Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW
Directeur: Jean-Philippe Mayor • www.acw.admin.ch

La monarde fistuleuse, source naturelle de géraniol, d'acide rosmarinique et de flavonoïdes

C.-A. CARRON, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Centre des Fougères, 1964 Conthey
L. JAUNIN et A.-F. GROGG, Laboratoire Phytoressources, Institut Technologies du vivant, HES-SO Valais, 1950 Sion

E-mail: claude-alain.carron@acw.admin.ch
Tél. (+41) 27 34 53 539.

Résumé

Pour répondre à la demande de producteurs et d'industriels, un programme de recherche de sources naturelles de géraniol a débuté en 2001. La comparaison de trois espèces du genre nord-américain *Monarda* a permis de mettre en évidence les qualités du clone «Morden #3», un chémotype riche en géraniol (> 90%). Cet hybride triploïde développé par la Station de recherche de Morden (Manitoba, Canada) s'est révélé adapté aux conditions pédoclimatiques de la zone de montagne en Suisse. Il est rustique, a une bonne productivité en matière sèche (4-5 t/ha) et une teneur élevée en huile essentielle (3,5-6%). De récents travaux ont permis de caractériser partiellement et de quantifier l'extrait hydroalcoolique de la drogue contenue dans les feuilles. Celles-ci contiennent des dérivés de l'acide caféique, dont entre autres l'acide rosmarinique (1,7% dans les feuilles sèches) et des flavonoïdes.



Fig. 1. Monarda didyma «Bergamot» à fleurs rouges. ▷

Introduction

L'avenir des plantes médicinales et aromatiques alpines repose non seulement sur une valorisation de la flore indigène, mais également sur l'étude d'espèces nouvelles à cultiver. L'innovation et la diversification sont la garantie d'une production dynamique orientée vers le futur. Dans cet objectif, pour répondre à la demande de producteurs et d'industriels, un programme de recherche de plantes comme source naturelle de géraniol a débuté en 2001. Une approche a été la sélection au sein du genre thym (*Thymus vulgaris* L. et *Thynus pulegioides* L.) avec l'ambition de produire des hybrides de clones de ce chémotype. Un autre programme, qui fait l'objet de cette publication, a porté sur la recherche au sein du genre *Monarda* d'espèces ou de variétés riches en géraniol.

Le géraniol ($C_{10}H_{18}O$) est un alcool monoterpénique acyclique largement utilisé en parfumerie. Ses propriétés antiseptique, bactéricide, fongicide, insecticide et sédative sont reconnues. De nombreuses plantes contiennent du géraniol comme le palmarosa *(Cymbopogon martinii)*, les géraniums odorants *(Pelargonium graveolens)*, le thym vulgaire *(Thymus vulgaris* chémotype à géraniol), la rose de Damas *(Rosa damascena)*, la verveine odorante *(Lippia citriodora)*, la monarde fistuleuse à géraniol *(Monarda fistulosa* var. *menthaefolia* «sweet»). Parmi ces plantes, le genre *Monarda*, de par son origine nord-américaine, offre pour la zone de montagne les meilleures perspectives de développement agronomique.

L'objectif premier de cette étude était d'évaluer l'intérêt agronomique des diverses monardes pour une production en zone de montagne suisse, en particulier comme source naturelle de géraniol. Afin d'optimaliser la productivité et la qualité, l'effet de la fréquence de récoltes a été testé. La connaissance phytochimique a également été améliorée au travers de la caractérisation des polyphénols simples des parties aériennes.

Description du genre *Monarda*

La distribution géographique et climatique des monardes va des grandes plaines du Canada et des Etats-Unis (températures hivernales jusqu'à –40 °C) pour les espèces les plus rustiques (*M. fistulosa* et *M. didyma*) à la Californie et au Mexique (températures hivernales jusqu'à –17 °C) pour les espèces frileuses comme *M. citriodora*.

Les monardes sont des herbacées vivaces de la famille des lamiacées *(Lamiaceae)*. Elles sont largement utilisées en horticulture ornementale, en cuisine et en parfumerie. Plus de dix-neuf espèces sont répertoriées. Actuellement, un marché de niche existe en Suisse pour l'espèce *M. didyma*, uniquement pour les variétés à inflorescences rouge écarlate (fig. 1) dont les fleurs séchées utilisées en tisanerie et dans des sirops se négocient à plus de CHF 400.–/kg. En culture ornementale, les espèces les plus courantes sont *M. didyma, M. citriodora, M. fistulosa* et *M. punctata*.

