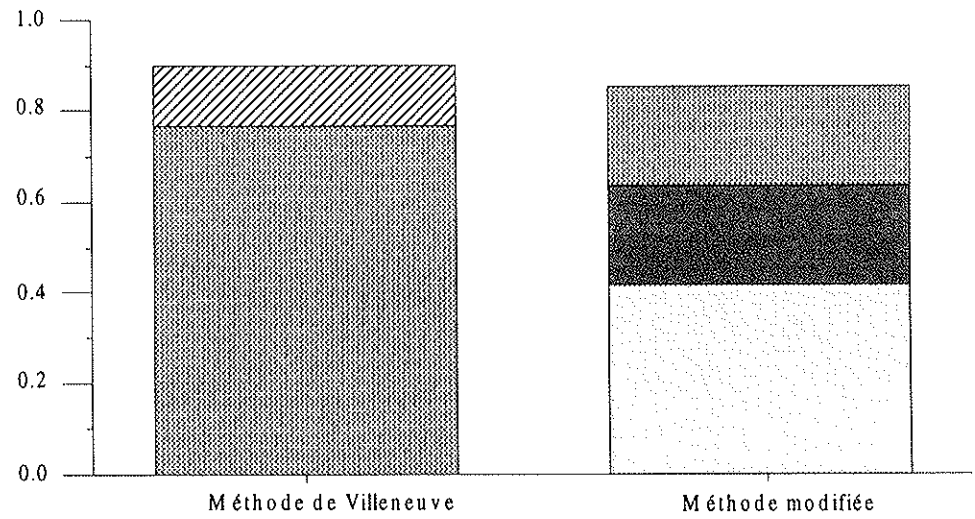


Figure 8 : Analyse des coumarines (mg/g de matière sèche) extraites de *Melilotus officinalis* avec l'éthanol suivi :

- à gauche : d'une hydrolyse enzymatique avec l'émulsine,
- à droite : d'une hydrolyse avec seulement une enzyme naturelle qui est spécifique de l'acide *cis*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique.

On peut attribuer la présence de l'acide *trans* *o*-hydroxycinnamique dans la méthode non modifiée par le fait qu'on utilise une émulsine, une β-glucosidase non spécifique qui transforme l'acide *cis*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique en coumarine libre ou l'acide *trans*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique en acide *o*-hydroxycinnamique. D'autre part, les tissus de mélilot possèdent une β-glucosidase naturelle spécifique de l'acide *cis*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique et qui ne réagit pas avec la forme *trans*. Ce dernier composé reste inchangé dans la méthode modifiée et correspond à la quantité d'acide *o*-hydroxycinnamique de la méthode classique. Alors que la coumarine libre est le produit dominant extrait avec la méthode de référence, ce n'est pas le cas avec la méthode modifiée. Comme il a été démontré par Haskin et Gorz (1961), la coumarine n'est pas présente dans la plante sous forme libre mais plutôt sous forme glycosidique. Par conséquent, la coumarine libre trouvée avec la méthode modifiée est due à une hydrolyse partielle de l'acide *cis*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique au cours de l'extraction (environ 30% a été transformé).

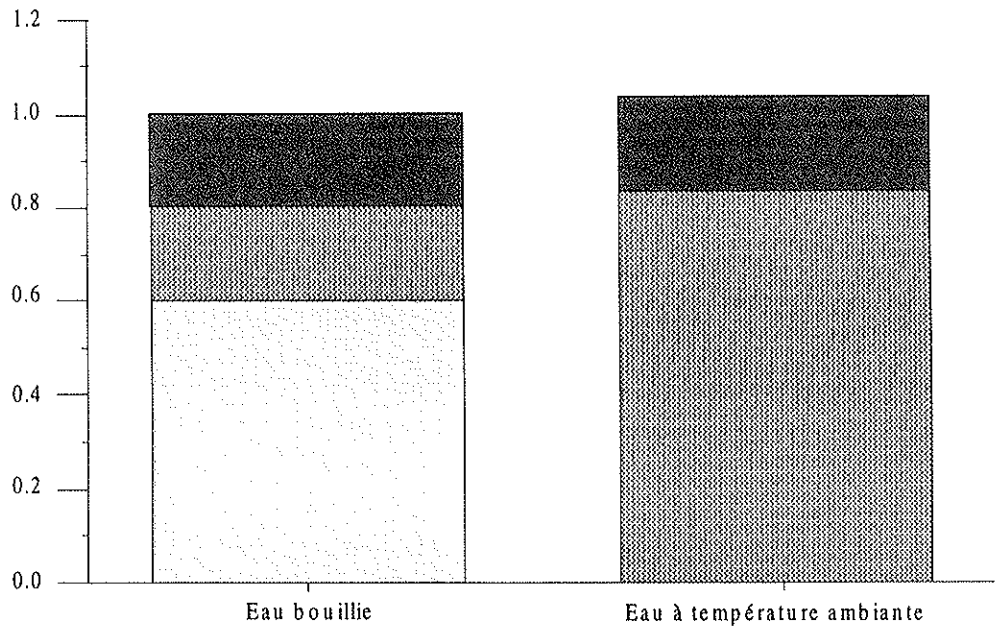


Figure 9 : Analyse des coumarines de *Melilotus officinalis* extraites avec l'eau à :

- 100°C à gauche,
- température ambiante à droite.

L'extraction par l'eau à 100°C et celle à température ambiante ont permis d'obtenir la même quantité totale de dérivés coumariniques. Cependant, à température ambiante, l'acide *cis*-glucosyl-*o*-hydroxycinnamique a été complètement converti en coumarine libre. Ceci montre que la β-glucosidase de *Melilotus officinalis* est encore très efficace même après séchage.

Ainsi une simple extraction par l'eau à température ambiante est une méthode correcte pour extraire la coumarine libre.

Les autres extractions, réalisées avec les solvants organiques, donnent une moindre quantité de coumarines.

L'extraction avec le méthanol amené à ébullition pendant 24 heures a donné des résultats non significativement différents de ceux obtenus en utilisant la méthode de Villeneuve et Abravanel. Ainsi, les solvants de polarité similaire ont un potentiel d'extraction comparable.

Une extraction rapide avec l'éthanol (30 min.) à température ambiante a donné de moins bons résultats.

L'acétate d'éthyle a extrait la même quantité de coumarine libre que les autres méthodes mais a donné des résultats médiocres concernant les glycosides. Cette tendance est même plus marquée avec l'éther éthylique et le chloroforme pour lesquels aucun glycoside n'a pu être retrouvé. On explique ces observations par la faible solubilité des coumarines glycosidiques dans les solvants non polaires.

Conclusion :

La méthode d'extraction avec l'eau offre les meilleurs résultats.

4.7. Inventaire des dérivés coumariniques de *Melilotus officinalis*

D'après FOURNIER (1948), les mélilots renferment environ 0,9% de

coumarine qui se développe après dessiccation, de l'acide mélilotique, du coumarinate d'acide mélilotique qui, à l'hydrolyse se décompose en acide mélilotique et en acide coumarinique, de la mélilotine ou dihydrocoumarine, un liquide oléagineux à odeur de foin coupé, du mélilotol de même formule que la mélilotine [1].

Ultérieurement, Charaux décrit le mélilotoside qui, par décomposition, fournit la coumarine [5].

4.7.1.Le mélilotoside

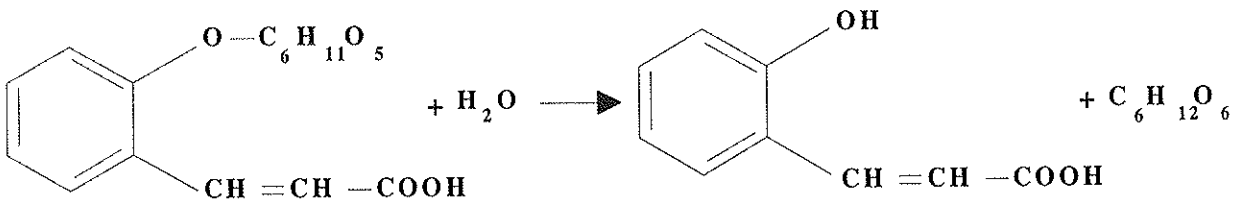
Le composant actif des mélilots est la coumarine (0,4 à 1%). En fait, si l'extraction est conduite sur une drogue stabilisée, ce n'est pas la coumarine qui est isolée mais le mélilotoside, glucoside de l'acide *o*-hydroxycinnamique en configuration Z [48]. En effet, d'après LECLERC, l'analyse chimique du mélilot a permis de reconnaître dans les fleurs la présence de coumarine à l'état de glucoside [58]. La teneur des feuilles et de la tige en ce principe change rapidement suivant les différents stades du développement : elle présente une relation très nette avec la coloration des feuilles, plus abondante dans les espèces à feuillage foncé que dans celles à feuillage clair.

Ce glucoside se présente sous forme de fines aiguilles incolores et inodores à saveur légèrement amère et en même temps un peu acide et astringente.

Le mélilotoside de formule $C_{15}H_{18}O_8$ a un poids moléculaire obtenu par acidimétrie de 324 (P.M. calculé = 326). Il possède un caractère acide très net ; son point de fusion est de 240 - 241°C. Il est peu soluble dans l'eau froide. Il se dissout très facilement dans l'eau bouillante, assez facilement dans l'alcool froid et très peu dans l'acétone et l'éther acétique [5].

Lorsque les tissus sont lésés, une β-glucosidase hydrolyse l'hétéroside.

Ainsi, le mélilotoside se dédouble en une molécule d'acide coumarique et de d-glucose suivant la réaction :



mélilotoside *acide coumarique* *glucose*

L'acide libéré subit aussitôt une lactonisation en coumarine.

Cette hydrolyse a lieu au cours du séchage de la plante. Celui-ci doit être effectué rapidement et à température ambiante. Au cours d'une dessiccation mal menée, il se forme du dicoumarol, substance toxique notamment pour le bétail. Ce composé est une molécule anticoagulante et est reconnu comme responsable d'hémorragies importantes observées chez le bétail [59].

4.7.2.Le mélilotol

C'est un liquide huileux, brunâtre, d'odeur rappelant celle du foin coupé ou de *l'Anthoxanthum odoratum* (Graminées). Il est plus soluble dans l'alcool et l'éther que dans l'eau, selon PLANCHON [60].

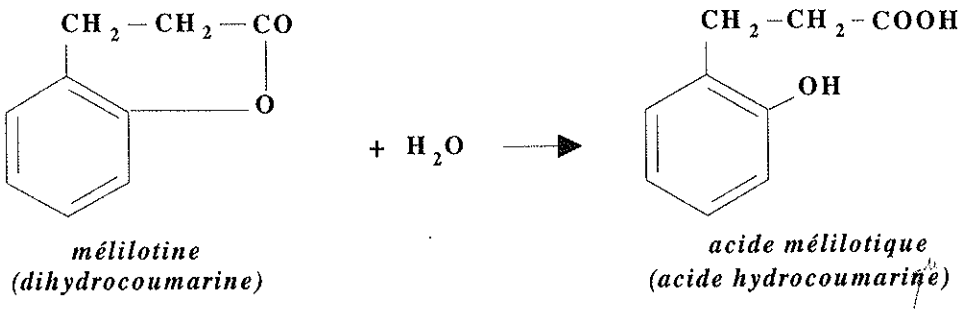
C'est un anhydride mélilotique. REUTTER en donne la formule suivante $C_9H_8O_2$. Il est donc probable qu'il s'agisse en fait de la mélilotine [61].

4.7.3.La mélilotine ou dihydrocoumarine

Selon REUTTER (1923), elle se présente sous la forme d'aiguilles incolores, fusibles à 25°C, entrant en ébullition à 272°C, insolubles dans l'eau froide, peu

solubles dans l'eau bouillante, très solubles dans le chloroforme, l'éther, l'alcool [61].

La formule est $C_9H_8O_2$. Chauffée avec de l'eau ou avec des solutions aqueuses de carbonate potassique, elle se transforme en acide mélilotique ou acide hydroxycoumarique :



mélilotine (dihydrocoumarine) — *acide mélilotique (acide hydrocoumarine)*

4.7.4.L'acide mélilotique

De formule $C_9H_{10}O_3$, il existe à l'état libre. Il se présente sous la forme de prismes incolores, fusibles à 83°C, solubles dans l'eau, l'alcool, l'éther selon REUTTER [61], il peut être préparé synthétiquement en réduisant la coumarine par de l'amalgame de sodium. Selon PLANCHON [60], les prismes sont transparents. Cet acide n'a pas d'odeur ou faiblement aromatique, de saveur astringente.

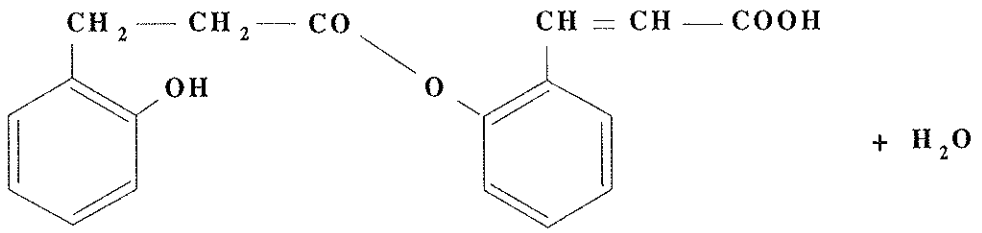
GARNIER rapporte les valeurs suivantes [5] :

- dans les graines (en % de poids sec) : 0,023% d'acide mélilotique,
- dans les tissus verts : 0,14% d'acide mélilotique.

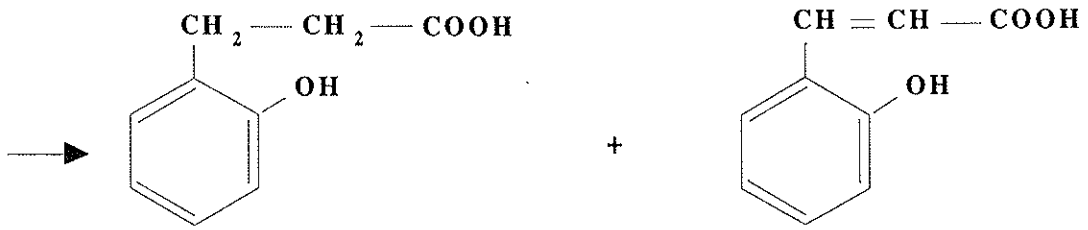
4.7.5.Le coumarinate d'acide mélilotique

De formule $C_{18}H_{16}O_5$, il se présente sous la forme de paillettes incolores, fusibles à 128°C, peu solubles dans l'eau, très solubles dans l'éther et l'alcool, selon REUTTER [61].

Chauffé avec des alcalis ou soumis à la distillation à la vapeur d'eau, il se décompose en acide coumarique et en acide mélilotique.



coumarinate d'acide mélilotique



acide mélilotique *acide coumarique*

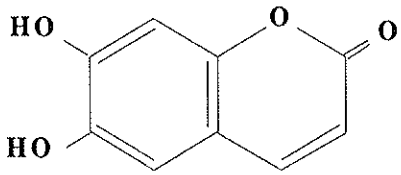
4.7.6.L'acide coumarique

Il est obtenu par dédoublement du mélilotoside par l'action de l'émulsine [5]. Très instable, il est aussitôt transformé en coumarine. Il a été dosé en % de poids sec : 0,059% d'acide coumarique dans les graines et 0,010% dans les tissus verts.

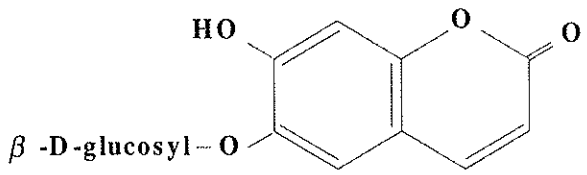
4.7.7.Autres dérivés coumariniques :

D'autres dérivés coumariniques moins abondants ont été identifiés d'après MURRAY [50] :

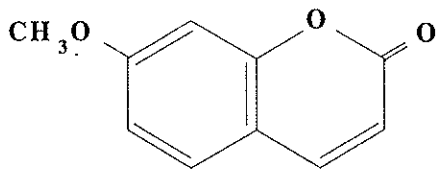
- <u>esculétine</u> (= esculétol) : il a la formule $C_9H_6O_4$. Il est présent dans la partie aérienne de la plante et dans la racine.



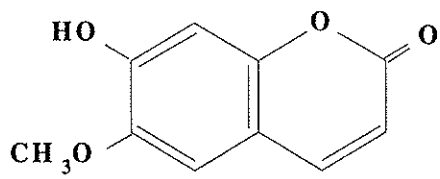
- esculine (= esculoside) : il possède la formule $C_{15}H_{16}O_9$ et se trouve dans la partie aérienne.



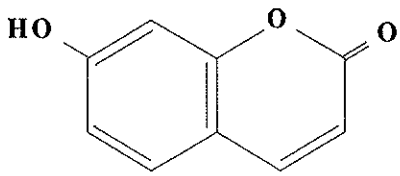
- herniarine : ce composé de formule $C_{10}H_8O_3$ est rencontré dans la partie aérienne de la plante et dans la racine.



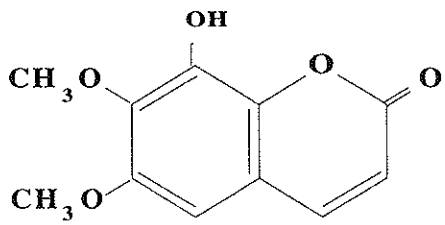
- scopolétine (= scopolétol) : ce constituant de formule $C_{10}H_8O_4$ est présent dans la partie aérienne de la plante et dans la racine.



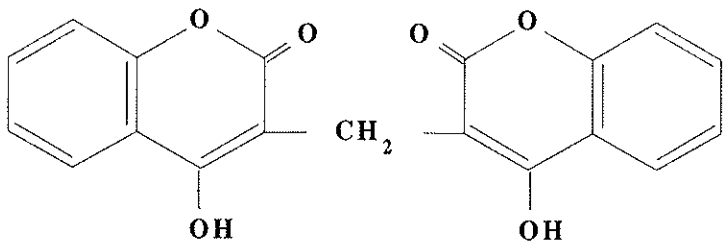
- umbelliférone : ce composé de formule $C_9H_6O_3$ se trouve dans la partie aérienne ainsi que dans la racine.



- fraxidine : ce composé a pour formule développée :



- dicoumarol : appelé aussi 3,3' méthylène bis-4 hydroxycoumarine ou mélitoxine, il a été l'objet de nombreux travaux. Il a été découvert dans le mélilot avarié responsable d'accidents hémophiliques mortels chez les animaux qui l'avaient brouté.
  La formule du dicoumarol est $C_{19}H_{12}O_6$ [62].



Selon GARNIER [5], cette substance est obtenue cristallisée ; son point de fusion est de 288°C - 289°C.

G. AUTRES SUBSTANCES DE *MELILOTUS OFFICINALIS*

FOURNIER signale la présence de tanins et d'amidon dans le mélilot sans préciser l'organe de provenance [1].

REUTTER signale la présence de matières résineuses et pectiques [61]. Le mélilot contient également une huile formée des acides linoléique, linolénique, oléique, palmitique, stéarique, arachidique et lignorétique [9].

CONCLUSION

Avec un tel inventaire chimique, des chercheurs se sont intéressés au mélilot afin de lui rattacher des propriétés pharmacologiques. Ainsi des travaux ont été effectués pour connaître la ou les actions de telle ou telle molécule. Il est à noter que pour une même molécule, plusieurs propriétés, souvent très différentes les unes des autres, ont été découvertes.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

A - PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DE LA COUMARINE ET SES DERIVES

B - PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES

C - PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES HUMAINES D'UNE SPECIALITE : ESBERIVEN FORT®

D - CONCLUSION

Des travaux déjà anciens ont montré que le mélilot présente un grand nombre de propriétés dues principalement à la présence de coumarine et de flavonoïdes.

Les principales activités du mélilot portent sur des effets anti-œdémateux, anti-inflammatoires et antispasmodiques. il exerce également des actions sédatives, veinotoniques, diurétiques, antiseptiques et antalgiques.

A. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DE LA COUMARINE ET SES DERIVES

Différents travaux effectués par de nombreux chercheurs ont révélé que la coumarine possède des actions physiologiques variées et souvent remarquables.

1. ACTION ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANTI-ŒDEMATEUSE

* FOLDI et ZOLTAN (1965) ont étudié l'effet de la coumarine en provoquant une thrombophlébite expérimentale chez le chien. Ils ont induit une thrombophlébite dans les pattes d'un chien en utilisant de l'essence de térébenthine injectée dans le collecteur lymphatique, le long de la veine saphène. Cette pathologie présente des caractéristiques très proches de celles observées chez l'humain. Une grande amélioration de l'état est produit par un mélange de benzopyrones : coumarine et sulfate sodique de rutine avec les doses respectives : 4 et 25 mg/j (la voie d'administration n'est pas précisée). La coumarine seule provoque également un grand retard dans la formation de l'œdème et accélère sa régression [63].

Ces mêmes auteurs ont confirmé, en 1970 lors de travaux, la potentialisation des effets bénéfiques sur la thrombophlébite expérimentale par une administration simultanée de coumarine et de rutine [64].

* FOLDI, BÖRCSÖk et BEDALL (1971) ont fait l'étude de l'action de la coumarine de *Melilotus officinalis* sur des arthrites et des œdèmes expérimentaux chez les rats [65].

Par différentes méthodes analytiques, il a été démontré que la coumarine exerce une activité anti-inflammatoire et anti-œdémateuse dose dépendante :

- activité anti-inflammatoire avec 50 mg/kg de coumarine en intrapéritonéal,
- activité anti-œdémateuse à partir de 12,5 mg/kg de coumarine avec la même voie d'administration.

Il a aussi été mis en évidence que cet effet anti-œdémateux est comparable à celui de l'acide flufénamique. Et de meilleurs résultats sont obtenus en combinant l'action de la coumarine et de l'acide flufénamique.

* BOLTON et CASLEY-SMITH (1975), en opérant à partir de macrophages péritonéaux de souris, ont évalué la protéolyse des macrophages (cellules spécialisées dans la digestion des protéines) avant et après addition de coumarine [66].

Le macrophage, en dégradant les protéines de haut poids moléculaire, permet leur élimination sous forme de polypeptides et d'acides aminés par le système veineux. La pression oncotique interstitielle, fonction de la concentration en protéines et de leur poids moléculaire, se trouve donc réduite et l'eau est libérée et éliminée plus facilement. De ce fait, ces cellules jouent un rôle prépondérant dans la régulation de la circulation des protéines.

Lorsque des macrophages sont mis en culture avec un liquide d'œdème riche en protéines, le calcul, par unité de temps, de la quantité d'acides aminés, telle la glycine, formée, témoin de l'action protéolytique des macrophages, montre que la protéolyse normale simulée est estimée à $3,7 \times 10^{-10}$ mmoles de glycine par macrophage par 24 heures. L'addition de coumarine dans le milieu de culture porte cette valeur à $8,1 \times 10^{-10}$ mmoles de glycine par macrophage par 24 heures. Les résultats indiquent que la coumarine agit sur l'œdème en augmentant la lyse des protéines par les macrophages dans le liquide œdémateux. Ceci a été confirmé

en constatant l'inefficacité de la coumarine à faire disparaître un œdème chez des animaux ayant reçu de la silice, produit inactivant les macrophages [67]. Ainsi, la coumarine est capable d'activer les macrophages ; mais l'on ne sait pas le mode d'activation exact. De plus, la coumarine semble "rajeunir" de vieilles cellules phagocytaires et provoque une augmentation du nombre de ces cellules.

* SZABO et MAGYAR (1977) ont démontré que la constriction de la veine cave inférieure au-dessus du foie, chez le chien, provoquait une ascite riche en protéines (3,9 g/dl). Le traitement des animaux avec la coumarine (0,6 mg/kg/j, voie d'administration non précisée) réduit les ascites en moyenne de 30%. Le traitement provoque également une réduction statistiquement significative dans la concentration des protéines (3,6 g/dl). Les auteurs ont considéré que cette preuve indirecte indiquait une protéolyse accrue [68].

* CASLEY-SMITH, VINCENT et PILLER ont étudié une obstruction semi-complète ou partielle avec ou non obstruction lymphatique, sur les pattes des rats. Les résultats de l'occlusion complète des veines iliaques primitives ont été une augmentation de la teneur en protéines dans la paroi du vaisseau et dans le tissu interstitiel du muscle et de la peau. Une obstruction partielle des veines n'a pas provoqué cet accroissement de la concentration en protéines. Dans l'un ou l'autre cas, si les canaux lymphatiques sont aussi obstrués, les concentrations de protéines se sont accrues en eux et dans les tissus. Dans tous les cas, un traitement avec la coumarine à la dose de 25 mg/kg/j a beaucoup réduit les concentrations de protéines ainsi que l'œdème dans les tissus interstitiels et les lymphatiques [69].

