

Clinopodium nepeta et *Clinopodium menthifolium* : potentiel agronomique et phytochimique de deux espèces de calaments

Claude-Alain CARRON¹, José VOUILLAMOZ¹ et Evelyn WOLFRAM²

¹Agroscope; 1964 Conthey; Suisse

²Zurich University of Applied Sciences, Department of Life Sciences and Facility, 8820 Wädenswil, Suisse

Renseignements: Claude-Alain Carron, e-mail: claude-alain.carron@agroscope.admin.ch, tél. +41 58 481 35 39, www.agroscope.ch

Introduction

Le calament népéta (*Clinopodium nepeta*) (fig. 1) et le calament à feuilles de menthe (*Clinopodium menthifolium*) (fig. 2) sont deux espèces herbacées, indigènes et vivaces de la famille des *Lamiaceae*, dont le parfum rappelle celui de la menthe. La *Flora Vegetativa* les distingue selon leurs senteurs: le calament népéta dégage une odeur de menthe, tandis que le calament à feuilles de menthe dégage une odeur douce et désagréable (Eggenberg et Möhl 2008). Cependant, la taxonomie des calaments n'est pas aisée. Les botanistes ont successivement attribué à ces deux taxons de nombreux synonymes de genres, d'espèces et de sous-espèces (tabl. 1).

Leurs aires de distribution naturelle couvrent l'Europe, à l'exception des zones les plus septentrionales, ainsi que l'Asie centrale et mineure et l'Afrique du Nord. Ils sont naturalisés en Amérique du Nord. En Suisse, on rencontre ces deux espèces xérophiles dans les forêts claires et dans les chemins de l'étage de végétation collinéen, voire montagnard pour le calament à feuilles de menthe.

Suite à l'étude de la littérature, la mise en culture de deux accessions commerciales de calaments a été testée, avec comme objectif d'évaluer leur comportement agronomique en zone de montagne. Les observations collectées durant deux saisons ont abouti à la proposition d'un itinéraire cultural, basé sur celui du thym vulgaire, ainsi qu'à l'établissement de leur potentiel de rendement en matière sèche et en huile essentielle, et à la caractérisation de leurs composés antioxydants.

Usages traditionnels

Au Moyen Age, le calament jouissait d'une grande réputation. Il entrait avec 74 autres herbes dans la composition de l'eau d'Arquebusade. Cette teinture officinale réputée vulnérable, développée au XVI^e siècle par des moines dans le Vercors, a été popularisée dans toute



Figure 1 | Culture de calament népéta (*Clinopodium nepeta*). Brusson (VS), 1050 m d'altitude, en juillet 2015.



Figure 2 | Culture de calament à feuilles de menthe (*Clinopodium menthifolium*). Brusson (VS), 1050 m d'altitude, en juillet 2015.

l'Europe par les pharmaciens Fabre et Bouet de Lausanne. De nos jours, hormis cet élixir de jouvence, les calaments sont, à notre connaissance, peu utilisés en Suisse pour leurs propriétés aromatiques et peu fréquemment cités dans la médecine traditionnelle. Les producteurs de plantes vivaces commercialisent généralement sous l'appellation synonyme de genre *Calamintha* quelques cultivars de calament népéta, ou plus rarement le calament à feuilles de menthe, pour leur intérêt ornemental et mellifère. En revanche, dans les pays méditerranéens, l'usage des calaments népéta et à feuilles de menthe comme épice, en tisane et en ethnopharmacologie est populaire (Karousou *et al.* 2012). On leur prête des propriétés analogues à celles de la menthe: digestives, sédatives, anti-spasmodiques, carminatives et toniques.

En phytothérapie, le calament népéta est réputé pour son activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire. Il agit également contre les ulcères et possède des propriétés insecticides. Ses principales indications thérapeutiques concernent l'insomnie, la dépression, les crampes, les convulsions et le traitement de maladies respiratoires et gastroentériques (Božović et Ragno 2017; Bruneton 2009). En France, le calament à feuilles de menthe figure sur la liste A « usage en médecine traditionnelle européenne et d'outre-mer », avec des indications thérapeutiques principalement digestives (ANSM 2017). Aucune évaluation toxicologique n'est demandée pour la constitution d'un dossier abrégé d'AMM (autorisation de mise en marché).

Son huile essentielle (> 6ml/kg) possède des propriétés antibactériennes *in vitro* (Bruneton 2009).

Matériel et méthodes

Site expérimental, matériel végétal et données culturales

Cet essai préliminaire, conduit selon les règles de l'agriculture biologique sans intrant de synthèse, a été réalisé de 2014 à 2016 au domaine Agroscope de Bruson (VS), à 1050m d'altitude, dans les Alpes pennines. Les deux lots de semences testés de *Calamintha nepeta* CA 021 (synonyme de *Clinopodium nepeta*) et de *Calamintha sylvatica* CA 019 (synonyme de *Clinopodium menthifolium*) ont été obtenus chez un grainetier de plantes vivaces allemand (Jelitto Staudensamen GmbH). Le semis a été effectué en terrines à la mi-avril en 2014 et le repiquage en mottes pressées de 4cm six semaines plus tard. La germination du calament népéta a été bonne, tandis que celle du calament à feuilles de menthe a été plus faible et irrégulière. La plantation à Bruson a eu lieu le 25 juin 2014. Les plantes ont été disposées en plate-bandes de quatre lignes (30cm x 25cm), à une densité de 9,4 plantes par

Résumé Le potentiel agronomique et phytochimique de deux accessions commerciales de calaments, le calament népéta (*Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze) et le calament à feuilles de menthe (*Clinopodium menthifolium* (Host) Stace), a été évalué dans les conditions climatiques montagnardes des Alpes suisses de 2014 à 2016. Peu utilisés en Suisse, les calaments jouissent d'un grand intérêt dans les pays méditerranéens comme épice, en tisane et en ethnopharmacologie. A plus de 1000 mètres d'altitude, les premiers essais de mise en culture ont été réalisés avec succès, le développement végétatif et la rusticité des deux espèces ayant été satisfaisants. La production en plantes entières sèches a atteint 40 kg/are dès la seconde année de culture. Pour les deux espèces, la teneur en huile essentielle a oscillé entre 1 et 1,5 % en fonction de la saison et du stade phénologique de récolte. Le composé majoritaire du calament népéta est la pulégone (> 80 %), une cétone qui possède de nombreuses propriétés antimicrobiennes, antibactériennes, insecticides et allélopathiques, mais qui présente une toxicité hépatique avérée pour les mammifères, et qui n'est pas sans danger pour l'environnement. Quant au calament à feuilles de menthe, les principaux composés de l'huile essentielle contiennent principalement de la carvone (33 à 38 %), une autre cétone dont l'usage aromatique remonte à des millénaires. En ce qui concerne les composés phénoliques et flavonoïdes, le calament népéta contient davantage d'acide rosmarinique que le calament à feuilles de menthe, alors que ce dernier a une teneur en acide chlorogénique plus élevée. La formulation de produits alimentaires, de médicaments ou de bioinsecticides à base de calaments doit impérativement tenir compte des législations en vigueur, tout en évaluant leurs impacts sur d'autres organismes ainsi que sur l'environnement. En collaboration avec l'industrie, une étude de la variabilité phénotypique et phytochimique des écotypes suisses de calaments serait souhaitable.



