République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr Yahia Farès de Médéa

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

Laboratoire de Biomatériaux et Phénomènes de Transport

THESE

Doctorat

Filière : Génie des Procédés Pharmaceutiques
Option : Génie Pharmaceutique

Préparation Dermo-Pharmaceutique à base de Substances Naturelles : Formulations Galéniques, Caractérisation Chimique et Etudes Pharmaceutiques

Présentée par
BOUKHATEM Bouchra Sarah

Devant la Commission de Jury composée de

► M. ATSAMNIA Djamel	MC-A	Université de Médéa	Président
► M. BELHADJ Abd-Elmouneïm	Professeur	Université de Médéa	Directeur de Thèse
► M. BITAM Said	MC-A	Université de Médéa	Examinateur
► M. FERHAT Mohamed Amine	Professeur	ENS Kouba, Alger	Examinateur

Année Universitaire 2023-2024

REMERCIEMENTS

En préambule, j‘exprime mes profonds remerciements et ma sincère gratitude à toute personne ayant contribué dans la réalisation, la rédaction et l’achèvement de ma thèse de doctorat.

- En premier, permettez-moi d’exprimer ma totale reconnaissance envers mon directeur de thèse, M. BELHADJ A.E., Professeur au niveau de la Faculté des Sciences de l’Université de Médéa, pour avoir guidé et encadré ce travail de thèse ainsi que pour son intérêt à cette thématique de recherche, tout en me laissant libre dans mes choix. Vos remarques éclairées, votre patience, vos encouragements et votre engagement m'ont guidé et permis de développer mes compétences. Vos précieux conseils et suggestions ont été une grande source d'inspiration.

- J’exprime aussi mes chaleureux remerciements aux membres du jury pour leur acceptation d'évaluer ce travail et de partager leurs commentaires constructifs et objectifs. Vos suggestions et recommandations vont, certainement et grandement, enrichir ma recherche et améliorer d’avantage la qualité scientifique de cette thèse. Je suis reconnaissante de m’avoir consacré votre temps et votre attention à l’expertise de mon travail.

A notre Président du Jury,

- Monsieur ATSAMNIA D., enseignant-chercheur à l’Université de Médéa. Je suis pleinement honorée de vous avoir vu assurer la présidence du Jury. Consciente de l’enrichissement que vous pouviez apporter à ce travail, je suis et sera toujours reconnaissante de cette opportunité offerte pour bénéficier de vos conseils et de votre évaluation.

Aux Examinateurs du Jury,

- Mes remerciements vont à M. BITAM S., enseignant-chercheur au niveau de l’Université de Médéa. Je suis particulièrement reconnaissante envers vous pour votre temps consacré dans l’examen de ma thèse. Votre expertise et votre participation seront d'une grande valeur. Vos suggestions pertinentes et remarques constructifs vont permettre d'améliorer, encore plus, la qualité de ma thèse et d'approfondir ma réflexion.

- J’exprime aussi ma gratitude envers M. FERHAT M.A., enseignant-chercheur au niveau de l’ENS Kouba (Alger), pour votre précieuse contribution et vos commentaires éclairés. Vos connaissances dans ce domaine de recherche vont enrichir les discussions et permettre de prendre en compte différentes perspectives.

J’exprimer aussi ma profonde et totale gratitude à tous les membres de ma famille pour leur assistance et soutien indéfectible durant mon cursus universitaire. Je vous suis reconnaissante de m'avoir soutenue et de m'avoir inspirée à persévérer.

Enfin, je voudrais aussi remercier toutes les personnes qui ont participé à ma recherche en tant que participants ou informateurs. Votre contribution généreuse fut essentielle pour mener à bien mes expérimentations, ainsi que la validation de mes résultats. Je suis reconnaissante de votre volonté de partager votre temps et vos connaissances dans le but de faire progresser mes travaux scientifiques.

Sincères et profonds remerciements à tout le personnel de la Faculté de Technologie de l’Université de Médéa, ainsi que tous le corps enseignant et personnel technique et administratif.

RESUME

Les objectifs assignés dans cette thèse consistent à déterminer le profil chromatographique du distillat aromatique de la lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) (HELO) et d'estimer ses propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoire topique. Le profil chromatographique de l'HELO a révélé la prédominance d'un ester monoterpénique, l'acétate de linalyle (53,64%) et de son alcool (linalool, 22,85%) comme composés majoritaires. Le screening antimicrobien, mené sur différentes souches en comparaison avec des antibiotiques, a montré que l'HELO présente un pouvoir inhibiteur faible pour les espèces bactériennes, et modéré pour la levure *Candida albicans*. En microatmosphère, uniquement le *Bacillus subtilis* qui a été inhibé. Cette expérimentation a été complétée par une étude *in silico* avec comme objectif l'évaluation du pouvoir antibactérien des composés terpéniques à travers l'inhibition du site actif d'un récepteur impliqué dans la synthèse du peptidoglycane. Les résultats du docking moléculaire ont révélé que c'est les antibiotiques qui ont fortement inhibé ce récepteur protéique. En outre, les propriétés anti-inflammatoires cutanées, *in vivo*, de l'HELO ont été déterminées. Le groupe d'animaux traité avec l'HELO (0,352 mg/kg) a donné un taux de diminution de l'inflammation le plus élevé. Ces résultats ont été confirmés, à échelle tissulaire, par un examen histologique. Enfin et pour mettre en exergue l'effet inhibiteur des molécules terpéniques de l'HELO, *in silico*, sur un récepteur de type cyclo-oxygénase (COX-2), nous avons opté pour le docking moléculaire. Cette étude a mis en exergue l'efficacité de deux AINS (célécoxib et diclofénac de sodium) et de certaines molécules terpéniques dans l'inhibition du site actif de la COX-2. Les propriétés physicochimique et pharmacocinétique des composés terpéniques ont été prédites, ainsi que la génération d'un modèle pharmacophore. En conclusion, nos données vont entrevoir de prometteuses perspectives d'utilisation dermo-pharmaceutique des HELO comme bioactifs dans des préparations topiques a visée thérapeutique.

Mots-clés : Distillats aromatiques ; Anti-inflammatoire topique ; Lavande officinale ; Docking moléculaire ; Molécules terpéniques.

ABSTRACT

The objectives of our research were to assess the chemical compounds of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil (LOEO) and to evaluate its antimicrobial and anti-inflammatory properties. The chromatographic profile of LOEO revealed the presence of linalyl acetate (53.64%) and its monoterpene alcohol, namely linalool (22.85%) as major compounds. The antimicrobial screening was investigated against different bacterial and fungal species. Our findings revealed that LOEO exhibited a weak inhibitory effect against bacteria, and a moderate activity against the yeast *Candida albicans*. In the vapor phase, only *Bacillus subtilis* was inhibited. This *in vitro* study was complemented by a computational assay (*in silico*) aiming to determine the bacterial inhibitory action of LOEO terpenes through the inhibition of the active site of a receptor involved in peptidoglycan synthesis. The data of *in silico* molecular docking revealed that antibiotics strongly inhibited the PBP protein receptor. Moreover, the anti-inflammatory potential of LOEO was estimated. The group of animals treated with LOEO (0.352 mg/kg) showed the highest rate of edema reduction, comparing to the animal treated with the xylene. These data were confirmed by histological examination. Finally, the molecular docking was executed to highlight the *in silico* inhibitory effect of LOEO terpenes on a cyclooxygenase-2 (COX-2). Our results demonstrated the efficacy of two NSAIDs (celecoxib and diclofenac Na) and some terpenes in inhibiting the binding site of COX-2. The physicochemical, pharmacodynamic and pharmacokinetic predictions of LOEO terpenes were assessed *in silico*, followed by the creation of a pharmacophoric map. In conclusion, our findings suggest new pharmaceutical applications of LOEO as an active ingredient in topical galenic formulations with anti-inflammatory purposes.

Keywords: Plant-derived essential oils; Topical anti-inflammatory; English lavender; Molecular docking; Terpenes.

ملخص

إن الهدف من هذا البحث يتمثل في تحديد المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لنبتة الخزامى الطبية (*Lavandula angustifolia* Mill.) وتقييم فعاليته ضد نمو الجراثيم وتأثيره المضاد للالتهابات الموضعية. أظهر تحليل المكونات الكيميائية لزيت الخزامى وجود أسيتات اللينالیل (53.64٪) وكحول اللينالول (22.85٪) كمكونات رئيسية. كما كشف الفحص المضاد للميكروبات والذي أجري على سلالات مختلفة مقارنة بالمضادات الحيوية، أن لزيت اللافندر الخزامى فعالية ا ضعيفًة في تثبيط نمو البكتيريا، وقدرة معتدلة في تثبيط نمو الخميرة *Candida albicans*. تم استكمال هذه التجربة بدراسة في الحاسوب بهدف تقييم القدرة المضادة للبكتيريا للمركبات التربينية الموجودة في زيت الخزامى الطبي من خلال تثبيط موقع النشاط لأنزيم يلعب دورًا في تركيب الببتيدوجليكان. أظهرت نتائج التزامن الجزيئي أن المضادات الحيوية هي التي أثرت بشكل كبير على هذا المستقبل البروتيني. من جهة أخرى، تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب الموضعي لزيت اللافندر لدى الحيوانات المخبرية، وذلك مقارنةً بالأدوية المضادة للالتهاب. كشفت النتائج أن مجموعة الحيوانات التي تمت معالجتها بزيت اللافندر بتركيز 0.352 ملغ/كغ استجابت بصفة جيدة من خلال الحصول على أعلى معدل في التقليل من حدة الالتهاب، مقارنةً بالمجموعة المعالجة بالمادة المثيرة للالتهاب. تم تأكيد هذه النتائج على مستوى الأنسجة من خلال الفحص الخلوي. في الأخير، قمنا بعمل التزامن الجزيئي لفحص مدى فعالية المركبات التربينية في تثبيط مستقبل من نوع سايكلوأكسجيناز (COX-2) المسؤول عن تركيب الوسطاء المشاركة في العملية الالتهابية. حيث أظهرت هذه الدراسة فعالية مضادات الالتهاب غير الستيرويدية (célécoxib و diclofénac de sodium) وبعض المركبات التربينية في تثبيط موقع النشاط لأنزيم COX-2. تم توقع الخواص الفيزيائية والكيميائية والدوائية للمركبات التربينية بشكل حاسوبي، بالإضافة إلى إنشاء نموذج فارماكوفور. في النهاية، تشير النتائج المتحصل عليها إلى آفاق جديدة لتطبيق زيت الخزامى الطبي كمكون فعال في المستحضرات الصيدلانية الموضعية المضادة للالتهاب.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية الأساسية، مضادات الالتهاب الموضعي، نبتة الخزامى، الالتحام الجزيئي، المركبات التربينية.