* CASLEY-SMITH et GAFFNEY (1981) ont confirmé l'effet de la coumarine (25 mg/kg/j en intrapéritonéale) après injection sous-cutanée de plasma à des rats. Les altérations caractéristiques d'une réaction inflammatoire chronique ont disparu lors de cette étude. La concentration de protéines dans le tissu interstitiel et l'œdème qui en résulte ont été grandement réduits. Et le nombre de macrophages a beaucoup augmenté [70].

Toutes ces études tendent à prouver que la coumarine a des propriétés anti-inflammatoire et anti-œdémateuse.

2. ACTION CARDIO-VASCULAIRE

2.1. Effet de la coumarine sur le cœur

En 1960, KOVACH et ses collaborateurs ont examiné l'activité de la coumarine cristallisée en solution à 0,03% sur le système cardio-vasculaire du chien : sur la pression artérielle et sur l'irrigation sanguine de la tête, de la région coronarienne et des pattes postérieures [71].

Ils ont constaté que la tension artérielle n'était pas influencée par l'administration intraveineuse de cette substance à diverses doses (en ml/kg) et que les débits sanguins carotidiens, coronariens et de la patte postérieure augmentaient, avec diminution des résistances périphériques. Ils ont noté une vasodilatation, surtout au niveau fémoral.

Ils ont également étudié l'effet de la coumarine sur l'irrigation sanguine des organes. Le débit sanguin dans les capillaires du cortex, du myocarde, des muscles striés, des reins et du foie a augmenté significativement. Pour prouver que la coumarine augmente nettement le débit sanguin du myocarde, KOVACH a observé l'effet de la coumarine sur l'ischémie myocardique expérimentale provoquée chez le chien par clampage d'une artère coronaire. Les doses de 5 mg/kg de coumarine en intraveineuse ont augmenté considérablement et durablement le débit sanguin du myocarde. La pression du sang n'a pas changé.

Cette action peut donc être expliquée par des propriétés vasodilatatrices de la coumarine.

En 1970, KOVACH et ses collaborateurs ont fait une étude chez un chien narcosé par chloralose (100 mg/kg) pour constater l'effet de la coumarine sur l'hémodynamique [72].

Les résultats donnent une augmentation de la pression systolique artérielle qui laisse supposer un effet ionotrope positif. La quantité de sang (en l/min) au niveau du cœur, de la tête, des extrémités antérieures et de la région abdominale a augmenté alors que la pression diastolique artérielle, la pression veineuse centrale, la fréquence de la respiration, la circulation au niveau des membres postérieurs et du petit bassin sont à peine modifiées.

Ces études montrent que la coumarine présente une action marquée sur le cœur et la circulation. Cette substance augmente l'irrigation capillaire des organes tels le myocarde et les muscles striés. Elle est capable d'améliorer l'irrigation des organes par un effet vasodilatateur.

2.2. Effet sur la perméabilité capillaire

SHIMOMURA et ses collaborateurs ont démontré en 1965 que l'extrait de mélilot agit comme protecteur vasculaire en s'opposant à l'augmentation de la perméabilité capillaire [73].

Cette action vasculoprotectrice a été mise en évidence, chez le lapin, après injection intradermique de formol ou de propylène glycol.

L'augmentation de perméabilité capillaire induite est démontrée de façon objective chez le lapin, par l'étude de la diffusion du bleu Evans à travers la barrière capillaire, provoquant un halo bleuâtre au niveau des zones cutanées ayant reçu la substance agressive.

L'administration d'extrait de mélilot diminue de 52% la surface de diffusion de cette coloration. Ceci traduit une action inhibitrice sur l'augmentation de perméabilité capillaire provoquée par des substances agressives telles que le formol ou le propylène glycol.

Dans le but de confirmer et de quantifier l'action capillaro-protectrice du mélange coumarine-rutine, LAEMMEL et ses collaborateurs ont étudié *in vivo* sur le muscle crémaster de souris, l'action de cette association sur l'hyperperméabilité capillaire induite par un choc à l'histamine [74].

Ce modèle expérimental récent consiste à injecter par voie intravasculaire une macromolécule couplée à une molécule fluorescente dont on peut observer l'extravasation transcapillaire en vidéomicroscopie de fluorescence, et à compter visuellement les points de fuite vasculaire de ce traceur fluorescent (le Dextran).

L'histamine, en ouvrant les jonctions inter-endothéliales, est un agent hyperperméabilisant très puissant [75]. Elle est donc devenue une molécule de référence dans les études de perméabilité [76].

Ces travaux ont été réalisés sur deux groupes de souris recevant respectivement en injection intrapéritonéale du sérum physiologique et/ou le mélange coumarine-rutine.

Lors de la première étape du protocole, avant la mise en contact avec l'histamine, aucun point précis d'extravasation de la fluorescence capillaire n'a été observé. Lors de la mise en contact de la préparation avec l'histamine, il apparaît des points de fuite de fluorescence le long de l'arbre veinulaire correspondant à l'ouverture des jonctions intercellulaires. L'évolution des variations de fluorescence est significativement différente dans le groupe coumarine-rutine par rapport au groupe placebo. En effet, l'augmentation de l'extravasation de fluorescence est fortement réduite par l'association coumarine-rutine. Cette association exerce donc un effet protecteur important contre l'augmentation de la perméabilité capillaire provoquée par l'histamine. Ceci confirme les résultats de

l'étude précédente réalisée avec le bleu Evans. Mais en comparaison, ce modèle d'expérimentation a un avantage, il permet d'obtenir des images de grande qualité accessibles à l'analyse d'images. De plus, l'absence de système lymphatique dans le muscle crémaster et le temps bref de l'étude permettent de limiter l'action de la coumarine sur la stimulation de l'activité protéolytique des macrophages.

Ainsi, ce protocole permet d'étudier l'action spécifique de l'association coumarine-rutine sur le segment capillaro-veinulaire et de confirmer pleinement les propriétés vasculoprotectrices de cette association.

2.3. Effet sur le système lymphatique

2.3.1.Augmentation du débit lymphatique

L'action lymphokinétique est une propriété originale de l'extrait de mélilot. L'augmentation du débit lymphatique a été mise en évidence chez l'animal en 1962 par FOLDI, VARGA et ZOLTAN [77]. L'expérience consiste à mesurer l'écoulement de la lymphe, prélevée à intervalles réguliers chez un chien muni d'une canule thoracique. L'injection intraveineuse d'une préparation de coumarine-rutine à des doses croissantes induit une augmentation moyenne de 177% du débit du canal thoracique. Le flux lymphatique maximal s'élève à 263% par rapport au débit de base du courant lymphatique. On peut se demander lequel de ces deux éléments (coumarine ou rutine) a cet effet circulatoire sur la lymphe. Lorsque la rutine, à des doses équivalentes à celles de l'expérience précédente, est injectée seule, le flux lymphatique maximal s'élève à 140%. Les deux molécules ont donc une action synergique.

Au cours d'une autre étude, FOLDI et ZOLTAN, ont démontré que l'association coumarine-rutine administrée par voie intraveineuse, chez le chien

muni d'une canule thoracique, lève le spasme du canal thoracique provoqué par la noradrénaline ou par l'hypertensine et induit une dilatation des voies lymphatiques [78].

2.3.2.Stimulation du pompage lymphatique

MISLIN a étudié *in vitro* l'action, d'une part d'une préparation de coumarine-rutine (3 mg : 50 mg/2 ml) à des concentrations échelonnées de 10^{-6} à 10^{-12} mg/ml et d'autre part, de la coumarine seule, à des concentrations de 10^{-8} à 10^{-10} mg/ml sur des unités lymphatiques isolées ou lymphangions de cobaye en milieu de survie [79].

La coumarine-rutine et la coumarine seule exercent un triple effet myotrope sur le lymphangion :

- augmentation de la fréquence des contractions : effet chronotrope positif
- augmentation de la force de contractions : effet ionotrope positif
- diminution du seuil d'excitabilité : effet bathmotrope positif.

La coumarine-rutine augmente le tonus des vaisseaux lymphatiques et exerce une action régulatrice sur le rythme au niveau des vaisseaux hypotoniques arythmiques.

L'augmentation et la régularisation de la fonction motrice des lymphangions induites sont responsables de l'accroissement du pompage lymphatique tissulaire et de la progression de la lymphe.

2.3.3.Influence sur les cycles ouverture-fermeture des valves lymphatiques

Une étude très récente (1997) a fait appel aux techniques de microscopie intravitale dans le but d'explorer *in vivo* les lymphatiques collecteurs et d'évaluer les effets lymphokinétiques de la coumarine [80]. Cette technique de microscopie intravitale permet d'observer *in situ* les lymphatiques collecteurs du mésentère de rats. Sur des animaux anesthésiés, une petite chirurgie est pratiquée pour exposer des tissus sous l'objectif d'un microscope en respectant leurs liens vasculaires avec le reste de l'organisme. Par l'intermédiaire d'une caméra vidéo haute définition et haute sensibilité équipant le microscope, toutes les expérimentations sont enregistrées sur bandes vidéo. Ce travail porte sur l'observation des mouvements des lymphatiques collecteurs. Ces lymphatiques font directement suite aux lymphatiques initiaux qui drainent la lymphe au niveau des tissus. Leur rôle est double, ils doivent véhiculer mais également pomper la lymphe pour la ramener vers la circulation générale. Le lymphangion constitue l'unité fonctionnelle du lymphatique collecteur. D'autres structures aisément observables sont les valves lymphatiques. Ces valves sont des éléments caractéristiques et essentiels des lymphatiques. Leur structure fine permet la circulation de la lymphe même avec des différentiels de pression très faibles, elles sont donc particulièrement sensibles aux mouvements liquidiens. L'observation d'une activité valvulaire semble donc importante puisqu'elle signe un déplacement de la lymphe dans les vaisseaux donc une activité réelle. Ainsi préparée, on a pu mesurer la fréquence d'ouverture-fermeture des valves ainsi que la fréquence et l'amplitude des contractions lymphatiques.

Afin d'activer le système lymphatique un œdème contrôlé, maintenant une hémodynamique normale, a été provoqué.

Protocole :

Les rats ont été répartis en 4 groupes, tous les animaux recevant des injections intraveineuses de volume identique :

- groupe témoin (sérum physiologique),
- groupe coumarine-rutine : traité par l'association coumarine (1,5 mg/kg) et la rutine (75 mg/kg)
- groupe coumarine : traité par la coumarine (1,5 mg/kg)
- groupe rutine : traité par la rutine (75 mg/kg)

Un premier enregistrement est effectué à l'état basal (t_0) et la fréquence de battements des valves lymphatiques est comprise entre 6 et 11 mouvements par minute.

Puis l'évolution de la fréquence est analysée 5, 10 et 15 minutes après injection du produit ou du placebo.

Résultats sur l'évolution des valves lymphatiques :

L'association coumarine-rutine accélère de 50% à t_{10} le fonctionnement des valves.

L'étude de la coumarine d'une part, et celle de la rutine d'autre part, permettent d'observer également un effet sur l'activité valvulaire qui augmente respectivement de + 47% et + 16% à t_{10}.

Ces résultats montrent que les 2 principes actifs participent à l'augmentation du transport liquidien. Plus la fréquence d'ouverture et de fermeture des valves est élevée, plus le travail lymphatique est grand. Ce paramètre intègre la capacité des lymphatiques collecteurs à fournir un travail mais aussi la capacité des lymphatiques initiaux à collecter la lymphe dans les tissus.

Résultats sur le fonctionnement des lymphatiques :

La mesure des contractions des lymphatiques est une mesure locale qui étudie les contractions d'une unité fonctionnelle, le lymphangion. En revanche, l'ouverture-fermeture des valves intègre les pulsations efficaces de l'ensemble du système. Il apparaît donc que le rapport fréquence de battements des valves / fréquence de contractions des lymphatiques reflète la notion de contractions efficaces (FV / FL). Sur ce paramètre (FV / FL), un effet significatif du traitement est observé. La coumarine, à la dose de 1,5 mg/kg, induit une augmentation de l'index FV / FL comparable à celle obtenue avec l'association coumarine-rutine mais cet effet semble plus court dans le temps que celui de l'association. En effet, à t_{15}, une diminution du rapport FV / FL est observée dans le groupe coumarine. La rutine fait également évoluer cet index mais cet effet est retardé puisqu'il ne s'observe pas avant t_{15}.

Ces observations indiquent que la coumarine induit une augmentation de l'efficacité des contractions lymphatiques.

L'ensemble de ces résultats traduit une mobilisation accrue de la lymphe sous l'effet de la coumarine. La rutine a un effet moindre sur l'ensemble des paramètres. Toutefois, il est possible que son action soit plus lente à s'instaurer. Mais dans la phase précoce, l'effet sur l'activité lymphatique semble imputable à la coumarine.

3. ACTION SUR LA COAGULATION SANGUINE

SHIMAMOTO et TAKAORI (1969) ont étudié sur des souris de 15 g l'influence de l'injection de la coumarine sur les temps de saignement, de

coagulation et de prothrombine [81]. La dose de coumarine est de 1 mg/kg injectée en intrapéritonéale.

Les mesures des facteurs de la coagulation du sang sont réalisées 1 heure et 24 heures après l'injection. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

Traitement	Temps de saignement en minutes		Début de coagulation en minutes		Fin de coagulation en minutes		Temps de prothrombine en secondes	
	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
Témoins	3,1	-	3,2	-	11,6	-	11,5	-
Coumarine	3,8	3,5	4,1	6,4	15,9	13,0	11,9	9,5

La coumarine entraîne surtout un retard dans le début et la fin de la coagulation sans changement significatif des temps de saignement et de prothrombine.

Ainsi l'effet de la coumarine sur la coagulation sanguine n'est pas comparable à celui du dicoumarol. Ce dernier, inducteur d'une déficience en vitamine K, a une activité anticoagulante et donc présente une toxicité à haute dose parfois observée chez le bétail.

4. ACTION SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL

4.1. Effet antagoniste de substances dépressives

En 1970, FOLDI et ZOLTAN ont constaté expérimentalement que la coumarine réduisait l'effet dépresseur sur le système nerveux central de substances comme la chlorpromazine [82] et l'isoniazide [83] aux doses de 10 mg/kg en sous-cutanée pour la chlorpromazine et de 250 mg/kg en intrapéritonéale pour l'isoniazide.

En effet, l'administration de chlorpromazine ou d'isoniazide à un dosage non convulsivant entraîne une détérioration marquée des réflexes conditionnés chez la souris. Cet effet est antagonisé par la coumarine.

4.2. Effet de la coumarine sur les encéphalopathies lymphogéniques

En 1970, les travaux de FOLDI et ZOLTAN ont prouvé qu'une encéphalopathie lymphostatique causée par un blocage de la lymphe cervicale ou par une thrombose d'un vaisseau lymphatique réduit la capacité d'apprentissage des rats [84].

De plus, il a été montré qu'une déficience en acide pantothénique (vitamine B5) et en pyridoxine (vitamine B6) réduit également l'activité des réflexes conditionnés, c'est-à-dire la capacité d'apprentissage et les gestes acquis. Il a été démontré une forte corrélation entre l'encéphalopathie lymphogénique et la déficience de ces vitamines.

Les effets des antivitamines peuvent être neutralisés lorsqu'elles sont administrées en combinaison avec les vitamines correspondantes.

Des examens précis ont mis en évidence la possibilité de la coumarine à neutraliser les effets spécifiques anti-acide pantothénique et anti-pyridoxine. Donc la coumarine agit sous ces conditions comme si elle appartenait au groupe des vitamines B [85].

Une étude confirme tous les résultats précédents. Il a pu être détecté une similarité entre les rats normaux traités avec un tranquillisant et des rats souffrant d'une encéphalopathie lymphostatique expérimentale. Dans les deux cas, la coumarine a eu un effet thérapeutique marqué : elle a ramené l'activité des réflexes non conditionnés à la normale [86].

Ainsi, la coumarine se présente bien comme un antagoniste de substances dépressives et elle constitue un traitement favorable aux symptômes de l'encéphalopathie lymphostatique. Une hypothèse a été avancée, considérant la coumarine comme une substance appartenant plus ou moins à la famille des vitamines [87].

4.3. Effet antagoniste de la diminution de la motilité spontanée due au blocage lymphatique

SONKODI a étudié la motilité spontanée des rats due au blocage lymphatique cervical, dans une cage en vibrations. Le blocage provoque une forte diminution de la motilité des rats. Le traitement avec la coumarine à raison de 100 mg/kg /jour en intramusculaire réduit l'influence de ce blocage de moitié. En conclusion, la coumarine exerce un effet protecteur sur la réduction de la motilité suite au blocage lymphatique cervical [88].

4.4. Effet anticonvulsivant

ZOLTAN et FOLDI ont étudié l'effet de la coumarine sur la tendance aux convulsions du système nerveux central des rats et des cobayes [89]. 100 mg/kg de métrazol en sous-cutanée ont entraîné des convulsions chez tous les animaux du groupe témoin que ce soit des rats ou des cobayes. L'expérience suivante est effectuée chez des rats. L'injection de 100 mg/kg de pentétrazol en sous-cutanée est suivie de l'administration de 100 mg/kg de coumarine (dans 6% de propylène glycol) en intramusculaire. Les convulsions sont inhibées chez 45% des animaux.

La conclusion de cette étude est que la coumarine antagonise l'effet convulsif du métrazol mais aussi celui de l'isoniazide (principe actif pour lequel des résultats équivalents ont été obtenus).

5. ACTION SUR LA GLYCEMIE

SHANI a étudié en 1974 l'effet de la coumarine sur des rats préalablement traités par le monohydrate d'alloxane [90].

5.1. Mode opératoire

Le monohydrate d'alloxane a été injecté aux rats en sous-cutanée à la dose de 22 mg/100 g. Huit jours après, la glycémie des rats survivants a été mesurée par méthode enzymatique. Seuls les rats présentant une glycémie de 200 à 500 mg/100 g furent utilisés pour le test avec la coumarine. Il leur a été administré de la coumarine dans 1% de carboxyméthylcellulose (voie non précisée).

Des prises de sang ont été effectuées avant qu'ils soient traités et 5 à 24 heures après l'administration.

5.2. Résultats

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

	Temps en heures	Dose chez les rats diabétiques		Dose chez les rats normoglycémiques	
Coumarine		250 mg/kg	1 g/kg	250 mg/kg	1 g/kg
	0	422 ± 11	348 ± 11	89,2 ± 1,8	74,2 ± 1,2
	5	238 ± 22	235 ± 16	88,4 ± 4,3	71,1 ± 3,1
	24	259 ± 24	216 ± 26	69,9 ± 5,6	59,6 ± 3,9

D'après ce tableau, la coumarine présenterait un effet hypoglycémiant manifeste. Il faut savoir que cette expérience a également mis en évidence la toxicité de la coumarine. En effet, la dose de 1 g/kg a tué 47% des rats diabétiques et 30% des rats non diabétiques, dans la limite des 5 heures après l'administration.

6. ACTION ANTIPYRETIQUE

En 1982, RITSCHEL a montré que la coumarine diminue l'excès de température dès les 30 premières minutes. L'élévation de température a été provoquée par l'administration d'endotoxine [91].

L'action antipyrétique est étudiée chez les lapins que l'on a répartis en différents groupes.

groupe 1 : groupe témoin

groupe 2 : reçoit une dose en intraveineuse de coumarine telle que la concentration sanguine d'équilibre soit de 0,06 µg/ml

groupe 3 : reçoit 0,125 mg/kg d'endotoxine en intraveineuse

groupe 4 : reçoit après apport de 0,125 mg/kg d'endotoxine en intraveineuse une dose de coumarine telle que la concentration d'équilibre soit ici aussi de 0,06 µg/ml.

Les résultats indiquent que la coumarine diminue significativement l'hyperthermie quand il y a eu administration d'endotoxine et ce d'un bout à l'autre de l'expérience. La coumarine injectée seule ne présente pas d'effet hypothermisant corporel en conditions normales. Mais elle diminue l'excès de température dans des conditions fébriles en ramenant les valeurs de température en dessous du seuil de base.

L'auteur conclue que la coumarine réduit l'élévation de température mais elle ne fait pas baisser la température normale du corps. Elle exerce un effet identique à celui de l'aspirine [92].

7. ACTION ANTIBACTERIENNE

Alors que la coumarine a une faible activité antibactérienne, certains de ses dérivés possèdent cette action à des degrés variés. Le dicoumarol présente une activité favorable contre certains micro-organismes : *Bacillus anthracis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus albus, Streptococcus pyogens* et *Pasteurella avicida* [93] [94].

8. ACTION ANTHELMINTIQUE

D'après ITO et KITAGAWA (1953), la coumarine, la 2-thiocoumarine et la 4-méthylcoumarine auraient une faible action anthelmintique. Selon eux, les composés les plus actifs sont ceux dont le point de fusion est compris entre 70 et 100°C, ceux ayant un point de fusion supérieur à 100°C sont inactifs [95].

NAKABAYASHI et ses collaborateurs, en travaillant sur *Ascaris suilla*, ont montré que les dérivés hydroxyméthyl et méthoxy de la coumarine possèdent une activité importante. Les 7- et 3-méthylcoumarines sont particulièrement efficaces [96].

En 1981, des tests *in vitro* ont montré que la coumarine possède une action inhibitrice sur le développement de micro-organismes phytopathogènes : *Helminthosporium sativum, Colletotrichtum falcatum* et *Fusarium oxysporum*. L'effet est fongistatique pour des concentrations de 3,4 à 13,6 mmoles [97].

9. ACTION TROPHIQUE

Son action trophique a été mise en évidence en 1960 par les travaux de PABST et KLEMM sur la peau de l'oreille de lapin. L'injection journalière en intramusculaire d'1 cm^3 d'extrait de mélilot provoquait au bout de 8 jours un taux de revascularisation de 50%. Chez le témoin, il était de 10%. Ceci démontre une authentique stimulation du processus de base de la réparation tissulaire. Et cette régénération rapide de régions lésées a un effet favorable sur la cicatrisation [98].

CONCLUSION

De nombreux travaux ont été conduits pour étudier l'action de la coumarine du mélilot. Elle se révèle avoir une activité anti-inflammatoire et anti-œdémateuse, un effet cardiotonique, des propriétés veinotoniques et un effet sédatif marqué.

Il est sûr que la coumarine allonge le temps de coagulation mais son effet n'est pas fondé sur le ralentissement de la formation de prothrombine.

Par ailleurs, l'extrait de mélilot accélère la régénération de l'épiderme au niveau des plaies, d'où son emploi pour la cicatrisation.

La coumarine présente également des propriétés antipyrétiques et hypoglycémiantes non négligeables. Par contre, son activité antibactérienne est faible.

B. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES

Il n'existe aucune étude pharmacologique sur les flavonoïdes du mélilot officinal. Les propriétés qui vont être évoquées ici résultent des travaux réalisés à partir des flavonoïdes du mélilot blanc, *Melilotus alba*. Mais étant donné que ces deux espèces sont proches botaniquement et chimiquement (les mêmes

flavonoïdes se retrouvent dans les deux espèces) il nous semble intéressant de les citer.

Ces travaux ont été réalisés à partir du *totum* flavonique du mélilot blanc. L'expérimentation montre que ces flavonoïdes ont :

- une action antispasmodique

En 1971, TORCK et ses collaborateurs ont mis en évidence sur l'intestin isolé de cobaye que les flavonoïdes sont souvent doués de propriétés spasmolytiques [44] [45]. Les aglycones sont plus actifs que les hétérosides.

L'expérimentation est faite sur un fragment d'iléon de cobaye maintenu en survie dans une solution de tyrode oxygénée à 38°C. On teste l'action à l'égard du chlorure de baryum, de l'acétylcholine et de l'histamine (c'est-à-dire l'action musculotrope, neurotrope et antihistaminique respectivement).

En conclusion, on peut affirmer que les flavonoïdes du mélilot blanc se montrent spasmolytiques. Leur effet est de nature neurotrope et surtout antihistaminique.

- Une action sur la cholérèse

En 1971, les mêmes chercheurs ont étudié l'action des dérivés flavoniques sur la cholérèse en utilisant des rats mâles pesant environ 320 g, anesthésiés et maintenus à la température rectale de 38°C [45]. Par introduction d'un cathéter dans le cholédoque, on recueille des échantillons de bile. Les flavonoïdes sont injectés par voie intraveineuse dans un solvant. Un essai a lieu parallèlement sur des rats témoins. On s'intéresse au volume de bile excrétée afin de déterminer la variation de la cholérèse. On constate que le *totum* flavonique du mélilot blanc provoque, dès l'administration de 25 mg/kg, une diminution très nette de la cholérèse. Cette diminution disparaît peu à peu.

Ainsi, dans les conditions de l'essai, on peut voir une diminution notable de la cholérèse avec la préparation flavonique.