Le genre *Monarda* doit son nom au botaniste espagnol Nicolas Monardes, qui l'a décrit au XVIe siècle. Les monardes étaient abondamment utilisées dans la médecine traditionnelle des Amérindiens. A la suite du célèbre épisode historique de la «Boston Tea Party» en 1773, les colons ont adopté *Monarda didyma* comme succédané du thé en raison de ses qualités organoleptiques particulières. Au cours de cette manifestation d'opposition, des cargaisons de thé furent jetées à la mer pour protester contre les taxes douanières imposées par les Britanniques. Les nombreux noms vernaculaires des monardes font généralement référence soit aux Amérindiens et à l'odeur de bergamote (thé d'Oswego, Indianernessel, bergamote sauvage, etc.), soit aux senteurs et aux qualités mellifères des monardes (Beebalm, Lemon balm, Goldmelisse, Horsemint,...).

Traditionnellement, les monardes étaient utilisées sous forme d'infusion par les Amérindiens, notamment ceux de la région d'Oswego (Illinois) en cas de fièvre, de toux, de bronchite, de crampes d'estomac et de morsures de serpent. Autrefois, elles remplaçaient la quinine (Sayre, 1917). Leurs feuilles étaient aussi consommées en salade; elles permettaient d'empêcher la prolifération bactérienne et fongique. De nos jours, la littérature mentionne les nombreuses propriétés médicinales et agroalimentaires des monardes: antiseptique, antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, anesthésiante, antioxydante, diurétique, vermifuge, carminative et sudorifique. Comme épice, la monarde parfume salades, viandes, fromages, boissons et thés (Teuscher *et al.*, 2005).

Matériel et méthodes

Sept lots de semences de trois espèces, provenant du Canada et d'Allemagne, ont été semés en février 2002 (deux provenances de *M. didyma*, trois de *M. fistulosa* et deux de *M. citriodora*). La plantation a eu lieu en mai 2002 sur la parcelle expérimentale d'Arbaz. L'objectif était d'évaluer l'intérêt agronomique des diverses monardes pour les Alpes suisses, en particulier comme source naturelle de géraniol. En 2003, un clone sélectionné à la Station de recherche de Morden (Manitoba, Canada) a été ajouté à l'essai. Contrairement aux autres obtentions, ce clone a été multiplié par boutures végétatives. Selon notre expérience, les boutures herbacées de tête de 3-5 cm de longueur et 2-3 étages de feuilles s'enracinent facilement en 15-20 jours, à l'étouffée, à 20-22 °C (fig. 2).

En 2004-2005, le but était de définir un itinéraire cultural adéquat pour obtenir le maximum de géraniol, notamment en considérant l'influence de deux ou trois récoltes annuelles sur la production en matière sèche en relation avec la dynamique saisonnière de l'huile essentielle.

Les travaux ACW se sont déroulés en deux phases (tabl.1):

- 2002-2003: comparaison variétale de trois espèces (*M. didyma, M. fistulosa* et *M. citriodora*) de diverses provenances.
- 2004-2005: étude du comportement agronomique d'un clone hybride de *Monarda fistulosa*, du chémotype recherché et définition de son itinéraire cultural en zone de montagne.
- Dès 2004, afin de compléter les connaissances phytochimiques sur ce clone, la caractérisation des polyphénols simples a été étudiée à l'HES-SO Valais (lire encadré en fin d'article). Cette étude visait à identifier et quantifier par épuisement certains acides phénylpropanoïques et certaines flavonoïdes afin de mettre en évidence les potentiels anti-radicalaire et anti-inflammatoire de la monarde fistuleuse.

Résultats et discussions

Comparaison d'espèces de monarde

Les premières observations agronomiques ont confirmé l'excellente vigueur des espèces *M. didyma* et *M. fistulosa* en zone de montagne; elles ont parfaitement

Tableau 1. Modalités des essais agronomiques à Arbaz, 2002-2003 et 2004-2005.