TABLE DES MATIERES

Résumé iii
Abstract iv
ملخص v
Liste des Tableaux viii
Liste des Figures ix
Liste des Abréviations x

Introduction ---------- 1

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ---------- 4

1.1. Huiles essentielles et domaines d'application ---------- 4
1.1.1. Condensé historique ---------- 4
1.1.2. Définitions et terminologie ---------- 4
1.1.3. Structures de sécrétion ---------- 5
1.1.4. Composition chimique des huiles aromatiques ---------- 6
1.1.5. Domaines d'exploitation des essences aromatiques ---------- 9
1.1.5.1. Aromathérapie ---------- 9
1.1.5.2. Décontamination des ambiances ---------- 10
1.1.5.3. Industries agro-alimentaires ---------- 10
1.1.5.4. Industries cosmétiques et parfumerie ---------- 10
1.2. Monographie de l'espèce végétale : Lavande vraie ---------- 11
1.2.1. Genre *Lavandula* ---------- 11
1.2.2. Synonymes ---------- 12
1.2.3. Description botanique ---------- 12
1.2.4. Classification botanique ---------- 16
1.2.5. Origine, écologie et réparation mondiale ---------- 16
1.2.6. Techniques de distillation et rendements en huiles aromatiques ---------- 17
1.2.7. Aperçu de l'importance et des utilisations de la lavande ---------- 19
1.2.7.1. Industries agro-alimentaires ---------- 19
1.2.7.2. Cosmétiques et parfumerie ---------- 19
1.2.7.3. Utilisations médicinales et potentiel pharmaceutique ---------- 20
1.2.7.4. Applications environnementales et agronomiques ---------- 25
1.2.8. Réglementation, qualité et normes ---------- 25
1.2.8.1. Qualité sensorielle de l'huile aromatique ---------- 25
1.2.8.2. Normes et lignes directrices pour la qualité des huiles essentielles ---------- 26
1.2.8.3. Récolte, séchage et rendement ---------- 28
1.2.8.4. Problèmes de sécurité et d'authenticité ---------- 28
1.2.9. Facteurs influençant la qualité des distillats aromatiques ---------- 29
1.2.10. Culture et production ---------- 31
1.2.11. Toxicité et précaution d'emploi des distillats ---------- 31

CHAPITRE 2 = MATERIEL ET METHODES ---------- 33

2.1. Matériel ---------- 33
2.1.1. Technique de distillation ---------- 33
2.1.2. Espèces bactériennes et fongiques ---------- 33
2.1.3. Animaux de laboratoire ---------- 34
2.1.4. Réactifs chimiques et milieux gélosés utilisés ---------- 34
2.2. Méthodes ---------- 34
2.2.1. Caractérisation du profil chromatographique de l'HELO ---------- 34
2.2.2. Activité inhibitrice microbienne de l'HELO *in vitro* ---------- 35
2.2.2.1. Technique de l'aromatogramme ---------- 35
2.2.2.2. Méthode de microatmosphère ---------- 36
2.2.2.3. Détermination des concentrations CMI et CMB par macrodilution ---------- 37
2.2.3. Evaluation des propriétés anti-inflammatoires cutanées de l'HELO ---------- 38
2.2.4. Examen histologique des coupes auriculaires ---------- 38
2.2.5. Préparation d'une émulsion dermique et contrôle de la qualité microbienne ---------- 39
2.2.6. Analyse microbiologique de la crème ---------- 39
2.2.7. Etude de l'activité inhibitrice *in silico* ---------- 40
2.2.7.1. Structure des ligands ---------- 40
2.2.7.2. Structure et préparation du récepteur enzymatique ---------- 43
2.2.7.3. Estimation du pouvoir antibactérien par inhibition de la PBP ---------- 45
2.2.7.4. Estimation du pouvoir anti-inflammatoire des ligands par inhibition de la COX-2 -------- 45
2.2.7.5. Prédiction des propriétés ADMET ---------- 46
2.2.7.6. Génération d'un modèle pharmacophore ---------- 46

CHAPITRE 3 = RESULTATS ET DISCUSSION ---------- 47

3.1. Détermination du profil chimique de l'HELO ---------- 47
3.2. Propriétés antimicrobiennes de l'HELO *in vitro* ---------- 53
3.2.1. Détermination des zones d'inhibition par aromatogramme et microatmosphère ---------- 53
3.2.2. Détermination des concentrations inhibitrices et bactéricides ---------- 57
3.3. Etude du pouvoir antibactérien *in silico* par docking moléculaire ---------- 58
3.4. Etude *in vivo* du pouvoir anti-inflammatoire cutané de l'HELO ---------- 73
3.5. Etude histologique de la morphologie tissulaire auriculaire des souris ---------- 75
3.6. Contrôle de la qualité microbienne de la crème préparée ---------- 77
3.7. Evaluation du pouvoir anti-inflammatoire *in silico* par amarrage moléculaire ---------- 78
3.8. Prédiction des propriétés ADMET ---------- 88
3.9. Développement d'un modèle pharmacophorique ---------- 92

Conclusion ---------- 95

Références Bibliographiques ---------- 97

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Position phylogénique ---------- 16
Tableau 1.2. Normes de qualité du distillat aromatique de la lavande---------- 26
Tableau 2.1. Bactéries et champignons testés en aromatogramme et en microatmosphère ---------- 34
Tableau 2.2. Conditions opératoires de l'analyse chromatographique de l'huile ---------- 35
Tableau 2.3. Ligands (médicaments) testés dans le docking moléculaire *in silico* ---------- 42
Tableau 2.4. Ligands (molécules terpéniques) testés dans le docking moléculaire *in silico* --------- 43
Tableau 3.1. Composés chimiques détectés et identifiés dans l'huile ---------- 48
Tableau 3.2. Molécules terpéniques majoritaires identifiées dans les huiles essentielles et provenant de différents écosystèmes ---------- 49
Tableau 3.3. Dix principaux composés des huiles essentielles des cultivars (cv.) de l'espèce botanique lavande ---------- 50
Tableau 3.4. Exigences comparatives de la Pharmacopée Européenne et ISO pour l'huile essentielle distillée de la lavande ---------- 51
Tableau 3.5. Diamètres d'inhibition de l'huile *in vitro* déterminés par techniques d'aromatogramme et de microatmosphère ---------- 53
Tableau 3.6. Études scientifiques décrivant les propriétés antibactériennes et antifongiques de l'HELO en phase vapeur *in vitro* ---------- 57
Tableau 3.7. Résultats du pouvoir antibactérien des composés terpéniques de l'huile en comparaison avec des antibiotiques *in silico* (docking moléculaire) ---------- 59
Tableau 3.8. Types des interactions constituées entre les ligands (antibiotiques) testés et le site catalytique protéique PBP (PDB = 3SVL) ---------- 60
Tableau 3.9. Types des interactions formées entre les différents ligands (molécules terpéniques) testés et le site actif de l'enzyme bactérienne PBP (PDB = 3SVL) ---------- 72
Tableau 3.10. Taux de réduction de l'inflammation topique des différents lots d'animaux traités en comparaison avec le xylène ---------- 73
Tableau 3.11. Résultats du pouvoir inhibiteur *in silico* de la COX-2 par les composés terpéniques de l'huile, en comparaison avec des AINS ---------- 79
Tableau 3.12. Interactions formées entre le site catalytique de la COX-2 et les ligands ---------- 79
Tableau 3.13. Prédiction des propriétés ADMET de certains ligands ---------- 90

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Illustration d'un trichome glandulaire de feuille de menthe (Lamiaceae) ---- 6
Figure 1.2. Eléments sécréteurs de l'épiderme en coupe transversale ---- 6
Figure 1.3. Poche sécrétrice en coupe transversale (épicarpe des agrumes) ---- 6
Figure 1.4. Canal sécréteur ---- 6
Figure 1.5. Structure de quelques monoterpènes acyclique et monocyclique ---- 7
Figure 1.6. Structure chimique de quelques monoterpènes bicyclique et tricyclique ---- 8
Figure 1.7. Structure chimique de quelques sesquiterpènes bicyclique et tricyclique ---- 8
Figure 1.8. Modes d'action antibactériens des huiles au niveau cellulaire ---- 9
Figure 1.9. Aspects botaniques ---- 14
Figure 1.10. Aspects des structures sécrétrices de la lavande ---- 15
Figure 1.11. Glande sécrétrice chargée d'huile essentielle d'une fleur de lavande ---- 15
Figure 1.12. Répartition géographique mondiale de la lavande officinale ---- 17
Figure 1.13. Extraction de l'huile essentielle assistée aux micro-ondes sans eau ---- 18
Figure 1.14. Mécanisme de libération des essences aromatiques par micro-ondes ---- 18
Figure 1.15. Profils chromatographiques de l'HE de lavande enrichie à l'huile végétale ---- 29
Figure 2.1. Schéma illustratif de la technique de l'aromatogramme ---- 36
Figure 2.2. Schéma illustratif de la technique de diffusion en phase vapeur ---- 37
Figure 2.3. Structure des différents médicaments anti-inflammatoires testés contre la COX-2 ---- 40
Figure 2.4. Structure chimique des antibiotiques utilisés dans l'amarrage contre la PBP ---- 40
Figure 2.5. Structure chimique des différents composés terpéniques testés dans l'amarrage ---- 41
Figure 2.6. Structure du récepteur protéique (PBP3) ---- 43
Figure 2.7. Structure de la chaine A de la protéine PBP ---- 43
Figure 2.8. Site catalytique localisé dans la sous unité protéique A ---- 43
Figure 2.9. Structure de la protéine COX-2 ---- 44
Figure 2.10. Structure de la COX-2 préparée ---- 44
Figure 2.11. Localisation du site actif dans la chaine A de la COX-2 ---- 44
Figure 3.1. Tracé chromatographique de l'HELO ---- 48
Figure 3.2. Différents types d'interactions entre antibiotiques-site actif du récepteur ---- 66
Figure 3.3. Interactions formées entre les terpènes-site catalytique du récepteur PBP ---- 71
Figure 3.4. Micrographies de quelques observations histologiques des tissus auriculaires ---- 76
Figure 3.5. Types d'interaction entre deux anti-inflammatoires et le site actif de COX-2 ---- 83
Figure 3.6. Types d'interaction entre les composés terpéniques de l'HELO et la COX-2 ---- 87
Figure 3.7. Modèle pharmacophore généré par superposition des ligands : molécules terpéniques et deux AINS (célécoxib et diclofénac de sodium) ---- 93
Figure 3.8. Structure chimique de quelques composés obtenus du modèle pharmacophore ---- 93

LISTE DES ABREVIATIONS

ADMET = Absorption distribution, métabolisme, excrétion et toxicité
AINS = Médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS = médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens
BBB = Barrière hémato-encéphalique
BLSE = β-Lactamase à spectre élargie
BMR = Bactéries multirésistantes
Caco-2 = Cellules d'adénocarcinome colorectal humain
CG = Chromatographie gazeuse
CG-SM = Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CID = Identifiant du ligand
CL = Clairance
CMB = Concentrations minimales bactéricides
CMI = Concentrations minimales inhibitrices
CN = Céfalexine
COX-2 = Cyclo-oxygénases 2
Cv. = Cultivar
DZI = Diamètre de la zone d'inhibition microbienne
EC = Corrosion oculaire
EI = Irritation oculaire
GRAS = Généralement reconnu comme sain
H&E = Hématoxyline-éosine
HE = Huile essentielle
HELO = Huile essentielle de la lavande officinale
H-HT = Hépatotoxicité humaine
HIA = Absorption intestinale humaine
Il-1 = Interleukine 1
iNOS = Oxyde nitrique synthase inductible
IR = Indices de rétention
logP = logarithme du coefficient de distribution n-octanol/eau
logS = Solubilité aqueuse
LOX = Lipo-oxygénase
LPS = Lipopolysaccharides
MHA = Gélose Muller-hinton
MPO = Myéloperoxydase
NF = Norme Française
NFκB = Facteur de transcription nucléaire
NO = Oxyde nitrique
PBP = Protéines de liaison aux pénicillines
PDB = Protein Data Bank
PGE2 = Prostaglandine E2
Ph. Eur. = Pharmacopée Européenne
PM = Poids moléculaire
PPB = Liaisons aux protéines plasmatiques
ROA = Toxicité aiguë chez les mammifères
SAB = Sabouraud-chloramphénicol
SXT = Triméthoprime-sulfaméthoxazole
TNF-α = Facteur de nécrose tumorale alpha
TRF = Terbinafine
UFC = Unité format colonie

INTRODUCTION

L'approche thérapeutique des pathologies et affections humaines est basée essentiellement sur l'administration des principes actifs synthétiques. Par exemple, l'indication thérapeutique des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et non stéroïdiens (AINS) est la réduction du processus inflammatoire. Ils sont efficaces pour traiter ou soulager les rhumatismes inflammatoires. De plus, ces médicaments sont aussi largement administrés, à faibles doses, pour leurs propriétés antipyrétiques et antalgiques, mais sans être dénués d'effets secondaires sur le système digestif, qu'il vaut mieux connaitre et cerner afin de les prévenir ou éviter. Certains AINS, en particulier à fortes doses ou lors d'une administration prolongée, peuvent provoquer une grande élévation des valeurs de la pression artérielle et des problèmes rénaux, et augmenter ainsi le risque des accidents cérébraux, cardiaques et vasculaires [Ulinski et Bensman, 2004 ; Ahmadi et al., 2022].