Tableau 1 | Comparaison entre la taxonomie de *Calamintha nepeta* aggr. selon Info Flora et de la taxonomie de *Clinopodium nepeta* et de *Clinopodium menthifolium* selon The Plant List.

| Info Flora 2017. Noms latins acceptés, synonymes et noms vernaculaires usuels de <i>Calamintha nepeta</i> aggr. | The Plant List 2017. Noms latins acceptés, synonymes « level high confidence » et noms anglais |
|---|--|
| <p>Nom latin accepté: <i>Calamintha nepeta</i> (L.) Savi</p> | <p>Nom latin accepté: <i>Clinopodium nepeta</i> (L.) Kuntze</p> |
| <p>Synonymes: <i>Calamintha glandulosa</i> (Req.) Benth <i>Calamintha nepetoides</i> Jord <i>Satureja calamintha</i> (L.) Scheele <i>Satureja nepeta</i> (L.) Scheele <i>Satureja nepeta</i> sensu H.E. Hess & Landolt <i>Satureja nepetoides</i> (Jord.) Fritsch</p> <p>Noms vernaculaires usuels: sarriette calament, sarriette népéta calament népéta, calament faux népéta, petit calament, calament glanduleux</p> | <p>Synonymes « level high confidence »: <i>Acinos</i> transsilvanica Schur, <i>Calamintha acinifolia</i> Sennen, <i>C. alboi</i> Sennen, <i>C. athonica</i> Rchb., <i>C. barolesii</i> Sennen, <i>C. bonanovae</i> Sennen, <i>C. brevisepala</i> Sennen, <i>C. caballeroi</i> Sennen & Pau, <i>C. cacuminiglabra</i> Sennen, <i>C. cantabrica</i> Sennen & Elias, <i>C. dilatata</i> Schrad., <i>C. dufourii</i> Sennen, <i>C. enriquei</i> Sennen & Pau, <i>C. eriocalis</i> Sennen, <i>C. ferreri</i> Sennen, <i>C. gillesii</i> Sennen, <i>C. gillesii</i> Sennen, <i>C. josephi</i> Sennen, <i>C. largiflora</i> Klokov, <i>C. litardierei</i> Sennen, <i>C. longiracemosa</i> Sennen, <i>C. mollis</i> Jord. ex. Lamotte, <i>C. nepeta</i> (L.) Savi, <i>C. nepetoides</i> Jord., <i>C. obliqua</i> Host, <i>C. parviflora</i> Lam., <i>C. peniciliata</i> Sennen, <i>C. rotundifolia</i> Host, <i>C. sennenii</i> Cadevall, <i>C. suavis</i> Sennen, <i>C. thessala</i> Hausskn., <i>C. transsilvanica</i> (Jáv.) Soó, <i>C. trichotoma</i> Moench, <i>C. vulgaris</i> Clairv. <i>Faucibarba parviflora</i> Dulac <i>Melissa aethaeos</i> Benth., <i>M. nepeta</i> L., <i>M. obtusifolia</i> Pers., <i>M. parviflora</i> Salisb. <i>Micromeria byzantina</i> Walp., <i>M. canescens</i> Walp. <i>Satureja mollis</i> (Jord.) E. Perrier, <i>S. nepeta</i> (L.) Scheele, <i>S. nepetoides</i> (Jord.) Fritsch, <i>Thymus athonicus</i> Bernh. ex Rchb., <i>T. minor</i> Trevir., <i>T. nepeta</i> (L.) Sm.</p> <p>Taxon infraspécifique de <i>Clinopodium nepeta</i> (L.) Kuntze: <i>Clinopodium nepeta</i> subsp. <i>glandulosum</i> (Req.) Govaerts</p> <p>Synonymes « level high confidence »: <i>Calamintha adscendens</i> Willk. & Lange, <i>C. baetica</i> Boiss. & Reut., <i>C. byzantina</i> K.Koch <i>C. canescens</i> J. Presl., <i>C. heterotricha</i> Boiss. & Reut., <i>C. macra</i> Klokov, <i>C. montana</i> Lam. <i>C. nepeta</i> Willk., <i>C. officinalis</i> Moench, <i>C. pauciflora</i> Lange, <i>C. spruneri</i> Boiss., <i>C. stricta</i> Rchb.f. <i>Clinopodium calamintha</i> (L.) Kuntze, <i>C. glandulosum</i> (Req.) Kuntze, <i>C. heterotrichum</i> (Boiss. & Reut.) Govaerts <i>Melissa calamintha</i> L., <i>M. glandulosa</i> (Req.) Benth., <i>M. glomerata</i> Stokes, <i>M. montana</i> (Lam.) Bubani <i>Nepeta intermedia</i> Lej. ex. Rchb. <i>Satureja baetica</i> (Boiss. & Reut.) Pau, <i>S. calamintha</i> (L.) Scheele, <i>S. glandulosa</i> (Req.) Caruel, <i>S. heterotricha</i> (Boiss. & Reut.) Pau, <i>S. villosa</i> (Boiss.) Druce <i>Thymus calamintha</i> (L.) Scop, <i>T. calaminthoides</i> Rchb, <i>T. clandestinus</i> Salzm. ex. Mutel <i>T. glandulosus</i> Req., <i>T. moschatella</i> Pollini</p> <p>Nom commun anglais Lesser calamint</p> |
| <p>Nom latin accepté: <i>Calamintha menthifolia</i> Host</p> | <p>Nom latin accepté: <i>Clinopodium menthifolium</i> (Host) Stace</p> |
| <p>Synonymes: <i>Calamintha sylvatica</i> Bromf. <i>Satureja calamintha</i> sensu H. E. Hess & Landolt <i>Satureja menthifolia</i> (Host) Fritsch</p> <p>sarriette à feuilles de menthe, calament des bois, calament à feuilles de menthe, baume sauvage</p> | <p>Synonymes « level high confidence »: <i>Calamintha menthifolia</i> Host <i>Calamintha sylvatica</i> Bromf. <i>Satureja menthifolia</i> (Host) Fritsch, <i>Satureja sylvatica</i> (Bromf.) K. Maly</p> <p>Nom commun anglais Woodland calamint</p> |
| <p>Nom latin accepté: <i>Calamintha ascendens</i> Jord.</p> | <p>Nom latin accepté: <i>Clinopodium menthifolium</i> subsp. <i>ascendens</i> (Jord.) Govaerts</p> |
| <p>Synonymes: <i>Satureja ascendens</i> (Jord.) K. Maly</p> <p>Noms vernaculaires usuels: sarriette ascendante</p> | <p>Synonymes « level high confidence »: <i>Calamintha ascendens</i> Jord. <i>Calamintha intermedia</i> (Baumg.) Heinr. Braun <i>Melissa intermedia</i> Baumg. <i>Satureja ascendens</i> (Jord.) K. Maly <i>Satureja intermedia</i> (Baumg.) Heinr. Braun</p> <p>Nom commun anglais Woodland calamint</p> |

mètre carré. En l'absence de norme spécifique, la fumure appliquée manuellement a été calquée sur celle du thym vulgaire (NPK 60-30-100). Les apports ont été effectués, pour l'azote, sous forme de granulés pellets à minéralisation rapide à base de matières premières animales (12 % N) et, pour la potasse, sous forme de sulfate de potassium (30 % K₂O₅ + 10 % MgO et 42.5 % SO₃). Un apport annuel a été effectué au départ de la végétation. Aucun apport de phosphore n'a été nécessaire en raison de la richesse du sol. Les récoltes ont été opérées avec l'outil portatif Supercut NT 2000. En 2014, l'unique récolte a eu lieu le 29 octobre, à l'apparition des premières fleurs (stade BBCH 61). En 2015, en seconde année de culture, deux récoltes ont été effectuées, le 16 juillet et le 29 septembre, au stade pleine floraison (BBCH 63-65). En 2016, en troisième année d'essai, une seule récolte a été pratiquée, tardivement, au stade « fin floraison » (BBCH 67-69). Une seconde récolte automnale aurait été possible mais n'a pas été effectuée, car la parcelle a été labourée. Les mesures du rendement en matière sèche, en feuilles et en huile essentielle ont été répliquées quatre fois et analysées statistiquement (Xlstat, Tukey test), tandis que la composition de l'huile essentielle, des composés phénoliques et flavonoïdes a été quantifiée sur le mélange des répétitions. Le séchage a été réalisé à une température de 35 °C durant 60 heures dans une installation en inox avec déshumidification et chauffage.