Essai ACW 2002-2003	
Site:	Arbaz (adret; alt. 920 m; pH 8; pente 20-25%)
Provenances/variétés:	*M. didyma* «*Red Bergamot*» (Richters, CAN) *M. didyma* «Bergamot» (Richters, CAN) *M. fistulosa* «Sow Natural» (Richters, CAN) *M. fistulosa* (Richters, CAN) *M. fistulosa* (Jelitto, D) *M. citriodora* (Richters, CAN), *M. citriodora* (Jelitto, D)
Ajouté en 2003:	*M. fistulosa* hybride, clone «Morden #3» (Purdue, CAN)
Semis:	27 février 2002
Plantation:	13 mai 2002
Surface:	201 m²
Densité:	30 cm x 70 cm; 4,7 plantes/m²
Récolte:	30 juin et 8 juillet 2003 19 septembre 2003 pour l'échantillon «Morden #3»
Analyses:	66 H.E par hydrodistillation (feuilles) 66 GC-FID, chromatographie en phase gazeuse (composition de l'H.E; Laboratoire ILIS, Bienne)
Essai ACW 2004-2005	
Site:	Arbaz
Cultivar:	clone «Morden #3»
Plantation:	26 mai 2004
Surface:	168 m²
Densité:	30 cm x 70 cm; 4,7 plantes/m²
Récolte:	en 2004: 14 septembre en 2005: variante 3 coupes: 24 mai, 26 juillet et 10 octobre en 2005: variante 2 coupes: 27 juin et 19 septembre
Analyses:	23 H.E par hydrodistillation (feuilles) 8 GC-FID, chromatographie en phase gazeuse (composition de l'H.E; Laboratoire ILIS, Bienne)



Fig. 2. Boutures herbacées enracinées en plaque multipots, prêtes pour la plantation au champ.

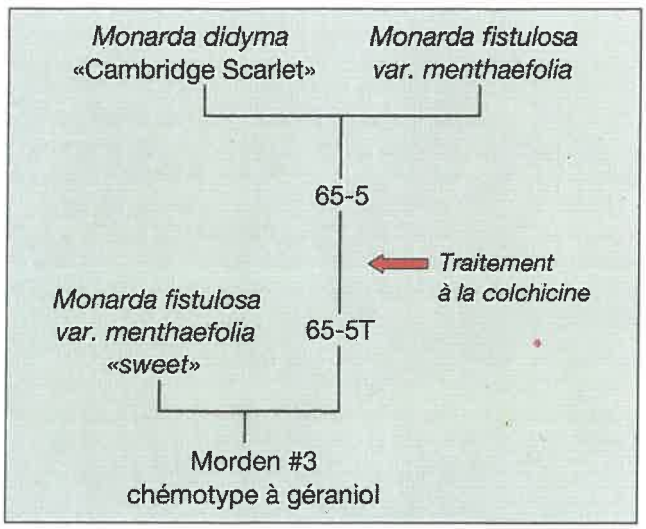

Fig. 3. Schéma de sélection de l'hybride triploïde de *Monarda fistulosa* «Morden #3» de l'Université de Purdue.

Tableau 2. Rendements et résultats analytiques de six espèces et variétés de monardes en seconde année de culture, Arbaz 2003. Moyennes sur dix plantes.

Espèce et variété	Poids sec g/m²	Huile essentielle (%)	Principaux composés des huiles essentielles (%)							
			1-octèn -3-Ol	α-terpinène	*para*-cymène	Terpinolène	Linalol	Thymol	Carvacrol	Géraniol	Sabinène
M. fistulosa Jelitto	489	3,2	3,3	2,3	14,7	3,8	< 0,1	0,7	64,2	< 0,1	< 0,1
M. fistulosa Richters	199	3,4	0,5	2,7	17,6	2,5	< 0,1	46,6	19,2	< 0,1	< 0,1
M. fistulosa Sow Natural	142	3,4	0,5	2,5	18,4	1,9	< 0,1	44,6	20,9	< 0,1	< 0,1
M. didyma Bergamot	288	2,2	2,3	1,5	18,0	7	21,5	10,6	10,2	< 0,1	5,7
M. didyma Red Bergamot	47	0,6	2,3	0,5	1,2	1,7	11,5	8,5	2,9	< 0,1	15,2
M. hybride «Morden #3»	–*	3,3	–	–	–	0,45	–	–	–	95,4	–

*Pas de données: plantation 2003, récolte d'un échantillon pour l'analyse.

supporté la rigueur de l'hiver 2002-2003, toute relative comparée au climat nord-américain. Par contre, l'espèce la plus thermophile *(M. citriodora)* a gelé à 100%. L'analyse individuelle de 66 plantes présentait une variabilité chémotypique intéressante mais exempte de géraniol. Les trois lots de *M. fistulosa* obtenus de semences présentaient une bonne teneur en huile essentielle (> 3%) «à dominante thymol et carvacrol». Les deux lots de *M. didyma* avaient une teneur plus faible en huile essentielle (respectivement 2,2 et 0,6%) avec un profil chimique plus nuancé contenant notamment du p-cymène, du linalol, du thymol, du carvacrol et du sabinène hydraté (tabl. 2). Selon la littérature, les parties aériennes de *M. fistulosa* peuvent contenir environ 3,5% d'huile essentielle composée principalement de géraniol (jusqu'à 95%), de thymol (jusqu'à 47%), de carvacrol (jusqu'à 64%) et/ou d'octèn-1-ol-3 (jusqu'à 3%), mais également d'autres monoterpènes tels que le α-terpinène (jusqu'à 3%), le p-cymène (jusqu'à 15%) et le terpinénol-4 (jusqu'à 4%; Johnson *et al.*, 1998).