Par ailleurs, les nouveaux scandales ayant affecté l'industrie pharmaceutique nous ont rappelés qu'une molécule active doit, avant toute administration ou autorisation de commercialisation ou de mise sur le marché, faire ses preuves en matière d'efficacité et d'innocuité. Ainsi, l'un des AINS les plus utilisés (Vioxx®) a été retiré du marché par le laboratoire Américain Merck. Une étude scientifique a démontré que sa prise régulière augmente le risque des maladies cardio-vasculaires [Krumholz et al., 2007 ; Wilson, 2016 ; Ahmadi et al., 2022]. Lancé en 1999, ce médicament a bénéficié d'un engouement particulier ; c'était la molécule qui allait enfin apaiser les douleurs inflammatoires et rhumatismales sans affecter l'estomac. Hélas, le miracle n'a été que de courte durée [Rodgers et Kupecz, 1999].

A l'instar de ces AINS, d'autres médicaments tels que les antibiotiques ont été, par le passé, retirés des officines pour principale raison un problème de toxicité et de potentiels effets indésirables graves. C'est l'exemple de la trovafloxacine (classe des fluoroquinolones), retiré en raison d'un effet toxique grave sur le foie et les reins [Kassah-Laouar, 2020]. Plus récemment encore et depuis 2019, les laboratoires pharmaceutiques Gerda ont procédé au retrait de l'antibiotique nommé Apurone (fluméquine) qui était autorisé dans les problèmes infectieux du tractus urinaire, et est désormais jugé plus dangereux qu'utile [Huruba et al., 2021]. En définitive, cette famille des antibiotiques (fluoroquinolones) sera uniquement réservée aux pathologies infectieuses où on ne peut pas faire autrement [Buxeraud et Faure, 2023]. Une autre problématique inhérente aux antibiotiques est l'antibiorésistance. Dernièrement, les pathologies infectieuses bactériennes et fongiques sont devenues récurrentes du fait de l'émergence des germes ou espèces bactériennes multirésistantes (BMR). L'administration abusive et la surconsommation des antibiotiques a permis à ces espèces bactériennes de se doter d'un pouvoir d'adaptation important pour contourner l'effet inhibiteur des antibiotiques et, par la suite, à prendre graduellement l'avantage [Kempf et Zeitouni, 2012 ; Nardulli et al., 2022]. Face à cette préoccupation mondiale, il est nécessaire de réaliser et initier de nouveaux travaux scientifiques et investigations pharmacologiques afin de mieux cerner et contrôler la propagation des BMR et limiter ainsi l'antibiorésistance.

Bref, ces différents scandales sanitaires à répétition, amplement discutés dans les médias, ont eu comme déclic un retour vers une prise en charge médicale naturelle, jugeant ces thérapeutiques plus saines et avec moins d'effets indésirables, comparativement aux médicaments de synthèse. Partant de ce constat, la communauté scientifique recherche et explore de nouvelles et prometteuses biomolécules naturelles permettant de traiter-prévenir les pathologies inflammatoires et infectieuses. De plus et face à la problématique liée à l'émergence du phénomène de l'antibiorésistance ou bien les profils toxicologiques des principes actifs synthétiques, une des alternatives les plus encourageantes semblent émaner de l'application des bioactif naturels, comme les essences végétales ou huiles essentielles (HE) extraites des herbes médicinales et des plantes aromatiques [Goetz et Ghedira, 2012 ; Zhang et al., 2020 ; Aljaafari et al., 2021]. Cet engouement pour des thérapeutiques naturelles (phyto-aromathérapie) a poussé la communauté scientifique à explorer et confirmer les propriétés pharmaco-toxicologiques des plantes à parfum, principalement *in vitro* et *in vivo* (modèle d'expérimentation animale) [Lis-Balchin, 2006 ; Maurya et al., 2021]. Depuis longtemps, l'homme à fait confiance aux plantes aromatiques et médicinales (PAM). Et c'est en y puisant leur principe actif que les premiers médicaments ont vu le jour, avant l'arrivée des molécules de synthèse mimant leurs particularités chimiques [Guinoiseau, 2010 ; Guzmán et Lucia, 2021]. La phyto-aromathérapie n'a pas disparu pour autant. De ce fait, plusieurs espèces botaniques, strictement réglementées et contrôlées, sont inscrites à la pharmacopée [Lehmann, 2015 ; Kpodji et al., 2019].

Synthétisées et sécrétées comme métabolites secondaires par les PAM, les essences végétales sont actuellement exploitées comme ingrédients aromatisants dans des préparations cosmétiques et dans le secteur de la parfumerie, ou comme molécules antibactérienne et antifongiques dans l'industrie alimentaire ou en phyto-aromathérapie [Sallé et Pelletier, 1991 ; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012 ; Brożyna et al., 2021]. Ces essences sont reconnues comme des produits odorants, généralement de composition variable et très complexe, et sont extraites par différentes techniques à partir d'une espèce botanique sélectionnée [Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012 ; Chemat et al., 2012 ; Aziz et al., 2018]. Plusieurs études scientifiques et essais cliniques humains ont mis en exergue les bienfaits thérapeutiques des essences végétales aromatiques, et expliquer les mécanismes et modes d'action de leurs composés terpéniques caractéristiques [De Billerbeck, 2007 ; Couic-Marinier, 2018]. Par ailleurs, de nombreuses HE et leurs composés ont un effet anti-infectieux et antalgique. Actuellement, la bibliographie scientifique regorge de travaux menés sur les propriétés anti-infectieuses des essences aromatiques, et aucun ne peut contester l'efficacité de ces extraits végétaux dans l'inhibition des BMR [De Billerbeck, 2007 ; Bouyahya et al., 2018 ; Zhao et al., 2022].

Parmi les PAM qui sont largement utilisées pour leurs vertus thérapeutiques, nous pouvons citer les espèces botaniques appartenant au genre *Lavandula* (famille des lamiacées). Ce groupe botanique englobe de nombreuses espèces végétales cultivées comme plantes ornementales, telles que la lavande vraie (*Lavandula angustifolia* Mill.), encore appelé *L. officinalis*. La communauté scientifique connaît les bienfaits et vertus thérapeutiques de cette plante à parfum, particulièrement sur le système nerveux à travers son action sédative et anxiolytique [Lis-Balchin, 2002 ; Gainard, 2016 ; Samuelson et al., 2020 ; Dakhlaoui et al., 2022 ; Crișan et al., 2023]. En revanche et malgré

l'engouement et l'enthousiasme suscité par les bienfaits de l'huile essentielle distillée de *L. officinalis* (HELO), très peu d'études scientifiques lui ont été consacrées au niveau national [Benabdelkader, 2012] pour mieux cerner ces potentielles utilisations comme bioactif dans les industries dermocosmétiques et parapharmaceutiques.

Les objectifs assignés, au cours de cette thèse de doctorat, consistent à déterminer le profil chimique de l'HELO par analyse chromatographique, et d'évaluer son pouvoir antimicrobien à travers l'utilisation de deux méthodes complémentaires, en l'occurrence la technique de diffusion gélosée (aromatogramme) et la méthode d'évaporation (appelée aussi microatmosphère), ainsi que l'application d'une analyse quantitative (technique de macrodilution) pour la détermination des valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance microbienne, et bactéricides (CMB). En outre, les propriétés anti-inflammatoires topiques ont été étudiées et confirmées par technique d'induction d'œdème auriculaire chez les souris (*in vivo*), suivi par une confirmation tissulaire à travers une étude histologique des pièces auriculaires prélevées et colorées. Par la suite, une préparation galénique topique à base d'HELO a été réalisée et soumise à un contrôle de la qualité microbienne. Pour la partie relative à la chimie computationnelle, les propriétés anti-inflammatoires des terpènes caractéristiques de l'HELO ont été évaluées, *in silico*, par technique de docking moléculaire sur le site actif protéique de la cyclo-oxygénases 2 (COX-2), une enzyme responsable de la synthèse de plusieurs médiateurs chimiques impliqués dans le processus inflammatoire, suivi par la génération d'un modèle pharmacophorique ainsi que la prédiction des propriétés pharmacocinétique-pharmacodynamique-toxicité ADMET (absorption distribution, métabolisme, excrétion et toxicité).

Chapitre 1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Huiles essentielles et domaines d'application

1.1.1. Condensé historique

Par le passé, nos ancêtres ont su exploiter les PAM dont ils distillaient les HE. Les égyptiens maîtrisaient parfaitement la production des huiles végétales et des distillats aromatiques pour les soins corporels et l'embaumement des cadavres. La civilisation gréco-romaine a connu un grand développement dans la production des parfums et des onguents aromatiques. De même, les asiatiques (chinois et indiens) ont capitalisé un savoir-faire et des connaissances qu'ils ont regroupées dans des livres et encyclopédies dédiés aux PAM [**Bardeau, 2009 ; Hoffmann, 2020**]. L'art de la distillation des PAM a été initié durant les civilisations persiques et égyptiennes, et s'est propulsé avec la création de l'alambic par Avicenne. Par la suite et au cours des croisades durant le XIII^{e} siècle, ce savoir-faire, lié à la distillation et à la production des essences végétales aromatiques, a été transmis aux européens qui ont initié le développement de la Pharmacopée. La majorité des scientifiques et pharmaciens ont été impliqués dans la diffusion des connaissances ainsi que la découverte de nouvelles techniques innovantes de distillation. Durant plusieurs siècles, les essences végétales étaient majoritairement exploitées pour leurs propriétés médicinales [Gilly, 1997 ; Bodiou, 2008 ; Géa et Banel, 2022].

Il a fallu attendre l'année 1928 pour que la phyto-aromathérapie scientifique soit relancée par un scientifique français nommé Gatefosse, qui a découvert les puissantes capacités curatives des distillats aromatiques. Le développement de l'aromathérapie, à l'échelle mondiale, a été rendu possible grâce aux avancées scientifiques et aux méthodes d'investigation chimique, ce qui a permis des études plus approfondies de ces biomolécules naturelles. Actuellement, nous utilisons les essences et distillats aromatiques dans notre vie quotidienne. Ces extraits sont également exploités et utilisés dans de nombreux secteurs, des industries agro-alimentaires, dermocosmétiques et pharmaceutiques, en passant par la phyto-aromathérapie et la parfumerie [Teuscher et al., 2005 ; Roux, 2008 ; Aljaafari et al., 2021].

On estime qu'environ 3000 HE sont connues aujourd'hui, mais seulement 150 environ ont une importance commerciale. Il est difficile de connaître la production mondiale, mais les données disponibles suggèrent que les cultures des PAM couvrent plus d'1/2 million d'hectares dans le monde [Barbieri et Borsotto, 2018].

1.1.2. Définitions et terminologie

LHE est considéré comme un complexe de composés aromatiques, de nature lipophile, et d'un aspect liquide. Ces huiles sont synthétisées au niveau des structures sécrétrices végétales spécialisées, donnant un parfum caractéristique pour l'espèce végétale.

Le terme « huile » fait référence à la solubilité des distillats dans les phases huileuses en raison de leurs propriétés hydrophobiques. Le terme « essentielle » signifie que ces mélanges dégagent un parfum distinctif [Zhiri et Baudoux, 2005 ; Roux et Catier, 2007].
L'HE est considérée comme « un extrait distillé d'un matériel végétal sélectionné, soit par technique d'entraînement à la vapeur, soit par méthodes mécaniques (écorce des agrumes) [AFNOR, 2000].
Pour d'autres chercheurs, il convient de distinguer entre l'HE et l'essence aromatique, qui est une sécrétion naturelle synthétisée par un matériel végétal et varie considérablement en fonction de l'espèce botanique. Cependant, l'essence aromatique est considérée comme un extrait volatil à partir d'un matériel végétal sélectionné obtenue par différentes techniques de distillation [Garreta, 2007].

Il existe plusieurs nominations concernant les HE au niveau commercial [AFSSAPS, 2008] :
- HE déterpénée, partiellement ou complètement dépourvue d'hydrocarbures monoterpéniques.
- HE rectifiée, qui a subi une extraction fractionnée pour éliminer les molécules indésirables ou toxiques ;
- HE privée de "X", qui a subi une élimination d'une molécule "X". Par conséquent, l'HE distillée de la menthe, et présentant une prédominance en menthol (alcool monoterpénique), peut être partiellement démentholée.