Méthodes analytiques

Les teneurs en huile essentielle ont été déterminées au laboratoire d'Agroscope Conthey par hydrodistillation durant 2 heures à un débit de 2 à 3 ml/minutes à partir de 20 g de feuilles sèches.

Les analyses chromatographiques sur couche mince (CCM), à haute performance (HPTLC), en phase liquide à ultra haute performance (UHPLC) et en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC-FID) ont été réalisées à Wädenswil à la ZHAW Zürcher Hochschule. La méthode a été adaptée à partir de celle de l'identification des feuilles de menthe poivrée de la Pharmacopée européenne (tabl. 2).

Résultats et discussion

Taxonomie

En nature, la détermination des calaments est sujette à controverse, en raison d'une grande variabilité de phénotype et en l'absence de critères clairs de distinction, ainsi qu'à une littérature parfois confuse. Le critère de la taille des fleurs, souvent utilisé pour discerner les espèces, est discutable en raison de leur dimorphisme sexuel, les femelles étant plus petites que les hermaphrodites

(Jauzien et Nawrot 2013). De nombreuses flores européennes et publications scientifiques décrivent toujours ces deux espèces sous le genre *Calamintha*. La flore helvétique illustrée classe *Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze et *Clinopodium menthifolium* (Host) Stace dans l'agrégat *Calamintha nepeta* (L.) Scheele aggr., respectivement sous *Calamintha nepeta* (L.) Savi et *Calamintha menthifolia* (Host). Seule la sarriette clinopode (*Clinopodium vulgare* L.) y est répertoriée dans le genre *Clinopodium* (Lauber et al. 2012; Info Flora 2017). La standardisation de la nomenclature pour le commerce des plantes vivaces (International Standard ISU 2016-2020) préconise également l'utilisation de *Calamintha* pour ces deux espèces (Naktuinbouw 2017). Dans les herbiers et les ouvrages plus anciens, les botanistes leur ont attribué de nombreux autres noms de genres: *Acinos*, *Faucibarba*, *Melissa*, *Micromeria*, *Nepeta*, *Satureja* ou *Thymus* (The Plant List 2017).

Cependant, selon les Jardins botaniques de Kew et le système d'information taxonomique intégré (ITIS 2017), le taxon *Calamintha* n'est plus valide et il est remplacé par le taxon *Clinopodium*.

Agronomie

Dans les conditions climatiques montagnardes, le comportement agronomique des deux espèces de calament a été satisfaisant. Leur rusticité a été avérée et aucune perte hivernale de plantes n'a été observée. La bonne croissance a permis aux deux espèces d'atteindre une hauteur de 30-35 cm en première année de culture, plus de 40 cm lors des deux récoltes en 2015 en juillet et en septembre, et 50-60 cm en août 2016. Par leur couverture du sol, les deux espèces ont offert une concurrence appréciable contre les adventices. Une seule récolte a été possible en première année (automne), puis deux récoltes les années suivantes (mi-juillet et fin septembre). Le potentiel de rendement en matière sèche des deux espèces est comparable. En première année de culture, il a été d'environ 28 kg/are pour les deux espèces. En seconde année de culture, il a avoisiné les 40 kg/are pour le cumul des deux récoltes. En troisième année, seule la première récolte a été effectuée avant le labour de l'essai, avec une production sensiblement plus élevée pour le calament à feuilles de menthe. Le cumul des quatre récoltes est de 88 kg/are pour le calament népéta et de 95 kg/are pour calament à feuilles de menthe (tabl. 3). Le pourcentage de feuilles a oscillé entre 60 et 70 %, sauf en 2016, où en raison d'une récolte à une date et à un stade phénologique plus tardifs, il avait avoisiné les 60 % (tabl. 3). Cet essai préliminaire, effectué avec deux accessions commerciales de calaments, atteste de la faisabilité de la culture de ces espèces en zones de montagne. Un itinéraire cultural similaire à celui du thym vulgaire peut servir de base à l'installation de cultures. ➤

Tableau 2 | Matériel et méthodes pour les chromatographies sur couche mince haute performance (HPTLC), en phase liquide à ultra haute performance (UHPLC) et en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC-FID).

| HPTLC (Thin Layer-Chromatography) | GC (Gas chromatography) |
|--|--|
| Reference Substance | Reference Substance |
| <ul style="list-style-type: none"> – Rutin 1 mg/ml – Chlorogenic acid 1 mg/ml – Rosmarinic acid 0,25 mg/ml – Eriocitrin 0,22 mg/ml Solutions were prepared with Methanol or Methanol 50 % | <ul style="list-style-type: none"> – Limonene, Fluka 62118, BCBF5924V – Cineol (Eucalyptol), Fluka 29210, BCBJ6752V – Menthone, Fluka 63677, BCBK0715V – Menthofuran, Sigma-Aldrich 63661, BCBN1819V – Isomenthone, Roth 6458.1, 132185143 (opened 7.6.12, rubber septum almost dissolved) – Menthyl acetate, Fluka 45985, BCBL9922V – Isopulegol, Sigma-Aldrich 59770, BCBN7656V – Menthol, RdH 15785, 71060 – Pulegone, Fluka 82569, BCBG2855V – Piperitone, Roth 5174.1, 192186760 (opened 7.6.12, rubber septum almost dissolved) – Carvone, Aldrich 435759, BCBF0036V |
| Extraction | Essentials oils Sample preparation |
| <ul style="list-style-type: none"> – 500 mg finely ground sample were weighed in a 15 ml centrifuge tube (Falcon) – 5 ml Methanol 50 % were added and then extracted for 20 min in the ultrasonic bath Afterwards centrifuged (ca. 2 min @ 4200g) and the supernatants were filtered over 0,2 µm syringe filter. | <ul style="list-style-type: none"> – 1 ml of n-heptane was placed in a vial – 20 µL of the essential oil (upper layer from vials) were added and mixed. – Calamintha – G33About 1 g of the powdered herbal drug were weighed into a 15 ml Falcon tube – About 10 ml of water and 2 ml of n-heptane were added – The tube were closed, shaken well and treated in the ultrasonic bath for 15 min – The mixture was centrifuged for about 3 min at 4600 rcf to separate the layers – An aliquot of the upper heptane layer was filtered through 0,2 µm PTFE membrane in-to a vial and used for GC analysis |
| Method | Reference solutions: |
| The method was adapted from the identification of peppermint leaves in the European pharmacopeia <ul style="list-style-type: none"> – Plate: HPTLC silica gel 60 F254 (Merck, Art. Nr. 1.05642.0001) – Device: Application - ATS 4 (CAMAG), development chamber ADC2 and Visualizer (CAMAG) – Mobile phase: Acetic acid, anhydrous formic acid, water, ethyl acetate (7:7:18:68 V/V/V/V) – Application: 4 µl as bands of 8 mm unless otherwise noted – Development: Over a path of 6 cm – Detection Flavonoids: The plate is heated at 100-105 °C for 5 min. Then immediately dipped in a 5 g/L solution of diphenylboric acid aminoethyl ester R in ethyl acetate R. Subsequently dipped in a 50 g/L solution of macrogol 400 R in dichloromethane R. Examination in ultraviolet light at 366 nm. – Detection lipophilic compounds like terpenoids, saponins, sterols, iridoids, etc.: 10 mL sulfuric acid is added to a cooled mixture of 170 mL methanol and 20 mL acetic acid. To this solution, 1 mL anisaldehyde is added. The plate is immersed in the reagent for 1 s then heated at 100 °C for 2–5 min. Detection at daylight and under ultraviolet light at 366 nm. | <ul style="list-style-type: none"> – For the identification of the FID signals, reference solutions of each compound stat-ed in the PhEur. Monograph were prepared in a 1:10 fold scale – 1 ml of n-heptane was placed in a vial and closed – A 1:10 amount of the pure compound (about 1-4 µL) were then added with a syringe (puncturing the septa) – For menthol, about 6 mg were weighed into a vial and dissolved with 1 ml of n-heptane – For the disregard limit, the solution of isopulegol was diluted 1:200 by mixing 5 µl with 1 ml of n-heptane |
| UHPLC (Liquid chromatography) | Method GC-FID Analysis |
| Reference Substance | Method acc. Ph. Eur. Monograph „Peppermint Oil, 07/2012:0405“ GC Method adapted to Hydrogen with HP-Translator Tool. After a check with single reference substances it was found that menthol and pulegone are coeluting. A45Unfortunately pulegone is a compound with a maximum limit. with a maximum limit. Due to time frame, an adjustment of the method to separate these two compounds wasn't possible. |
| <ul style="list-style-type: none"> – Rutin 1mg/ml – Chlorogenic acid 1 mg/ml – Rosmarinic acid 0,25 mg/ml | Instrument |
| Extraction | <ul style="list-style-type: none"> – GC-FID: Thermo Trace 2000 – Column: Zebron ZB-Wax, 60m x 0,25 mm x 0,25 µm – Carrier: H2, 1,8ml/min, const. Flow – Injector: 1 µL, Split 1:50, 220 °C – Detector: FID, 280 °C – Temperature program: 60 °C, 6,5 min; 3 °C/min to 240 °C, 3 min. |
| <ul style="list-style-type: none"> • The extracts prepared for HPTLC were diluted 1:10 with Methanol 50 % | Evaluation |
| Method | <ul style="list-style-type: none"> – Area % of the detected peaks, whose area are greater than the peak of isopulegol in the disregard reference and were not seen in the chromatogram of a solvent blank – Menthol and pulegone were taken as one peak – Data provided in separate Excel-sheets |
| <ul style="list-style-type: none"> – Column: Waters BEH C18, 1,7µm, 2,1 x 50 mm – System: Acquity UPLC System: BSM, ISM, SM, CM, ePDA and QDa (Waters AG) – Eluent A: Acetonitril 100 % – Eluent B: ultra-pure water with 0,1 % formic acid – Sample temperature: 20 °C – Column temperature: 30 °C – Flow: 0.600 ml/min – Mobile phase: gradient: 1 %B • 44 %B, 0 min • 10 min – Injection volumn: 5 µL – Detection: UV/Vis: MAX plot (200 - 800nm), ≥ 20Hz – Mass Detector (QDa): 100 - 1000, positive and negative mode scan, cone voltage 15 V, capillary voltage 0,8 kV – Run time: 10 min | |