En 2003, le clone hybride triploïde, issu d'un programme de sélection de l'Université horticole de Purdue (USA) à la Station de recherche de Morden (Manitoba, Canada), a été ajouté à la collection (fig. 3). Ce clone a immédiatement suscité de l'intérêt par son odeur de rose typique du géraniol et par sa bonne croissance. Finalement, il a été retenu pour la suite des travaux car il s'agissait du seul chémotype de l'essai riche en géraniol (tabl. 2 et 3). L'hybride «Morden #3» atteint 90 cm de hauteur. Ses tiges quadrangulaires sont cannelées, finement velues et robustes. Ses feuilles, de 4-7 cm de long, opposées,

Tableau 3. Influence de deux et trois récoltes annuelles sur le rendement en matière sèche, en huile essentielle et en géraniol des feuilles du clone *M. fistulosa* «Morden #3», Arbaz 2005: moyennes de quatre répétitions.

Variante	Date de récolte	Matière sèche (g/m²)	Feuille (%)	Huile essentielle (%)	Géraniol (%)
3 récoltes annuelles	24 mai	196	56,4	3,6	93,8
	26 juillet	229	71,4	6,4	92,7
	10 octobre	95	82,4	4,0	93,2
	cumul ou moyenne*	**520**	**67,7**	**5,0[b]**	**93,2**
2 récoltes annuelles	27 juin	358	54,6	5,6	93,0
	19 septembre	183	74,4	5,5	94,1
	cumul ou moyenne*	**541**	**61,3**	**5,6[a]**	**93,3**

*Moyenne pondérée.
Les petites lettres indiquent les différences significatives entre 2 et 3 récoltes (test de Tukey).



Fig. 4. Monarda fistulosa, hybride «Morden #3».



Fig. 5. Vue de la parcelle d'Arbaz, le 27 juin 2005, lors de la 1re récolte de la variante «2 coupes/an». Les 4 lignes de gauche montrent la repousse sur la variante «3 coupes/an», récoltée un mois plus tôt.

ovales à lancéolées, grossièrement dentées, se terminent en pointes. Ses fleurs sont regroupées en un à trois faux verticilles terminaux très florifères. Elles forment un petit capitule avec les bractées et les feuilles terminales (fig. 4).

Les qualités de ce clone sont attestées par une abondante littérature. Selon Mazza *et al.*, (1992), l'hydrodistillation sur les parties aériennes fraîches permet de récolter 1,17 g d'huile / 100 g de matière végétale à une teneur en géraniol de 92,6%. Ce rendement baisse lors de l'application d'un entraînement à vapeur (Mazza *et al.*, 1987) ou par hydrodiffusion (Simon *et al.*, 1986), mais la qualité reste constante (teneur en géraniol > 90%). Une étude (Chubey, 1982) a montré que les feuilles et les capitules contiennent plus d'huile essentielle, mais que l'huile essentielle des pétales et des hampes est plus riche en géraniol.

Monarde fistuleuse, clone «Morden #3»

Influence de la fréquence de récoltes

En 2004, première année de production, le rendement en matière sèche a été faible (61 g/m²). Par contre, la qualité exceptionnelle de ce clone s'est confirmée: 4,1% d'huile essentielle contenant 94,8% de géraniol.

En 2005, seconde année de culture, le rendement en matière sèche, avec un cumul des récoltes, s'est révélé satisfaisant (> 500 g/m²). Les variantes 2 et 3 récoltes donnent des rendements comparables (fig. 5). Malgré une différence non significative, le pourcentage en feuilles pures a été tendanciellement plus élevé dans la variante «3 récoltes/an» (tabl. 3). Cette variante est donc recommandée pour le marché de la tisanerie.

La teneur en huile essentielle a varié en cours de saison; elle est significativement plus élevée en été qu'au printemps ou à l'automne. Elle est également favorisée par le procédé 2 récoltes/an. Comme chez la mélisse (Carron *et al.*, 2004), une relation claire a été observée entre la température moyenne des jours précédant la récolte et la teneur en huile essentielle.