D'autres labels, appellations et spécifications des HE existent, comme par exemple :
- Les huiles "HEBBD" désignent les huiles botaniquement et biochimiquement détermuinées. Cela implique que la variété botanique et le profil chimique de l'espèce végétale ont été bien identifiés.
- Les huile appelées "HECT" sont des distillats dont le profil chimique est caractérisé avec précision, (composé prédominant identifié). Les HE de la menthe (*Mentha spicata*) contiennent du menthol comme composé majoritaire.
- L'HE pure à 100 % est garantie sans l'addition d'autres distillats, comme l'incorporation d'une huile de lavandin (*Lavandula intermedia*) à l'HELO (*L. angustifolia*).
- L'HE naturelle à 100 % est garantie sans l'addition de composés synthétiques tels que l'incorporation du linalool (alcool monoterpénique) dans l'huile de coriandre [Zhiri et Baudoux, 2005].

1.1.3. Structures de sécrétion

Uniquement dix pour cent des espèces végétales sont qualifiées « d'aromatiques » en raison de leur capacité à synthétiser et à accumuler des HE [Roux et Catier, 2007 ; Khandelwal, 2008]. Les essences aromatiques sont considérées comme des sécrétions naturelles végétales localisées au niveau de certains types cellulaires ou parties botaniques, comme les inflorescences (jasmin et lavande), les feuilles (menthe), les écorces (cannelier), les fruits (orange), les bulbes (oignon), ou les graines (anis). A noter que pour l'extraction des HE de certaines plantes à parfum (sauge ou lavande), c'est le matériel végétal complet qui est employé [Parthasarathy et al., 2008 ; Lee et Ding, 2016]. Les parties concentrées en huile peuvent être recueillies ou prélevées pendant les périodes de rendement idéales : avant la période de floraison pour les menthes, pendant la floraison pour le géranium et la lavande, et après floraison (plantes à graines telles que le nigelle) [Maffei et al., 1989 ; Lis-Balchin, 2002 ; Baser et Buchbauer, 2010].

Les HE sont synthétisées au niveau cytoplasmique des organes sécréteurs et s'accumulent généralement dans des structures glandulaires ou histologiques, localisées dans la partie superficielle et entourées par une membrane appelée cuticule. Les essences sont synthétisées dans des cellules à HE (Lauracées) (Figure 1.2-ab), dans des poils sécréteurs (Géraniacées et Lamiacées) (Figure 1.1 et 1.2-c), dans des poches sécrétrices (Myrtacées) (Figure 1.3) ou dans des canaux sécréteurs (Astéracées) (Figure 1.4) [Teuscher et al., 2005 ; Gaceb-Terrak et al., 2017 ; Festy, 2018].

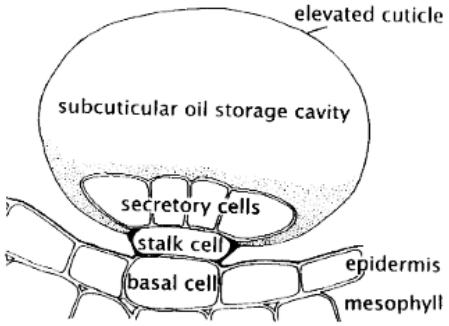


Figure 1.1. Illustration d'un trichome glandulaire de feuille de menthe (famille des Lamiaceae) représentant le placement de la cavité de stockage des essences végétales dans un poil glandulaire ou tête vésiculeuse [Turner et al., 2000].

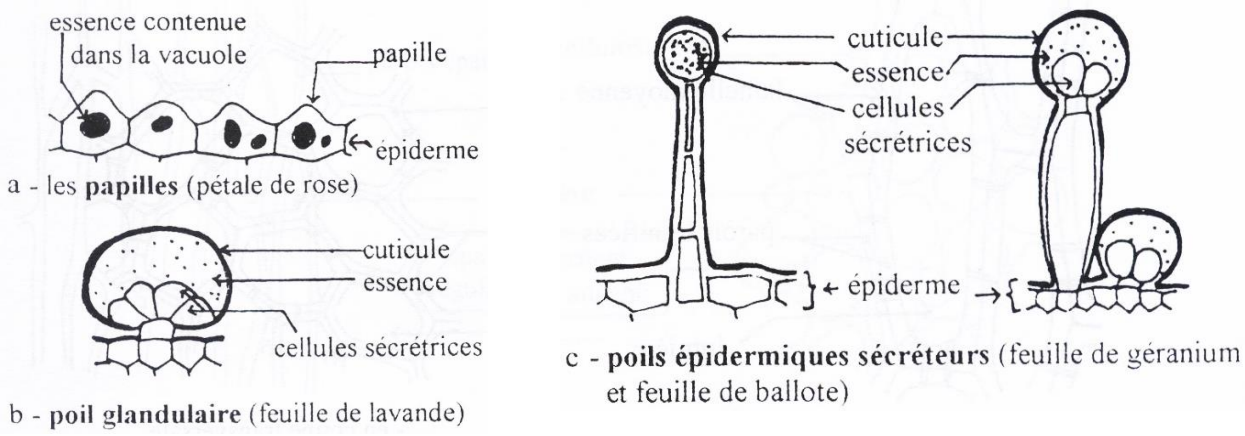


Figure 1.2. Eléments sécréteurs de l'épiderme en coupe transversale [Gaceb-Terrak et al., 2017].

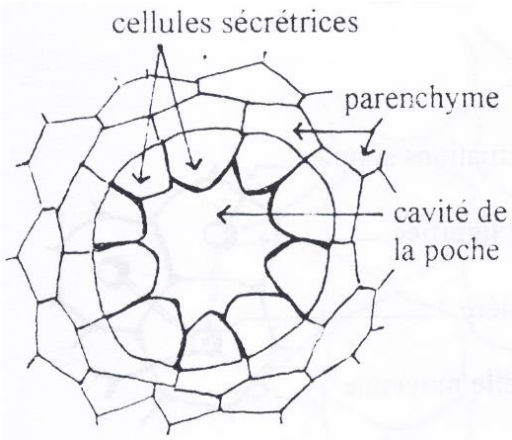


Figure 1.3. Poche sécrétrice en coupe transversale (épicarpe des agrumes) [Gaceb-Terrak et al., 2017].

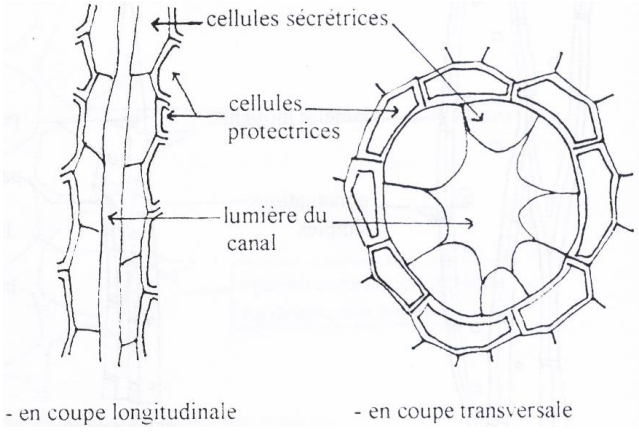


Figure 1.4. Canal sécréteur [Gaceb-Terrak et al., 2017].

L'huile aromatique peut être distillée de différentes parties ou organes chez certaines espèces végétales. Cependant, le profil chromatographique de ces distillats peut varier d'une façon importante selon sa localisation dans les organes végétaux [Gilly, 1997 ; Bardeau, 2009].

1.1.4. Composition chimique des huiles aromatiques

En référence à leur odeur, les composants des HE sont généralement appelés « aromatiques ». Leur propriété volatile est due à leur faible poids moléculaire, qui est à l'origine du caractère olfactif. La majorité des essences aromatiques sont dites poly-moléculaires car elles présentent plusieurs dizaines ou centaines de composés (huile des roses). Il y a certaines huiles qui sont appelées mono-moléculaires, comme la menthe pouliot (*Mentha pulegium*). Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et le citron (*Citrus limon*) ont un profil chimique bi- et tri-moléculaires [Kempf et al., 2011].

La majorité des composés terpéniques des essences aromatiques sont principalement issus de 2 familles chimiques distinctes en termes d'origines biogénétiques : famille des terpénoïdes et molécules dérivées du phénylpropane. Plus de 2500 composants ont été détectés et identifiés dans les distillats aromatiques végétaux [Baser et Buchbauer, 2010 ; Morsy, 2017].

Une grande majorité des huiles aromatiques sont des mélanges complexes de composés monoterpéniques acyclique, mono (Figure 1.5), bi- et tri-cycliques (Figure 1.6), de sesquiterpènes (Figure 1.7), de cétones, d'éthers, d'alcools, d'esters et d'aldéhydes [Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012 ; Couic-Marinier et Lobstein, 2013].

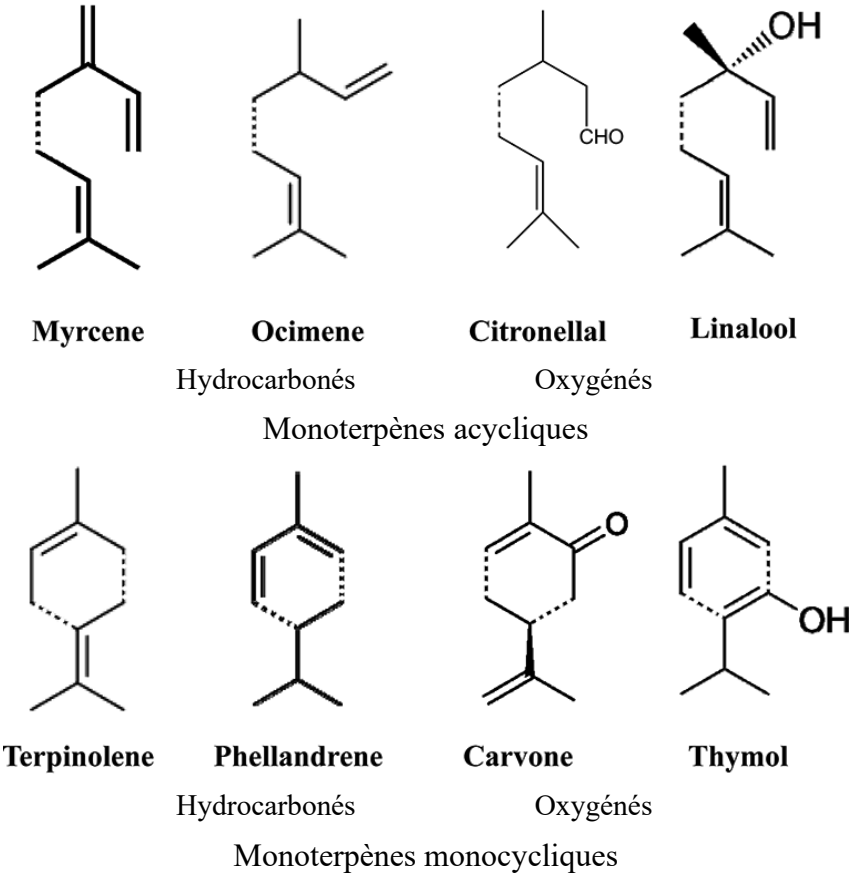
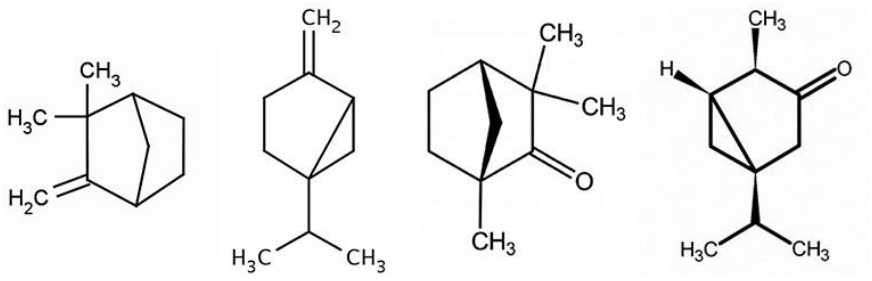


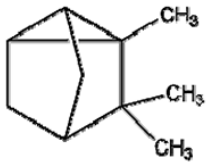
Figure 1.5. Structure de quelques monoterpènes acyclique et monocyclique [Morsy, 2017].