- Action sur la pression artérielle

Une expérience a été effectuée sur des rats anesthésiés. Une carotide est isolée dans laquelle on introduit un cathéter. La pression artérielle est déterminée, soit par un manomètre à mercure, soit par un capteur de pression ; elle est transmise à un ensemble inscripteur. L'amplitude et la fréquence respiratoires sont enregistrées simultanément. Les flavonoïdes sont administrés dans une veine jugulaire.

Résultats :

Le solvant se montre sans action sur la tension artérielle aux doses utilisées.

Avec le *totum* flavonique du mélilot blanc, l'administration de 50 ou 100 mg/kg détermine une hypotension de 51% sans variation respiratoire.

On peut conclure que le *totum* flavonique du mélilot blanc est hypotenseur.

Plus récemment, on a constaté une action hypotensive pour des flavonoïdes comme le kaempférol [99].

- Action sur la perméabilité capillaire

La diminution de la perméabilité capillaire est un des effets les plus importants et les plus caractéristiques qu'on puisse attribuer à un flavonoïde. Une expérience a été réalisée sur des lapins de 2 à 3 kg, rasés sur le ventre 48 heures avant le début de l'essai.

La solution flavonique provenant du mélilot blanc est injectée dans une veine de l'oreille, puis, on injecte une solution de bleu trypan. Vingt minutes après, on applique sur la peau rasée un coton imbibé de chloroforme et on note le temps qui

s'écoule entre la fin de l'attouchement et l'apparition de la couleur bleue dans la zone irritée.

Or le temps d'apparition de la coloration bleue est presque identique à celui obtenu avec le témoin. L'essai est donc négatif. Il n'y a pas d'action sur la perméabilité capillaire, malgré la nature flavonique, du moins au niveau de cette expérience.

- Action diurétique

Elle se rencontre pour certains flavonoïdes dont le kaempférol. Le potentiel de cette activité augmente avec le nombre de groupements hydroxyles. Ainsi on peut l'utiliser pour faciliter l'élimination rénale d'eau [100].

Comme il a été annoncé au début, tous les essais cités précédemment ont été effectués à partir d'un *totum* de flavonoïdes de *Melilotus alba.* Il est donc difficile d'extrapoler ces résultats au *Melilotus officinalis* . En effet, un *totum* peut contenir des substances autres que les flavonoïdes qui ne sont pas forcément semblables dans les deux mélilots et les proportions relatives des différents flavonoïdes ne sont pas non plus toujours équivalentes.

C. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES HUMAINES D'UNE SPECIALITE ESBERIVEN FORT®

L'ensemble des propriétés pharmacologiques d'**ESBERIVEN FORT®** (voir formule page 118) est confirmé par différents modèles expérimentaux de pharmacologie clinique suivants :

1. ACTION SUR LA VEINE

1.1. Amélioration du retour veineux

Les actions pharmacodynamiques au niveau de la vascularisation périphérique sont démontrées par une étude de BOILLOT [101].

Le but de l'étude était de démontrer les effets du mélange extrait de mélilot-rutine sur le retour veineux des membres inférieurs, par artériographie. BOILLOT a mesuré, chez 50 patients non anesthésiés, le temps de retour veineux à la cheville et à la cuisse au cours d'artériographies pratiquées selon la méthode de Seldinger.

Chez 25 patients, une solution contenant un mélange coumarine-rutine (6 mg : 300 mg) a été injectée par voie intra-aortique, immédiatement avant le produit de contraste.

Les 25 patients, non traités, constituaient le groupe témoin.

Les résultats indiquent que le mélange coumarine-rutine diminue le temps de retour veineux. A la cuisse, le temps d'apparition du retour veineux est de 16 secondes après injection du principe actif *versus* 21 secondes en moyenne pour le groupe témoin, soit une augmentation de 24% de la vitesse de retour veineux. Au niveau du pied, l'accélération du retour veineux est de 12% par rapport au groupe témoin.

Tableau : délai d'apparition veineuse

	Groupe témoin	Groupe coumarine-rutine	
à la cuisse	21 secondes	16 secondes	+24%
au pied	40 secondes	35 secondes	+12%

Par ailleurs, l'amélioration de la qualité de l'opacification et l'augmentation du nombre d'opacifications veineuses après traitement (de 8,6% au niveau de la

cuisse et de 200% au niveau du pied) traduisent une augmentation du débit veineux.

Tableau : nombre d'opacifications veineuses

	Groupe témoin	Groupe coumarine-rutine	Augmentation après traitement
à la cuisse	46	50	+8,6%
au pied	8	24	+200%

Il apparaît donc qu'**ESBERIVEN FORT®** améliore le retour veineux par accélération du retour veineux et augmentation du débit veineux.

1.2. Augmentation du tonus veineux

L'activité veinotonique d'**ESBERIVEN FORT®** a été confirmée par une méthode objective d'évaluation pharmacoclinique : l'étude de l'hémodynamique musculaire des membres inférieurs appréciée grâce au Xénon 133 [102].

LANGUILLAT a réalisé une étude en double aveugle sur 20 sujets.

Les patients inclus présentaient une insuffisance veino-lymphatique des membres inférieurs sans incontinence valvulaire.

Ils ont reçu soit une solution contenant 4 mg de coumarine - 200 mg de rutine administrée sous forme d'une injection intraveineuse le jour de l'entrée dans l'étude puis, pendant les 4 semaines suivantes, sous forme d'ampoules buvables soit le placebo administré dans des conditions strictement identiques.

L'exploration fonctionnelle isotopique était effectuée avant traitement, 10 à 15 minutes après l'injection et après 4 semaines de traitement.

Les paramètres étudiés étaient le temps moyen d'élimination et le pourcentage d'élimination du Xénon 133.

Dans le groupe traité, les résultats mettent en évidence une diminution du temps d'élimination et également une augmentation significative du pourcentage d'élimination du Xénon 133 de 25% et plus par rapport aux valeurs initiales observées.

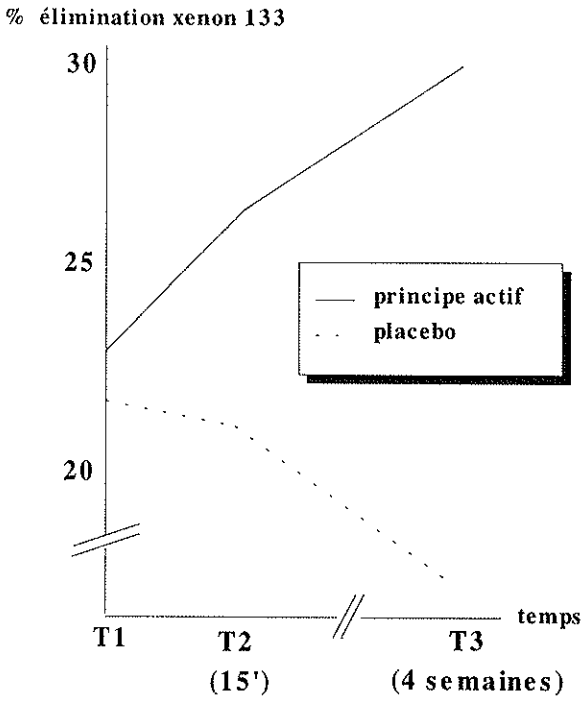


Figure 10 : Tests au Xénon 133 avant et après traitement (jambe gauche)

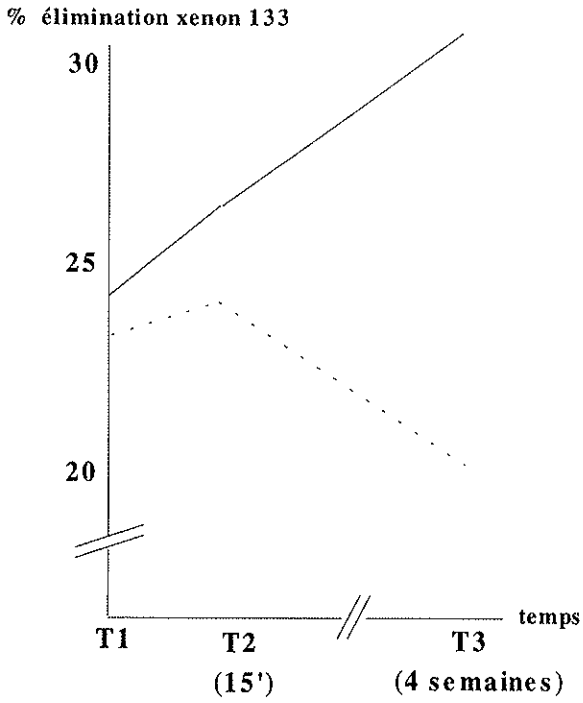


Figure 11 : Tests au Xénon 133 avant et après traitement (jambe droite)

Après 4 semaines de traitement, la vitesse et le pourcentage d'élimination du Xénon 133 sont augmentés significativement dans le groupe actif par rapport au groupe placebo. Le pourcentage et la vitesse d'élimination reflètent l'hémodynamique veineuse, le Xénon 133 étant uniquement éliminé par voie veineuse et non par voie lymphatique. L'amélioration de ces 2 paramètres traduit l'augmentation de la tonicité veineuse. Cette étude démontre les propriétés veinotoniques d'**ESBERIVEN FORT®**.

2. ACTION SUR LE CAPILLAIRE

Une étude de JOHNE, portant sur 24 sujets, a permis d'évaluer, d'après la méthode de Von Groer, l'effet antagoniste de la coumarine-rutine sur l'augmentation de perméabilité capillaire induite par l'histamine, médiateur chimique de l'inflammation [103]. La dimension de la papule histaminique et la surface de l'érythème d'accompagnement, induites par l'injection sous cutanée d'histamine ont été mesurées avant et après injection d'une solution contenant 1 mg de coumarine et 50 mg de rutine.

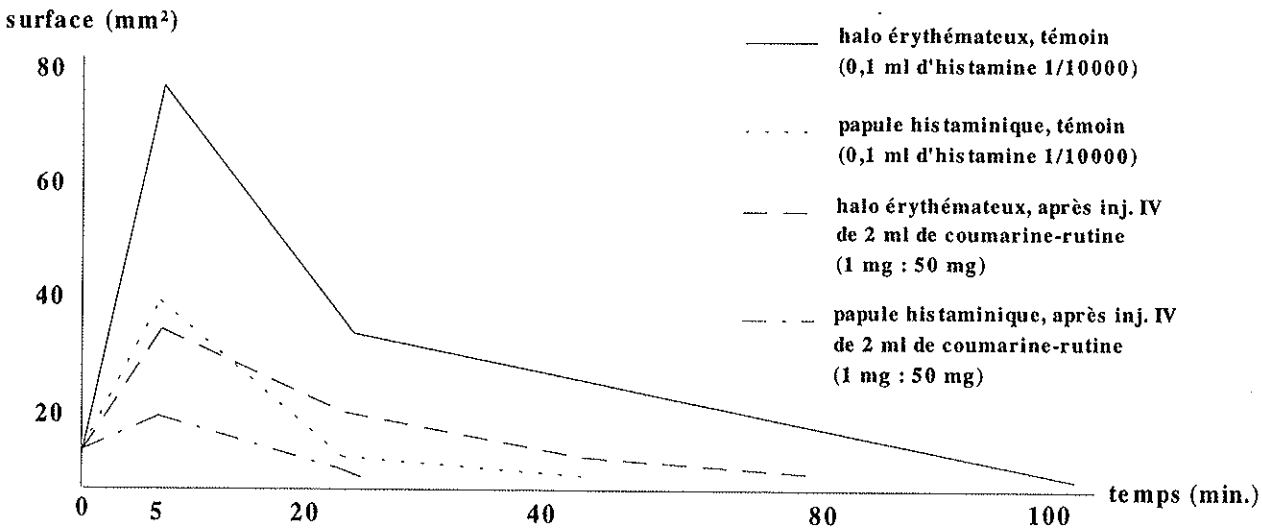


Figure 12 : Etude de la perméabilité vasculaire (résultats moyens obtenus chez 24 sujets)

La comparaison des résultats objective une réduction de plus de 50% de la papule histaminique et du halo érythémateux après injection du mélange coumarine-rutine. De plus, la régression des lésions est accélérée (30 à 40 minutes après traitement contre 80 à 100 minutes sans traitement). **ESBERIVEN FORT®** s'oppose à l'hyperémie par parésie vasculaire déclenchée par l'histamine et renforce la résistance capillaire, entraînant une diminution de la stase veineuse du sang dans le système capillaire périphérique. Par ce mécanisme, cette spécialité, non seulement s'oppose aux processus formateurs de l'œdème, mais également, permet la résorption de l'œdème interstitiel constitué.

3. ACTION SUR LE SYSTEME LYMPHATIQUE

L'activité lymphokinétique d'**ESBERIVEN FORT®**, c'est-à-dire l'augmentation de la lymphangio-motricité, a été confirmée en pharmacologie clinique par l'étude de BARTOS et BRZEK en 1970 [104].

Le but de l'essai était d'étudier l'activité de la coumarine-rutine en évaluant son action sur le débit lymphatique mesuré par cathétérisation du canal thoracique.

Chez les 10 patients recrutés pour cet essai, le canal thoracique était cathétérisé à titre de diagnostic. La lymphe s'écoulant du canal thoracique était constamment récupérée et mesurée toutes les 10 minutes, permettant ainsi le calcul du débit lymphatique (en ml/min).

Après une période de référence pendant laquelle le débit basal a été mesuré, 6 mg de coumarine et 100 mg de rutine étaient administrés par voie intraveineuse ; après le retour à la normale des valeurs mesurées, soit 40 minutes après l'injection intraveineuse, 15 mg de coumarine et 250 mg de rutine ont été administrés par perfusion pendant 1 heure.

Après injection intraveineuse aussi bien qu'après perfusion, le débit lymphatique augmente de façon significative, respectivement de 96 % et 68 % par rapport au débit basal. Dans le cas de la perfusion, l'action lymphokinétique est prolongée.

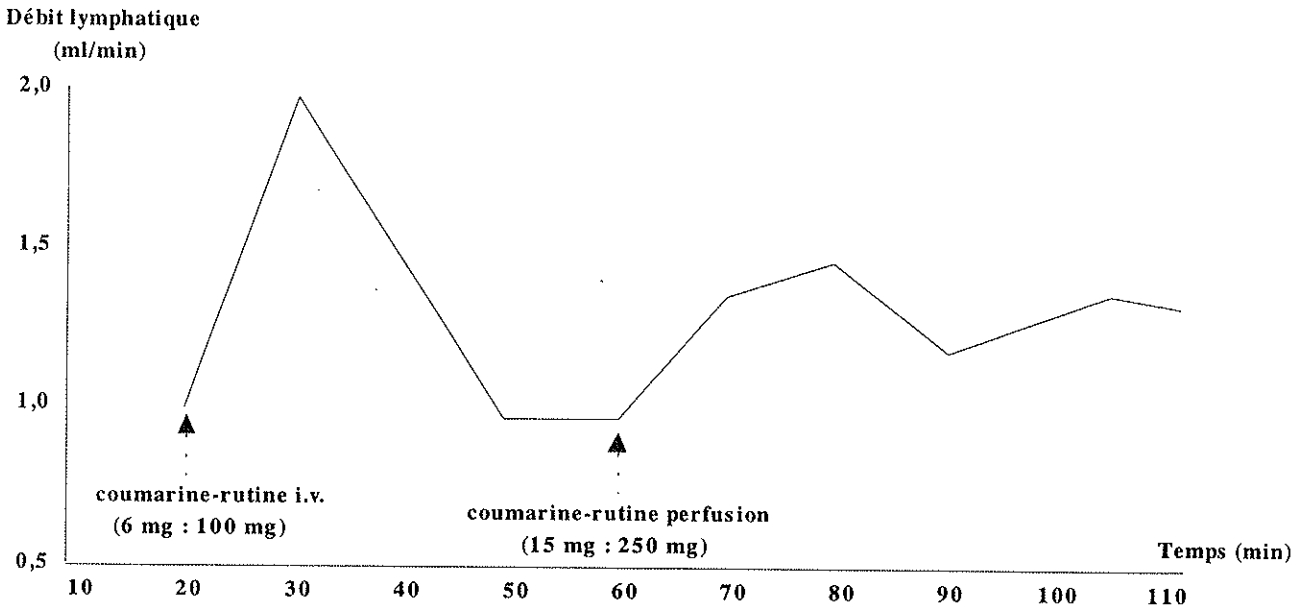


Figure 13 : Augmentation du débit lymphatique du canal thoracique chez l'homme après injection intraveineuse et après perfusion de coumarine-rutine (valeurs moyennes)

La pression centrale veineuse, la pression artérielle ainsi que la concentration en protéines du sérum n'étant pas modifiées, l'augmentation du débit lymphatique ne peut pas être imputée à une élévation générale de la filtration capillaire mais plutôt à une action du mélange coumarine-rutine sur la lymphangio-motricité.

Cette stimulation du système lymphatique par **ESBERIVEN FORT®** a été confirmée par une étude chez l'homme réalisée par PECKING et ses collaborateurs en 1984. Cet essai a été réalisé par une lymphographie isotopique qui est une technique d'imagerie médicale standardisée, utilisant un colloïde de Rhénium marqué [105]. Ce colloïde, injecté dans le tissu interstitiel, est dans un premier temps résorbé par le système macrophagique puis véhiculé dans les vaisseaux lymphatiques. L'étude de la disparition du colloïde radioactif, c'est-à-dire de sa demi-vie, et du temps de progression de la radioactivité entre deux capteurs, c'est-à-dire de la vitesse lymphatique, est un bon reflet de l'activité de l'association coumarine-rutine sur la résorption interstitielle et la vitesse de drainage lymphatique.

4. MECANISME D'ACTION

ESBERIVEN FORT® est une spécialité qui agit donc à tous les niveaux de l'insuffisance veineuse. Elle accélère et augmente le retour veineux : elle possède donc des propriétés veinotoniques.

Elle renforce la résistance capillaire et normalise l'hypertension capillaire, abaissant de ce fait la pression hydrostatique excessive : elle exerce une activité capillaro-protectrice.

Elle normalise la pression oncotique interstitielle, et par conséquent, elle réduit la rétention interstitielle de liquides et de déchets métaboliques dissous, facteur d'œdème.

Elle stimule le pompage lymphatique interstitiel et augmente le drainage lymphatique. Grâce à l'ensemble de ces propriétés, **ESBERIVEN FORT®** exerce une action globale sur l'insuffisance veino-lymphatique (voir schéma de synthèse page suivante).

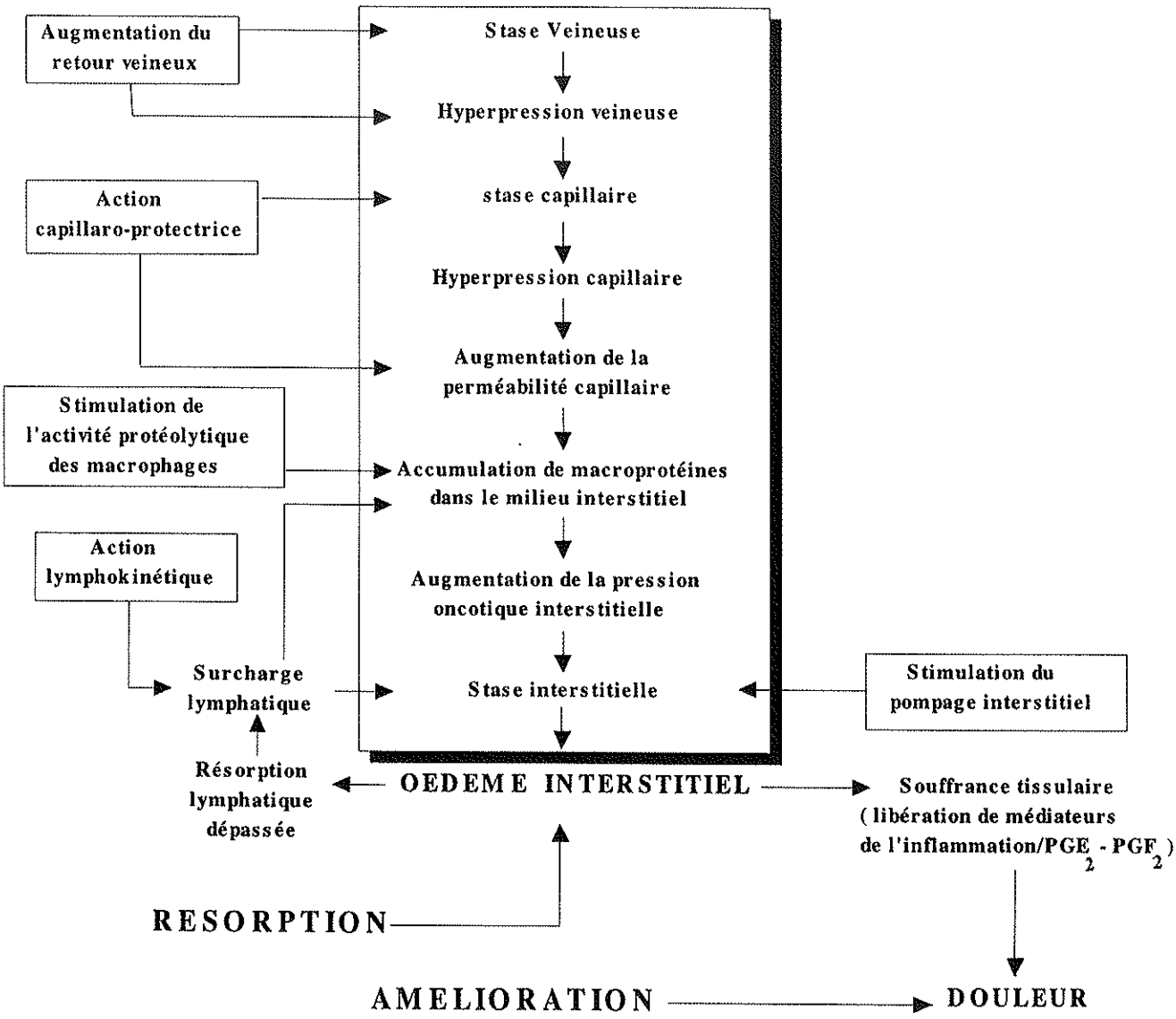


Schéma de synthèse : Mécanisme d'action d'**ESBERIVEN FORT®** à tous les niveaux de l'insuffisance veino-lymphatique

ESBERIVEN FORT® paraît avoir un intérêt thérapeutique semblable à celui des autres veinotoniques disponibles sur le marché français. La dose usuelle est d'1 comprimé ou 1 ampoule 2 fois par jour. La solution buvable est une solution alcoolique, ce qui doit en limiter l'emploi, en particulier chez les sujets atteints de troubles digestifs (gastriques), chez l'enfant et chez les femmes allaitant.

Les effets indésirables sont rares et mineurs et disparaissent à l'arrêt du traitement. Cette spécialité existe aussi sous forme de crème et a une action locale.

D. CONCLUSION

En dehors de la coumarine et des flavonoïdes, d'autres composés semblent intervenir dans les propriétés du mélilot.

C'est le cas des acides phénols simples, tels que l'acide caféique et les acides *ortho-* et *para*-coumariques qui engendrent des activités antibactériennes et antimycotiques. L'acide salicylique confère aussi des propriétés anti-inflammatoires. Tous ces acides peuvent être responsables des effets thérapeutiques du mélilot lorsqu'il est employé comme agent anti-inflammatoire et antiseptique. Il a également été démontré une action cholagogue de l'acide férulique qui peut être responsable de l'effet thérapeutique du mélilot lors de son utilisation dans les maladies du foie [42].

L'azukisaponine V est un saponoside qui présente une forte activité inhibitrice de la migration des leucocytes à une dose de 6 mg chez le rat [40].

En conséquence des notions précédentes, le mélilot présente un assez vaste éventail de propriétés pharmacologiques permettant à cette plante d'être utilisée en thérapeutique dans de nombreux domaines.

UTILISATIONS DU MELILOT

A - INDICATIONS THERAPEUTIQUES DU MELILOT

I - EN ALLOPATHIE

II - EN HOMEOPATHIE

III - CONCLUSION

B - AUTRES USAGES DU MELILOT

A. INDICATIONS THERAPEUTIQUES DU MELILOT

Le mélilot est un antispasmodique réputé, recommandé par Leclerc comme calmant et somnifère. L'introduction du mélilot dans la thérapeutique comme antispasmodique et aussi comme anesthésique dans les vertiges et les vomissements, est une des innovations de Galien, le père de la pharmacie dite galénique. On l'emploie dans les cas d'excitation nerveuse, de manque de sommeil chez les enfants et les vieillards, et comme sédatif des névralgies. Par ailleurs, le mélilot rend de bons services dans la toux quinteuse, les inflammations intestinales et stomacales et les digestions difficiles. On lui attribue également des vertus diurétique (le mélilot augmente le volume des urines, tout en les clarifiant) et antiseptique des voies urinaires [106]. Le mélilot est traditionnellement utilisé en phytothérapie dans les manifestations subjectives de l'insuffisance veineuse, dans la symptomatologie hémorroïdaire et dans le traitement symptomatique des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire cutanée. Il est employé aussi pour ses propriétés de "fluidifiant sanguin", en prévention des troubles de la coagulation et dans les séquelles de phlébites [48].