La teneur en géraniol est très stable au cours de la saison et n'est pas influencée par les procédés, ce qui est un avantage manifeste pour la production d'une huile essentielle bien caractérisée.

A l'instar d'autres monardes, cette espèce s'est révélée sensible à l'oïdium *(Erysiphe monardae)*, particulièrement à partir d'août lorsque les rosées sont plus abondantes. Des récoltes fréquentes ont permis de diminuer la pression de ce pathogène, car les feuilles

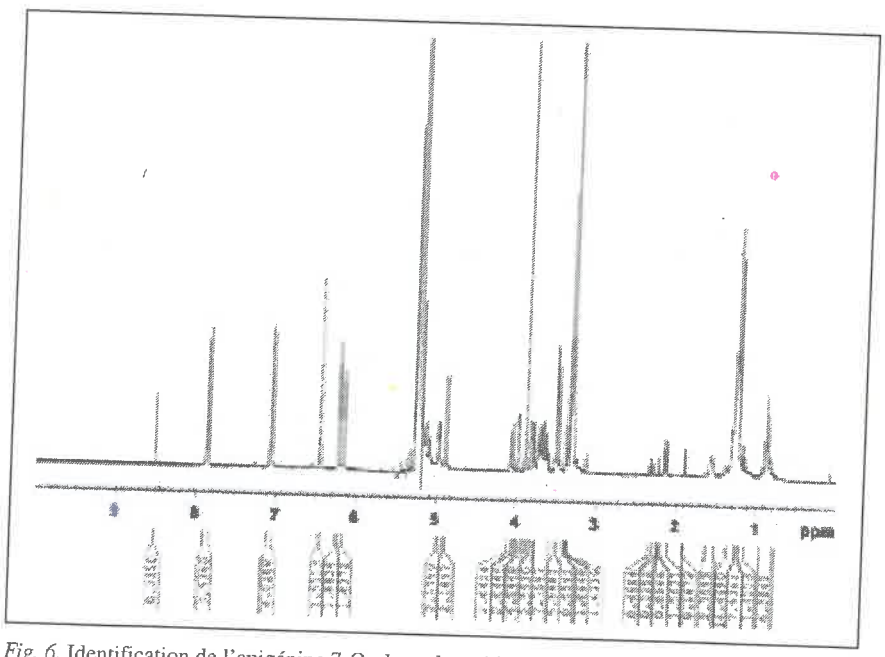

Fig. 6. Identification de l'apigénine 7-O-glycoglycoside dans les feuilles du clone *M. fistulosa* «Morden #3», Arbaz 2005, par ^{1}H-RMN.

âgées semblent être les plus sensibles. Dans les conditions climatiques de cet essai, l'oïdium n'a pas posé de problème. En revanche, les pieds-mères conservés en serre chaude ont été fortement attaqués.

Composition phytochimique

A l'exception des terpènes contenus dans l'huile essentielle, la composition phytochimique des parties aériennes de *M. fistulosa* est encore peu connue. L'analyse des flavonoïdes présents dans les pétales (Davies et Mazza, 1992) indique la présence de cinq anthocyanes, dont la pelargonidine 3,5-diglucoside acylée (acide coumarique ou malonique), et de flavones, dont l'apigénine 7-O-glucoside (fig. 6), la hydroxy-5 flavone et la dihydroxyflavone 8-C-glucosyle. La présence de linarine (acacétine 7-O-rutinoside) dans *M. didyma* a également été mise en évidence (Hörhammer *et al.*, 1970).

Outre la forte teneur en géraniol de l'huile essentielle du clone *M. fistulosa* «Morden #3», les feuilles sèches contiennent 1,7% d'acide rosmarinique, un puissant anti-radicalaire connu et au moins quatre flavonoïdes dont les parties aglycones sont l'apigénine (0,7% MS) et une forme 4'-méthoxy, l'acacétine (1,2% MS). Il est intéressant de constater que la forme méthoxy prédomine (tabl. 4-5).

Les oses constituant les hexodéoxyhexosides sont identifiés (tabl. 4), mais leurs liaisons glycosidiques dont celle avec l'aglycone nécessitent encore un développement complémentaire. Des travaux antérieurs (Hörhammer *et al.*, 1970) indiquent la présence d'acacétine 7-O-rutinoside (hydroxy-5 méthoxy-4' flavone 7-O-(6-O-α-L-rhamnosyl)-D-glucopyranose) dans *M. didyma*. Il semble donc raisonnable de retrouver la linarine dans la flavone 4 et d'attribuer à la flavone 3 l'isorhoifoline (dihydroxy-5,4' flavone 7-O-(6-O-α-L-rhamnosyl)-D-glucopyranose). La méthode des ajouts en chromatographie et la comparaison des spectres RMN ne contredisent pas cette affirmation. Les flavones 1 et 2 (tabl. 5) possèdent des oses de même nature; leur liaison glycosidique n'est pas encore identifiée.