Camphene **Sabinene** **Fenchone** **Thujone**

Hydrocarbonés Oxygénés

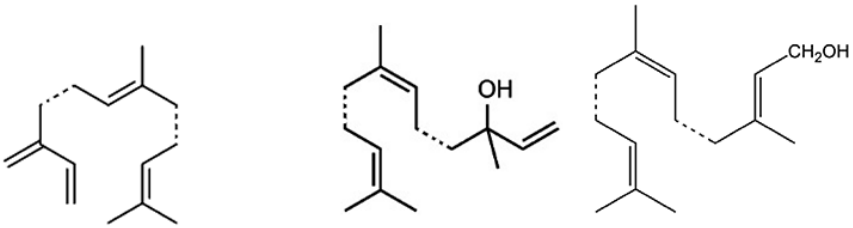
Monoterpènes bicycliques



Tricyclene

Monoterpène tricyclique hydrocarboné

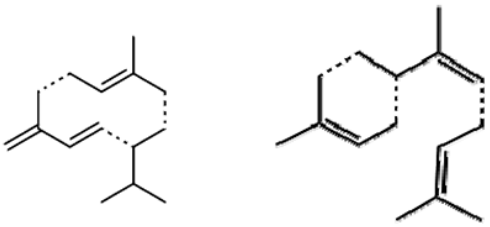
Figure 1.6. Structure chimique de quelques monoterpènes bicyclique et tricyclique [Morsy, 2017].



Farnesene **Nerolidol** **Farnesol**

Hydrocarboné Oxygénés

Sesquiterpènes acycliques



Germacrene D **Bisabolene**

Hydrocarboné Oxygéné

Sesquiterpènes monocycliques

Figure 1.7. Structure chimique de quelques sesquiterpènes bicyclique et tricyclique [Morsy, 2017].

1.1.5. Domaines d'exploitation des essences aromatiques

1.1.5.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une pratique médicale qui exploite les propriétés thérapeutiques des HE, substances volatiles et aromatiques extraites des PAM, pour promouvoir la santé et le bien-être. Elle consiste à utiliser les distillats aromatiques dans la prise en charge des affections humaines psychosomatiques ou physiques. Les HE peuvent être administrées de plusieurs façons, selon le but et la condition à traiter. L'inhalation est considérée comme une approche courante pour administrer les HE. Ces extraits peuvent être employés sur la tissu cutané, mais elles doivent généralement être diluées dans une huile porteuse. La dilution est importante car les HE pures peuvent être irritantes pour la peau. L'ingestion des HE ne doit être pratiquée qu'après un avis médical [Baudoux, 2000 ; Hoffmann, 2020].

A l'heure actuelle, il y a eu un retour aux distillats aromatiques dans le cadre de la décontamination aéroportée, la désinfection ou encore le traitement de certaines pathologies infectieuses [Inouye et Abe, 2007 ; Guinoiseau, 2010 ; Křůmal et al., 2015] en raison des risques et toxicités générés par suite au recours à l'utilisation de certaines familles d'antibiotique. Contrairement aux antibiotiques, les distillats aromatiques présentent une action inhibitrice durable sur les micro-organismes, ne provoquant aucune résistance. Le tissu cutané, le tractus pulmonaire et les cavités ORL (oto-rhino-laryngologique) sont les récepteurs qui présentent un abord manifeste à la puissance des distillats. L'efficacité des HE est en étroite relation avec la diversité des molécules terpéniques présentes ainsi qu'à leur mode d'action varié. La figure 1.8 donne un aperçu global sur le mode d'action inhibiteur des composés terpéniques au niveau de la cellule bactérienne. En revanche et avec les antibiotiques qui sont des médicaments composés uniquement d'un ou de deux principes actifs, leur mode d'action antibactérien demeure restreint. En conséquence, les huiles présentent un spectre d'action antimicrobien plus large que les antibiotiques [Franchomme et al., 1990 ; Maurya et al., 2021].

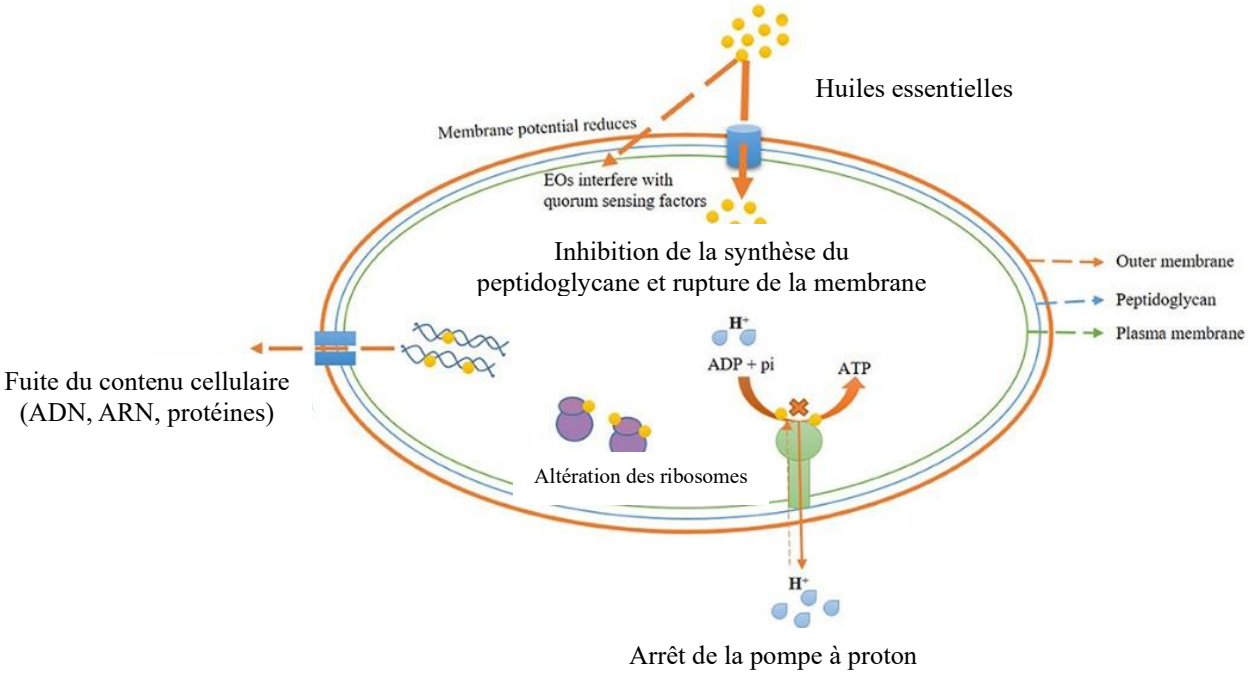


Figure 1.8. Modes d'action antibactérienne des huiles au niveau cellulaire [Maurya et al., 2021].

Bien que beaucoup considèrent l'aromathérapie comme un moyen de lutter contre les infections, plusieurs travaux scientifiques ont révélé que l'HE sont dotées de différentes vertus thérapeutiques [Goetz et Ghedira, 2012 ; Hoffmann, 2020]. De nombreuses HE sont capables de soulager diverses douleurs grâce à leur action immunostimulante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, et antispasmodique. Mais limiter l'application de ces extraits aromatiques sur le plan physique serait inapproprié. Il demeure beaucoup de zones d'ombre à découvrir concernant l'effet de ces huiles sur le volet psychologique [Aiache et al., 2011 ; Festy, 2018 ; Lizarraga-Valderrama, 2021].

1.1.5.2. Décontamination des ambiances

En raison de leur volatilité, les distillats aromatiques ont déjà été utilisées pour contrôler l'hygiène atmosphérique, en particulier dans les structures hospitalières, ce qui a permis l'amélioration de la qualité microbiologique des ambiances [Pibiri, 2006].

La diffusion des HE sous forme de vapeur permet de protéger et prévenir les maladies nosocomiales et les infections hivernales. Elle possède une grande importance dans la désinfection des locaux, qu'ils soient hospitaliers ou au niveau industriel [De Billerbeck et al., 2002 ; Pibiri, 2006]. De même, certains distillats aromatiques, ayant un pouvoir fongicide et bactéricide, ont été incorporés dans un produit commercial nommé Paragerm®, une solution volatile qui, aux doses utilisées, n'est pas toxique pour l'homme [Mallea et al., 1979].

1.1.5.3. Industries agro-alimentaires

En plus de la biopréservation des produits alimentaires, les essences aromatiques sont additionnées pour améliorer les propriétés sensorielles et limiter la contamination alimentaire à travers l'inhibition de la libération des toxines par les souches fongiques [Hyldgaard et al., 2012 ; Maurya et al., 2021]. Par ailleurs, la tendance des consommateurs pour les produits dits « Bio » ou « naturels » incite les industriels à substituer les additifs chimiques par les huiles ou leur composés terpéniques. Cet engouement pour les produits Bio, ou présentant moins de produits chimiques, est en étroite corrélation avec la prise de conscience des consommateurs pour un écosystème sain avec la réduction, au maximum, des engrais chimiques et des produits phytosanitaires pour le développement d'une agriculture biologique [Burt, 2004 ; Fisher et Phillips, 2008 ; Falleh et al., 2020].

Récemment, plusieurs industries agro-alimentaires ont initié l'incorporation des essences aromatiques comme ingrédients bio-conservateurs, en substitution aux additifs synthétiques tels que les conservateurs, les anti-oxydants, et les parabènes. Plusieurs études scientifiques ont démontré l'efficacité des distillats aromatiques des plantes à parfum (thym, cannelle, romarin, lavande, agrumes) dans l'inhibition de la multiplication des germes microbiens incriminés dans les intoxications alimentaires [Falleh et al., 2020 ; Ivanišová et al. ; 2021].

1.1.5.4. Industries cosmétiques et parfumerie

Plusieurs essences aromatiques sont incorporées dans la production des produits cosmétiques et des parfums. Grâce à leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, régénérantes et antioxydantes, ces huiles contribuent à la préservation des cosmétiques et leur confèrent un parfum agréable [Aquino, 2002 ; Sayous et Chevallier, 2008. Guzmán et Lucia, 2021].

Outre les huiles aromatiques, il peut s'agir aussi d'une ou de plusieurs molécules terpéniques, comme par exemple l'eucalyptol, également appelé « 1,8-cinéole », un composé majoritaire détecté dans les essences de l'arbre *Eucalyptus*. Cette molécule est considérée comme un ingrédient qui entre dans la composition de plusieurs cosmétiques (dentifrices, lotions désodorisantes et savons de toilette) [Martini, 2011].
Cependant et lorsque la molécule terpénique est listée comme un composé pouvant provoquer irritations cutanées ou réactions allergiques, comme par exemple le géranial, le citronellol, le géraniol ou le citral, son nom chimique (dénomination chimique internationale) doit figurer dans l'étiquetage du produit [AFSSAPS, 2008].

1.2. Monographie de l'espèce végétale : Lavande vraie

1.2.1. Genre *Lavandula*

Les lamiacées sont considérées comme un groupe important des plantes dicotylédones, et comprenant plus de 7200 espèces botaniques identifiées et réparties dans 236 genres. Cette famille botanique contient de nombreuses plantes à parfum [Détár et al., 2020 ; Hudz et al., 2020]. C'est une famille botanique économiquement importante qui comprend de nombreuses herbes et arbustes, connus pour leur usage médicinal ou culinaire et cultivés dans le monde entier [Lis-Balchin, 2002 ; Koulivand et al., 2013 ; Varban et al., 2022]. Elle regroupe plusieurs espèces végétales herbacées avec une grande répartition mondiale, surtout autour du bassin méditerranéen et dans les régions tempérées. Elle regroupe plusieurs espèces végétales aromatiques et productrices des essences volatiles qui sont largement exploitées comme bioactifs en phyto-aromathérapie, en agro-alimentaire, en parfumerie ou comme ingrédients dans les produits cosmétiques. Elle englobe aussi différentes espèces botaniques mellifères, mais aussi des cultivars reconnus comme des herbes ornementales et condimentaires [Lis-Balchin, 2002 ; Uritu et al., 2018].