En usage externe, on le trouve sous forme de cataplasmes, de pommades, de lotions, de bains et de compresses. Le mélilot fournit un excellent collyre contre les ophtalmies inflammatoires, l'inflammation des paupières et la conjonctivite.

On en fait des applications sur les plaies indolentes et purulentes, et les points douloureux des rhumatismes [1].

Les homéopathes ont souvent recours à la "teinture" préparée avec les feuilles et les fleurs de mélilot contre les douleurs congestives de la tête, les migraines, les saignements de nez, les crachements de sang, les convulsions des enfants et autres.

I. EN ALLOPATHIE

L'allopathie, nom scientifique donné à la médecine classique, obéit, pour traiter les maladies, à la loi des contraires, centrant l'action thérapeutique sur l'obtention d'un effet contraire au symptôme présenté par le malade.

La phytothérapie fait partie intégrante de l'allopathie. C'est une thérapeutique qui consiste en l'utilisation des plantes médicinales fraîches ou desséchées ainsi que leurs extraits naturels. Lorsqu'un traitement par les plantes peut donner les mêmes résultats que celui par les molécules de synthèse, il est préférable de choisir les plantes. En effet, aux doses usuelles, les effets secondaires de ces dernières sont pour ainsi dire négligeables alors qu'avec les médicaments dits "chimiques", on observe plus souvent des réactions [107].

1. USAGE INTERNE

1.1. En cardiologie vasculaire

1.1.1.L'insuffisance veineuse

1.1.1.1.Physiopathologie de l'insuffisance veineuse

Le système veineux du membre inférieur est constitué de trois grands types d'éléments :

- le réseau superficiel qui comprend les veines saphènes internes et externes,
- le réseau profond,
- et le réseau des perforantes, unissant les systèmes superficiel et profond.

Toutes ces veines sont munies de valvules qui permettent le passage du sang de la superficie vers la profondeur. Une insuffisance de ces valvules crée une stase veineuse qui est à l'origine d'une augmentation de la pression hydrostatique induisant un passage d'eau et de substances dissoutes du secteur vasculaire vers le secteur interstitiel. De plus, cette hyperpression capillaire altère la paroi capillaire, ce qui accentue la fuite capillaire avec des molécules protéiques de plus en plus importantes. L'excès de protéines ainsi induit est un facteur de rétention hydrique et bloque la diffusion interstitiel et la résorption capillaire par encombrement macromoléculaire.

Dans un premier temps, l'homéostasie liquidienne et protéique est garantie :

- par l'intervention des macrophages : c'est une forme mature de monocytes sanguins qui ont migré des capillaires vers le tissu interstitiel. En dégradant les macroprotéines en molécules plus petites, résorbables par les capillaires sanguins, ces macrophages maintiennent la pression oncotique interstitielle à une valeur inférieure à celle du plasma et s'opposent à l'encombrement macromoléculaire à l'interstitium.

- par l'adaptation fonctionnelle compensatrice des lymphatiques qui drainent continuellement les macroprotéines interstitielles et, à la demande, l'excès liquidien lorsque la pression hydrostatique interstitielle s'élève.

Progressivement, la résorption lymphatique est dépassée par l'excès de filtration ; et le drainage protéique et liquidien devient insuffisant. Ces phénomènes sont responsables d'une surcharge interstitielle. L'interdépendance des réactions physiopathologiques est à l'origine d'un véritable "cercle vicieux".

A ce stade, le retentissement interstitiel de la maladie veino-lymphatique est à l'origine de l'accumulation au sein du milieu interstitiel de déchets non drainés du métabolisme cellulaire et entraîne des phénomènes inflammatoires qui engendrent une perception douloureuse (sensation de pesanteur, crampes, paresthésies, ...) [108].

1.1.1.2.La prise en charge des insuffisants veineux

L'insuffisance veineuse des membres inférieurs est une réalité clinique qui reconnaît 3 modes d'expression principaux :

- premièrement les manifestations fonctionnelles (lourdeurs de jambes, douleurs, pesanteur, œdèmes, fatigabilité, crampes nocturnes, ...) qui sont d'une grande banalité mais dont la pathogénie n'est sans doute pas univoque ; nier le caractère handicapant de ces troubles ne serait pas plus raisonnable que de considérer comme anecdotiques les maux de tête des migraineux. A ce titre, le "syndrome des jambes lourdes" est un trouble fonctionnel sans doute peu grave mais authentiquement gênant.

- deuxièmement les varices, dont la prévalence est élevée dans les pays industrialisés,

- et troisièmement les troubles trophiques avec leur forme la plus accomplie, l'ulcère veineux, dont la prévalence est estimée à 1 % de l'ensemble de la population, voire 4 à 5 % passé 80 ans [109].

L'importance de la pathologie veineuse est quelquefois sous-estimée et pourtant elle touche 1 femme sur 3 et 1 homme sur 4. C'est une maladie fréquente qui doit être prise en charge médicalement le plus tôt possible [110] [111].

Quatre étapes concourent à la prise en charge globale des insuffisants veineux :

1/ Il faut évaluer l'insuffisance veineuse.

L'intensité et la nature des troubles fonctionnels, la préoccupation esthétique ou la crainte d'une évolution à moyen ou long terme en cas d'antécédents familiaux d'insuffisance veineuse doivent être longuement évaluées.

L'examen clinique est généralement suffisant en cas de troubles purement fonctionnels. Le couplage d'un Doppler et d'une échographie sont utiles en cas de

varices car ils permettent de dresser une cartographie veineuse qui oriente les choix thérapeutiques.

2/ Il faut informer les patients.

Une information simple et vraie auprès des patients est le meilleur garant de l'observance des traitements. Il est nécessaire d'expliquer l'existence d'un système veineux superficiel qui est source de varices et d'un système veineux profond qui est à l'origine de phlébite.

3/ Il faut rassurer les patients.

Les traitements de l'insuffisance veineuse, quelle que soit sa traduction clinique, sont généralement efficaces, à la condition d'en accepter les contraintes. Des mesures d'hygiène de vie doivent être proposées afin de favoriser le retour veineux et de diminuer l'intensité des signes fonctionnels. En effet, le système veineux des membres inférieurs possède ses propres mécanismes régulateurs. Il est, en outre, soumis à diverses influences, notamment les forces de gravité et la température ambiante, mais aussi à des mécanismes actifs comme la contraction et la relaxation musculaire, et l'écrasement de la semelle veineuse plantaire. L'influence que va exercer le mode de vie sur ces différentes variables va, par voie de conséquence, agir sur le retour veineux. C'est ainsi que la chaleur, la station debout immobile vont favoriser la stase veineuse, alors que le froid ou la marche vont au contraire activer le retour veineux. Ainsi, il faut éviter le piétinement, l'exposition à des sources de chaleur, le port de vêtements trop serrés et conseiller des activités physiques régulières comme la marche, la natation, la gymnastique, en évitant toutefois des sports à accélération brutale. La surélévation des jambes et les douches froides biquotidiennes peuvent également être recommandées [112].

4/ Il faut établir une prise en charge thérapeutique.

Elle s'appuie sur 3 modalités principales de traitements diversement combinés :

- la contention élastique,
- les médicaments vasculoprotecteurs et veinotoniques,
- les actions directes sur les varices : la sclérothérapie ou la chirurgie.

1.1.1.3.Les médicaments vasculoprotecteurs et veinotoniques

Près d'une centaine de médicaments figurent sous cette rubrique au dictionnaire Vidal et au Thera (dictionnaire des médicaments conseil et grand public) [113] [114]. Il s'agit de spécialités dont l'efficacité est communément connue et/ou démontrée par des essais cliniques contrôlés, conformes aux prescriptions de l'arrêté ministériel du 16 décembre 1975 qui prévoit les essais contrôlés. Ils ont fait la preuve de leur efficacité par rapport au placebo sur les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veineuse. Ils agissent par différents mécanismes : augmentation du tonus veineux, de la résistance capillaire et de l'activité fibrinolytique pariétale, diminution de la perméabilité capillaire, correction des troubles microcirculatoires et hémorrhéologiques. Les médicaments sont utilisables chaque fois que l'insuffisance veineuse chronique, quelle qu'en soit la gravité, s'accompagne de symptômes fonctionnels, associés ou non aux autres thérapeutiques selon la sévérité de la symptomatologie [115]. Ils sont le traitement des manifestations fonctionnelles d'insuffisance veineuse à la saison où la contention élastique est jugée difficilement acceptable. Les modalités de traitement sont adaptées à la nature et à l'intensité des symptômes. Le nombre de prises quotidiennes, le mode d'administration et la durée des traitements dépendent de chaque spécialité.

Le mélilot rentre dans la composition de certaines de ces spécialités.

1.1.1.4.Les veinotoniques et vasculoprotecteurs à base de mélilot

*1.1.1.4.1.**ESBERIVEN FORT®*

Composition qualitative et quantitative

Forme pharmaceutique	Principes actifs	Excipients
Comprimé enrobé	Extrait sec de mélilot : 30 mg Rutoside : 250 mg	Lactose monohydraté, cellulose microcristalline, carboxyméthylamidon sodique, stéarate de magnésium, sulfate de calcium dihydraté, saccharose, gomme arabique, benzoate de sodium, dioxyde de titane
Solution buvable en ampoule	Extrait fluide de mélilot : 1 g Rutoside : 250 mg (ou rutine hydrosoluble)	alcool (1,04 ml/amp.) eau purifiée

La teneur en dérivés coumariniques et en coumarine est de 5 mg par ampoule ou par comprimé. La coumarine, principe actif extrait du mélilot, agit par ses propriétés lymphokinétiques.

La rutine appartient au groupe des flavonoïdes, encore appelés facteurs vitaminiques P. Elle est bien connue pour ses propriétés veinotoniques et vasculoprotectrices. L'association coumarine-rutine fait l'originalité de cette spécialité, grâce aux propriétés synergiques et complémentaires de ces 2 principes actifs.

Indications : Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolymphatique chronique des membres inférieurs (sensation de pesanteur, douleurs, crampes, paresthésies) ; et traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire [113] .

1.1.1.4.2. CYCLO 3 FORT crème®

Composition :

Tube de 40 g :	*Ruscus aculeatus* (extrait sec)	: 640 mg
	Mélilot (extrait fluide)	: 800 mg
Tube de 100 g :	*Ruscus aculeatus*	: 1,6 g
	Mélilot	: 2 g

Excipients : téfose 1500, acide stéarique, acide sorbique, paraffine liquide, parahydroxybenzoate de méthyle, eau purifiée.

Indications : **CYCLO 3 FORT®** en crème est utilisé dans le traitement des manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veineuse chronique.

Posologie : 2 applications de crème par jour à faire pénétrer par un massage léger et ascendant durant 2 à 3 minutes.
Il est préférable d'éviter l'emploi de cette crème sur une dermatose préexistante [113].

1.1.1.4.3. VEINOSANE®

Composition : Il n'existe qu'une seule forme galénique : les comprimés qui contiennent :

Extrait de vigne rouge (feuilles)	: 200 mg
Extrait de mélilot (sommités fleuries)	: 100 mg

Excipients : aspartam, arôme bergamote, leucine, stéarate de magnésium, silice colloïdale anhydre, carboxyméthylamidon sodique, lactose, q.s.p. un comprimé de : 725 mg.

Indications : Traditionnellement utilisé en vue de diminuer les sensations de jambes lourdes ou les désagréments des hémorroïdes.

Posologie : Voie orale, 1 à 2 comprimés, 1 à 3 fois par jour à croquer ou avaler avec un verre d'eau (jusqu'à 6 comprimés par jour).
Ce médicament est contre-indiqué en cas de phénylcétonurie (maladie héréditaire due à un déficit enzymatique empêchant la dégradation d'un acide aminé, la phénylalanine) ; cette contre-indication est liée à la présence d'aspartam [114].

1.1.1.4.4. *ARKOGELULES MELILOT®*

Composition : 250 mg par gélule de poudre totale cryobroyée (partie utilisée : la sommité fleurie de *Melilotus officinalis*).

Fabrication : Lorsque les plantes proviennent de l'étranger, afin d'éviter leur altération durant le transport, elles sont le plus souvent déjà séchées. Les plantes séchées sont d'abord dépoussiérées, puis broyées et tamisées afin d'atteindre une granulométrie suffisante. La méthode de pulvérisation utilisée est le cryobroyage qui évite toute élévation de température entraînant l'altération des constituants de la plante sensibles à la chaleur. Lorsque la plante arrive dans le broyeur, elle est congelée par l'azote liquide qui la rend plus cassante et homogénéise la taille des particules. Ainsi on obtient une granulométrie améliorée et une biodisponibilité optimale (voir schéma de fabrication page suivante).

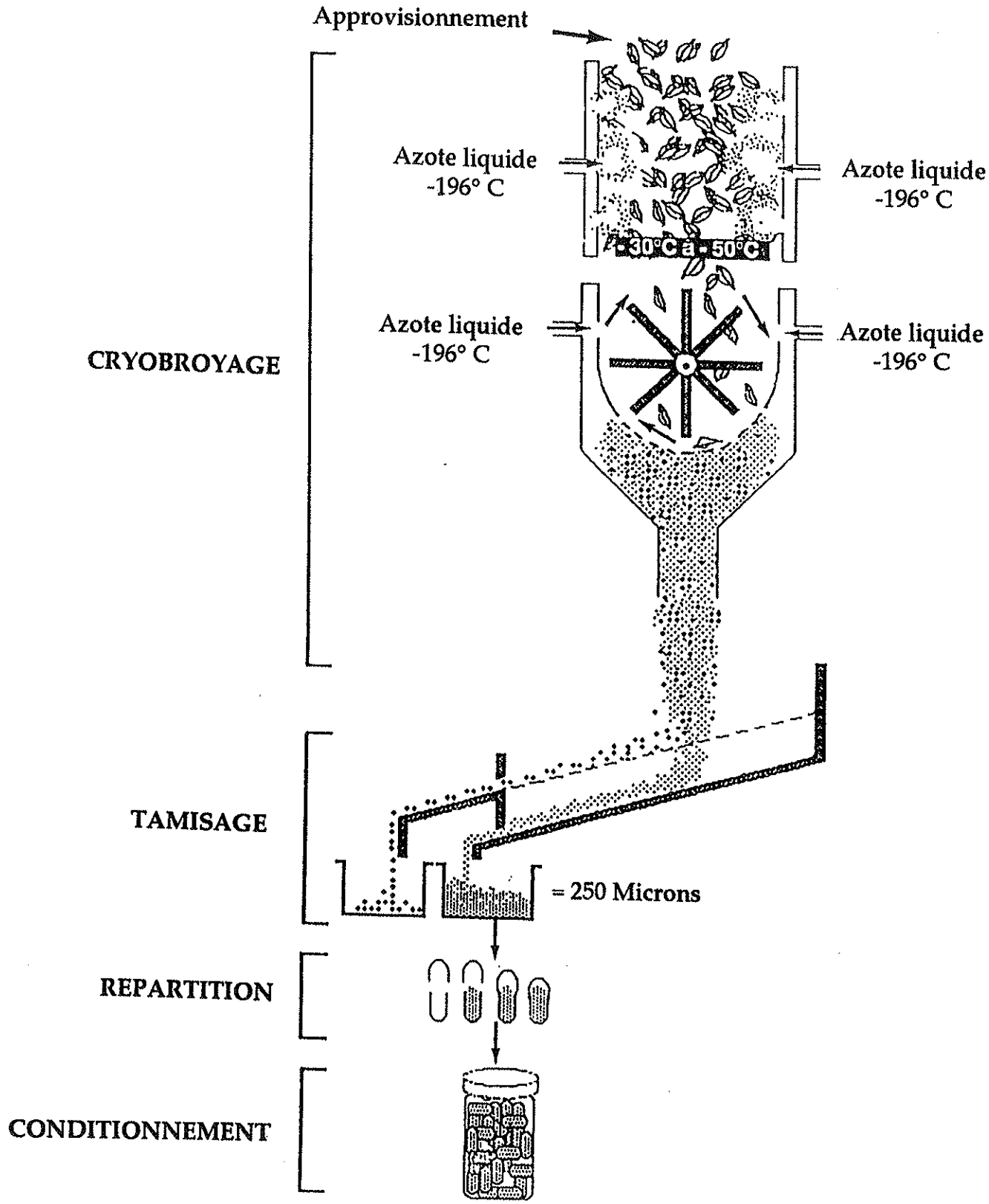


Figure 14 : Schéma de fabrication des **ARKOGELULES®**

Indications : L'insuffisance veino-lymphatique avec comme manifestation :

- risque de phlébites (en association avec l'ail).
- varice (en association avec le marronnier d'Inde et le cyprès).
- fragilité des vaisseaux de la peau (en association avec l'hamamélis).
- mauvaise fluidité sanguine (en association avec l'ail).

- Les douleurs abdominales d'origine digestive.

Posologie : 1 gélule matin, midi et soir à prendre avec un grand verre d'eau au moment des repas.

*1.1.1.4.5. **VEINOFIT®***

Forme : Solution buvable présentée en sachets de 15 ml.

Composition : (par sachet)

Extrait hydroalcoolique obtenu à partir des poudres de	
Fragon épineux (organes souterrains)	: 800 mg
Hamamélis de Virginie (feuilles)	: 350 mg
Mélilot (sommités fleuries)	: 180 mg
Excipients : alcool 1.7 ml	
aromatisé cassis	

Propriété : Protecteur veineux.

Indications : Manifestations d'insuffisance veineuse, jambes lourdes, hémorroïdes.

Posologie : 1 sachet par jour à boire dans un verre d'eau.

Contre-indication : - Traitement par le disulfirame.

- Phénylcétonurie.

1.1.1.4.6. ***FLUXIVAL®***

Forme : Suspension buvable présentée en doses de 10 ml.

Fabrication : **FLUXIVAL®** est élaboré selon le procédé S.I.P.F. (Suspension Intégrale de Plante Fraîche). Les principes actifs sont donc restitués. Les S.I.P.F. se présentent sous forme de broyats composés de la totalité de la drogue végétale fraîche, en suspension dans une solution hydro-alcoolique à 30% afin d'assurer leur conservation.

La S.I.P.F. de mélilot se présente sous forme d'un broyat de couleur vert-jaune en suspension dans une solution hydro-alcoolique ocre, d'odeur caractéristique de coumarine.

Composition : (par dose)

Marron d'Inde (graines fraîches à 45 % d'humidité)	:	880 mg.
Mélilot (sommités fleuries fraîches à 70 % d'humidité)	:	1,613 g.
Ethanol	:	2,9 g.
Excipient : q.s.p. 10 ml		

Propriété : Veinotonique.

Indications : - Sensations de jambes lourdes.

- Hémorroïdes.

Posologie : 1 unidose par jour. Agiter et diluer son contenu dans un verre d'eau.

Contre-indication : - Enfant de moins de 15 ans.
- Phénylcétonurie.

Interaction : Disulfirame (**ESPERAL®**).

1.1.1.4.7. *EFFIDOSE MELILOT®*

Forme : Suspension buvable présentée en doses de 10 ml.

Composition : (par dose)

Mélilot (sommités fleuries fraîches à 70 % d'humidité)	:	1,614 g.
Ethanol	:	2,9 g.
Excipient : q.s.p. 10 ml		

Propriété : Veinotonique.

Indications : Sensations de jambes lourdes.

La posologie, le mode d'emploi et les contre-indications sont identiques au **FLUXIVAL®**.

On peut rencontrer une autre forme galénique, facile d'emploi et très utilisée : il s'agit des tisanes. Il existe 2 tisanes connues à base de mélilot et à visée veinotonique : **SANTANE V3®** et **TISANE BORIBEL** n°12®.

1.1.1.4.8. *SANTANE V3®*

Composition : (pour 100 g)

Armoise feuilles	20 g
Menthe poivrée feuilles	15 g
Sauge feuilles	12 g
Aubépine fleurs et feuilles	10 g
Genêt fleurs	10 g
Thé vert fleurs	10 g
Cyprès feuilles	8 g
Mélilot fleurs	6 g
Orange douce zeste	5 g
Bigaradier feuilles	4 g

Cette tisane se présente en vrac ou en sachets.

Propriété : Médication adjuvante des affections veineuses.

Indications : - affections veineuses,

- insuffisance de la circulation de retour, stases veineuses,
- troubles congestifs pelviens et dysménorrhéiques.

Posologie et mode d'administration :

1 à 4 infusions par jour, de préférence après les repas. Habituellement, on conseille 2 infusions. Une infusion se prépare en versant de l'eau bouillante sur la partie végétale active. On laisse infuser 5 à 10 minutes puis on filtre. Cette tisane peut être absorbée froide ou même glacée. On peut la conserver au frais au maximum 12 heures.

1.1.1.4.9. TISANE BORIBEL N°12®

Composition : Cette tisane existe en sachets ou en vrac et contient pour 100 g :

Hamamélis de Virginie	15 g
Mélilot	35 g
Vigne rouge	35 g
Menthe poivrée	10 g
Verveine odorante	5 g

Indications et posologie :

Cette tisane est traditionnellement utilisée dans les manifestations subjectives de l'insuffisance veineuse, telles et également dans la symptomatologie hémorroïdaire.

Il est conseillé de prendre 4 tasses par jour réparties dans la journée.

1.1.2.Les hémorroïdes

1.1.2.1.Définition

Les hémorroïdes sont dues à une dilatation d'une ou plusieurs veines de la région de l'anus et du rectum. En réalité, ce sont des varices ano-rectales d'origines diverses, mais quelle que soit cette origine la cause essentielle est un obstacle à la circulation de retour. Elles peuvent être internes ou externes ou les deux à la fois. Elles peuvent être particulièrement douloureuses et dans certains cas entraîner des hémorragies. Il convient de rappeler que pour ces affections il faut observer des règles d'hygiène afin d'éviter tout phénomène de constipation [107] [116].

Le mélilot fait partie des plantes courantes utilisées pour le traitement des hémorroïdes, à côté du marron d'Inde, de la vigne rouge et de l'hamamélis [117].

1.1.2.2.Préparations phytothérapiques à base de mélilot

- Un mélange de suspensions intégrales de plantes fraîches [116] :

S.I.P.F. de mélilot	10 ml
S.I.P.F. de marron d'Inde q.s.p.	90 ml

posologie : - en cas de crise aiguë : 6 mesures par jour, diluées

- en entretien : 1 ou 2 mesures par jour, diluées

- Il existe une tisane commercialisée sous le nom **ACTISANE HEMORROÏDES®**, jambe lourdes.

Elle se présente en sachets et contient :

Marron d'Inde (graines)	0,66 g
Mélilot (sommités fleuries)	0,50 g
Vigne rouge (feuilles)	0,84 g
Arôme fruit de la passion	

Elle est utilisée dans la symptomatologie hémorroïdaire mais aussi dans les manifestations de l'insuffisance veineuse.

La posologie est de 1 infusion 1 à 3 fois par jour. Sa préparation demande de verser 200 ml d'eau bouillante sur un sachet-dose, de couvrir et de laisser infuser 10 minutes. Cette tisane doit être consommée aussitôt après [114].

1.1.3.L'hypertension artérielle

1.1.3.1.Définition

Il s'agit d'une élévation anormale de la pression du sang dans les artères. L'hypertension est une pathologie propre à notre siècle, due à la vie de l'homme dans un monde industrialisé, avec le stress de tous les jours et aussi à une alimentation trop riche, l'abus de sel et d'alcool qui sont autant de facteurs déterminants .

L'hypertension artérielle doit être soignée convenablement compte tenu des complications graves qu'elle peut entraîner (infarctus du myocarde).

Les plantes ont un rôle important en cardiologie [118] et ainsi, le mélilot peut être utilisé dans cette indication par son caractère sédatif [107].

1.1.3.2.Préparations phytothérapiques à base de mélilot

- Solution buvable

Allium cepa T.M.	10
Melilotus T.M.	10
Olea T.M.	10
Vinca minor T.M.	10
Heracleum semences T.M.	20

La posologie est de 40 gouttes dans de l'eau avant les 3 repas [119].

- Tisane **SANTANE H7®**, sous forme de sachet ou en vrac, contenant un mélange de plantes (pour 100 g) :

Gui feuilles	16 g
Olivier feuilles	16 g
Aubépine fleurs et feuilles	12 g
Mélilot fleurs	10 g
Souci fleurs	8 g
Myrtilles baies	8 g
Menthe poivrée feuilles	8 g
Verveines feuilles	6 g
Genêt fleurs	6 g
Fenouil fruits	5 g
Orange douce zeste	5 g

Il s'agit d'une médication adjuvante de l'hypertension artérielle [114].