La caractérisation des propriétés anti-radicalaire et anti-inflammatoire *in vitro* des extraits brut et raffiné (tabl. 6) est établie à partir de dosages standardisés. Les valeurs obtenues EC_{50}, respectivement IC_{50}, sont les concentrations en matière sèche produisant respectivement 50% de réaction et 50% d'inhibition. L'extrait brut hydroalcoolique de monarde fistuleuse par comparaison avec des extraits équivalents de plantes ne montre pas de propriété anti-radicalaire particulière, malgré une teneur initiale en acide rosmarinique de 1,7% dans les feuilles sèches. De même, l'extrait raffiné n'inhibe que faiblement les deux isoformes de la cyclo-oxygénase et la 15-lipoxygénase. Par comparaison avec des équivalents d'autres plantes, les inhibitions enzymatiques mesurées sont trop faibles pour une valorisation potentielle, quoique les inhibitions des enzymes intervenant dans l'inflammation n'aient été que partiellement quantifiés. Dans le dosage anti-radicalaire, la quantité d'acide phénylpropanoïque dans l'extrait est trop faible pour une bonne action, contrairement à d'autres espèces comme l'edelweiss ou la sarriette.

Les dosages anti-inflammatoires *in vitro* sont globaux et les mécanismes qui interviennent ne sont pas clairement connus.

Tableau 4. Identification de quelques polyphénols simples dans les feuilles du clone *M. fistulosa* «Morden #3», Arbaz 2004.

Polyphénols simples		HPLC-MS	
		RRT (-)	M⁻ (m/z)
acide rosmarinique		1,00	361,0
flavonoïde 1	hydroxy-5 méthoxy-4' flavone 7-O-rhamnorhamnoside	1,16	577,2
flavonoïde 2	trihydroxy-5,3',4' flavone 7-O-glucoglucoside	1,33	595,2
flavonoïde 3	dihydroxy-5,4' flavone 7-O-glycoglycoside	1,37	579,2
flavonoïde 4	hydroxy-5 méthoxy-4' flavone 7-O-glycoglycoside	1,57	593,2

	Aglycone	Oses constituant l'hexodéoxyhexoside
flavonoïde 1	acacétine	rhamnose/rhamnose
flavonoïde 2	apigénine	glucose/glucose
flavonoïde 3	apigénine	rhamnose/glucose
flavonoïde 4	acacétine	rhamnose/glucose

Tableau 5. Concentration de quelques polyphénols simples dans les feuilles du clone *M. fistulosa* «Morden #3», Arbaz 2004.

Polyphénols simples	Concentration (mg/kg MS)	Standard
acide rosmarinique	17 000	acide rosmarinique
acacétine 7-O-rhamnorhamnoside	8000	isorhoifoline
apigénine 7-O-glucoglucoside	1100	apigénine
apigénine 7-O-glycoglycoside	5800	apigénine
acacétine 7-O-glycoglycoside	3500	isorhoifoline

Tableau 6. Activités anti-radicalaire et anti-inflammatoire *in vitro* d'extraits de feuilles du clone *M. fistulosa* «Morden #3», Arbaz 2004.

	Activité anti-radicalaire	Activité anti-inflammatoire	
	$EC_{50,DPPH}$ (µgMS/ml)	$IC_{50,COXx}$ (µgMS/ml)	$IC_{50,15\text{-}LOX}$ (µgMS/ml)
extrait brut	20,1	9600	15 500
extrait raffiné	25,7	–	5100
Références			
acide rosmarinique	3,6		
indométacine		103	
acide caféique			0,9

EC_{50}: concentrations en matière sèche produisant 50% de réaction.
IC_{50}: concentrations en matière sèche produisant 50% d'inhibitions.