Les récoltes, une en première année et deux les années suivantes, interviennent plus tardivement dans la saison que celle du thym, soit en octobre l'année de plantation et en juillet et septembre/octobre les années suivantes. Cependant, le bon comportement agronomique observé en Valais demande confirmation, car les premiers tests de culture du calament népéta menés en 2017 chez deux producteurs au val Poschiavo (GR) et dans le Luzerner Hinterland (LU) ont été mitigés. Les plantes trop peu développées n'ont pas pu être récoltées en première année de culture. Leur rendement sera évalué en 2018. Les raisons de cette faible croissance n'ont pas encore été élucidées, mais parmi les causes possibles, un sol lourd peu drainant, un climat moins propice, frais et humide, ou des plantons trop chétifs ont été évoqués. La rusticité des calaments en zone de montagne est également sujette à caution en raison de la relative clémence des hivers 2014-2015 et 2015-2016 pour la zone climatique de végétation de Bruson USDA 7a (Plantmaps 2017), où la température minimale n'a atteint que -10,9°C le premier hiver et -11,4°C le second.

L'étude de populations indigènes, suisses permettrait de cibler des écotypes mieux adaptés à la culture en zone de montagne et, en cas de demande de l'industrie, à initier un programme de sélection.

Phytochimie

A l'instar de nombreuses autres espèces de Lamiacées, les feuilles des calaments ont, sur leurs deux faces, des trichomes glandulaires qui contiennent de l'huile essentielle (Hanlidou 1991) dont la composition présente chez les deux espèces un polymorphisme chimique complexe (Alan *et al.* 2010; Negro *et al.* 2013). Selon une étude grecque portant sur vingt-deux populations sauvages de

Calamintha glandulosa, de *C. nepeta*, et de *C. menthifolia*, cette variabilité intraspécifique ne semble pas liée à l'origine géographique de la collecte d'échantillons (Karousou *et al.* 2012). Les composés majoritaires de l'huile essentielle sont des monoterpènes oxygénés possédant un squelette du type *p*-menthane, ainsi que des sesquiterpènes (jusqu'à 5%). Les chémotypes les plus fréquemment décrits sont: pulégone, menthone, isomenthone, pipéritone et pipériténone et leurs oxydes, et plus rarement carvone. L'abondante littérature distingue au moins trois types d'huiles essentielles, avec quelques exceptions:

1. Chémotype pulégone associé, (1) soit au menthone et/ou à l'isomenthone, au menthol et ses isomères, (2) soit au pipéritone ou au pipériténone et leurs oxydes;
2. Chémotype pipéritone oxyde ou pipéritone oxyde / pipériténone oxyde;
3. Un troisième chémotype plus rare se caractérise par la présence de carvone et de 1,8 cinéol (Božović et Ragno 2017).

En culture, la teneur en huile essentielle des deux espèces de calament a oscillé entre 1 et 1,5% (*v/p*), avec une légère tendance à être plus élevée chez le calament à feuilles de menthe (tabl. 4). Dès la seconde année de culture, la production en huile essentielle a atteint 300ml/are (tabl. 4). La composition de l'huile essentielle discrimine clairement les deux espèces. Les principaux constituants du calament népéta ont été identifiés à près de 90% et montrent une nette prédominance de la pulégone (> 80%), une cétone monoterpénique monocyclique. Les autres composés importants de l'huile essentielle du calament népéta sont l'isomenthone (2,75 à 8,24%), le limonène (0,68 à 1,93%), l' α et β pinène (1,36%) et le β -caryophyllène (2,13%) (tabl. 5 et tabl. 6).

Tableau 3 | Rendements en matière et en feuilles sèches et pourcentage de feuilles de deux espèces de *Clinopodium* à Bruson. Moyenne de quatre répétitions (2014-2016).

| <i>Clinopodium</i> (<i>Calamintha</i>) | Matière sèche [kg/are] | | | | Feuilles sèches [kg/are] | | | | | Feuilles [%] | | | | | |
|---|------------------------|---------------------|---------------------|-------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|---------------------|
| | 2014 | | 2015 | | 2014 | | 2015 | | | 2014 | | 2015 | | | 2016 |
| | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 2 ^e réc. | total | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 2 ^e réc. | total | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 2 ^e réc. | moy. | 1 ^e réc. |
| <i>nepeta</i> | 27,5 | 25,8 | 14,7 | 40,5 | 20,0 | 17,6 | 19,0 | 10,2 | 29,2 | 11,8 | 64,0 | 73,8 | 69,3 | 72,2 | 59,0 |
| <i>menthifolium</i> | 28,9 | 21,6 | 17,3 | 38,9 | 27,5 | 17,7 | 13,2 | 11,9 | 25,1 | 15,8 | 61,3 | 61,0 | 68,8 | 64,5 | 57,6 |

Tableau 4 | Teneurs et rendements calculés en huile essentielle de deux espèces de *Clinopodium* à Bruson. Moyenne de quatre répétitions (2014-2016).