1.1.4.Les palpitations

1.1.4.1.Généralités

La phytothérapie s'applique surtout à ramener le rythme cardiaque à la normale lorsqu'il s'agit de l'éréthisme cardiaque ou de simples extrasystoles qui se répètent plus ou moins souvent.

L'éréthisme cardiaque correspond à une hyperexcitabilité du cœur : le cœur bat fort mais pas particulièrement vite. Alors qu'une extrasystole banale est une contraction prématurée du cœur suivie d'un repos dit compensateur qui donne l'impression désagréable d'un arrêt cardiaque.

Certaines plantes, comme l'aubépine et l'agripaume, sont spécifiques des palpitations et d'autres, comme le mélilot, agissent indirectement par leur action sédative. En effet, la dystonie neurovégétative (dérèglement « nerveux) est souvent à l'origine de ces troubles [107].

1.1.4.2.Tisane pour les palpitations contenant du mélilot

Formule :

Verge d'or	:	20 g.
Mélilot	:	20 g.
Hamamélis	:	10 g.
Bouleau	:	10 g.

Mode d'utilisation :

La préparation de cette tisane consiste à une décoction. Elle est obtenue en mettant 30 g de la drogue dans 1 l d'eau froide que l'on porte à ébullition dans un récipient clos et que l'on laisse bouillir pendant 10 minutes. Puis, il faut filtrer avant de servir [120].

1.2. En gastro-entéro-hépatologie

Chez certaines personnes, la nervosité peut se manifester par une gastrite ou une aérocolie. Ainsi, des plantes à visée sédative telles que le mélilot constitue un bon traitement à ces manifestations qui sont d'origine nerveuse.

La préparation d'une suspension intégrale de plante fraîche d'aubépine, de mélisse, de mélilot (chacune isolément ou un mélange des 3) constitue un traitement d'appoint en suivant la posologie : 2 à 3 mesures par jour dans la tisane après les repas [107].

Le traitement par les plantes tient une place importante dans les maladies de l'appareil digestif.

Selon GARNIER et ses collaborateurs, le mélilot facilite la digestion après les repas : il a une action dyspeptique [5].

Et selon VALNET, on peut aussi l'utiliser dans l'entérite (inflammation de la muqueuse intestinale) et la dysenterie (ulcération du colon) [121].

1.3. En pneumologie

1.3.1.La sinusite

Les sinusites chroniques sont caractérisées par une inflammation de la muqueuse du sinus.

En début de sinusite, il est conseillé de réaliser des inhalations de la préparation suivante :

Pinus T.M.	10 g
Melilotus T.M.	10 g
Thymus T.M.	20 g
Teinture de Benjoin	q.s.p. 90 cc

Pinus et *Thymus* ont une action antiseptique alors que *Melilotus* est décongestionnant.

La posologie est de 1 cuillère à café pour 1 inhalation [122].

1.3.2.La bronchite

Il s'agit d'une inflammation aiguë ou chronique de la muqueuse bronchique.

Il est possible de prendre une infusion avec 30 g de fleurs de mélilot pour 1 l d'eau bouillante. La posologie est de 3 tasses par jour [123].

Selon FOURNIER, la coumarine agit comme un analgésique, hypnotique et stupéfiant. Elle paralyse l'excitabilité réflexe sans exercer d'influence sur les nerfs périphériques. C'est ainsi que le mélilot peut être utilisé pour les toux spasmodiques [1].

Et selon MAOTTI, le mélilot peut avoir une place dans le traitement de l'asthme. Mais seulement lorsqu'il s'agit d'un asthme d'origine neurovégétative qui se voit chez les personnes anxieuses, inquiètes. Suite à une contrariété, la respiration devient courte et bruyante. Et une véritable crise d'asthme peut se déclencher. Des plantes à visée sédative, en particulier le mélilot, peuvent être utilisées. Mais dans les cas sévères, on est toujours amené à utiliser un bronchodilatateur et un traitement corticoïde [107].

1.4. En urologie

D'après LECLERC (1955), le mélilot est doué d'une action diurétique : la présence de coumarine exerce une influence sur le rein en augmentant le volume de l'urine et en la rendant plus limpide, suite à son pouvoir légèrement

antiseptique. Ainsi, le mélilot peut être indiqué dans certaines affections urinaires ou en cas de rétention d'urine [1] [58].

Pour augmenter la diurèse, on propose la formule :

Mélilot	50 g
Bruyère commune	30 g
Piloselle	20 g

La posologie est d'1 cuillerée à soupe par tasse d'eau bouillante ; on laisse infuser 15 minutes. On conseille 3 tasses par jour [124].

Il existe également une spécialité à visée diurétique commercialisée sous le nom **ANTHYLLINE®** [114]. Il s'agit d'une tisane ayant pour composition (pour 100 g) :

Fraisier	6 g	Réglisse	8 g
Fenouil	6 g	Guimauve	8 g
Hysope	6 g	Angélique	8 g
Anthyllis	6 g	Coriandre	8 g
Plantain	6 g	Orties	8 g
Verveine odorante	6 g	Arnica	2 g
Origan	4 g	Cerfeuil	2 g
Santal	4 g	Chardon	2 g
Mélilot	4 g	Frêne	2 g
Prêle	4 g	Menthe	2 g

1.5. En gynécologie

Par son action antalgique, antispasmodique et sa capacité d'améliorer la circulation, le mélilot peut être utilisé pour les règles douloureuses. Certaines préparations phytothérapiques permettent de traiter ces douleurs dues à des contractions spasmodiques [116] :

- Forme solide : mélange d'extraits secs :

Vigne rouge	0,120 g	pour une gélule
Mélilot	0,120 g	
Saule	0,120 g	

posologie : 3 à 6 gélules par jours suivant les besoins.

- Forme liquide : mélange de S.I.P.F. :

S.I.P.F. de mélilot S.I.P.F. de valériane	a.a. q.s.p. 90 ml

posologie : 1 mesure 2 fois par jour, diluée.

Certaines femmes souffrent du syndrome prémenstruel une dizaine de jours avant l'apparition des règles. Ces troubles sont généralement liés à un déséquilibre hormonal et se caractérisent par une congestion, une rétention d'eau, des troubles circulatoires (fourmillements des extrémités) et surtout des troubles nerveux (insomnie, irritabilité). La phytothérapie trouve ici une place importante et notamment le mélilot qui amène souvent une grande amélioration en luttant contre le déséquilibre nerveux et en favorisant la circulation [107].

1.6. En neurologie

Grâce à ses propriétés antispasmodiques et calmantes, le mélilot est employé comme sédatif dans les insomnies. Cette perturbation du sommeil peut correspondre à une difficulté à l'endormissement, avec un sommeil très long à venir ou au contraire, un endormissement rapide mais un sommeil irrégulier, entrecoupé de nombreux réveils avec difficultés à se rendormir. De nos jours, nombreuses sont les causes des troubles du sommeil, parmi lesquelles la tension nerveuse. Et le mélilot est une plante qui permet de redonner le calme indispensable à un sommeil réparateur [107] [125].

Ainsi, dans l'insomnie des enfants (à partir de 1 an) et des vieillards, une infusion de mélilot (20 g de tiges fleuries pour 1 l d'eau bouillante) au moment du dîner puis une deuxième prise au coucher aide à l'endormissement [123].

Il est possible aussi de faire un mélange de mélilot et d'aspérule odorante à quantité égale [119].

Il existe des spécialités utilisées dans le traitement symptomatique des états neurotoniques, notamment en cas de troubles du sommeil.

- **SEDOPAL®** [114] :

Composition : (par gélule)

Poudre de sommités fleuries d'aubépine	:	120 mg
Poudre de parties aériennes fleuries d'*Eschscholtzia*	:	120 mg
Poudre de sommités fleuries de mélilot	:	120 mg

Posologie : Adulte : 1 à 2 gélules, 2 fois par jour,

Enfant (à partir de 5 ans) : 1 à 2 gélules par jour, selon l'âge.

- **ANTINERVEUX LESOURD®** [113] :

Composition : (pour 100 ml)

Lotier corniculé (sous forme de macérat)	:	5,5 g
Mélilot (sous forme de macérat)	:	2,5 g
Excipient : éthanol à 50 % V/V.		

Posologie : 20 à 50 gouttes, 1 ou 2 fois par jour.

Diluer la solution dans un peu d'eau ou dans une tisane.

Réservé à l'adulte.

1.7. En dermatologie

Certaines lésions de la peau, comme les engelures ou la couperose, sont dues

à une circulation déficiente et peuvent être améliorées par des plantes à visée circulatoire. Ainsi, un mélange de S.I.P.F. de marron d'Inde et de mélilot peut traiter certaines maladies de peau (la posologie étant de 1 mesure 2 à 3 fois par jour dans une tasse de tisane).

Par ailleurs, certains problèmes cutanés sont liés à un déséquilibre neurovégétatif : c'est le cas de l'acné ou du psoriasis. Et des plantes à visée sédative, tel le mélilot, peuvent tenir une place dans le traitement de ces pathologies [107].

En conclusion de l'usage interne du mélilot on peut dire que cette plante est surtout très utilisée dans le domaine vasculaire comme veinotonique et un peu moins en neurologie pour son action sédative. Par ailleurs, le mélilot a d'autres applications moins connues mais non moins intéressantes.

2. USAGE EXTERNE

2.1. Utilisation dans les affections des yeux

2.1.1.La conjonctivite et la blépharite

La blépharite correspond à une inflammation du bord de la paupière et la conjonctivite définit une inflammation de la conjonctive ou « blanc » d'œil . Un infusé de mélilot à 10 % apporte en lavage des yeux et des paupières une action antiseptique et anti-inflammatoire. Cette préparation se réalise avec 100 g de sommités fleuries séchées pour 1 l d'eau bouillante que l'on laisse infuser pendant 15 minutes et que l'on filtre avec soin. Cet infusé oculaire n'est valable que pour une seule journée [123].

2.1.2.L'orgelet

Il s'agit d'un furoncle situé à la base du cil. La phytothérapie peut jouer un rôle, seule dans les cas banals ou associée aux antibiotiques dans les cas plus sévères.

Il est possible par exemple d'appliquer sur la paupière des compresses imbibées avec l'infusé suivant :

Plantain (feuilles)	10 g
Bleuet (fleurs)	5 g
Mélilot (fleurs)	5 g
Eau	150 g

Il faut laisser infuser 15 minutes puis passer [107].

Cet infusé peut également servir pour des bains oculaires en cas de fatigue oculaire [122].

2.1.3.L'irritation oculaire

L'œil est un organe prodigieusement sensible et fragile. Et nombreuses sont les causes d'irritation des yeux. Il faut dans ce cas procéder à un lavage oculaire et utiliser un collyre antiseptique, calmant et décongestionnant. Il existe un collyre commercialisé sous le nom **NOVALUX®** qui renferme du mélilot et qui a une triple action : il désinfecte, décongestionne et atténue la douleur et l'irritation.

NOVALUX®[114] :

Composition : (par flacon de 10 ml)

Acide borique	150 mg
Borate de sodium officinal	20 mg
Esculoside	10 mg

Phényléphrine	5 mg
Chlorobutanol	12 mg
Mélilot (eau distillée)	1 g
Rose (eau distillée)	4 g

Excipients : nitrate de phénylmercure, parahydroxybenzoate de méthyle (3 mg) et de propyle (1,3 mg), eau distillée.

Posologie : 1 à 2 gouttes, 3 fois par jour.

Contre-indications :
- Enfant de moins de 3 ans,
- Infection associée, douleur aiguë,
- Glaucome.

Conservation : Tout flacon ouvert doit être utilisé dans les 15 jours.

2.2. Utilisation sur la peau

2.2.1.En emplâtres

Sur les points douloureux des rhumatismes, il est possible d'appliquer un emplâtre préparé de la façon suivante :

Cire d'abeilles	500 g
Huile d'olives	45 g
Résine de Pin ou de Sapin	45 g
Suif	45 g
Térébenthine	45 g
Mélilot pulvérisé	125 g
Poudre d'absinthe	8 g
Poudre de laurier sauce	8 g
Poudre de Camomille	8 g

Le tout est malaxé et réduit à l'état de pâte [1].

2.2.2.En cataplasmes

Pour les règles douloureuses, on peut appliquer sur le bas du ventre un cataplasme de mélilot ainsi préparé : 50 g de sommités fleuries de mélilot rajoutés à un faible volume d'eau. On fait bouillir 10 à 15 minutes puis on le met entre 2 gazes. On applique le cataplasme chaud 10 à 15 minutes plusieurs fois dans la journée [107].

Ce type de cataplasme peut également soigner les coliques.

2.2.3.En compresses chaudes

Des compresses imbibées d'une infusion à 20 g de mélilot pour 100 g d'eau peut soulager des névrites [126].

2.2.4.En lotions tièdes

On peut utiliser des lotions de mélilot pour cicatriser des plaies [126].

2.2.5.En bains chauds

En cas d'insomnie, le fait de prendre un bain chaud avant le coucher dans lequel on verse une infusion concentrée de mélilot aide à l'endormissement [123].

II. EN HOMEOPATHIE

1. GENERALITES

L'homéopathie est la seconde grande méthode thérapeutique après

l'allopathie. Inventée par un médecin allemand, Hahnemann, à partir de 1790, elle repose, à l'inverse de l'allopathie, sur la loi des semblables. Cette méthode thérapeutique consiste à donner, à l'individu malade à doses faibles, la substance dont les symptômes toxicologiques ou expérimentaux chez le sujet sain sont semblables à ceux du malade. Ainsi, elle est basée d'une part sur le phénomène de similitude (les substances médicamenteuses sont susceptibles de guérir des symptômes semblables à ceux qu'ils peuvent produire) et d'autre part sur l'utilisation de doses infinitésimales obtenues après dilution et dynamisation rendant ainsi le médicament atoxique. La souche est nommée teinture mère. Au-delà, il existe 30 degrés de préparation.

2. SOUCHE

2.1. Définition

Dans la dernière édition de la Pharmacopée française, la teinture mère de *Melilotus* est préparée à la teneur en éthanol de 65 % V/V, à partir de la partie aérienne fleurie fraîche de *Melilotus officinalis*, selon la technique générale de préparation des teintures mères [27].

2.2. Caractères

La teinture se présente sous la forme d'un liquide de couleur brun verdâtre, d'odeur caractéristique de coumarine, de saveur herbeuse.

2.3. Identification

Trois méthodes sont proposées à la Pharmacopée :

* la première consiste à ajouter à 2 ml de teinture mère, 10 ml d'eau puis 3 gouttes d'ammoniaque concentrée R.

Ce mélange présente une fluorescence gris jaune lorsqu'il est examiné en lumière ultraviolette à 365 nm.

* la deuxième méthode consiste à observer le développement d'une coloration brun orangé lors du mélange de 1 ml de teinture mère avec 1 copeau de magnésium R et 1 ml d'acide chlorhydrique R.

* la troisième méthode consiste à mélanger 1 ml de teinture mère et 1 ml de solution cupritartique R. Ce mélange, chauffé à ébullition, provoque un précipité orangé.

2.4. Essais

* Teneur en éthanol

La teneur en éthanol est comprise entre 60 % V/V et 70 % V/V.

* Résidu sec

Le résidu sec est supérieur ou égal à 1,5 %.

* Chromatographie

On utilise la chromatographie sur couche mince avec des plaques recouvertes de gel de silice.

Première phase :

Déposer sur une plaque, en bande de 10 mm, 20 µl de teinture mère. Le développement s'effectue grâce à un mélange de 40 volumes de butanol R, de 10 volumes d'acide acétique glacial R et de 10 volumes d'eau sur un parcours de 10 cm. Le séchage se réalise à l'air libre.

Un examen en lumière ultraviolette à 365 nm montre en général sur le chromatogramme deux à trois bandes bleutées comprises entre les R_F 0,10 et 0,20, une bande jaunâtre surmontée d'une bande brune de R_F voisin de 0,35, une bande bleuâtre de R_F voisin de 0,40, une bande brune de R_F voisin de 0,45, une bande bleuâtre de R_F voisin de 0,50, une à deux bandes rouge clair de R_F voisins de 0,75 à 0,80, une bande bleue de R_F voisin de 0,85 et une à deux bandes rouge plus ou moins bien séparées de R_F voisins de 0,95.

Après pulvérisation du chromatogramme avec le réactif au diphénylborate d'aminoéthanol R, il se présente sous lumière ultraviolette à 365 nm avec une bande jaune de R_F voisin de 0,20, une bande orangée de R_F voisin de 0,30, une bande jaune de R_F voisin de 0,35, une bande jaune orangé de R_F voisin de 0,45 et une bande jaune orangé pâle de R_F voisin de 0,60. Il peut également apparaître une à deux bandes jaune orangé pâle plus ou moins bien séparées de R_F voisins de 0,80.

Deuxième phase :

La solution à examiner est constituée par la teinture mère, la solution témoin est une solution de coumarine R à 1 % M/V dans l'alcool R. On dépose séparément sur une plaque, en bandes de 10 mm, 20 µl de la teinture mère et 10 de la solution témoin. Le développement se fait avec un mélange de 90 volumes de toluène R et 10 volumes d'acétate d'éthyle R sur un parcours de 10 cm. La plaque est séchée à l'air libre.

Pour analyser le chromatogramme, on pulvérise une solution d'hydroxyde de potassium R à 5 % M/V dans l'alcool R. En lumière ultraviolette à 365 nm le chromatogramme de la solution à examiner présente une bande verte fluorescente

de R_F voisin de 0,45 correspondant à la fois par sa position et sa coloration à celle de la solution témoin.

3. ACTION GENERALE

Melilotus exerce son action dominante sur la circulation ; il provoque des congestions locales aiguës, surtout du côté de la tête, mais aussi du côté du poumon, du bassin et du rectum sur un sujet sain.

Il influence en outre le système nerveux en causant des manifestations spasmodiques et des troubles psychiques.

Son action est surtout aiguë et subaiguë [127].

4. TOPOLOGIE

Ce sont des malades nerveux, timides, intellectuellement affaiblis, ayant une très mauvaise mémoire et hypocondriaques jusqu'à faire de la mélancolie religieuse [127].

Ils sont incapables de fixer l'esprit. Ils souffrent de stupeur, veulent s'enfuir et se cacher. Ils se font des illusions, pensent que tout le monde les regardent ; ils ont peur de parler fort [128].

Ces malades présentent un faciès de couleur rouge vif avant une hémorragie et au cours des états de dépression mélancolique.

Les femmes souffrent d'un flux menstruel intermittent à la ménopause [127].

5. MODALITES

Il s'agit de la qualification d'un symptôme dans le sens de l'amélioration ou

de l'aggravation de ce symptôme sous l'influence de circonstances extérieures ou physiologiques.

5.1. Aggravation

- à la ménopause,
- par le changement de temps,
- à l'approche d'un orage [127],
- par un temps pluvieux,
- à l'approche d'une tempête,
- à 16 heures,
- par le mouvement [129],
- en marchant [130].

5.2. Amélioration

- par l'air frais,
- dans les positions assises ou couchées,
- par des applications de vinaigre,
- par l'émission abondante d'urines [130],
- par les saignements : épistaxis, hémorragies, règles, hémoptysies, saignées [131].

6. INDICATIONS CLINIQUES

6.1. Selon VOISIN (1976)

Melilotus officinalis se prescrit dans 3 indications principalement [132] :

- la congestion cérébrale ou faciale aiguë ou chronique.

Cette congestion s'accompagne toujours de rougeurs de la face, de céphalées battantes surtout au front ; elle est aggravée par le temps orageux ou chaud et lourd et améliorée par une épistaxis, les règles ou un saignement hémorroïdaire. Les autres symptômes fréquents sont des bouffées de chaleur à la face, un battement des carotides et une diurèse abondante.

D'autres symptômes sont possibles, avec dans les cas aigus : convulsions, troubles mentaux (impulsion à fuir, se cacher, tuer ou se tuer) et dans les cas chroniques : tristesse mélancolique, dépression intellectuelle, faiblesse de mémoire, timidité avec crainte de parler haut ou impression d'être observé par tout le monde.

Les dilutions employées sont 4 à 6 CH.

– la douleur lombo-sacrée

Elle peut être aiguë ou subaiguë, brisante, avec un besoin de bouger. Cette douleur se rencontre chez un congestif ou en alternance avec une céphalée congestive.

La position assise accentue la douleur ; par contre, la marche, la position debout et la pression l'améliorent.

Les dilutions utilisées sont 5 ou 6 CH.

– la parésie rectale avec congestion

Elle est concomitante à une congestion du petit bassin et une constipation atonique (aucun besoin jusqu'à une accumulation fécale provoquant une sensation de plénitude et de battements au rectum et à l'anus avec, alors, des besoins efficaces ou non).

Les dilutions proposées sont 6 à 12 CH.

6.2. Selon BINET (1972)

Melilotus officinalis 4 ou 5 CH est le médicament de toute congestion améliorée par une hémorragie telle [131] :

- céphalées et migraines congestives améliorées par un épistaxis (insolation),
- hémorroïdes dont la douleur est calmée par une hémorragie anale,
- douleurs utérines calmées par l'apparition des règles (congestion utérine),
- congestions pulmonaires améliorées par une hémoptysie,
- hypertension calmée par une hémorragie ou une saignée.

6.3. Selon DUPRAT (1947)

Melilotus officinalis présente les correspondances cliniques suivantes [127] :

- congestions locales actives,
- troubles mentaux, mélancolie,
- convulsions pendant la période de dentition,
- éclampsie,
- congestion de la tête, céphalées congestives, migraines,
- constipation (atonie rectale),
- crampes d'estomac,
- épistaxis,
- toux,
- hémoptysie,
- pneumonie,
- ovaralgie,
- dysménorrhée,
- ménopause
- lumbago.

Toutes les dilutions peuvent être utilisées.

6.4. Conclusion

Dans la pratique, il s'agit surtout d'un remède de congestion crânienne (correspondant à une sensation de chaleur intense à l'ensemble de la tête ou localisée à un territoire de cette dernière) au cours des bouffées de chaleur de la ménopause [133].

Il est également donné pour les céphalées congestives causées par des poussées hypertensives ou dues à une insolation et pour les hémorroïdes congestives alternant ou associées avec des céphalées et améliorées par le saignement.

Il est prescrit en 5 CH , 5 granules 2 à 4 fois par jour suivant l'acuité des symptômes. Les médicaments de fond les plus fréquemment associés sont *Sulfur* et *Lachesis* [134].

Les laboratoires Lehning proposent un complexe homéopathique nommé **PHARAX®** qui contient *Melilotus*. Ses indications sont les migraines et les céphalées (digestives, visuelles et congestives). La posologie est de 20 gouttes 3 fois par jour et en cas de crise , toutes les heures.

HYPERICUM COMPLEXE N°26® des laboratoires Lehning renferme aussi *Melilotus* et est prescrit comme traitement adjuvant des névralgies dentaires et diverses. La prise se fait de préférence en dehors des repas, 20 gouttes, 3 fois par jour.

7. COMPARAISONS DIFFERENTIELLES

Parmi les remèdes des céphalées congestives, les plus proches sont *Lachesis* et *Hamamelis*, car ils ont une amélioration nette pour les écoulements sanguins. Mais *Lachesis* diffère par sa face plus violacée, ses hémorragies de sang plus foncé, une

aggravation plus nette à la chaleur, une tendance à l'intolérance à la constriction du cou et un comportement plus excité et volubile. *Hamamelis* a une congestion veineuse passive, sa céphalée est chronique et s'accompagne d'injection douloureuse des yeux et l'épistaxis est de sang foncé.

On peut établir une comparaison avec *Aloe*, très proche, mais où la lombalgie est, en outre, aggravée au réveil et où le malade présente une pléthore abdominale flatulente.

Par ailleurs, *Collinsonia* évoque plus de congestion des organes abdominaux et moins de parésie rectale, des selles plus grosses et plus pâles avec une forte tendance aux hémorroïdes [132].

III. CONCLUSION

Finalement, on s'aperçoit que le mélilot présente de nombreux emplois thérapeutiques aussi bien en allopathie qu'en homéopathie. La spécialité **ESBERIVEN FORT®** reste cependant la plus large utilisation de cette plante.

Le mélilot est connu depuis longue date, a retenu l'attention de certains scientifiques et a fait l'objet de nombreuses études.

Ces travaux ont permis de confirmer, à partir des données expérimentales et cliniques, les principales propriétés traditionnelles du mélilot. En dehors du domaine thérapeutique, cette plante est utilisée en cosmétologie, en parfumerie et en agriculture.

B. AUTRES USAGES DU MELILOT

1. EN PHARMACIE COSMETIQUE

Certains laboratoires incorporent le mélilot dans leur gamme de produits parapharmaceutiques.

1.1. Crème au mélilot composée Avène

La présentation est un tube de 30 ml [113].