Conclusions

- Les espèces *Monarda didyma* et *Monarda fistulosa* sont adaptées aux conditions pédo-climatiques de l'étage collinéen des montagnes suisses.
- Le clone hybride *M. fistulosa* «Morden #3» est une source productive de géraniol.
- Le choix entre deux ou trois récoltes annuelles dépend du marché auquel est destinée la production: pour l'huile essentielle, de préférence 2 récoltes/an; pour la tisanerie, de préférence 3 récoltes/an.
- La teneur en acide rosmarinique et en flavonoïdes de type flavones (apigénine et acacétine) des feuilles du clone *M. fistulosa* «Morden #3» rend cet hybride intéressant dans l'isolation de ces phytoactifs.
- Malgré une forte teneur en flavonoïdes et une quantité intéressante d'acide rosmarinique, les extraits bruts et raffinés n'ont pas montré de propriétés anti-radicalaire et anti-inflammatoire suffisantes pour une valorisation potentielle.

Remerciements

Nous tenons à remercier tout particulièrement MM. Charly Rey, à l'origine de ce projet, Ivan Slacanin, du Laboratoire Ilis à Bienne pour la quantification du géraniol des huiles essentielles, Fabrice Micaux de l'Institut Technologies du vivant (HES-SO Valais) pour la réalisation des spectres RMN et leurs interprétations, Mmes Nadia Marcon de l'Institut Technologies du vivant (HES-SO Valais) pour les opérations complémentaires (en cours) de purification permettant la caractérisation absolue des flavonoïdes et Sarah Bouillant pour ses corrections et remarques.

Analyses et extraction des polyphénols simples

Analyses

Le premier système HPLC utilisé pour la quantification des composés phénoliques est un HP1090 Series II/L avec détecteur UV (Agilent Technologies; Palo Alto, CA, USA) et une colonne Nucleosil C18 200/4 5 µm (Macherey-Nagel, Düren, Allemagne).

Le second système utilisé est un HP Series 1100 équipé d'un détecteur UV Series 1100, d'un détecteur de masse MSD Series 1100 et une colonne Nucleosil C18 200/4 5 µm.

Les spectres RMN ^{1}H et ^{13}C sont mesurés sur un appareil UltraShield de 400 Mhz (Bruker, Rheinstetten, Allemagne) à 9,39 T (à une fréquence de 400,131 et 100,577 Mhz pour respectivement ^{1}H et ^{13}C). Les spectroscopies suivantes ont été effectuées: ^{1}H, ^{13}C et corrélation 2D ^{1}H-^{13}C.

L'activité anti-radicalaire est déterminée à partir d'une solution de DPPH (radical diphényl-2,2-picryl-1-hydrazyle; Fluka, St. Louis, MO, USA) à 40 mg/l dans du méthanol (Lavanchy, Prilly, Suisse) selon une procédure standard.

L'activité anti-inflammatoire est déterminée *in vitro* par inhibition enzymatique à partir de kits standardisés (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). Les inhibitions de la 15-lipoxygénase (15-LOX, kit 760700) et des cyclo-oxygénases (COXx, kit 560131) sont comparées aux valeurs obtenues avec les standards acide caféique (> 98%; Sigma-Aldrich, Saint-Louis, MO, USA) et indométacine (p.a.; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). La procédure mentionnée est strictement suivie.

Extraction

La drogue est broyée à 250 mm par découpe centrifuge par un broyeur ZM100 (Retsch, Haan, Allemagne), elle est extraite par une solution éthanolique à 30% dans un extracteur à haute pression ASE 200 (Dionex Corp., Sunnyvale, CA, USA) de manière standard; l'extrait est ensuite évaporé à sec dans un évaporateur rotatif Laborota 4011 (Heidolph, Kelheim, Allemagne) à 40 °C et jusqu'à 25 mbar, pour ensuite être stocké à 4 °C à l'abri de la lumière.

A l'extrait brut, après filtration sur 0,45 µm, est ajouté une quantité équivolumique de n-butanol (Merck, Darmstadt, Allemagne). Le mélange est agité manuellement pendant quelques minutes, puis l'éthanol vaporisé à 40 °C et 175 mbar jusqu'à épuisement du distillat. Le résidu obtenu comporte deux phases qui sont séparées et lavées par respectivement environ 20% des solvants engagés. La phase hydrophobe après concentration est l'extrait raffiné.

Les méthodes de purification (chromatographie préparative) permettant d'obtenir suffisamment de matériel pour les analyses par résonance magnétique nucléaire ne sont pas présentées.

Bibliographie

Carron C.-A., Rey C., Michel V. & Carlen C., 2004. Rapport d'activité 2004. Agroscope ACW. 58 p.

Chubey B., 1982. Geraniol-rich essential oil from *Monarda fistulosa* L. *Perfumer and Flavorist* **7** (3), 32-35.

Davies A. J. & Mazza G., 1992. Separation and characterization of anthocyanins of *Monarda fistulosa* by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**, 1341.