Parmi les plantes de cette famille, on trouve celles appartenant au genre *Lavandula* qui comprend des herbes précieuses et couvre une trentaine d'espèces végétales, des dizaines de sous-espèces et de cultivars identifiés [Fadia et al., 2015 ; Smigielski et al., 2018 ; Bejar, 2020]. Quatre espèces de ce genre sont abondamment exploitées à échelle industrielle, principalement dans la production des préparations cosmétiques, parapharmaceutiques et des parfums, à savoir (1) *Lavandula angustifolia* Mill., communément appelée lavande anglaise (anciennement identifiée sous le terme de *L. officinalis*, *L. vera* ou lavande vraie) ; (2) *Lavandula stoechas*, qui a une odeur très forte, parfois appelée lavande française ; (3) *Lavandula latifolia*, une lavande ressemblant à une graminée méditerranéenne ; et (4) *Lavandula x intermedia*, qui est un croisement stérile entre *L. latifolia* et *L. angustifolia* [Koulivand et al., 2013 ; Dong et al., 2020 ; Bejar, 2020].

Elles sont cultivées, à très grande échelle, dans certains pays, notamment en Bulgarie, en Chine, en France, en Australie, au Maroc, en Espagne, en Ukraine et au Royaume-Uni. Parmi eux, *L. angustifolia*, appelée aussi *L. officinalis*, est identifiée comme l'espèce botanique ayant la plus grande importance dans ce genre [Fadia et al., 2015 ; Dong et al., 2020 ; Bejar, 2020].

Son HE est très appréciée en raison de son parfum attrayant, de sa faible teneur en camphre, et du fait que les rendements en HE sont inférieurs à ceux des autres espèces (*L. latifolia* et *L. x intermedia*). Par conséquent, l'HELO est très chère et elle est souvent frelatée avec d'autres huiles moins onéreuses [Beale et al., 2017 ; Bejar, 2020 ; Détár et al., 2020]. On l'appelle également l'huile de lavande vraie, et elle est exploitée à des fins industrielles et thérapeutiques depuis des décennies. De nos jours, elle est abondamment utilisée dans les industries car elle contient plus d'une centaine de composants, dont l'acétate de linalyle, le linalool, le 4-terpinéol, le lavandulol, l'acétate de lavandulyle et l'eucalyptol [Beale et al., 2017 ; Bejar, 2020 ; Ivanišová et al., 2021]. De plus, 60 à 90 % de tous les produits cosmétiques contiennent du linalool, qui a une odeur florale, citrique, fraîche et sucrée [Smigielski et al., 2018]. L'HELO est employée dans les denrées alimentaires (boissons, confiseries, et produits de boulangerie) pour leur propriété parfumante [Ivanišová et al., 2021].

1.2.2. Synonymes

Le terme lavande dérive du verbe « laver ». En Italie, certains font référence au mot « *lavando* » ce qui signifie « action de laver ». D'autres le relie au terme « *lavare* » en latin, qui veut dire se laver et se baigner. Il a été rapporté que, anciennement, les Grecs et Romains utilisaient ces plantes à parfum dans le but de parfumer leurs bains, ce qui donne un aperçu que ces espèces végétales ont été longtemps employées pour une senteur agréable au linge fraichement lavé, ou encore mises dans des sachets et déposés dans les armoires pour parfumer la garde-robe et écarter les mites. Une autre hypothèse étymologique consiste à relier le mot lavande à « *livere* » en latin, qui veut dire « pour être bleuâtre »).

Parmi les noms et synonymes donnés à la lavande vraie, nous pouvons mentionner les exemples ci-après :
Arabe = الخزامى، الحلحال
Français = Lavande officinale ou anglaise, Lavande vraie ou fine, Lavande des Alpes.
Anglais = True lavender, English lavender, Garden lavender.

1.2.3. Description botanique

La lavande officinale a une présentation morphologique d'un petit buisson ou arbrisseau contenant plusieurs ramifications (Figure 1.9-f), et dégageant une odeur forte et caractéristique. Elle mesure 40 à 50 cm de haut mais pouvant atteindre en longueur jusqu'à 1 m [Belmont, 2013].
Les branches de la lavande vraie présentent un aspect ligneux et fin, avec la présence des feuilles de forme étroite, allongée et pointue. Les feuilles persistantes sont disposées sous forme opposée, avec une longueur de 1-4 cm de long, et une coloration verte. Elles possèdent aussi des poils glandulaires microscopiques et aromatiques.
La tige présente un aspect ligneux, quadrangulaire, étroit et de coloration grise-verte. Elle ne comporte pas de feuilles sur une large partie en dessous des fleurs (Figure 1.9-a).
Les inflorescences (fleurs) sont sous forme d'épis comprenant 4 à 12 groupes de fleurs, et sont localisées au niveau de l'aisselle des feuilles supérieures (Figure 1.9-b). Ces fleurs ont une coloration de violet ou bleu et sont regroupées en épis terminaux (Figure 1.9-b). Elles sont responsables du

parfum caractéristique et agréable des lavandes. Les fleurs supérieures se retrouvent séparées des fleurs inférieures. Les fleurs englobent un calice (Figure 1.9-c) constitué de 5 sépales soudés et présentant des poils en couverture. Elles sont constituées d'une corolle (Figure 1.9-d). Les abeilles sont attirées par la couleur de l'inflorescence et son parfum (Figure 1.9-e).



(a) Tiges et fleurs



(b) Épi floral avant l'émergence des pétales



(c) Calice (violet) et bractées florales (brun clair)



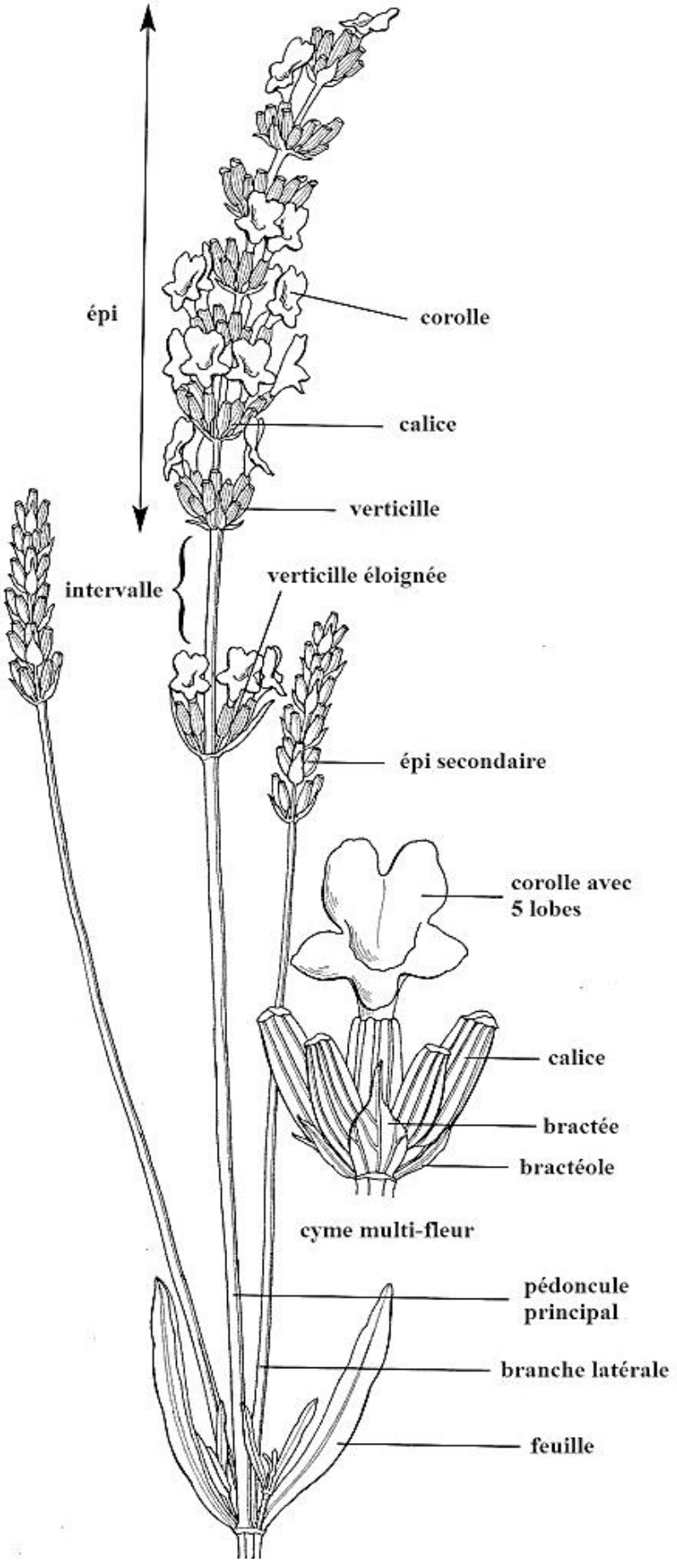
(d) Calice et corolle (vue latérale)



(e) Abeille butinant les inflorescences de la lavande vraie.



(f) Lavande cultivée en pot et présentant des sommités fleuries.



(g) Illustration de la partie aérienne de la lavande.

Figure 1.9. Aspects botaniques de la lavande.

[www.senteursduquercy.com ; https://fr.wiktionary.org/wiki/butiner]

Les plantes présentent des trichomes glandulaires sur les organes aériens [Serrato-Valenti et al., 1997 ; Simpson, 2019], et ceux-ci peuvent être plus abondants sur certaines parties de la plante, selon les espèces (Figures 1.10 et 1.11). Ces structures épidermiques contiennent des huiles volatiles aromatiques [Simpson, 2019]. La morphologie, la localisation et la densité de ces structures sont des traits distinctifs parmi les espèces de cette famille botanique [Lee et Ding, 2016].

Comme de nombreux membres de la famille des Lamiacées, les plantes de cette espèce présentent également des trichomes capités et peltés sur les organes aériens [Hassiotis et al., 2014], mais dans la lavande, ceux-ci atteignent la plus grande abondance sur le calice floral [Benabdelkader, 2012 ; Hassiotis et al., 2014].

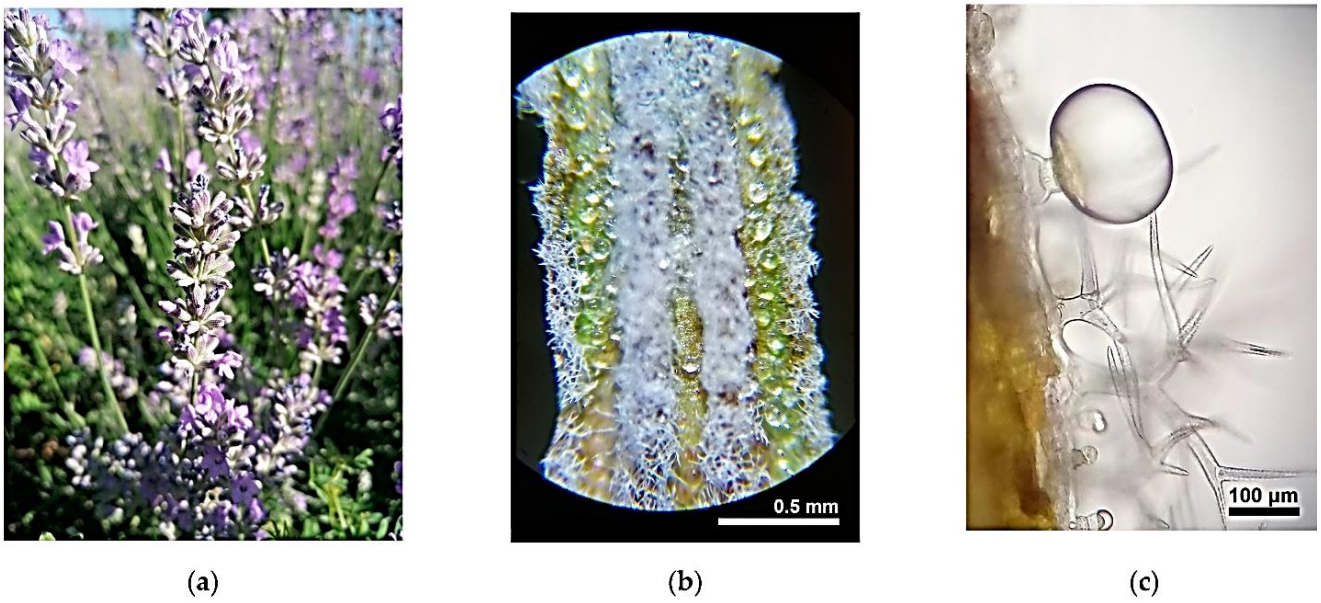


Figure 1.10. Aspects des structures sécrétrices de la lavande vraie ou officinale. (**a**) inflorescence ; (**b**) des trichomes glandulaires situés dans les sillons du calice et des trichomes ramifiés à rôle protecteur (×160) ; (**c**) vue latérale microscopique d'un trichome glandulaire et de trichomes protecteurs ramifiés en arrière-plan (×400) [Crișan et al., 2023].