| <i>Clinopodium</i> (<i>Calamintha</i>) | Huile essentielle [%] | | | | | Huile essentielle [ml/are] | | | | | |
|---|-----------------------|---------------------|---------------------|-------|---------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|-------|---------------------|------|
| | 2014 | | 2015 | | | 2014 | | 2015 | | | 2016 |
| | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 2 ^e réc. | total | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 1 ^e réc. | 2 ^e réc. | total | 1 ^e réc. | |
| <i>nepeta</i> | 1,11 | 1,00 | 1,08 | 1,03 | 1,44 | 195 | 190 | 110 | 300 | 170 | |
| <i>menthifolium</i> | 1,21 | 1,33 | 1,14 | 1,25 | 1,52 | 214 | 175 | 135 | 312 | 241 | |

Tableau 5 | Composition de l'huile essentielle des deux récoltes de deux espèces de *Clinopodium* à Brusson en 2015. Mélange de quatre répétitions.

| <i>Clinopodium</i> (<i>Calamintha</i>) | Récolte | Composition de l'huile essentielle [%] | | | | | | | | |
|---|---------------------|--|-------------|----------|-------------|------------|--------------------|------------|---------|-----------|
| | | Limonène | 1,8- Cineol | Menthone | Isomenthone | Isopulégol | Menthol + Pulégone | Pipéritone | Carvone | Somme [%] |
| <i>nepeta</i> | 1 ^e réc. | 1,02 | < DRL | < DRL | 5,57 | 0,68 | 81,41 | < DRL | 1,00 | 89,68 |
| | 2 ^e réc. | 0,68 | < DRL | < DRL | 8,24 | 0,60 | 83,07 | < DRL | < DRL | 92,58 |
| <i>menthifolium</i> | 1 ^e réc. | 4,84 | 0,30 | < DRL | < DRL | < DRL | 1,07 | < DRL | 31,92 | 38,12 |
| | 2 ^e réc. | 4,84 | < DRL | < DRL | < DRL | < DRL | 0,36 | < DRL | 28,12 | 33,32 |

< DRL : Disregard Limit

Tableau 6 | Composition de l'huile essentielle de deux espèces de *Clinopodium*. Première récolte à Brusson en 2016. Mélange de quatre répétitions.

| <i>Clinopodium</i> (<i>Calamintha</i>) | Composition de l'huile essentielle [Area %] | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|----------|-------------|----------|-------------|---------|---------|----------------|-------------------|---------|----------|------------|-----------|---------|------------|---------|---------------|
| | a + β Pinène | Limonène | 1,8- Cineol | Menthone | Isomenthone | Camphre | Linalol | Bornyl Acétate | β - Caryophyllène | Menthol | Pulégone | α-Humulène | Terpinéol | Bornéol | Pipéritone | Carvone | Somme [Area%] |
| <i>nepeta</i> | < DRL | 1,93 | 0,06 | < DRL | 2,72 | < DRL | 0,08 | 0,10 | 2,13 | < DRL | 81,98 | 0,32 | 0,11 | 0,07 | < DRL | 0,09 | 89,59 |
| <i>menthifolium</i> | 0,78 | 7,76 | < DRL | 0,09 | < DRL | 0,44 | 0,17 | < DRL | 3,86 | < DRL | 0,49 | 0,98 | 0,17 | < DRL | < DRL | 21,7 | 36,44 |

< DRL : Disregard Limit

Tableau 7 | Teneur des principaux composés phénoliques et en flavonoïdes (> 2 %) de deux espèces de *Clinopodium* à Brusson en 2015. Mélange de quatre répétitions.

| <i>Clinopodium nepeta</i> | | | <i>Clinopodium menthifolia</i> | | |
|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| temps de retention [min.] | 1 ^e récolte [aire %] | 2 ^e récolte [aire %] | temps de retention [min.] | 1 ^e récolte [aire %] | 2 ^e récolte [aire %] |
| 0,565 | 4,56 | 4,02 | 0,567 | 4,70 | 3,05 |
| 1,507 | 1,17 | 0,82 | 1,509 | 8,02 | 9,51 |
| 1,552 | 1,71 | 1,57 | 1,554 | 12,60 | 14,86 |
| acide chlorogénique - 2,09 | 2,88 | 3,00 | acide chlorogénique - 2,09 | 14,70 | 18,77 |
| 2,274 | 10,78 | 12,63 | 2,276 | 11,93 | 15,09 |
| 3,421 | 3,44 | 3,06 | 3,47 | 1,76 | 1,09 |
| rutine - 3,686 | 1,95 | 1,99 | rutine - 3,686 | 3,35 | 2,77 |
| 3,79 | 1,06 | 1,39 | 3,823 | 8,73 | 5,28 |
| 4,239 | 1,93 | 2,18 | 4,24 | 7,70 | 8,19 |
| 4,402 | 2,04 | 1,20 | 4,406 | 0,52 | 0,86 |
| acide rosmarinique - 4,618 | 7,22 | 14,72 | acide rosmarinique - 4,62 | 2,20 | 1,97 |
| 4,951 | 2,31 | 2,27 | 4,953 | 0,56 | 0,52 |
| 5,138 | 2,25 | 1,70 | 5,14 | 0,76 | 0,83 |
| 5,71 | 27,62 | 23,41 | 5,711 | 1,84 | 0,75 |
| | | | 7,373 | 7,59 | 3,25 |
| 8,297 | 7,52 | 6,30 | | | |

En revanche, seuls 33 à 38 % des composés du calament à feuilles de menthe ont été identifiés. Deux pics importants avec une surface de 14,9 % et 13,7 % et un temps de rétention légèrement inférieur à celui du menthol n'ont pas été identifiés. Le profil chimique du calament à feuilles de menthe est dominé par la carvone (21,70 à 31,92 %), avec du limonène (4,84 à 7,76 %) et du β -caryophyllène (3,86 %) (tabl. 5 et tabl. 6). Pour les deux espèces, ces teneurs en huile essentielle sont analogues à celles généralement reportées dans la littérature, comme le confirme l'étude portant sur des populations sauvages en Grèce de *Calamintha nepeta* et de *Calamintha menthifolia* (Karousou *et al.* 2012). Le calament népéta appartient clairement au chémotype pulégone (I) cité par Božović et Ragno (2017). Ce composé et son métabolite principal, le menthofurane, présentent une toxicité pulmonaire, rénale et surtout hépatique (DL50 = 470 mg/kg [rat, oral]) (Bruneton 2009). Pour un usage agroalimentaire, il convient donc d'observer une grande vigilance avec les plantes riches en pulégone. Selon la réglementation européenne des produits alimentaires, la DJM (dose journalière maximale) de pulégone ne devrait pas excéder 0,1 mg/kg de poids corporel. En Suisse, l'ordonnance sur les arômes n'autorise la pulégone que si elle est d'origine naturelle. Elle fixe des valeurs limites qui diffèrent fortement selon les denrées, de 20 mg/kg pour les boissons non alcoolisées allant jusqu'à 2000 mg/kg pour les micro-confiseries destinées à rafraîchir l'haleine (DFI 2017). L'intérêt de l'huile essentielle riche en pulégone comme ingrédient des phytomédicaments et comme biopesticide est manifeste (Koul *et al.* 2008). Son activité allélopathique a aussi été étudiée et laisse entrevoir une application future comme bioherbicide (Araniti *et al.* 2013; Šučur *et al.* 2016). Cependant, outre leur coût, la formulation de futurs produits doit absolument prendre en compte leurs effets potentiellement négatifs sur d'autres organismes et sur la santé humaine (Sánchez-Borzone *et al.* 2017). Pour un emploi dans les phytomédicaments à base d'herbes médicinales, la somme de pulégone + menthofurane ne doit pas excéder 37,5 mg par jour pour un emploi de longue durée, et 75 mg par jour pour un usage de moins d'un an (EMA 2017). En théorie, la consommation d'une tasse de tisane de calament népéta infusé à partir de 5 g de feuilles sèches contenant 1 % d'huile essentielle pourrait contenir 40 mg de pulégone. Dans les préparations cosmétiques, la concentration de pulégone ne devrait pas dépasser 1,0 % (Nair 2001).