Composition :

Eau thermale d'Avène	74%
Sulfate de dextran	0,3%
Extrait de mélilot	2%
Extrait de *Ruscus*	8%
Acide sorbique	

Il s'agit d'une émulsion huile dans eau. La formule est hypoallergénique et non comédogène.

Propriétés :

Cette crème est spécialement formulée pour les peaux sensibles atteintes de rougeurs localisées du visage. Sa richesse en eau thermale d'Avène, aux propriétés apaisantes et adoucissantes, calme toutes les sensations d'irritation et d'échauffement éprouvées par ces épidermes fragilisés et marbrés de fins vaisseaux visibles.

L'association de principes actifs reconnus pour leur action tonifiante et décongestionnante (extrait de *Ruscus*, extrait de mélilot, sulfate de dextran) améliore la résistance cutanée, réduit les phénomènes congestifs et limite l'apparition de rougeurs inesthétiques.

La crème au mélilot composée s'utilise en cure d'au moins 3 mois, matin et soir. Elle procure, dès l'application, une agréable sensation de fraîcheur et permet de retrouver une peau claire et apaisée.

1.2. Crème antirougeurs protection été ou hiver Avène

Il s'agit d'un soin quotidien préventif des peaux sensibles sujettes aux rougeurs diffuses [113].

Composition :

Eau thermale d'Avène	72%
Sulfate de dextran	0,5%
Extrait de mélilot	0,3%
Extrait de *Ruscus*	0,2%
Acide hyaluronique	0,01%
Vitamine E	1%
Oxyde de titane	1%
Phénoxyéthanol Imidozolidinylurée	

Propriétés :

Ce produit
- soulage immédiatement les sensations d'irritation et d'échauffement grâce à l'eau thermale d'Avène,
- limite l'apparition de rougeurs et de la vasodilatation grâce aux 3 principes actifs présents également dans la crème du mélilot composée,
- lutte contre la formation de radicaux libres par la présence de vitamine E,
- assure une hydratation par l'action de l'acide hyaluronique.

Utilisé quotidiennement, elle assure une protection contre les agressions

extérieures (variations de température brutales, vent, soleil...) et renforce les défenses naturelles de l'épiderme.

Il existe 2 versions spécialement adaptées aux conditions climatiques :

- une protection hiver qui protège des variations thermiques,
- une protection été qui protège des rayons ultraviolets et infrarouges.

1.3. Gouttes bleues Innoxa

C'est une lotion qui favorise la détente et le repos des yeux et donnent de l'éclat au regard [114].

Composition :

Eau distillée de sureau	2,1%
Eau distillée de bleuet	1,3%
Eau distillée de mélilot	5,2%
Eau distillée d'hamamélis	2,1%
Eau distillée de camomille	0,2%

Propriétés :

Légèrement astringentes, les Gouttes bleues ont un effet apaisant et stimulant. Elles embellissent le regard par un léger reflet bleuté.

Posologie :

Elle est de 2 à 3 gouttes dans chaque œil plusieurs fois par jour. Elles sont réservées aux adultes et doivent être utilisées dans les 15 jours qui suivent l'ouverture du flacon.

1.4. Eau d'Aegypte Lehning

Pour cette eau, l'histoire dit qu'en 1947, Chavanon, médecin homéopathe de

grand renom et passionné par l'histoire de l'Egypte Ancienne, redécouvre la formule de l'eau d'Aegypte disparue depuis plusieurs siècles.

L'eau d'Aegypte trouve son origine dans l'Antiquité au temps des Pharaons où la beauté était un véritable art de vivre. Pour rendre le moment de la toilette encore plus agréable, une eau subtilement parfumée fut inventée, une eau que les femmes mettaient dans leur bain, une eau dont les hommes se frictionnaient la peau : l'eau d'Aegypte.

La formule de l'eau d'Aegypte a été retrouvée dans un ancien temple dédié à la Déesse-reine Isis.

Isis était également appelée la Bonne Déesse ou la Grande Magicienne car elle rendait possibles toutes les guérisons. Il n'est pas étonnant que son nom ait été associé à cette eau bienfaisante qui calme piqûres et irritations. La vertueuse Déesse est devenue depuis le symbole de l'eau d'Aegypte !

L'eau d'Aegypte témoigne du savoir-faire des Egyptiens et de leurs connaissances inégalées de la botanique, de ses bienfaits et de ses parfums. A l'époque, l'Egypte comptait de nombreux canaux d'irrigation et le pays était très vert. On y cultivait une multitude de plantes. La médecine s'enrichissait sans cesse de nouveaux remèdes grâce à celles-ci.

Le bien-être, la médecine et l'hygiène étaient 3 notions très développées dans la société égyptienne et rares furent les grandes épidémies à se développer dans l'Egypte Ancienne !

Composition :

Cette eau ne contient que des produits naturels :

- des extraits actifs de plantes aux principes reconnus : *Calendula officinalis, Bellis perennis, Melilotus, Lilium candidum,*
- des essences qui lui donnent son parfum et sa fraîcheur : l'orange, la bergamote, la lavande,...

Propriétés :

Elle apaise instantanément les piqûres d'insectes.

Elle calme également les irritations courantes de la peau et se révèle être un auxiliaire précieux pour éteindre le feu du rasage.

Calendula officinalis aseptise la peau et calme les démangeaisons.

Bellis perennis adoucit et apporte à la peau détente et fraîcheur.

Melilotus est utilisé pour son action calmante.

Lilium candidum évite rougeurs et irritations, adoucit et préserve également l'élasticité de la peau.

L'excipient est l'alcool 85° qui élimine les impuretés déposées sur la peau.

Elle convient à tous les types de peaux.

2. EN PARFUMERIE

Le mélilot a été employé en parfumerie. C'était plus exactement la coumarine qui était un constituant des parfums mais également par sa présence en huiles essentielles.

Mais de nos jours, la coumarine utilisée est synthétique et non issue du mélilot. Sur ce point, un conflit historique mineur se pose sur la date de la première commercialisation de la coumarine synthétique. Boisde et Meuly maintiennent que toute la coumarine commercialisée aux dates antérieures à 1890 était d'origine naturelle [49]. Cependant HAARMANN et REIMER auraient approvisionné le commerce de coumarine synthétique.

Leur production aurait commencé en 1876 [135]. Peu après, Schimmel en Germanie et Hugo Weil en France auraient fourni de la coumarine d'origine non naturelle [136]. En 1882, Paul Parquet a créé un parfum et un savon Fougère Royale à base de bergamote et de coumarine synthétique [137].

3. EN AGRICULTURE

Depuis les années 1980, le mélilot fut l'objet de nombreuses études dans le domaine agricole :

* Utilisation de cendres de charbon pour la culture du mélilot :

On a découvert que certaines plantes dont *Melilotus officinalis* et *Melilotus alba* pouvaient pousser sur de la cendre pure de charbon. Il a été mis au point une couche de polymère nutritif qui recouvrait la culture afin d'éviter la dispersion des cendres. Ce polymère ne présentait aucune toxicité pour la plante [138].

* Revégétation avec le mélilot de terres minières abandonnées :

Dans l'Ouest du Dakota du Nord aux Etats-Unis, une étude sur une bande d'une mine de charbon abandonnée a été effectuée pour déterminer quelles sont les espèces végétales qui pourraient être utilisées avec succès pour restaurer la végétation sur ce site semi-aride et pour voir si l'utilisation d'un fertilisant en surface était avantageuse. Un mélange de graines composé de six espèces était enfoui dans le sol reconfiguré, suivi par une fertilisation en surface. Bien que le traitement avec le fertilisant n'ait pas contribué à accélérer la production des plantes dans l'année où il fut appliqué (1981), il a stimulé la production d'herbes de manière considérable en 1983. La production des plantes différait d'une année à l'autre. En 1981, la plupart des plantes venait de plantes herbacées tandis qu'en 1982, la principale partie de la production venait de *Melilotus officinalis* et en 1983 d'herbes dont l'espèce ayant eu les meilleures chances de survie et la meilleure densité était l'*Elymus trachycaulus*. Ainsi le mélilot a la capacité de restaurer la végétation sur des sols pauvres comme les terres minières abandonnées [139].

* Les effets des systèmes de rotation de culture :

- Une étude à long terme, sur une terre grasse d'argile, a été réalisée dans le

but de déterminer les effets d'une rotation de culture. Les résultats de l'enquête font ressortir que c'est l'immobilisation par des résidus de culture et les matières organiques du sol qui sont responsables en grande partie des pertes apparentes de l'azote dans ces systèmes de cultures et non pas la filtration dans les nappes d'eaux souterraines [140].

- Une autre étude a servi à déterminer la récupération du fertilisant azoté dans les systèmes à rotations et à monoculture.

Des céréales ont été mises en culture dans des conditions d'arrosage par précipitations sur une terre grasse d'argile par le biais de 4 systèmes de culture :

- céréales en continu (monoculture),
- rotation de 2 ans : soja - céréales,
- rotation de 4 ans : avoine + mélilot - sorgho - soja - céréales,
- rotation de 4 ans : soja - sorgho - avoine + mélilot - céréales.

Des semis à la volée du fertilisant azoté ont été effectués à 90 et 180 kg par ha en 1985 et 1986 pour évaluer la récupération de ce fertilisant par les céréales dans chaque système de culture.

Résultats : La récupération de l'azote est considérablement plus élevée dans les céréales en système à rotation par rapport aux céréales en monoculture, en moyenne 58,6 contre 52,3% et 49,8 contre 43,4% aux doses de 90 et 180 kg d'azote par ha [141].

- Conclusion : Bien que les mécanismes n'aient pas été spécifiquement identifiés, il a bel et bien été montré que les rotations de culture peuvent réduire les besoins en fertilisant azoté et réduire en même temps la quantité d'azote susceptible de partir en filtration. Ce sont deux raisons importantes pour les agriculteurs [140].

* Influence de l'engrais de mélilot sur la production de culture de blé de mars (*Triticum aestivul* L.)

Cette expérience a été conçue sur un sol à texture fine (« sol noir tchernozium ») ; les récoltes ont montré que l'engrais vert composé de mélilot n'a pas permis d'augmenter la production des cultures de blé subséquentes [142].

* Effets de la mise en culture à des dates différentes du mélilot sur l'azote disponible dans le sol et la production subséquente de blé de mars : une étude sur le terrain de 3 années a été réalisée sur un sol de tchernozium brun foncé afin d'évaluer l'impact de la date à laquelle le mélilot fut introduit et mis en culture dans des productions de blé de mars successives.

Au cours de la première année, le blé fut semé sous le mélilot. Au cours de la deuxième année, le mélilot fut introduit ou au 15 juin, au 1er juillet ou au 15 juillet. Au printemps de la troisième année, chaque parcelle était semée de blé. Tout au long de la durée de l'étude, on n'a constaté que de petites différences généralement sans conséquences en ce qui concerne la récolte de blé au cours de la troisième année en raison de l'introduction du mélilot. La date d'introduction du mélilot constitue par contre un facteur important car l'introduction du 15 juin a permis de récolter 6 et 17% de plus de blé que celle du 1er juillet ou du 15 juillet respectivement. On en a conclu que la mise en culture sélective de mélilot ne constitue pas un point critique bien que la détermination de la date de déracinement en labourant doive se situer tôt dans la saison de croissance afin d'optimiser la production de graines subséquente [143].

* Influence de la culture de mélilot sur la production de sélénium par des plantes cultivées sur des terres minières :

La formation de sélénium par les plantes sur les terres minières dans l'Ouest des Etats-Unis pose un problème par rapport aux tentatives de récupération en

raison de la croissance de végétations pouvant être considérées comme toxiques pour les animaux sauvages et domestiques. Une étude a été mise en place pour déterminer si des remblais miniers (c'est-à-dire des remblais surchargés ayant été déplacés) cultivés par du mélilot pouvaient accentuer ou diminuer la production de sélénium. Les résultats ont démontré que si l'on renforçait les modifications des boues, le niveau de sélénium des plantes diminuait de manière considérable. On pense que ce sont des modifications de caractéristiques chimiques et physiques des remblais qui ont été à l'origine de la diminution de la bio-disponibilité ; et ceci malgré le fait que les concentrations globales de sélénium dans les remblais à boues étaient plus importantes lorsqu'on augmentait les ajouts de boues effluentes [144].

* Effets des cultures rotatives sur la concentration en carbone (C) :

Il est nécessaire de vérifier les effets des différents systèmes de cultures sur les caractéristiques du sol, comme par exemple le taux de C, afin de pouvoir faire des projections plus précises à l'égard de l'émission de CO_2 par les sols cultivés. Cette information pourra ensuite être utilisée pour prévoir les effets des systèmes de cultures sur la dégradation, la conservation ou l'amélioration du sol et sur les changements de climat. L'observation a été faite sur une période de 8 ans à partir de 7 différents systèmes de culture :

- 3 systèmes de monoculture :
  - céréales
  - soja
  - sorgho
- 2 avec une rotation de 2 ans :
  - céréales - soja
  - sorgho - soja

- 2 avec une rotation de 4 ans :
  - céréales - avoine + mélilot - sorgho - soja
  - céréales - soja - sorgho - avoine + mélilot

Des échantillons du sol ont été prélevés au printemps 1984 et 1992 à une profondeur de 30 cm avec des paliers de 0 à 7,5 cm ; 7,5 à 15 cm ; 15 à 30 cm.

En 1984 , aucune différence n'a été constatée.

En 1992, dans les systèmes de rotation, le C est retenu de 10 à 20 $g/m^2/an$. Ce stockage plus important de carbone dans le sol pourrait signifier que les émissions de CO_2 des sols cultivés pourraient être diminuées si l'on améliorait la gestion. A long terme, il pourrait y avoir une influence significative sur le CO_2 dans l'atmosphère [145].

4. EN USAGE ALIMENTAIRE

Les racines de *Melilotus officinalis* auraient été consommées par les Kalmouks.

Les jeunes feuilles peuvent être mangées crues, de préférence avant que la plante ne commence à fleurir. Elles sont un peu amères et aromatiques : on pourra en ajouter de petites quantités aux salades.

Les feuilles, mais surtout les fleurs, dégagent en séchant une odeur suave rappelant la vanille. On en fait un thé agréable et on peut s'en servir pour aromatiser divers plats sucrés.

En Suisse, on utilise les fleurs et les graines du mélilot pour parfumer le fromage de gruyère.

Les graines peuvent servir d'épices [146].

On utilise dans certains pays pour parfumer le tabac (en Asie par exemple) le mélilot réduit en poudre [49].

D'après Valmont de Bomare, il suffisait d'introduire une petite quantité de mélilot dans le corps d'un lapin de clapier fraîchement tué et vidé, pour donner à la chair la saveur des meilleurs lapins de garenne [1].

5. CONCLUSION

On peut encore citer divers emplois très variés.

Dans certains pays, on en met dans des bouquets ou des sachets dans les lainages, les pelleteries, pour en éloigner les mites et autres insectes destructeurs. On a essayé de tirer des fibres textiles à partir des tiges mais l'opération n'est pas rentable [1].

Le mélilot fermenté est employé pour tuer les rats et les souris par hémorragie interne [146]. Cette action est possible par la propriété anticoagulante du dicoumarol. C'est d'ailleurs à la découverte de phénomènes d'intoxications observés chez le bétail au début du siècle au Canada que l'on a porté un intérêt accru au mélilot.

En effet, on s'est aperçu que le mélilot provoquait parfois l'apparition de sévères hémorragies chez le bétail. Dès 1922, les chercheurs ont su relier la maladie à la plante : c'était « la maladie du mélilot gâté ».

TOXICOLOGIE

A - TOXICITE DU MELILOT A L'ETAT FRAIS

B - TOXICITE DU MELILOT GATE

Pour étudier la toxicité du mélilot, il faut distinguer le mélilot à l'état frais et le mélilot gâté.

A. TOXICITE DU MELILOT A L'ETAT FRAIS

1. TOXICITE AIGUE

La DL50 chez la souris d'un extrait de mélilot est de 196 mg/kg en injectable. La toxicité se manifeste par une dépression et une atteinte hépatique [147].

Chez le cobaye, la DL50 est de 202 mg/kg et entraîne dépression, ataxie et une irritation sévère du tractus gastro-intestinal [148].

2. HEPATOTOXICITE

La coumarine entraîne une réduction de l'activité microsomiale de la glucose-6-phosphatase et une augmentation de l'activité cytoplasmique de la glucose-6-phosphatase déshydrogénase et une élévation des taux sériques de glucose oxydase transférase et glucose phosphatase transférase [149] [150].

Quand les microsomes hépatiques ont été traités au cours d'une expérience *in vitro* [151] par la coumarine ou des dihydroxycoumarines, la glucose-6-phosphatase n'était pas affectée. Par contre, on a observé une inhibition enzymatique à la suite d'un traitement par l'acide *o*-hydroxyphénylacétique. On peut penser que l'action hépatotoxique est due à l'un de ses métabolites à savoir l'acide *o*-hydroxyphénylacétique.

Des travaux ont été effectués sur le babouin dont le mode de métabolisme de la coumarine a été défini comme étant voisin de celui de l'homme. Il a été montré que la coumarine ne produisait des dommages histologiques du foie chez le babouin qu'au bout de 2 ans et à une dose de 67,5 mg/kg/jour. Il n'a pas été établi avec certitude qui, d'entre la coumarine ou de ses métabolites, était responsable de l'effet hépatotoxique [152].

3. CARCINOGENICITE

Suivant les recherches, les avis sont partagés. EVANS et ses collaborateurs n'ont observé aucune manifestation de tumeurs malignes au niveau hépatique mais des cholangiofibroses [153].

Or, les cellules péritonéales de rats traités par la coumarine aux doses de 60 mg/kg et mises en culture se développent en colonie au bout de 7 jours. Dans cette expérience, la carcinogénicité de la coumarine chez le rat est prouvée par l'observation de colonies géantes [154].

4. TERATOGENICITE

Aucune malformation n'a été observée chez les jeunes souriceaux. Mais il y a augmentation de la mortalité à la naissance et des retards à l'ossification. La mortalité augmente au delà de 3 semaines de vie [155].

L'administration par voie orale ou injectable de coumarine-rutine chez le rat [156], le lapin [157] et chez le mini-porc [158] n'induit aucun effet embryotoxique, foetotoxique ou tératogène quelle que soit l'espèce considérée et la dose administrée.

B. TOXICITE DU MELILOT GATE

L'intérêt porté à cette Légumineuse s'est brusquement accru à la suite de la constatation d'étranges phénomènes d'intoxications observés au début du siècle au Canada.

En effet, le mélilot est une plante fourragère qui pousse volontiers dans les pâturages, les friches, au bord des chemins dans l'hémisphère Nord. Or, on s'aperçut que parfois le fourrage obtenu provoquait l'apparition de sévères hémorragies chez le bétail. Dès 1922, on sut relier la maladie à la plante : c'était « la

maladie du mélilot gâté ». Très vite, des chercheurs nord-américains ont reconnu à partir de l'inventaire chimique de la plante la substance responsable [3].

1. FAITS HISTORIQUES SUR LE MELILOT GATE

La découverte que le mélilot poussait sur un sol pauvre révolutionna l'agriculture au début du siècle. Ainsi, au Canada et dans les plaines du Dakota, le mélilot a remplacé le blé sur des zones où la culture était difficile [159].

C'est en 1921-1922 que les vétérinaires ont rapporté des cas d'une mystérieuse maladie qui frappait le bétail de certaines régions tempérées des Etats-Unis. Cette étrange épidémie se manifestait par des accidents hémorragiques d'importance variable qui touchaient des animaux apparemment en pleine santé [160].

En 1924, une étude minutieuse des causes de cette maladie réalisée par Schofield finit par faire accuser le fourrage de deux espèces de mélilot : *Melilotus alba* et *Melilotus officinalis*. Ces Légumineuses, coupées et séchées dans des conditions incorrectes, étaient envahies par des moisissures : c'est pourquoi on a parlé de la « maladie du mélilot gâté » [159] [160].

Roderick s'est alors concentré sur les troubles de la coagulation sanguine causés et observa une réduction du taux de prothrombine dans le plasma [159].

Des chercheurs américains établirent la relation entre les accidents observés et la présence de coumarine qui, en elle-même, est dépourvue de toxicité. Mais une espèce de mélilot dépourvue de coumarine, *Melilotus dentata*, ne provoque pas d'hémorragies lorsqu'il est gâté. Par contre, une luzerne imparfaitement séchée, additionnée de coumarine et mise en tas, provoque ensuite des accidents chez le bétail [160].

En 1939, Campbell et Link, ont identifié l'agent responsable de l'hémorragie : le dicoumarol [159].

2. ETUDE DE L'AGENT RESPONSABLE

2.1. Isolation et cristallisation

En 1939, CAMPBELL fait la première observation de cristaux de l'agent responsable au microscope. Selon lui, la substance à l'origine de cette activité hémorragique du mélilot gâté peut être isolée aussi bien à partir de foin gâté de façon expérimentale qu'à partir de celui recueilli naturellement.

La molécule responsable possède la formule $C_{19}H_{12}O_6$. Elle est optiquement négative. Il y a 2 hydroxyles acides dans la formule. L'acidité de la substance est due aux phénols et aux acides carboxyliques. Cette substance a une faible solubilité dans les solvants organiques.

Il arrive à en isoler juste assez pour faire un test sur un lapin afin de déterminer l'influence de cet agent sur le taux de prothrombine. Or, l'expérience montre que 1,5 mg de l'agent cristallisé provoque approximativement la même diminution du taux de prothrombine que 50 g d'échantillon de foin gâté [161].

2.2. Identification et synthèse

C'est STAHMANN qui sera capable d'isoler une quantité suffisante pour réaliser des tests biologiques et de déterminer chimiquement cette molécule [162].

Les travaux ont montré qu'au cours d'un stockage défectueux, avec échauffement en atmosphère humide, la coumarine se transforme en dicoumarol suite à un doublement de la molécule en méthylène bis 3, 3'. Le mécanisme de sa formation dans la plante n'est pas bien connu [3]. Selon GRIMINGER (1987), Scofield pensait que le dicoumarol était produit à partir de la coumarine par un champignon qui se développait sur la plante [163]. Cette notion se retrouve de nos jours : selon BRUNETON, c'est une contamination fongique qui produit le toxique [164]. Et pourtant, pour PARIS et MOYSE, le mécanisme de formation dans la plante ne semble pas d'origine fongique [62].

2.3. Mode d'action du dicoumarol

En 1942, OVERMAN et ses collaborateurs ont démontré que les lapins ayant une alimentation orale limitée développent une hypoprothrombinémie quand le dicoumarol est injecté par voie intraveineuse ou donné à fortes doses [165].

D'importantes recherches ont montré que le produit agit au niveau du foie : il s'oppose à l'action des vitamines K, normalement présentes dans la ration alimentaire et synthétisées aussi par les bactéries de l'intestin. De la sorte, certains facteurs indispensables à la coagulation sanguine, la prothrombine en particulier, ne peuvent plus être produits par le foie en quantité suffisante, d'où des troubles graves de la coagulation et des accidents hémorragiques [160].

Le dicoumarol a donc une action anticoagulante par mécanisme indirect qui peut varier selon des conditions affectant l'absorption intestinale et l'activité hépatique.

2.4. Mise à profit de ce composé

Ainsi s'ouvrait une voie de recherche passionnante autour de ce modèle de molécule qui a pris beaucoup d'importance du fait de son action pharmacologique. On sait en effet que le dicoumarol a donné lieu à la mise au point de bon nombre de substances à visée thérapeutique ou toxique (raticides) [3].

L'effet anticoagulant pouvait être mis à profit, sous son aspect agressif, dans la lutte contre les rats. On sait en effet que ces rongeurs, qui sont poussés par leur appétit forcené à une perpétuelle quête d'aliments, se blessent fréquemment ; rendre leur sang incoagulable, c'est donc les condamner à mort.

A l'inverse, puissamment anticoagulante, cette nouvelle substance passionna aussitôt les chimistes qui se mirent à la synthétiser et à la modifier pour l'améliorer. On découvrait alors divers médicaments anticoagulants, abondamment utilisés pour la prévention des accidents vasculaires tels que thromboses et embolies [160].

3. LA « MALADIE DU MELILOT GATE »

3.1. Fréquence

Cette intoxication par le mélilot est surtout signalée en Amérique du Nord où l'on cultive beaucoup cette plante comme fourrage artificiel. Cette maladie a jeté un certain discrédit sur ce végétal ; il s'en est suivi tout naturellement une réduction de fréquence des cas morbides. Des pertes sensibles peuvent être enregistrées lorsque les animaux sont castrés ou décornés.

La maladie peut se produire dans toutes les espèces, mais c'est chez les bovins qu'elle est la plus courante. Les perturbations débutent chez l'agneau et le veau lorsque l'ingestion de dicoumarol dépasse 2 mg par kilogramme de poids [166].