Hörhammer L., Aumhamm G. & Wagner H., 1970. Linarine from *Monarda didyma*. *Phytochemistry* **9** (4), 889.

Johnson H. A., Rogers L. L., Alkire M. L., McCloud T. G. & McLaughlin J. L., 1998. Bioactive monoterpenes from *Monarda fistulosa (Lamiaceae)*. *Natural Product Letters* **11**, 241-250.

Mazza G., Chubey & Kiehn F., 1987. Essential oil of *Monarda fistulosa* L. *var. menthaefolia*, a potential source of geraniol. *Flavour Fragrance Journal* **2**,129-132.

Mazza G., Kiehn F. & Marshall H. H., 1993. *Monarda:* A source of geraniol, linalool, thymol and carvacrol-rich essential oil. Adresse: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-628.html [24.02.2004]

Sayre L. E., 1917. A Manual of organic Matiera Medica and Pharmacognosy. Blakiston's Son & Co., Philadelphia, 535 p.

Simon D. Z., Beliveau J. & Aube C., 1986. Extraction by hydrodiffusion of the essential oil of *Monarda fistulosa* grown in the province of Quebec: assay of geraniol in the hydrodiffused oil. *International Journal of Crude Drug Research* **24**.120-122.

Teuscher E., Anton R. & Lobstein A., 2005. Plantes aromatiques. Tec & Doc. Paris, 522 p.

Summary

Monarda fistulosa, a natural source of geraniol, rosmarinic acid and flavonoids

To answer the requirements of producers and industry, a research programme aiming at finding natural sources of geraniol was initiated at the beginning of the years 2000. The comparison of three species within the northern American genus *Monarda* allowed to highlight the qualities of the clone «Morden #3», a geraniol chemotype (> 90%). This triploid hybrid developed by the research station Morden in Manitoba (Canada) showed its suitability to the pedo-climatic conditions in a Swiss mountain area: very good winter-hardiness, good dry material productivity (4-5 t/ha) and a high essential oil content (3.5-6%). Recent works allowed to partly characterise and quantify the hydro-alcoholic extract of the leaves. The leaves contain byproducts of cafeic acid, among others rosmarinic acid (1.7% in the leaves) and flavonoids.

Key words: rosmarinic acid, cutting frequency, flavonoids, geraniol, *Monarda didyma*.

Zusammenfassung

***Monarda fistulosa*, eine natürliche Quelle von Geraniol, Rosmarinsäure und Flavonoiden.**

Aufgrund der Anfragen der Produktion und der Industrie wurde vor einigen Jahren ist ein Projekt begonnen, um natürliches Geraniol in Pflanzen zu finden. Der Vergleich von drei Arten innerhalb der nordamerikanischen Art *Monarda* hat erlaubt, die Qualitäten des Klons «Morden #3», der sehr geraniolreich ist, hervorzuheben. Dieser triploide Hybrid, der durch die Forschungsstation von Morden in Manitoba (Kanada) entwickelt wurde, ist an die pédo-klimatischen Bedingungen des Berggebiets in der Schweiz angepasst: gute Winterhärte, gute Produktivität (4-5 t/ha) und hoher Gehalt an ätherischem Öl (3,5-6%). Phytochemische Arbeiten haben erlaubt, den hydroalkoholischen Extrakt der getrockneten Blätter teilweise zu charakterisieren und zu quantifizieren. Die Blätter enthalten Derivate der Kaffeesäure, darunter unter anderem die Rosmarinsäure (1,7% in den trockenen Blättern) und verschiedene Flavonoide.

Riassunto

La monarda fistulosa, fonte naturale di geraniolo, acido rosmarinico e di flavonoidi

Per rispondere alla domanda dei produttori e dell'industria, si è dato avvio, all'inizio degli anni 2000, un programma di ricerca allo scopo di ricercare fonti naturali di geraniolo. Il confronto fra tre specie in seno al genere nordamericano *Monarda* ha permesso di evidenziare le qualità del clone «Morden #3», un chemiotipo geraniolo (> 90%). Questo ibrido triploide, sviluppato dalla stazione di ricerca di Morden (Manitoba, Canada), si è rivelato adatto alle condizioni pedoclimatiche della zona di montagna in Svizzera: rusticità, buona produttività in materia secca (4-5 t/ha) e alto tenore in oli essenziali (3,5-6%). Recenti lavori hanno permesso di caratterizzare parzialmente e di quantificare l'estratto idroalcolico della droga. Le foglie contengono dei derivati dell'acido caffeico, tra i quali l'acido rosmarinico (1,7% nelle foglie secche) e dei flavonoidi.