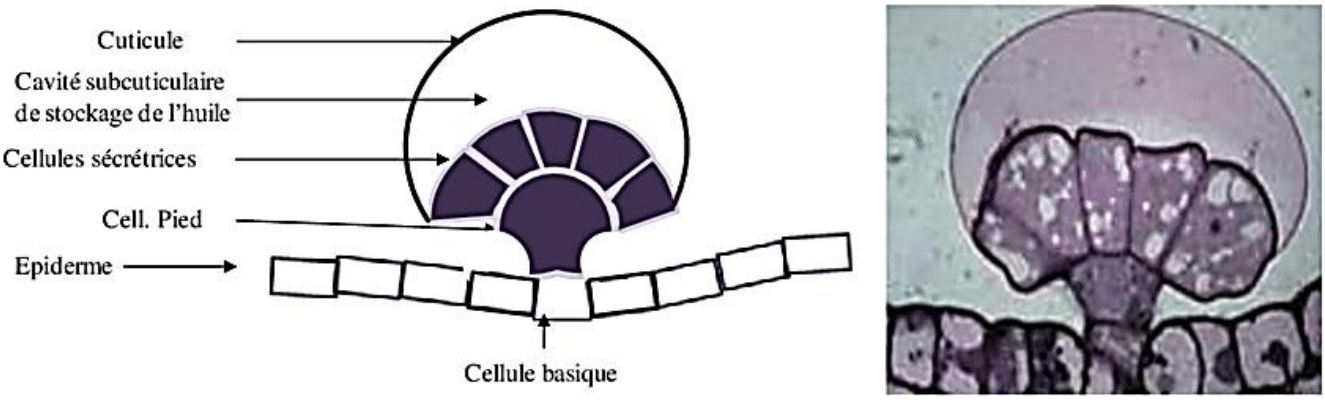


Figure 1.11. Poil glanduleux localisé dans l'inflorescence de lavande [Farhat, 2010].

1.2.4. Classification botanique

Le genre *Lavandula* comprend 39 espèces [Passalacqua et al., 2017]. Il existe également environ 400 cultivars enregistrés [Salehi et al., 2018]. Le genre est présent naturellement dans les îles de l'Atlantique Nord jusqu'en Inde [Passalacqua et al., 2017]. Au sein du genre, les espèces les plus couramment cultivées sont *L. stoechas* (lavande espagnole ou sauvage), *L. angustifolia* (lavande vraie ou anglaise), *L. latifolia* (lavande aspic) et *L.* × *intermedia* (lavandin) [Cavanagh et Wilkinson, 2002].

Pour la production des essences aromatiques, les génotypes les plus cultivés sont *L. angustifolia* et *L.* × *intermedia*, mais l'huile de lavande officinale est commercialisée à un prix environ 4 à 6 fois plus élevé que l'huile de lavandin, car elle est considérée comme présentant une meilleure qualité olfactive [Lis-Balchin, 2002 ; Demasi et al., 2018].

Par ailleurs, Upson et Andrews [2004] ont réévalué la taxonomie phylogénétique des espèces botaniques appartenant aux genre *Lavandula*. Ce travail d'investigation a permis d'identifier un nombre de 39 espèces botaniques différentes et qui sont réparties en 3 sous-genres appelés *Lavandula, Fabricia* et *Sabaudia*. Cette classification a été rendue possible grâce au recours à plusieurs paramètres morphologiques mais aussi par une investigation génétique axée sur une étude comparative des séquences nucléaires. Le tableau 1.1 rapporte la classification botanique la lavande vraie.

Tableau 1.1. Position phylogénique de *L. angustifolia* Mill.

Règne	Archéplastides
Clade	Angiospermes
	Dicotylédones
	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	*Lavandula*

1.2.5. Origine, écologie et réparation mondiale

Les lavandes sont originaires des zones montagneuses de la Méditerranée, du Portugal à l'Italie, où elle pousse généralement à des altitudes supérieures à 1500 m. Il existe deux sous-espèces : ssp. *angustifolia,* originaire des Alpes françaises et italiennes, et ssp. *pyrenaica,* des Pyrénées [Passalacqua et al., 2017].

L'origine montagnarde de cette espèce la rend résistante en culture. Elle pousse comme un arbuste, atteignant 50 cm de largeur, fleurissant de la mi-juin à juillet [Lis-Balchin, 2002]. La densité des trichomes glandulaires peut varier dans une certaine mesure entre les cultivars et en raison de l'apport nutritif [Ștefan et al., 2021].

La lavande vraie ne peut être cultivée que dans les sols rocailleux, ensoleillés, et drainés. Elle est retrouvée dans tous le continent européen (Figure 1.12), parfois en haute altitude (1800 m). Elle est considérée comme une plante mellifère par excellence.



Figure 1.12. Répartition géographique mondiale de la lavande officinale.
(Données rapportées par le système international d'information sur la biodiversité [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/105297]

1.2.6. Techniques de distillation et rendements en huiles aromatiques

L'HELO est extraite de manière conventionnelle à des fins commerciales par hydrodistillation et distillation à la vapeur, avec une large variation du temps nécessaire à l'extraction. Ces deux méthodes sont des processus longs, effectués à des hautes températures, pouvant conduire à la dégradation des molécules thermiquement labiles dans les matières végétales de départ, et donc à une extraction incomplète de l'HE. Une dégradation, thermique ou hydrolytique, et une perte de composés volatils modifiant le profil chimique peuvent être rencontrées avec les différentes méthodes utilisées. Par exemple, l'acétate de linalyle se dégrade en partie lorsque l'hydrodistillation est utilisée, ce qui entraîne une teneur en linalool plus élevée, en comparaison avec la méthode d'entrainement [Aprotosoaie et al., 2017].

D'autres techniques sont également employées pour isoler le riche mélange aromatique volatil, notamment la macération et l'extraction par solvant [Barbieri et Borsotto, 2018]. Les techniques utilisant des solvants organiques ou les méthodes d'extraction verte (distillation aux micro-ondes ou aux ultrasons, extraction par CO_2 supercritique) (Figure 1.13) ont été utilisés dans une moindre mesure, bien qu'ils présentent certains avantages (économies d'énergie et de temps, faible impact environnemental) [Li et al. 2013 ; Aprotosoaie et al., 2017].

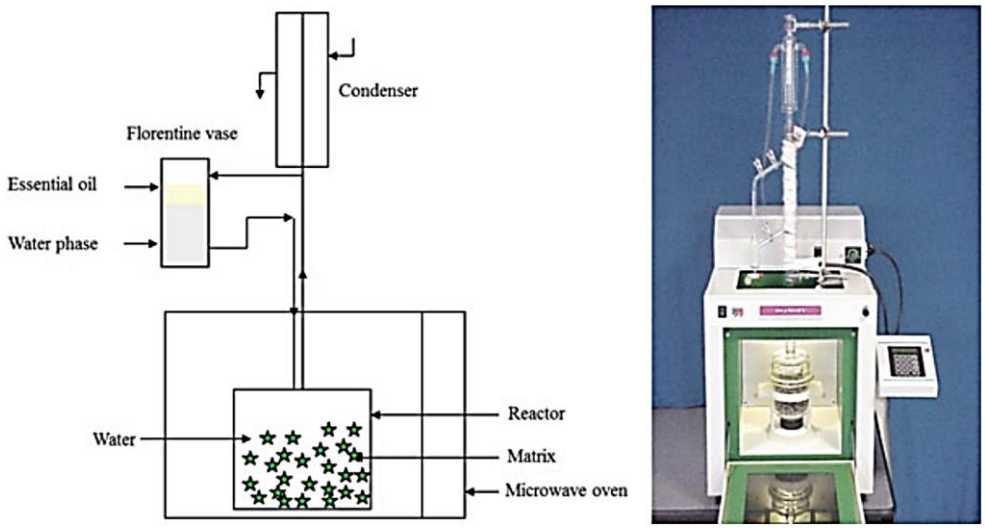


Figure 1.13. Distillation de l'huile assistée aux micro-ondes sans eau [Chemat et al., 2012].

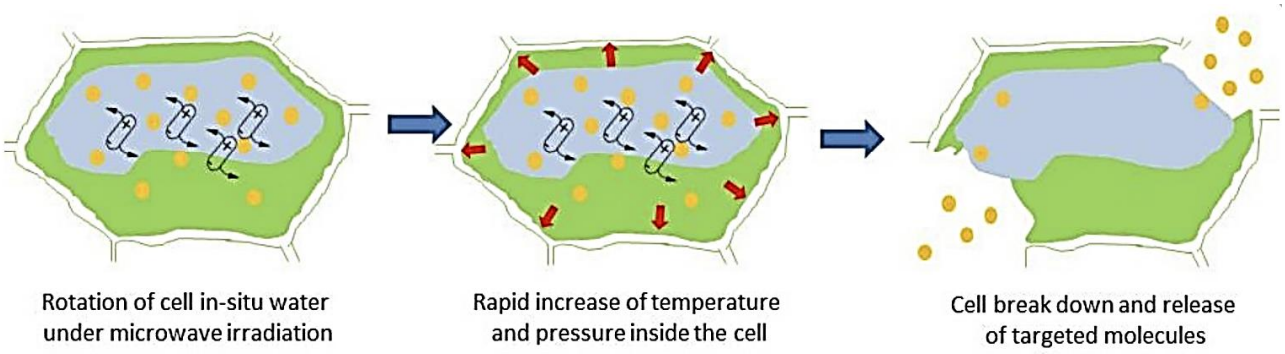


Figure 1.14. Mécanisme de libération des essences aromatiques par micro-ondes [Li et al., 2013].

Les techniques d'extraction influencent également le profil chimique ainsi que le rendement en HE [Aprotosoaie et al., 2017]. Une analyse comparative a révélé que, dans la méthode d'hydrodistillation, l'HE pénètre lentement à travers les membranes et les cuticules, quelques gouttes d'huile restant collées à l'extérieur des trichomes glandulaires ou sur le matériel végétal, tandis qu'avec l'application d'une extraction assistée par micro-ondes, les trichomes glandulaires éclatent et s'effondrent (Figure 1.14), libérant l'HE sans qu'il ne reste d'huile résiduelle sur la matière végétale [Iriti et al., 2006].
De plus, la comparaison entre différentes méthodes d'extraction a montré que le nombre des composés dans l'HE de lavande était similaire, mais qu'il existait des différences dans leur pourcentage. Ainsi, l'HE extraite par hydro-diffusion et gravité était plus riche en monoterpènes oxygénés. L'HE extraite par hydrodistillation classique et hydrodistillation générée par micro-ondes était plus riche en coumarine [Binello et al., 2014]. Les méthodes assistées par micro-ondes permettent une meilleure récupération des molécules terpéniques oxygénés, en comparaison avec les méthodes conventionnelles. L'HE distillée des lavandes par technique d'entrainement à la vapeur assistée aux micro-ondes présente une teneur plus élevée en acétate de linalyle et des valeurs plus faibles en linalool que celle isolée par distillation à la vapeur ou hydrodistillation (respectivement 29,6% contre 13,7% et 24% contre 30%) [Filly et al., 2016].