3.2. Conditions d'apparition

Il est difficile de réussir du bon foin de mélilot sans développement de moisissures car la plante est succulente, les pieds en sont touffus et les altérations possibles sont directement proportionnelles au contenu en humidité du végétal fauché. Le pâturage du champ en vert n'est aucunement dangereux, mais c'est dans le foin moisi que l'on a découvert le dicoumarol. Les signes cliniques peuvent apparaître sans intervention de cause précipitante, mais le plus souvent, c'est un traumatisme chirurgical ou accidentel qui déclenche les hémorragies et la mort.

Les veaux nouveau-nés peuvent périr de la maladie au cours des premiers jours de leur vie lorsque les mères ont ingéré du foin toxique sans en être elles-mêmes indisposées pour autant [166].

3.3. Symptômes

Le premier signe d'intoxication chez l'animal est un saignement au niveau

des narines. Cet animal peut être facilement reconnu par l'odeur de dicoumarol qu'il dégage. Dans la majorité des cas, la bête meurt 3 ou 4 jours après l'ingestion [54].

Du fait de la carence en prothrombine, la coagulation est impossible, le bétail est sujet à des hémorragies internes et externes provoquant une anémie grave. Les extravasions importantes de sang dans les tissus peuvent entraîner des signes secondaires par la pression qu'elles exercent sur les organes internes.

Les hémorragies étendues, dans les tissus sous-cutanés, les plans intermusculaires et sous les séreuses entraînent de la gêne. Elles peuvent être visibles et palpables, ou chaudes et crépitantes, mais elles ne sont pas douloureuses. Elles peuvent entraîner de la raideur et un refus de se mouvoir. Il n'y a pas de symptômes de toxémie, les bêtes continuent à bien s'alimenter, la température, la respiration et le cœur restent normaux jusqu'aux derniers stades.

Les plaies accidentelles et chirurgicales entraînent des saignements importants, mais il est rare que les muqueuses saignent au point que le sang sorte par les orifices naturels, exception faite de l'hémorragie nasale.

Lorsque la perte en sang total est grave, les signes d'anémie hémorragique apparaissent. L'animal est faible, ses muqueuses sont pâles, son cœur s'accélère et l'intensité absolue de ses bruits cardiaques augmente notablement [166].

3.4. Examens de laboratoire

Une anémie marquée avec augmentation importante du temps de coagulation et diminution du taux de prothrombine sont caractéristiques de la maladie. L'allongement du temps de saignement se produit avant l'allongement du temps de coagulation, il peut donc constituer un résultat ayant une valeur pronostique [166].

3.5. Diagnostic différentiel

Un syndrome similaire a été signalé après intoxication par certaines

moisissures qui prolifèrent par les denrées alimentaires. Des épanchements sanguins importants se produisent également sous la peau dans le purpura hémorragique, mais cette maladie est rare, chez le cheval excepté, et elle touche rarement plus d'un sujet dans un groupe d'animaux. La coagulation et le temps de prothrombine ne sont pas modifiés, l'anomalie étant surtout d'ordre vasculaire [166].

3.6. Traitement

L'emploi alimentaire du foin toxique doit être arrêté immédiatement, mais les cas de maladie continuent à se manifester environ encore 4 jours après, à moins que des mesures n'aient été prises pour corriger la carence en prothrombine. La vitamine K est un bon antidote à l'intoxication par le mélilot, mais il faut la donner en grandes quantités du fait de l'effet antagoniste du dicoumarol présent dans le sang et le tube digestif. Le traitement le plus efficace repose sur une transfusion de sang total ou de sang défibriné en prenant garde à ce que le donneur n'ait pas été lui-même nourri avec le foin toxique. Le sang défibriné peut être préparé en recueillant le sang dans une bouteille renfermant des billes de verre stériles et que l'on secoue vigoureusement pendant la récolte. 4 à 8 litres sont suffisants, mais si l'animal est très gravement atteint et présente de l'anémie, une dose de 9 ml par kilogramme de poids pourra être préférée [166].

3.7. Prophylaxie

Le foin de mélilot doit être soigneusement préparé ; il doit être rejeté de la consommation s'il est moisi. Le mélange d'une partie de foin moisi avec deux parties de foin sain est considéré comme donnant toute sécurité [166].

3.8. Conclusion

L'intoxication par le mélilot est due à l'ingestion du foin de cette plante

lorsqu'il est moisi, car à ce moment il contient du dicoumarol. La maladie se caractérise par des hémorragies étendues aux tissus et de graves pertes sanguines après blessure accidentelle ou chirurgicale [166].

On a pu constater des cas d'intoxications humaines avec le dicoumarol. En effet, d'après BRUNETON, Hogan en 1983 aurait observé des troubles de la coagulation chez une jeune femme qui utilisait régulièrement une préparation à base de 3 plantes : *Dipteryx odorata, Melilotus officinalis* et *Gallium odoratum*. Ces plantes sont connues pour contenir de la coumarine et sans doute elles sont liées à l'apparition des saignements mineurs observés [164].

Les cas d'intoxication humaine causée par l'ingestion de dicoumarol sont caractérisés par des hémorragies répandues, des hémoptysies, des hématuries, des selles sanguinolentes et des hémorragies à différents organes et articulations [54].

4. ESSAIS POUR LA CONSERVATION DU MELILOT

Des chercheurs ont pensé à produire un mélilot à faible teneur en coumarine pour éviter l'apparition de dicoumarol dans le fourrage de mélilot [162]. Cependant la quantité de coumarine convertie en agent hémorragique est de 0,0026% (par rapport à la matière sèche) pour une teneur totale finale en coumarine de 0,75 à 1, 58% dans le foin gâté.

La réduction du taux de coumarine par sélection de plants offre la possibilité d'améliorer la sapidité et de réduire les risques économiques associés à la nourriture par le foin de mélilot. Mais, vu la petite quantité réellement en cause dans la formation de dicoumarol : aucune qualité de mélilot sélectionné pour leur contenu coumarinique n'a pu fournir des taux désirés en coumarine.

CONCLUSION

Il s'est écoulé un long moment entre les observations et la détermination de l'agent responsable, le dicoumarol.

Il reste maintenant à éviter sa formation. Ce problème reste à ce jour sans réponse surtout que l'intérêt économique de cette découverte paraît aléatoire.

Ne serait-il pas plus simple de prendre un fourrage autre que le mélilot ?

CONCLUSION

Le mélilot est connu depuis fort longtemps, puisque les Anciens (Hippocrate, Théophraste et Dioscoride) en font déjà état.

Mais l'intérêt que l'on a pu lui porter s'est largement accru lors de la découverte des phénomènes d'intoxications que les chercheurs ont surnommé très vite, la « maladie du mélilot gâté ». La relation établie entre les symptômes observés et le composé responsable, le dicoumarol, a permis d'ouvrir une nouvelle voie pharmacologique, avec la classe des anticoagulants. On a là, un des nombreux exemples d'une molécule d'origine végétale, qui, en raison de ses propriétés physiologiques intéressantes, a servi ensuite de modèle pour des chimio-synthèses.

Malgré le grave risque de toxicité lorsqu'il est stocké dans des conditions défavorables, le mélilot est surtout connu aux Etats-Unis comme plante fourragère. A ce niveau, ne serait-il pas préférable d'utiliser une autre plante ?

Sa culture est faite dans le but d'enrichir le sol en azote. De plus, le mélilot convient tout à fait pour stabiliser les terres glissantes grâce à son système souterrain ou pour cultiver des terres pauvres.

En France, cette plante n'est pas utilisée pour la création de prairies, mais on la rencontre comme mauvaise herbe. C'est une des plantes sauvages la plus visitée par les abeilles, pour son contenu en pollen.

L'éventail des principes chimiques est assez vaste et confère à la plante des propriétés pharmacologiques variées justifiant ses emplois thérapeutiques. Ainsi, en usage interne, le mélilot est employé comme sédatif dans l'insomnie, l'angoisse, la nervosité, comme antispasmodique dans la digestion et dans la toux, comme

diurétique et antiseptique dans les affections urinaires et comme veinotonique dans les troubles circulatoires : varices, phlébites, thromboses, embolies. En usage externe, il est utilisé comme anti-inflammatoire dans les conjonctivites, les rhumatismes et comme cicatrisant au niveau des plaies.

On constate avec cette étude que le mélilot ne manque pas d'atouts en phytothérapie. Mais en fait, c'est surtout sous le nom d'une spécialité que cette plante est connue : il s'agit d'**ESBERIVEN FORT®**, largement prescrite par les médecins dans les cas d'insuffisance veineuse. Le mélilot contribue à lutter contre certains symptômes liés à la maladie veino-lymphatique par un allongement du temps de coagulation sans inhibition de la synthèse de la prothrombine et par une action stimulante du système lymphatique et du système macrophagique.

Son utilisation est également intéressante en homéopathie. C'est un remède pour les céphalées congestives et pulsatives avec crises hypertensives, le tout étant soulagé par des épistaxis ou toute autre hémorragie.

Finalement, on s'aperçoit que les plantes sont une vaste ressource de principes actifs utiles en thérapeutique. D'où l'intérêt immense que représente la phytochimie, surtout dans la découverte de molécules intéressantes. Le mélilot est un bon exemple de la dualité entre la phytopharmacie et la pharmacie de synthèse. Il en découle un intérêt accru pour cette plante surtout à une époque où la médecine par les plantes est de nouveau à l'ordre du jour .

Le mélilot mérite que l'on s'intéresse encore à lui, en effet, comme bien d'autres plantes, il n'a probablement pas révélé toutes ses potentialités.

BIBLIOGRAPHIE

PLANCHE DU MELILOT (page 10)

CRAMER E.
Flore d'Europe I : Plantes herbacées et sous-arbrisseaux.
Payot Lausanne, planche n°76.

1 - FOURNIER P.
Plantes médicinales et vénéneuses de France (tome 2).
Paul Lechevalier, 1948, 495-499.

2 - LECLERC H.
Précis de phytothérapie. Thérapeutique par les plantes françaises.
Masson, 1983, 220-223.

3 - DELAVEAU P.
Mélilot.
Actual. Pharm., 1984, **157**, 69.

4 - DELAVEAU P.
Histoire et renouveau des plantes médicinales.
Albin Michel, 1982, 251-252.

5 - GARNIER G., BEZANGER-BEAUQUESNE L., DEBRAUX G.
Ressources médicinales de la flore française (tome 2).
Vigot frères, 1961, 786-1511.

6 - EBERMARDT P.
Les plantes médicinales.
Paul Lechevalier, 1927, 60.

7 - DUJARDIN-BEAUMETZ G., EGASSE E.
Plantes médicinales indigènes et exotiques.
Octave Doin, 1889, 448-449.

8 - BONNIER G.
Flore complète de France (tome 3).
Delachaux et Niestlé, 1911, 27.

9 - GIRRE L.
Connaître et reconnaître les plantes médicinales.
Ouest-France, 1980, 213-216.

10 - GUIGNARD J.-L.
Botanique.
Masson, 1994, 50-175.

11 - ECHEVIN R.
Angiospermes : apétales et dialypétales.
Octave Doin, 1964, 37-90.

12 - CRÉTÉ P.
Précis de botanique (tome II).
Masson, 1965, 240-245.

13 - COSTE H.
Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes (tome I).
Albert Blanchard, 1990, 285-333.

14 - BONNIER G.
Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique.
Orlhac, 1934, 76.

15 - SALES F., HEDGE I.C.
Melilotus Miller (leguminosae) : typification and nomenclature.
Anales del Jardin Botanico de Madrid, 1993, **51**, 171-175.

16 - COUPLAN F., STYNER E.
Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques.
Delachaux et Niestlé, 1994, 105-106.

17 - CHIEJ R.
Les plantes médicinales.
Solar, 1982, 192.

18 - PELLERIN G.
Les plantes médicinales et leur exploitation.
Hachette, 1929, 79-80.

19 - TOMANOVA E.
Plantes sauvages.
Gründ, 1984, 108.

20 - STUART M.
Encyclopédie des herbes.
Atlas, 1981, 221.

21 - BONNIER G., DE LAYENS G.
Nouvelle flore.
Belin, 1986, 38-39.

22 - VAN TIEGHEM T.
Traité de botanique.
Librairie F. Savy, 1884, 364-377.

23 - ROMAGNESI H., WEILL J.
Fleurs sauvages de France et des régions limitrophes (tome 2).
Bordas, 1977, 162.

24 - AICHELE D.
Quelle est donc cette fleur ?
Fernand Nathan, 1975, 142.

25 - ROLET A., BOURET D.
Plantes médicinales. Culture et cueillette des plantes sauvages.
J.B. Baillière et fils, 1928, 25.

26 - FLUNCK H.
Herbes médicinales (3ème édition).
Delachaux et Niestlé, 1977, 81.

27 - Pharmacopée française X^{ème} édition.
Maison neuve, 1990

28 - CRAMER E.
Flore d'Europe I.
Copyright, 1968, 76.

29 - DE WIT H.
Les plantes du monde (tome I).
Hachette, 1963, 318.

30 - ROMBI M.
100 plantes médicinales.
Romart, 1991, 180-181.

31 - AKOPYAN G.O.
Vitamine E
Arm. SSR., 1972, **12**, 108-115.

32 - MUNNICH A., OGIER H., SAUDUBRAY J.-M.
Les vitamines.
Masson, 1987, 58.

33 - HARBORNE J.-B., BOULTER D., TURNER B.
Alkaloïds in the leguminosae.
Academic press, 1971, 612.

34 - GLASBY J.-S.
Encyclopedia of the alkaloïds.
Plenum Press, 1975, **2**, 1423.

35 - GUPTA A. K., GRASDALEN H.
A D-galacto-D-mannan from *Melilotus officinalis* seeds.
Carbohydr. Res., 1988, **173**, 159-168.

36 - WOERNER M., SCHREIER P.
Volatile constituents of sweet clover.
Z. Lebensm. - Unters. Forsch., 1990, **190**, 425-428.

37 - PARIS M., HURABIELLE M.
Matière médicale - Pharmacognosie (tome 1).
Masson, 1981, 77-139.

38 - GUIGNARD J.-L.
Biochimie végétale.
Masson, 1996, 125-239.

39 - KANG S. S., LIM C.H., LEE S. Y.
Soyasapogenols B and E from *Melilotus officinalis*.
Arch. Pharmacal. Res., 1987, **10**, 9-13.

40 - KANG S. S., LEE S. Y., LEE E. B.
Isolation of azukisaponin V possessing leucocyte migration inhibitory activity from *Melilotus officinalis*.
Saengyak Hakhoechi, 1987, **18**, 89-93.

41 - KANG S. S., WOO W. S.
Melilotigenin, a new sapogenin from *Melilotus officinalis*.
J. Nat. Prod., 1988, **51**, 335-8.

42 - DOMBROWICZ E., SWIATEK L., GURYN R., ZADERNOWSKI R.
Phenolic acids in herb *Melilotus officinalis*.
Pharmazie, 1991, **46**, 156-157.

43 - BRUNETON J.
Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes médicinales.
Technique et documentation Lavoisier, 1993, 229-294.

44 - TORCK M., BEZANGER-BEAUQUESNE L., PINKAS M.
Les flavonoïdes des Légumineuses : recherches sur les fleurs de *Cercis siliquastrum* L., *Onobrychis viciifolia*, Seop et *Melilotus alba* Desr.
Ann. Pharm. fr., 1969, **27**, 419-426.

45 - TORCK M., BEZANGER-BEAUQUESNE L., ROBELET A.
Recherches sur les flavonoïdes des Légumineuses : II. Etude pharmacologique.
Ann. Pharm. fr., 1971, **29**, 297-304.

46 - NICOLLIER G. F., THOMPSON A. C.
Phytotoxic compound from *Melilotus alba* (white sweet clover) and isolation and identification of two news flavonoïds.
J. Agr. Food. chem., 1982, **25**, 760-764.

47 - HARBORNE J. B.
The flavonoïds - Advances in research since 1980.
Chapman and hall, 1988, 316.

48 - ROMBI M.
Phytothérapie - Conseils et prescriptions.
Romart, 1994, 245-246.

49 - GEORGE S. C.
An aroma chemical profile.
Perfumer and flavorist, 1995, **20**, 23-34.

50 - MURRAY R. D. H., MENDEZ J., BROWN S. A.
The natural coumarins occurrence, chemistry and biochemistry.
J. Wiley and sons LDT, 1982, 702.

51 - LEBEAU P., JANOT M. M., GUILLOT M., VALETTE G., RAOUL Y., MORETTE A., CORRIEZ P., CHAIGNEAU M.
Traité de pharmacie chimique (tome 2).
Masson, 1956, 941-944.

52 - GUENTHER E.
The essential oils - Individual essential oils of the plant families.
Krieger, 1975, 659-666.

53 - SCHEPARIZ A. I., FLEISCHMAN R. A., CISLE J. H.
T.L.C. and spectral properties of certain lactones and related compounds.
J. Chromatogr., 1972, **69**, 411-415.

54 - HAMMOUDA F. M., RIZK A. M., SEIF EL NASR M. M., ABOU-YOUSSEF A. A., GHALEB H. A., MADKOUR M. K., PHOLAND A. E., WOOD G.
Flavonoïds and coumarins of *Melilotus*.
Phytotherapia, 1983, **54**, 249-259.

55 - MOORE T. A., HARTER M. L., SONG P. S.
Ultra-violet spectra of coumarins and psoralens.
J. Mol. Spectrosc., 1971, **40**, 144-157.

56 - TAN H. S. E., RITSCHELL W. A., SANDERS P. R.
Determination of coumarin and umbellferone mixtures in whole blood by spectrophotofluorometry.
J. Pharm. Sci., 1976, **65**, 30-32.

57 - BOURGAUD F., POUTARAUD A., GUCKERT A.
Extraction of coumarins from Plant Material (Leguminosae).
Phytochemical analysis, 1994, **5**, 127-132.

58 - LECLERC H.
Le Mélilot.
Revue de phytothérapie, 1955, **148**, 27-30.

59 - CAMPBELL H.A., LINK K.P.
The hemorragie sweet clover desease. Isolation and crystallisation of the hemorragic agent.
J. Biol. Chem., 1941, **138**, 21-33.

60 - PLANCHON G., COLLIN E.
Les drogues simples d'origine végétale (tome 2).
Octave Doin, 1896, 505.

61 - REUTTER L.
Traité de matière médicale et de chimie végétale.
J.B. Baillière et Fils, 1923, 900.

62 - PARIS R. , MOYSE H.
Matière médicale (tome 2).
Masson, 1981, 391-518.

63 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Experimentelle thrombophlebitis und deren therapeutische beeinflussung.
Arzneim Forsch, 1965, **15**, 901-903.

64 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T., PIUKOVICH I.
Die wirkung von rutin und cumarin auf den verlauf einer experimentellen thrombophlebitis.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1629-1630.

65 - FOLDI M. , BÖRCSÖK E., BEDALL F.K., RAHLFS V.W.
Die antiphlogistiche und ödemhemmende wirkung von coumarin aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1971, **21**, 2025-2030.

66 - BOLTON T., CASLEY-SMITH J.R.
An *in vitro* demonstration of proteolysis by macrophages and its increase with coumarin.
Experientia, 1975, **31**, 271-272.

67 - PILLER N.B.
The influence of coumarin on blood levels of radio labelled protein and radio labelled polyvinyl pyrrolidone in thermally injured rats.
Res. Exp. Med., 1976, **168**, 165-172.

68 - SZABO G., MAGYAR Z.
Mechanism of action of benzopyrones in experimental ascites.
Arzneim Forsch, 1977, **27**, 1064-1069.

69 - CASLEY-SMITH J.R., VINCENT A.H., PILLER N.B.
Semi complete versus partial veinus obstruction, with and without partial lymphatic obstruction and benzopyrone treatment.
Arzneim Forsch, 1979, **29**, 921-928.

70 - CASLEY-SMITH J.R., GAFFNEY R.M.
Excess plasma proteins as a cause of chronic inflammation and lymphoedema - Quantitative electron microscopy.
Journal Path., 1981, **133**, 243-272.

71 - KOVACH A.G.B., FOLDI M., KELLNER M., ERDELYI A., FEDINA L.
Die wirkung eines *Melilotus* extraktesund des reinen cumarins auf die blutversorgung des kopfes des koronargebietes und der hinteren extremität beim hunde.
Arzneim Forsch, 1960, **14**, 469-472.

72 - KOVACH A.G.B., HAMAR J., DORA E., MARTON I., KUNOS G., KUN E.
Die wirkung von cumarin aus *Melilotus officinalis* am kreislauf des hundes.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1630-1633.

73 - SHIMOMURA Y., TAKAORI S., SHIMAMOTO K.
Effects of Melilot extract on the increased capillary permeability and edema caused by phlogistic agents in the rabbit and rat.
Acta Med. Univ. Kyoto, 1965, **39**, 170-179.

74 - LAEMMEL E., STÜCKER O., PONS C., DEDIEU F., LEUTENEGGER E.
Etude de la perméabilité capillaire dans le muscle crémaster de souris.
Angéiologie, 1996, **48**, 51-61.

75 - WU N.Z., BALDWIN A.L.
Transient venular permeability increase and endothelial gap formation induced by histamine.
Am. J. Physiol., 1992, **262**, 1238-1247.

76 - LAUX V., SEIFFDE D.
Mediator - induced changes in macromolecular permeability in the rat mesenteric microcirculation.
Microvasc. Res., 1995, **49**, 117-133.

77 - FOLDI M. , VARGA L., ZOLTAN Ö.T.
Die wirkung des *Melilotus* präparates Esberiven auf die lymphströmung.
Arzneim Forsch, 1962, **16**, 99-102.

78 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Uber den wirkungsmechanismus eines *Melilotus* präparates.
Arzneim Forsch, 1965, **15**, 899-901.

79 - MISLIN H.
Die wirkung von cumarin aus *Melilotus officinalis* auf die funktion des lymphangions.
Arzneim Forsch, 1971, **21**, 852-853.

80 - STÜCKER O., PONS C., DUVERGER J.P., DEDIEU F., LEUTENEGGER E.
Evaluation *in vivo* en vidéo-microscopie de l'activité des lymphatiques collecteurs.
Phlébologie, 1997, **50**, 327-331.

81 - SHIMAMOTO K., TAKAORI S.
Pharmakologische untersuchungen mit einem *Melilotus* extrakt.
Arzneim Forsch, 1965, **15**, 897-899.

82 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Die wirkung von chlorpromazin auf die bedingte reflextätigkeit und die antagonistische wirkung von cumarin aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1619-1620.

83 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Die wirkung von isonicotinsäurehydrazid auf das zentralnervensystem und der anatagonismus zwischen dieser substanz und pyridoxin, pantothensäure sowie cumarin aus *Melilotus officinalis* bei ratten.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1620-1623.

84 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Das lernvermögen bei der experimentellen lymphogenen encephalopathie unter dem einflub von cumarin aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1614-1616.

85 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Die wirkung eines mangels an pantothensäure und pyridoxin auf funktion des zentralnervensystems und dessen beeinflussung durch cumarin aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1618-1619.

86 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Die unbedingte reflextätigkeit bei der experimentellen lymphogenen encephalopathie und deren therapeutische beeinflussung durch cumarin aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1623-1624.

87 - FOLDI M. , ZOLTAN Ö.T.
Experimentelle lymphostatische encephalopathie als folgeerscheinung einer cervikalen lymphangiothrombophlebitis und deren therapie mit cumarin aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1626-1628.

88 - SONKODI S.
Die abnahme der spontanen motilität bei der experimentellen lymphogenen encephalopathie und die protektive wirkung des cumarins aus *Melilotus officinalis*.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1617.

89 - ZOLTAN Ö.T., FOLDI M.
Die wirkung von cumarin aus *Melilotus officinalis* auf die krampfbereitschaft des zentralnervensystems von ratten und meerschweinchen.
Arzneim Forsch, 1970, **20**, 1625.

90 - SHANI J.
Hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum graecum* and *Lupinus termis* (Legiminosae) seeds and their major alkaloïds in alloxan diabetic and normal rats.
Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie.
(Heymans Institute of Pharmacology), 1974, **210**, 27-37.

91 - RITSCHELL W.A., ALCORN G.J., RITSCHELL-BEURLIN G.
Antipyretic and pharmacokinetic evaluation of coumarin in the rabbit after endotoxin administration.
Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1982, **4**, 407-411.

92 - RITSCHELL W.A., ALCORN G.J., RITSCHELL-BEURLIN G.
Therapeutic concentration of coumarin as antipyretic.
Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1984, **6**, 363-365.

93 - BRODERSEN R., KJAER A.
The antibacterial action and toxicity of some unsaturated lactones.
Acta Pharmacol. Toxicol., 1946, **2**, 109-120.

94 - GOTH A.
The antibacterial properties of dicoumarol.
Science, 1945, **101**, 383.

95 - ITO Y., KITAGAWA H.
Coumarin derivatives for medicinal purposes. Anthelmintic action.
J. Pharm. Soc. JPN, 1953, **73**, 107-110.