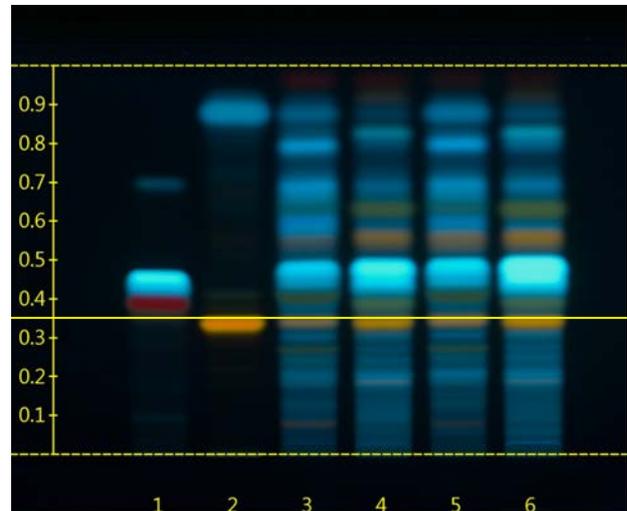
Le profil chimique du calament à feuilles de menthe, partiellement identifié, peut être classé dans le chémotype

carvone (III). Cette molécule se présente sous deux énantiomères qui diffèrent selon leur pouvoir rotatoire et, fait rare pour deux structures chimiquement identiques, par une odeur distincte. La forme dextrogyre D-carvone domine dans les Apiacées (cumin, aneth, etc.), tandis que la forme lévogyre, L-carvone, se retrouve dans les menthes verte et poivrée. Cette cétone est aussi potentiellement toxique ou allergène, mais sa dangerosité est néanmoins moindre que celle de la pulégone (D-carvone: DL50 = 1640 mg/kg [rat, oral]; L-carvone: DL50 = 5400 mg/kg [rat, oral]; L- et D-carvone: DL50 = > 4000 mg/kg [rat, cutané]) (TOXNET 2017). Une dose journalière admise (DJA) de 0,6 mg/kg du poids corporel par jour n'est édictée que pour la D-carvone, la toxicité de la L-carvone demeurant inconnue (EFSA 2016). La législation suisse réglemente par une ordonnance du DFI (Département fédéral de l'intérieur) l'usage de la carvone uniquement pour une utilisation comme anti-germant sur la pomme de terre. Les limites édictées sont de 5 mg/kg pour la D-carvone et de 3 mg/kg pour la L-carvone. En France, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) fixe la DJA de l'huile de menthe exprimée en L-carvone à 0,252 mg/kg du poids corporel/jour. Celle-ci n'est pas fondée sur des études toxicologiques, mais sur une consommation alimentaire journalière chez l'homme (US-EPA, United States Environmental Protection Agency). La fixation d'une dose de référence aiguë pour l'huile de menthe a été jugée comme non nécessaire en raison de la faible toxicité potentielle de la L-carvone en alimentation humaine. Toutefois, en théorie, la consommation d'une tasse de tisane de calament à feuilles de menthe apporterait une dose de 15 à 20 mg par jour, supérieure à la norme ANSES pour un homme de 50 kg.

Tant la chromatographie CCM que l'UHPLC discriminent clairement les deux accessions de calaments sur leur teneur en flavonoïdes et en acides phénoliques. Ces composés pourraient expliquer en partie les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Le calament népéta a une teneur plus élevée en acide rosmarinique (appelé aussi « tanin des labiées »), tandis que le calament à feuilles de menthe se distingue par sa richesse en acide chlorogénique (fig. 3 et fig. 4; tabl. 7). En raison de l'absence de standards, deux pics importants des chromatogrammes du calament népéta n'ont pas été identifiés par l'UHPLC. Le pic à droite de l'acide chlorogénique représente probablement un autre acide cafféoylé quinique, alors que le pic important à la droite de l'acide rosmarinique est potentiellement un

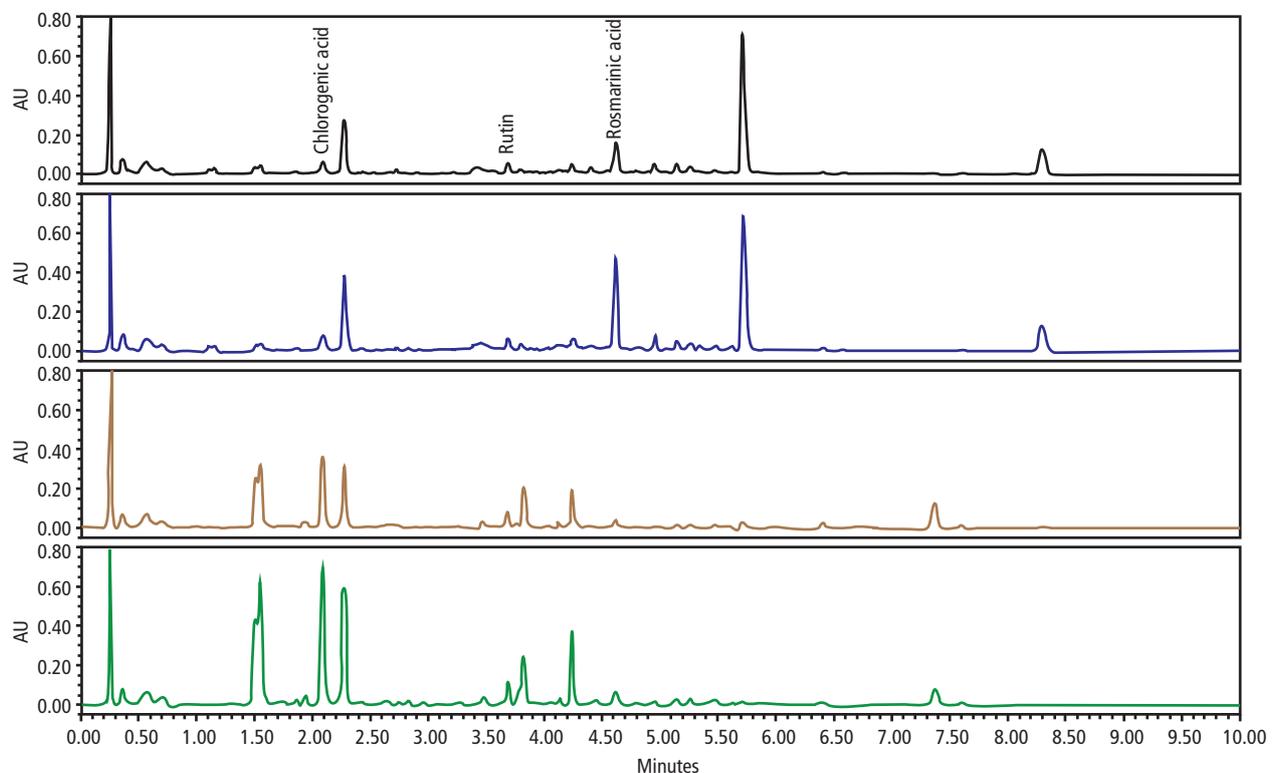
flavonoïde. Sur les chromatogrammes du calament à feuilles de menthe, les deux pics à gauche et à droite du pic d'acide chlorogénique correspondent sans doute à deux autres acides cafféoyles quinqués. Les pics de rutine, de surfaces relativement faibles, sont néanmoins plus importants que ceux du calament népéta (fig. 4; tabl. 7). Entre les pics d'acide chlorogénique et de l'acide rosmarinique, les deux pics importants non identifiés sont probablement des flavonoïdes (fig. 3). La CCM révèle des taches plus importantes lors de la récolte automnale (colonnes 5 et 6) par rapport à celle de juillet (colonnes 3 et 4), ce qui suggère une concentration plus importante en acides phénoliques et flavonoïdes dans ces échantillons (fig. 3). La variation saisonnière des composés phénoliques en relation avec l'activité antioxydante a été démontrée sur d'autres Lamiacées, comme la menthe poivrée, le romarin ou le lierre terrestre (Hanlidou *et al.* 2012; Luis & Johnson 2005; Varga *et al.* 2016). Une meilleure connaissance des facteurs environnementaux et phénologiques influençant la cinétique de métabolites secondaires des calaments serait souhaitable afin de mieux répondre aux besoins de l'industrie.

Figure 3 | Chromatographie sur couche mince (CCM) : résultats des flavonoïdes et des acides phénoliques de deux espèces de *Clinopodium* à Brusson en 2016.



Substances de référence :
 1 : rouge - Eriocitrine (20 µl); bleu – Acide chlorogénique
 2 : orange - Rutine (16 µl); bleu – Acide rosmarinique
 3-5: *Clinopodium nepeta* 1^e et 2^e récoltes
 4-6: *Clinopodium menthifolium* 1^e et 2^e récoltes

Figure 4 | Analyses UHPLC. Chromatogrammes empilés de deux espèces de *Clinopodium* (UV/Vis MAX plot).



En haut, ligne noire et ligne bleue respectivement *Clinopodium nepeta* 1^e et 2^e récoltes.
 En bas, ligne brune et ligne verte respectivement *Clinopodium menthifolium* 1^e et 2^e récoltes.

Conclusions

- La faisabilité de la culture du calament népéta et du calament à feuilles de menthe est avérée dans les conditions climatiques des Alpes suisses. En suivant l'itinéraire cultural du thym vulgaire, le potentiel de production en plantes sèches est de 40 kg/are dès la seconde année de culture.
- Les deux accessions commerciales de calaments présentent un profil aromatique et phytochimique distincts. Le calament népéta est un chémotype pulégone, riche en acide rosmarinique. Le calament à feuilles de menthe est dominé par le carvone et contient davantage d'acide chlorogénique.
- En raison de la toxicité de la pulégone et de la carvone, il s'agit impérativement de tenir compte, pour la formulation de produits alimentaires, de médicaments ou de bioinsecticides, des législations en vigueur, ainsi que d'évaluer leur impact sur d'autres organismes et sur l'environnement.
- Une étude des populations indigènes de calament népéta et de calament à feuilles de menthe permettrait de cibler des écotypes adaptés à la culture, et de connaître la variabilité phytochimique de ces deux espèces en Suisse. ■

Remerciements

Un grand merci à M. Samuel Peter, phytochimiste à la ZHAW, pour la restitution des figures 3, 4, 5 et pour ses commentaires, ainsi qu'à M. Martin Theiler, à Hergiswil (LU), et M. Reto Raselli, à Poschiavo (GR), qui ont tenté les premiers essais 'on farm'.

Bibliographie

- Alan S., Kürkçüoğlu M. & Hüsni Can Başer K., 2010. Composition of the essential oils of *Calamintha sylvatica* Bromf. subsp. *sylvatica* and *Calamintha sylvatica* Bromf. subsp. *ascendens* (Jordan) P.W. Ball. *Journal of Essential Oil Research* 22 (4), 325-327.
- ANSM, 2016. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Liste A des plantes médicinales utilisées traditionnellement. Accès: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/79bb73c47e33895bcw [13.12.2017].
- Araniti F., Lupini A., Mercati F., Statti G. A. & Abenavoli M. R., 2013. *Calamintha nepeta* L. (Savi) as source of phytotoxic compounds: bio-guided fractionation in identifying biological active molecules. *Acta Physiol Plant* 35, 1979-1988.
- Božović M., Garzoli S., Sabatino M., Pepi F., Baldisserotto A., Elisa Andreotti E., Romagnoli C., Mai A., Manfredini S. & Ragno R., 2017. Essential oil extraction, chemical analysis and anti-candida activity of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *glandulosa* (Req.) Ball - New approaches. *Molecules* 22 (2), 203.
- Božović M. & Ragno R., 2017. *Calamintha nepeta* (L.) Savi and its main essential oil constituent pulegone: biological activities and chemistry. *Molecules* 22 (2), 290.
- Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^e éd. Lavoisier. 1292 p.
- Département fédéral de l'intérieur (DFI), 2017. Ordonnance du DFI sur les arômes et les additifs alimentaires ayant des propriétés aromatisantes utilisés dans ou sur les denrées alimentaires. Accès: <https://www.admin.ch/opc/fr/classifiedcompilation/20143399/index.html#a5> [12.01.12.2018].
- Eggenberg S. & Möhl A., 2008. Flora Vegetativa. Edition Rossolis. 680 p.
- EFSA 2016. Assessment of the pesticide active substance carvone d-l-carvone at a ratio of at least 100:1 for inclusion in Annex IV of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA Journal* 2016; 14 (2), 4405, 14 p.
- EMA, 2017. Public statement on the use of herbal medicinal products1 containing pulegone and menthofuran. Accès: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/07/WC500211079.pdf [12.01.12.2018].
- Grulová D., Labun P., Šeršeň F. & Šalamon I., 2017. Seasonal variation in DPPH scavenging activity of *Mentha × piperita*. *Advances in Environmental Biology*, 6 (4), 1477-1480.
- Hanlidou R., Kokkini S., Bosabalidis A. M. & Bessière J.-M., 1991. Glandular trichomes and essential oil constituents of *Calamintha menthifolia* (Lamiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 177, 17-26.
- Info Flora, 2017. Centre national de données sur la flore suisse. Accès: <https://www.infoflora.ch/fr/flore/clypeola-jonthlasi.html#map> [13.12.2017].
- ITIS, 2017. Intergrated Taxonomic Information System. Accès: https://www.itis.gov/advanced_search.html [20.12.2017].
- Jauzien P. & Nawrot O., 2013. Flore d'Ile-de-France. Clé de détermination, taxonomie, statuts. Éditions Quæ. 972 p.
- Karousou R., Hanlidou R. & Lazari D., 2012. Essential-oil diversity of three *Calamintha* species from Greece. *Chemistry & Biodiversity*, Vol. 9, 1364-1372.
- Koul O., Walia S. & Dhaliwal G. S., 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. Int.* 4 (1), 63-84.
- Lauber K., Wagner G. & Gyga A., 2012. Flora Helvetica. Flore illustrée de Suisse. 4^e édition. Haupt, Berne. 1656 p.
- Luis J. C. & Johnson C. B., 2005. Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their *in vitro* antiradical activity. *Spanish Journal of Agricultural Research* 3 (1), 106-112.
- Nair B., 2001. Final report on the safety assessment of *Mentha × piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha × piperita* (Peppermint) Leaf Extract, *Mentha × piperita* (Peppermint) Leaf, and *Mentha × piperita* (Peppermint) Leaf Water. *Int. J. Toxicol.* 20 Suppl 3, 61-73.
- Naktuinbouw, 2017. List of names of woody plants and perennials. Accès: http://www.internationalplantnames.com/HTML/English/index_eng.htm [22.12.2017].
- & Miceli A., 2013. Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta* from Southern Italy (Apulia). *Nat Prod Res.* 27 (4-5), 331-339.
- Plantmaps, 2017. Interactive gardening and plant hardiness zone map for Switzerland. Accès: <http://www.plantmaps.com/interactive-switzerland-plant-hardiness-zone-map-celsius.php> [09.01.2018].
- Sánchez-Borzone E. M., Delgado Marin L. & Asmed García D., 2017. Effects of insecticidal ketones present in mint plants on GABA_A receptor from mammalian neurons. *Pharmacogn Mag.* 13 (49), 114-117.
- Šučur J. T., Gvozdenac S. M., Anačkov G. T., Malenčić Đ. R. & Prvulović D. M., 2016. Allelopathic effects of *Clinopodium menthifolium* and *Salvia sclarea* aqueous extracts. *Matica Srpska J. Nat. Sci. Novi Sad.* 131, 177-188.
- The Plant List, 2017. A working list of all plant species. Accès: <http://www.theplantlist.org/tp1.1/search?q=clinopodium> [12.12.2017].
- Toxnet, 2017. Toxicology Data Network. Accès: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?/~temp/~rptC1Q:1> [23.01.2018].
- Varga L., Engel R., Szabó K., Abrankó L., Gosztola B., Zámorinó Németh E. & Sárosi S., 2016. Seasonal variation in phenolic content and antioxidant activity of *Glechoma hederacea* L. harvested from six Hungarian populations. *Acta Alimentaria* 45 (2), 268-276.