96 - NAKABAYASHI T., MIYAZAKI H., TOKORAYAMA T.
Coumarin derivatives. Anthelmintic action of methylhydroxy and methoxy derivatives.
J. Pharm. Soc. JPN, 1953, **73**, 565-568.

97 - SINGH L. SHARMA A.K., GILL R.
Effet of coumarin on the growth of three phytopathogenic fungi.
J. Sci. Res., 1981, **3**, 91-94.

98 - PABST H.W., KLEMM H.
Experimentelle untersuchungen zur wirkung von extracten aus *Melilotus officinalis,* L.
Med. Monatschrift, 1960, **14**, 589-591.

99 - SPILKOVA J., HUBIK J.
Biological effects of flavonoids.
Pharmazie, 1988, **17**, 1-9.

100 - ANTON R.
Flavonoids and traditional medecine.
Proj. Clin. Biol. Res., 1988, **280**, 423-439.

101 - BOILLOT R.
Action d'un mélange d'extrait de mélilot et de rutine sur les artères des membres inférieurs.
Thèse de Médecine, Paris, 1974.

102 - LANGUILLAT N.
Etude en double aveugle contre placebo de l'activité veinotonique d'ESBERIVEN : évolution de l'hémodynamique musculaire des membres inférieurs appréciée grâce au xénon 133.
Act. Méd. Int. Angiologie, 1989, **6**, 665-668.

103 - JOHNE H.O.
Experimentelle und klinische untersuchungen mit dem *melilotus* - präparat ESBERIVEN.
Arzneim Forsch, 1960, **14**, 473-474.

104 - BARTOS V., BRZEK V.
Die wirkung von ESBERIVEN FORTE auf die lymphströmung im ductus thoracicus des menschen.
Med. Klinik, 1970, **65**, 1701-1703.

105 - PECKING A., CLUZAN R., LOKIEC F., HACENE K.
Pharmacologie clinique du système lymphatique. Apport et résultat par une méthode isotopique.
Boots - Dacour, 1984, 157-165.

106 - DEBUIGNE G.
Larousse des plantes qui guérissent.
Librairie Larousse, 1974, 163.

107 - MOATTI R.
Utiliser les plantes médicinales à bon escient.
Albin Michel S.A., 1990, 21-23.

108 - POITOUT V.
ESBERIVEN FORT®.
Journal du Jeune Praticien, 1993, **292**, 1-3.

109 - PRIOLLET P.
Vers une prise en charge globale de l'insuffisance veineuse chronique.
Presse méd., 1994, **23**, 259-263.

110 - BLUME J., WUSTENBERG P.
Chronisch - venose insuffizienz.
Therapiewoche, 1996, **46**, 540-544.

111 - VANSCHEIDT W.
Pharmakotherapie bei chronisch - venoser insuffizienz unverzichtbar.
Prax. Mag. Med., 1992, **6**, 43-44.

112 - MOLLARD J.M., BOISSIER C.
Traitement médical de l'insuffisance veineuse chronique.
Rev. Prat., 1994, **44**, 763-768.

113 - Le dictionnaire VIDAL.
OVP, 1997.

114 - Le dictionnaire THERA des médicaments conseils.
S.E.M.P., 1997.

115 - CHEATLE T.R., SCURR J.H., COLERIDGE SMITH P.D.
Drug treatment of chronic venous insuffisiency and venous ulceration.
J.R. Soc. Med., 1991, **84**, 354-358.

116 - FAURON R., ROUX D.
La phytothérapie à l'officine.
Porphyre, 1940, 171-282.

117 - WEIHMAYR. T.
Bewegungsmangel kann das sitzen verleiden - Seine naturheilweisen :
Folge 7 : Hamorrhoiden.
Fortschr. med ., 1995, **113**, 14.

118 - HOLLMAN A.
Plants in cardiology.
Br. Heart. J., 1991, **66**, 181.

119 - CAUDRON A., FRANCK J., GEMU J.M.
Synoptique illustré des usages et formulations thérapeutiques des plantes.
Bailleul, 1991, 181.

120 - HALLARD F.
Phytothérapie.
Masson, 1988, 116-230.

121 - VALNET J.
Phytothérapie.
Maloine, 1976, 866.

122 - CAUDRON A.
Formulaire illustré de phytothérapie.
Ecoproduits, 1989, 8.

123 - RIVOLIER J., RIVOLIER C.
Secrets et vertus des plantes médicinales.
Sélection du Reader's Digest, 1977, 380-436.

124 - VAN HELLEMONT J.
Compendium de phytothérapie.
Médicales internationales, 1986, 250-251.

125 - GIRRE L.
La santé par les plantes.
Ouest-France, 1992, 16-17.

126 - VALNET J.
Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes.
Maloine, 1983, 537-538.

127 - DUPRAT H.
Traité de Matière Médicale Homéopathique.
J.B. Baillière et Fils, 1947, 950-952.

128 - BOERICKE W.
Pocket manual of homeopathie *Materia Medica*.
Boericke et Runyon, 1927, 427-428.

129 - CHARETTE G.
Précis d'homéopathie : la matière médicale pratique.
Balthazar Publications, 1980, 376.

130 - CLARKE J.H.
A dictionary of practical *Materia Medica* (Volume 2).
The homeopathie publishing company, 1925, 420-424.

131 - BINET C.
L'homéopathie pratique.
Dangles, 1972, 109-110.

132 - VOISIN H.
Matière médicale du praticien homéopathe.
Maloine, 1976, 788-790.

133 - MATTOS L.
Homéopathie et gynécologie.
Similia, 1987, 78-82.

134 - DEMARQUE D., JOUANNY J., POITEVIN B., SAINT-JEAN Y.
Pharmacologie et matière médicale homéopathique.
C.E.D.H., 1993, 267.

135 - HAARMANN H., REIMER R.
The H et R Book of Perfume (Volume 1).
Johnson, 1984, 110.

136 - PARRY E.J.
Parry's Cyclopedia of Perfumery.
Blakiston's Sons, 1925, 167-168.

137 - WELLS F ., BILLOT M.
Perfumery Technology : Art, Science, Industry.
Ellis H Horwood, 1981, 28.

138 - PROZOROVA T.A.
Developing lands under coal ash spoil heaps in Irtysh River area of Pavlodar Oblast.
Rastitel nye resursy, 1991, **27**, 10-19.

139 - GARDINER D.T.
Revegetation status of reclaimed adandoned mined land in western North Dakota.
Arid Soil Res. Rehabilitation, 1993, 7, 79-84.

140 - VARVEL G.E., PETERSON T.A.
Residual soil nitrogen as affected by continuous, two-year, and four-year crop rotation systems.
Agronomy journal, 1990, **82**, 958-962.

141 - VARVEL G.E., PETERSON T.A.
Nitrogen fertilizer recovery by corn in monoculture and rotation systems.
Agronomy journal, 1982, **5**, 935-938.

142 - CAMPBELL C.A., MOULIN A.P., BOWREN K.E., JANZEN H.H., TOWNLEY-SMITH L., BIEDERBECK V.O.
Effect of crop rotations on microbial biomass, specific respiratory activity and mineralizable nitrogen in a Black Chernozemie soil.
Can. J. Soil Sci., 1992, **72**, 417-427.

143 - FOSTER R.K.
Effect of tillage implement and date of sweet clover incorporation on available soil nitrogen and succeeding spring wheat yields.
Can. J. Plant Sci., 1990, **70**, 269-278.

144 - JOHNSON C.D., VANCE G.F., LEGG D.E.
Selenium in thick spike wheatgrass and yellow sweet clover grown on sludge-amended alkaline mine backfill.
Commu. Soil Sci. Plant Anal., 1994, **25**, 2117-2132.

145 - VARVEL G.E.
Rotation and nitrogen fertilization effects on changes in soil carbon and nitrogen.
Agronomy journal, 1994, **86**, 319-325.

146 - COUPLAN F.
Le Régal végétal. Plantes sauvages comestibles (Volume 1).
Equilibres, 1989, 179-180.

147 - KITAGAWA H., IWAKI R.
Coumarin derivatives for medicinal purpose. Pharmacological studies on coumarin derivatives having biological activity.
Yakugaku Zasshi, 1963, **83**, 1124-1128.

148 - JENNER P.M., HAGAN E.C., TAYLOR J.M., COOK E.L., FITZHUGH O.G.
Food flavourings, compounds of related structure . Acute oral toxycity.
Food Cosmet. Toxicol., 1964, **2**, 327-343.

149 - COHEN A.J.
Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their significance to man.
Food Cosmet. Toxicol, 1979, **17**, 277-289.

150 - LAKE B.G.
Investigation into the mechanism of coumarin induced hepatotoxicity in the rat.
Arch. Toxicol., Suppl. 7, 1984, 16-29.

151 - FEUER G., GOLDBERG L., GIBSON K.I.
Liver response tests. Coumarin metabolism in relation to the inhibition of rat liver glucose -6-phosphatase.
Food Cosmet. Toxicol, 1966, **4**, 157-167.

152 - EVANS J.G., GAUNT I.F., LAKE B.G.
Two year toxicity studies on coumarin in the baboon.
Toxicology, 1982, **2**, 100.

153 - EVANS J.G., LAKE B.G., CONNIND D.M.
The pathogenesis of coumarin induced cholangiofibrosis in the rat.
Toxicology, 1982, **2**, 100.

154 - NASHED H., BRENDEL M.
The peritoneal cell carcinogenicity test : testing coumarin.
Environ. Int., 1983, **9**, 33-38.

155 - ROLL R., BÄR F.
Effect of coumarin on pregnant mice.
Arzneim Forsch, 1967, **17**, 97-101.

156 - GROTE W., GUNTHER R .
Prüfung einer cumarin-rutin kombination auf teratogenität durch fetale skelettuntersuchungen.
Arzneim Forsch, 1971, **21**, 2016-2022.

157 - GROTE W., WEINMANN I.
Uberprüfung der wirkstoffe cumarin and rutin IM teratologischen versuch an kaninchen.
Arzneim Forsch, 1973, **23**, 1319-1320.

158 - GROTE W., SCHULZ L., DROMMER S., UBERSCHAR S., SCHAFER E.A.
Uberprüfung einer kombination der wirkstoffe cumarin und troxerutin auf embryotoxische und teratogene nebenwirkungen an göttinger miniaturschweinen.
Arzneim Forsch, 1977, **27**, 613-617.

159 - GOODMAN A., GILMAN L.S.
The pharmacological basis of therapeutics (6ème édition).
Macmillan Publishing Co., 1980, 1353.

160 - DELAVEAU P.
Plantes agressives et poisons végétaux.
Horizons de France, 1974, 191-192.

161 - CAMPBELL H.A., LINK K.P.
Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. The isolation and crystallization of the hemorrhagic agent.
J. Biol. Chem., 1941, **138**, 21-23.

162 - STAHMANN M.A., HUELNER C.F., LINK K.P.
Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. Identification and synthesis of the hemorrhagic agent.
J. Biol. Chem., 1941, **138**, 513-517.

163 - GRIMINGER P.
Vitamin K antagonists : the first fifty years.
J. Nutr., 1987, **117**, 1325-1329.

164 - BRUNETON J.
Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux.
Technique et documentation Lavoisier, 1996, 277.

165 - OVERMAN R.S., STAHMANN M.A., SULLIVAN W.R., HUEBNER C.F., CAMPBELL H.A., LINK K.P.
Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. The effect of 3,3' methylenebis (4-hydroxycoumarin) on the prothrombin time of the plasma of various animals.
J. Biol. Chem., 1942, **142**, 941-955.

166 - BLOOD D.C., HENDERSON J.A.
Médecine vétérinaire.
Vigot Frères, 1971, 912-913.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

PLAN 6

INTRODUCTION 12

GÉNÉRALITÉS

A. HISTORIQUE 15

B. PRESENTATION DE LA PLANTE 17

1. ETYMOLOGIE 17
2. SYNONYMES 17
3. NOMS VERNACULAIRES 18
4. DENOMINATIONS ETRANGERES 18

ÉTUDE BOTANIQUE

A. CLASSIFICATION 21

1. EMBRANCHEMENT : SPERMAPHYTES 22
2. SOUS-EMBRANCHEMENT : ANGIOSPERMES 22
3. CLASSE : DICOTYLEDONES 22
4. SOUS-CLASSE : DIALYPETALES 22
5. SERIE : CALICIFLORES 23
6. ORDRE : ROSALES 23
7. FAMILLE : LEGUMINEUSES 23
8. SOUS-FAMILLE : FABACEES 24
9. TRIBU : TRIFOLIEES 24
10. GENRE : *MELILOTUS* 25
11. ESPECE : *MELILOTUS OFFICINALIS* (L.) LAM 25
12. AUTRES ESPECES DE CE GENRE 26

B. ETUDE DE LA PLANTE 26

1. APPAREIL VEGETATIF 26
   1.1. Racine 26
   1.2. Tige 27
   1.3. Feuille 27
2. APPAREIL REPRODUCTEUR 28
   2.1. Inflorescence 28
   2.2. Fleurs 28
      2.2.1. Calice 29
      2.2.2. Corolle 30
      2.2.3. Androcée 31
      2.2.4. Gynécée 31
   2.3. Fruit et graines 32

3. OBTENTION DE LA PLANTE 33
3.1. Répartition géographique 33
3.2. Habitat 33
3.3. Culture 33
3.4. Récolte 34
4. CONFUSIONS POSSIBLES 34

C. ETUDE DE LA DROGUE 34

1. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE 35
2. DESCRIPTION HISTOLOGIQUE 35
2.1. Caractères microscopiques de la feuille 35
2.2. Caractères microscopiques de la tige 36
2.3. Caractères microscopiques de la drogue pulvérisée 36
3. IDENTIFICATION 36
4. ESSAIS 37
4.1. Eléments étrangers 37
4.2. Chromatographie 37
4.3. Perte à la dessiccation 38
4.4. Cendres totales 38
5. CONSERVATION 38

D. CONCLUSION 38

ÉTUDE CHIMIQUE

A. LES VITAMINES 41

1. VITAMINE C 41
2. VITAMINE E 41

B. LE COMPOSE AZOTE : LA TRIGONELLINE 42

C. LE D-GALACTO-D-MANNANE 42

1. ISOLATION ET PURIFICATION 43
2. STRUCTURE 43

D. LES COMPOSANTS VOLATILS 44

E. LES DERIVES TERPENIQUES : LES SAPONOSIDES 44

1. GENERALITES 44
1.1. Définition 44
1.2. Constitution chimique 45
1.3. Biogénèse 45
1.4. Propriétés physico-chimiques 47
2. LES SAPONOSIDES DE *MELILOTUS OFFICINALIS* 47
2.1. Soyasapogénols B et E 47
2.2. Azukisaponine V 47
2.3. Mélilotigénine 48

F. LES COMPOSES PHENOLIQUES 49

1. LES ACIDES PHENOLIQUES SIMPLES 49
1.1. Série cinnamique 50
1.2. Série benzoïque 51
1.3. Divers 52
2. LES FLAVONOÏDES 53
2.1. Généralités 53
2.1.1. Définition 53
2.1.2. Constitution chimique 53
2.1.2.1. Dérivés de la 2-phénylchromone 54
2.1.2.2. Dérivés de la 3-phénylchromone 55
2.1.2.3. Dérivés de la 2-phénylchromane 55
2.1.2.4. Dérivés de la 2--phénylbenzopyrilium 56
2.1.2.5. Dérivés de la 2--benzylidène coumaranone 56
2.1.3. Biogénèse 57
2.1.4. Propriétés physico-chimiques 59
2.1.5. Extraction 59
2.1.6. Caractérisation 59
2.2. Les flavonoïdes de *Melilotus officinalis* 60
3. LES ISOFLAVONOÏDES (LES PTEROCARPANES) 62
4. LA COUMARINE ET SES DERIVES 63
4.1. Introduction 63
4.2. Structure chimique de base 64
4.3. Répartition 65
4.4. Biogénèse de la coumarine 65
4.5. Propriétés physico-chimiques de la coumarine 66
4.6. Extraction de la coumarine 68
4.7. Inventaire des dérivés coumariniques de *Melilotus officinalis* 72
4.7.1. Le mélilotoside 73
4.7.2. Le mélilotol 74
4.7.3. La mélilotine ou dihydrocoumarine 74
4.7.4. l'acide mélilotique 75
4.7.5. Le coumarinate d'acide mélilotique 75
4.7.6. L'acide coumarique 76
4.7.7. Autres dérivés coumariniques : 76

G. AUTRES SUBSTANCES DE *MELILOTUS OFFICINALIS* 78

ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

A. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DE LA COUMARINE ET SES DERIVES 81

1. ACTION ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANTI-ŒDEMATEUSE 81
2. ACTION CARDIO-VASCULAIRE 84
2.1. Effet de la coumarine sur le cœur 84
2.2. Effet sur la perméabilité capillaire 85
2.3. Effet sur le système lymphatique 87
2.3.1. Augmentation du débit lymphatique 87
2.3.2. Stimulation du pompage lymphatique 88
2.3.3. Influence sur les cycles ouverture-fermeture des valves lymphatiques 89
3. ACTION SUR LA COAGULATION SANGUINE 91
4. ACTION SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL 92
4.1. Effet antagoniste de substances dépressives 92
4.2. Effet de la coumarine sur les encéphalopathies lymphogéniques 93
4.3. Effet antagoniste de la diminution de la motilité spontanée due au blocage lymphatique 94
4.4. Effet anticonvulsivant 94
5. ACTION SUR LA GLYCEMIE 95
5.1. Mode opératoire 95

5.2. Résultats 95
6. ACTION ANTIPYRETIQUE 96
7. ACTION ANTIBACTERIENNE 97
8. ACTION ANTHELMINTIQUE 97
9. ACTION TROPHIQUE 98

B. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES 98

C. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES HUMAINES D'UNE SPECIALITE ESBERIVEN FORT® 101

1. ACTION SUR LA VEINE 102
1.1. Amélioration du retour veineux 102
1.2. Augmentation du tonus veineux 103
2. ACTION SUR LE CAPILLAIRE 105
3. ACTION SUR LE SYSTEME LYMPHATIQUE 106
4. MECANISME D'ACTION 108

D. CONCLUSION 110

UTILISATIONS DU MELILOT

A. INDICATIONS THERAPEUTIQUES DU MELILOT 112

I. EN ALLOPATHIE 113

1. USAGE INTERNE 113
1.1. En cardiologie vasculaire 113
1.1.1. L'insuffisance veineuse 113
1.1.1.1. Physiopathologie de l'insuffisance veineuse 113
1.1.1.2. La prise en charge des insuffisants veineux 115
1.1.1.3. Les médicaments vasculoprotecteurs et veinotoniques 117
1.1.1.4. Les veinotoniques et vasculoprotecteurs à base de mélilot 118
*1.1.1.4.1. **ESBERIVEN FORT®** 118*
*1.1.1.4.2. **CYCLO 3 FORT crème®** 119*
*1.1.1.4.3. **VEINOSANE®** 119*
*1.1.1.4.4. **ARKOGELULES MELILOT®** 120*
*1.1.1.4.5. **VEINOFIT®** 122*
*1.1.1.4.6. **FLUXIVAL®** 123*
*1.1.1.4.7. **EFFIDOSE MELILOT®** 124*
*1.1.1.4.8. **SANTANE V3®** 125*
*1.1.1.4.9. **TISANE BORIBEL N°12®** 125*
1.1.2. Les hémorroïdes 126
1.1.2.1. Définition 126
1.1.2.2. Préparations phytothérapiques à base de mélilot 127
1.1.3. L'hypertension artérielle 127
1.1.3.1. Définition 127
1.1.3.2. Préparations phytothérapiques à base de mélilot 128
1.1.4. Les palpitations 129
1.1.4.1. Généralités 129
1.1.4.2. Tisane pour les palpitations contenant du mélilot 129
1.2. En gastro-entero-hépatologie 130

1.3. En pneumologie 130
1.3.1. La sinusite 130
1.3.2. La bronchite 131
1.4. En urologie 131
1.5. En gynécologie 132
1.6. En neurologie 133
1.7. En dermatologie 134
2. USAGE EXTERNE 135
2.1. Utilisation dans les affections des yeux 135
2.1.1. La conjonctivite et la blépharite 135
2.1.2. L'orgelet 136
2.1.3. L'irritation oculaire 136
2.2. Utilisation sur la peau 137
2.2.1. En emplâtres 137
2.2.2. En cataplasmes 138
2.2.3. En compresses chaudes 138
2.2.4. En lotions tièdes 138
2.2.5. En bains chauds 138

II. EN HOMEOPATHIE 138

1. GENERALITES 138
2. SOUCHE 139
2.1. Définition 139
2.2. Caractères 139
2.3. Identification 139
2.4. Essais 140
3. ACTION GENERALE 142
4. TOPOLOGIE 142
5. MODALITES 142
5.1. Aggravation 143
5.2. Amélioration 143
6. INDICATIONS CLINIQUES 143
6.1. Selon VOISIN (1976) 143
6.2. Selon BINET (1972) 145
6.3. Selon DUPRAT (1947) 145
6.4. Conclusion 146
7. COMPARAISONS DIFFERENTIELLES 146

III. CONCLUSION 147

B. AUTRES USAGES DU MELILOT 148

1. EN PHARMACIE COSMETIQUE 148
1.1. Crème au mélilot composée Avène 148
1.2. Crème antirougeurs protection été ou hiver Avène 149
1.3. Gouttes bleues Innoxa 150
1.4. Eau d'Aegypte Lehning 150
2. EN PARFUMERIE 152
3. EN AGRICULTURE 153
4. EN USAGE ALIMENTAIRE 157
5. CONCLUSION 158

TOXICOLOGIE

A. TOXICITE DU MELILOT A L'ETAT FRAIS 160

1. TOXICITE AIGUE 160
2. HEPATOTOXICITE 160
3. CARCINOGENICITE 161
4. TERATOGENICITE 161

B. TOXICITE DU MELILOT GATE 161

1. FAITS HISTORIQUES SUR LE MELILOT GATE 162
2. ETUDE DE L'AGENT RESPONSABLE 163
   2.1. Isolation et cristallisation 163
   2.2. Identification et synthèse 163
   2.3. Mode d'action du dicoumarol 164
   2.4. Mise à profit de ce composé 164
3. LA « MALADIE DU MELILOT GATE » 165
   3.1. Fréquence 165
   3.2. Conditions d'apparition 165
   3.3. Symptômes 165
   3.4. Examens de laboratoire 166
   3.5. Diagnostic différentiel 166
   3.6. Traitement 167
   3.7. Prophylaxie 167
   3.8. Conclusion 167
4. ESSAIS POUR LA CONSERVATION DU MELILOT 168

CONCLUSION 170

BIBLIOGRAPHIE 174

TABLE DES MATIERES 202

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

- d'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les moeurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 42

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

LISSAC Laetitia – Le mélilot officinal, *Melilotus officinalis* (L.) LAM. – 209 F. ; ill. ; tabl. ; 30 cm (Thèse : Pharm ; Limoges ; 1997).

Résumé :

Le mélilot officinal, *Melilotus officinalis* (L.) LAM., est une plante de la famille des Fabaceae (Légumineuses), répandue au bord des chemins, dans les décombres et les lieux cultivés; particulièrement sur les sols calcaires et graveleux.

Au plan chimique, le mélilot renferme des dérivés coumariniques, des flavanoïdes, des saponosides, des acides phénoliques simples et des vitamines. Sa richesse en coumarine a suscité, au plan pharmacologique, un grand nombre de travaux.

En médecine, ce sont les sommités fleuries de la plante qui sont utilisées pour ses actions sur les systèmes lymphatiques et veineux et comme antispasmodique, anti-inflammatoire, diurétique, antiseptique urinaire, sédatif et même en usage externe comme topique.

Ainsi, le mélilot trouve sa place en thérapeutique. Il contribue à lutter efficacement contre les troubles circulatoires d'origine veineuse, les insomnies, le nervosisme, les affections urinaires, les inflammations oculaires et les douleurs rhumatismales.

Par ailleurs, le mélilot est utilisé en cosmétologie, en parfumerie et même dans l'alimentation.

En agriculture, le mélilot sert de modèle dans différentes études (rotation de culture, fixation d'azote, de sélénium...).

Cependant, c'est une plante qui peut être dangereuse pour le bétail lorsqu'elle est avariée et mêlée au fourrage. Il s'agit de la « maladie du mélilot gâté » due à la formation de dicoumarol. Sa consommation provoque des hémorragies qui peuvent être fatales.

Malgré ce grave risque toxique, le mélilot est cultivé aux Etats-Unis comme plante fourragère.

Mots clés :

- *Melilotus officinalis*
- Légumineuses
- Coumarine

Jury :

Président : Monsieur A.CHULIA, Professeur de Pharmacognosie.
Juges : Madame D.ALLAIS, Maître de Conférences.
Madame C.BONFANTI-JAN, Pharmacien.