Summary

***Clinopodium nepeta* and *Clinopodium menthifolium*: agronomical and phytochemical potential of two species of calamint**

From 2014 to 2016, the agronomic and phytochemical potential of two commercial accessions of calamint, one of Lesser Calamint (*Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze) and one of Woodland Calamint (*Clinopodium menthifolium* (Host) Stace) was evaluated in the mountainous climatic conditions of the Swiss Alps. Not widely used in Switzerland, calamints are very popular in the Mediterranean countries as spices, herbal tea, and in ethnopharmacology. At more than one thousand meters above sea level, the first trials of cultivation were successfully carried out, the vegetative development and hardiness of both species being satisfactory. The production of dry whole plants has reached 40 kg/are from the second year of cultivation. For both species, the essential oil content fluctuated between 1 and 1,5%, depending on the season and on the phenological stage of harvest. The major component of Lesser Calamint is pulegone (> 80%), a ketone that has many antimicrobial, antibacterial, insecticidal, and allelopathic properties, but has demonstrated hepatic toxicity to mammals, and is not safe for the environment. The essential oil compounds of Woodland Calamint are dominated by carvone (33 to 38%), another ketone whose use as a flavor goes back thousands of years. As regards their phenolic and flavonoid compounds, the rosmarinic acid content is higher in the Lesser Calamint, while that of the chlorogenic acid is more present in the Woodland Calamint. The formulation of food products, medicines or bioinsecticides must imperatively take into account the legislation in force, and evaluate their impact on other organisms and on the environment. In collaboration with the industry, a study of the phenotypic and phytochemical variability of Swiss ecotypes of calamints would be desirable.

Key words: *Clinopodium*, *Calamintha*, lesser calamint, woodland calamint, Pulegone, Carvone

Zusammenfassung

***Clinopodium nepeta* und *Clinopodium menthifolium* : agronomisches und phytochemisches Potential von zwei Bergminze-Spezies**

Ein möglicher kommerzieller Anbau von «Kalamint», auch bekannt als Bergminzen, wurde hinsichtlich des agronomischen und phytochemischen Potentials in den Vegetationsperioden 2014 und 2016 näher untersucht. Verschiedene Herkünfte der Arten *Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze (kleinblütige Bergminze) und *Clinopodium menthifolium* (Host) Stace (Wald-Bergminze) wurden unter alpinen Vegetationsbedingungen in den Schweizer Alpen angebaut und anschließend phytochemisch analysiert. Obwohl bisher in der Schweiz kaum verwendet, erfreuen sich die Bergminzen grosser Beliebtheit in den mediterranen Ländern als Gewürz, Tee und traditionell in der regionalen Volksmedizin. Oberhalb tausend Meter Höhe verhielt sich die vegetative Entwicklung und Widerstandsfähigkeit der Kulturen den Anforderungen entsprechend. Die Ausbeute von getrocknetem Pflanzenmaterial betrug 40 kg/Ar ab dem zweiten Jahr. Für beide Arten schwankte der Gehalt an ätherischem Öl zwischen 1 und 1,5% (v/m) in Abhängigkeit von Erntezeitpunkt und der Phänologie. Der Hauptbestandteil (>80%) des ätherischen Öls von *C. nepeta* war Pulegon. Diese Verbindung besitzt verschiedene Wirkeigenschaften, wie antimikrobielle, insektizide und allelopathische Aktivitäten. Ab einer bestimmten Dosis können auch Lebertoxizität in Säugern und umweltgefährdende Eigenschaften resultieren. Der Hauptbestandteil des ätherischen Öls der Waldbergminze war Carvon, ein weiteres Keton, das seit Jahrtausenden in pflanzlichen Aromen verwendet wird, mit 33 bis 38% im ätherischen Öl vorkommt. Hinsichtlich des Polyphenol- und Flavonoidgehalts ist die Rosmarinsäure in *C. nepeta* höher konzentriert als die Chlorogensäure, wobei es in *C. menthifolium* umgekehrt ist. Eine zukünftige Entwicklung von Lebensmitteln, Medikamenten oder Mitteln zur biologischen Schädlingsbekämpfung mit Kalamint müssen den aktuellen rechtlichen Bestimmungen für eine Vermarktung entsprechen. Der mögliche Einfluss der Extrakte auf die Umwelt und andere Organismen muss vor einer Markteinführung evaluiert werden. Im Falle einer Forschungszusammenarbeit mit der Industrie auf diesem Gebiet wäre eine Studie zur Variabilität von Phänotyp und den Sekundärmetaboliten der Schweizerischen Herkünfte angebracht.

Riassunto

***Clinopodium nepeta* e *Clinopodium menthifolium*: potenziale agronomico e fitochimico di due specie di mentuccia**

Dal 2014 al 2016, il potenziale agronomico e fitochimico di due accessioni commerciali di mentuccia, una della mentuccia comune (*Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze) e una della mentuccia maggiore (*Clinopodium menthifolium* (Host) Stace) è stato valutato nelle condizioni climatiche montane delle Alpi svizzere. Non molto usati in Svizzera, le mentucce sono molto popolari nei paesi del Mediterraneo come spezie, tisane e in etnofarmacologia. A più di mille metri sul livello del mare, le prime prove di coltivazione furono eseguite con successo, lo sviluppo vegetativo e la resistenza di entrambe le specie essendo stati soddisfacenti. La produzione di piante intere secche ha raggiunto i 40 kg/ara dal secondo anno di coltivazione. Per entrambe le specie, il contenuto di olio essenziale ha oscillato tra 1 e 1,5%, a seconda della stagione e della fase fenologica del raccolto. Il componente principale della mentuccia comune è il pulegone (> 80%), un chetone che ha molte proprietà antimicrobiche, antibatteriche, insetticide e allelopatiche, ma che ha dimostrato tossicità epatica per i mammiferi e non è sicuro per l'ambiente. I composti di olio essenziale della mentuccia maggiore sono dominati dal carvone (dal 33 al 38%), un altro chetone il cui uso come sapore risale a migliaia di anni fa. Per quanto riguarda i loro composti fenolici e flavonoidi, il contenuto di acido rosmarinico è più alto nella mentuccia comune, mentre quello dell'acido clorogenico è più presente nella mentuccia maggiore. La formulazione di prodotti alimentari, medicinali o bioinsetticidi deve imperativamente tener conto della legislazione in vigore e valutare il loro impatto su altri organismi e sull'ambiente. In collaborazione con l'industria, sarebbe auspicabile uno studio della variabilità fenotipica e fitochimica degli ecotipi svizzeri di calamitosi.