Les fleurs de lavande fraîches contiennent environ 0,7 à 1,4% d'huile aromatique. Lorsque la matière végétale est séchée, une certaine quantité d'huile volatile est perdue. Une tonne d'inflorescences fraîches produit en moyenne environ 10 kg d'HE [Muntean et al., 2007]. Un travail scientifique récent a confirmé que le calice est la principale partie de la plante qui accumule l'huile volatile dans la lavande [Wilson et al., 2021]. On sait que, depuis un certain temps, le rendement en HE des fleurs de lavande est 4 à 5 fois plus élevé que celui des feuilles [Aprotosoaie et al., 2017].

L'optimisation de la méthode d'extraction devrait faire l'objet de nombreux travaux et expérimentations scientifiques pour fournir des lignes directrices à l'industrie de transformation qui pourraient garantir une minimisation des pertes et une efficacité accrue de l'extraction.

1.2.7. Aperçu de l'importance et des utilisations de la lavande

En raison de son profil volatil supérieur, la lavande vraie est utilisée de manière prépondérante à échelle industrielle (cosmétiques, parfums et agro-alimentaires), tandis que d'autres espèces du genre, avec des profils volatils plus riches en camphre, trouvent des destinations d'utilisation non parfumées [Cavanagh et Wilkinson, 2002 ; Cavanagh et Wilkinson, 2005].

1.2.7.1. Industries agro-alimentaires

Dans l'industrie agroalimentaire et en cuisine, les bourgeons de lavande ou ses HE peuvent être utilisés comme agents aromatisants [Fukushima et al., 2020]. D'autres produits alimentaires (bonbons, gomme à mâcher, épices de cuisine, confiseries, confitures et boissons) peuvent être aromatisés à la lavande. Ses propriétés antimicrobiennes peuvent être exploitées pour prévenir la détérioration des aliments ou incorporées dans des emballages.

L'HE de lavande a été testée pour la conservation de la viande [Radu et al., 2020]. Il a été proposé que les extraits phénoliques de déchets solides, résultant de l'extraction d'HE, pourraient trouver de larges utilisations dans le secteur agro-alimentaire en raison de leurs effets antioxydants et antibactériens [Skendi et al., 2022].

Des emballages alimentaires actifs pourraient être développés à partir de l'HE de lavande. Des films d'amidon et de gélatine chargés d'HE de lavande, à des concentrations de 2 à 6%, ont montré une activité antioxydante et antimicrobienne [Jamróz et al., 2018].

1.2.7.2. Cosmétiques et parfumerie

L'huile et les fleurs parfumées de lavande sont utilisées en aromathérapie, dans les détergents, les huiles de massage, les parfums et les produits d'hygiène personnelle, tels que le shampoing et le savon. L'aromathérapie est considérée comme efficace en raison des effets psychologiques du parfum ainsi que des effets physiologiques des composés [Cavanagh et Wilkinson, 2002 ; Wells et al., 2018]. Pour l'aromathérapie, l'HE est administrée par vaporisation ou application directe sur le corps en petites quantités [Couic-Marinier, 2018 ; Radu et al., 2020].

Parmi toutes les espèces de lavande cultivées, la lavande officinale est la préférée pour la parfumerie ainsi que pour les cosmétiques [Cavanagh et Wilkinson, 2002]. Un travail de recherche, publié récemment, révèle que la biomasse résultant de l'extraction d'HE pourrait être utilisée comme source de polysaccharides et incorporée dans des produits cosmétiques [Marovska et al., 2022]. La distillation à la vapeur produit des hydrolats comme sous-produit, qui ont une teneur en composés organiques volatils comprise entre 9 - 97 mg/100 mL et présentent une faible activité antimicrobienne [Prusinowska et al., 2016]. Bien qu'il lui manque l'acétate de linalyle détecté dans l'HE, l'hydrolat présente, entre autres constituants, du linalool, de l'α-terpinéol et de la coumarine [Śmigielski et al., 2013]. Cet hydrolat de lavande possède un parfum floral et herbacé, et est communément appelé « eau florale de lavande », vendu pour un usage personnel et domestique. Les options d'utilisation possibles de l'eau de lavande n'ont pas été suffisamment explorées et, comme il s'agit d'un sous-produit obtenu en abondance, de nouvelles utilisations pourraient être très attractives pour le secteur de la transformation.

1.2.7.3. Utilisations médicinales et potentiel pharmaceutique

Les espèces botaniques appartenant au genre *Lavandula* sont parmi les PAM les plus exploitées en raison de leurs propriétés médicinales. Des preuves documentées de leur exploitation en phytothérapie remontent jusqu'aux civilisations gréco-romaines. Très réputées pour leurs propriétés antimicrobiennes, elles sont dotées aussi d'un pouvoir antioxydant intéressant. L'HELO possède un potentiel anxiolytique ainsi qu'un effet anticonvulsivant avéré [Prusinowska et Śmigielski, 2014].
Dans le domaine médical, il existe un potentiel d'utilisation de l'HE de lavande comme désinfectant pour les équipements et les surfaces médicales, ou sous forme d'aérosols dans les salles d'attente ou les blocs opératoires pour limiter la contamination aéroportée [Radu et al., 2020].
Certaines utilisations traditionnelles, basées sur des connaissances empiriques antérieures, ont ensuite été confirmées, avec divers degrés de confiance grâce à des méthodes scientifiques [Cavanagh et Wilkinson, 2002 ; Lis-Balchin, 2006]. L'HE de la lavande est utilisée dans les indications thérapeutiques suivantes :

— Syndrome dépressif

Une étude publiée en 2003 avait pour but de réaliser une analyse comparative de l'efficacité d'un médicament antidépresseur (imipramine), et de l'extrait de la lavande officinale (durée d'administration estimée à un mois). Un total de 45 patients adultes, souffrant de dépression modérée à légère, a été inclus dans cet essai clinique [Akhondzadeh et al., 2003]. Les données obtenues révèlent que l'extrait de lavande officinale présente une efficacité moindre en comparaison avec le médicament antidépresseur. En revanche, l'association entre lavande-imipramine a présenté une grande efficacité par rapport à l'utilisation du médicament seule. L'extrait de cette plante pourrait faire partie intégrante dans le traitement des formes dépressives légères à modérées.
Un autre essai clinique, publié récemment, a évalué le pouvoir anxiolytique et antidépressive de l'infusion de lavande sur les personnes âgées [Bazrafshan et al., 2020]. Les conclusions de cet essai ont révélé une diminution des niveaux de stress et des scores de dépression chez les volontaires traités par l'infusion de la plante.

Toujours dans la même année, une autre publication a mené une étude comparative entre un principe actif antidépresseur (fluoxétine), et deux plantes médicinales (lavande vraie et mélisse officinale) sous forme de poudre, dans une stratégie thérapeutique des symptômes générés par la dépression. Les auteurs de ce travail ont suggéré que ces deux espèces botaniques présentaient un effet pharmacologique similaire à celui obtenu par le médicament antidépresseur [Araj-Khodaei et al., 2020].

— Action anxiolytique

Un essai clinique, mené sur des volontaires souffrant d'une pathologie cardiaque (infarctus), a démontré l'efficacité anxiolytique de l'HE de lavande. Il a été rapporté que la persistance de l'anxiété et le stress, chez une personne atteinte de pathologie cardio-vasculaire, ne peut être que délétère à sa convalescence et peut générer d'autres morbidités. Une étude clinique [Najafi et al., 2014] a évalué l'efficacité de l'évaporation et l'inhalation de l'HE par des personnes atteintes d'un infarctus du myocarde, et a révélé une diminution des scores de l'anxiété chez ces patients et ce d'une façon significative. Cette forme d'administration (inhalation) de l'HE pourra servir dans une approche thérapeutique dans le soulagement d'un état anxieux chez des malades atteints de pathologies cardiaques. Plusieurs essais cliniques et études scientifiques ont été faites sur l'HE de lavande et son apport thérapeutique dans l'agitation et l'état anxieux [**Woronuk et al., 2011**]. Certaines études ont prouvé que l'HE de lavande, administrée par inhalation ou par massage, a réduit l'agressivité et l'agitation des personnes âgées atteints de troubles psychiques et de démences [Holmes et al., 2002 ; Lim et al., 2014].

Un travail scientifique publié en 2017 a évalué, *in vivo* (rats comme modèle expérimental), les potentialités thérapeutiques de la lavande vraie dans les troubles de comportement (agressivité, anxiété et dépression) et les pertes de mémoire. Les auteurs de cette étude [Rahmati et al., 2017] ont suggéré que l'HELO possède un pouvoir dans la réduction des troubles comportementaux chez l'animal, avec un renforcement des facultés de mémorisation.

— Réduction de la douleur

Outre les actions sur le système nerveux central, l'HE de lavande possède des vertus thérapeutiques comme son effet antispasmodique sur les muscles lisses utérins et intestinaux [Cavanagh et Wilkinson, 2002] et des bienfaits pour le système circulatoire [Prusinowska et Śmigielski, 2014]. Des travaux scientifiques, menés *in vitro* et chez les animaux de laboratoire, ont prouvé que l'HELO possèdes un pouvoir analgésique (antispasmodique) et faiblement anesthésique [Ghelardini et al., 1999 ; Lis-Balchin, 2002], particulièrement chez les nourrissons (coliques) [Dehkordi et al., 2014 ; Antonelli et Donelli, 2020]. En combinaison avec des d'essences aromatiques (inhalation ou massage), l'HELO a permis un soulagement chez les personnes atteintes de douleurs articulaires et tendineuses au niveau de l'épaule [Shin et Lee, 2007], de douleurs post-opératoires (après une opération abdominale) et des douleurs au niveau des plaies cutanées suite au changement des pansements [Kane et al., 2004 ; Kim et al., 2007].

— Soulagement des douleurs inflammatoires

Les travaux scientifiques ont montré que l'HELO possède sa place dans la réduction des douleurs inflammatoires, seule ou en combinaison avec des principes actifs synthétiques. Il a été aussi démontré que les effets de l'HELO sont en étroite corrélation avec son profil chimique riche en composés oxygénés, principalement un alcool monoterpénique (linalool) et son ester (acétate de linalyle) [Peana et al., 2002 ; Lis-Balchin, 2002].

Une publication scientifique [Irmak Sapmaz et al., 2015] a réalisé un travail comparatif entre les propriétés anti-inflammatoires d'un médicament AINS (diclofénac), administré seul ou en combinaison avec l'HE de lavande, chez un groupe de malades atteints de coliques néphrétiques. Cette étude a prouvé une diminution significative des sensations douloureuses chez les patients traités par l'association HE-médicament.

Une autre étude a prouvé le potentiel thérapeutique de l'HE de lavande, administrée localement par massage corporel au niveau des articulations du genou, chez des personnes atteintes de douleurs articulaires avec une réduction des sensations douloureuses inflammatoires [Nasiri et al., 2016].

— Application à l'inflammation

Différents travaux scientifiques et essais cliniques ont testé et évalué les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de l'HELO. Nous pouvons citer l'étude publiée dans le journal « Biomedicine & Pharamacotherapy » par Aboutaleb et al. [2019] et qui ont démontré l'efficacité de l'HELO dans la réduction du processus inflammatoire et oxydatif à travers la diminution des dommages des capillaires rénaux chez un modèle expérimental animalier (rats atteints d'ischémie-reperfusion rénale) et, par conséquent, une conservation morphologique des cellules rénales. Cette expérimentation animale s'intéresse aux ischémies rénales liées à une greffe rénale et à la problématique importante de la genèse d'un processus inflammatoire pouvant conduire à une perte fonctionnelle du rein.

Une autre investigation scientifique a évalué l'effet de l'HELO sur la réaction inflammatoire aiguë. En effet, l'HELO a été administrée localement (par voir topique) au niveau auriculaire en utilisant un modèle animal (souris). Les données de cette étude ont prouvé que l'HELO, administrée à différentes doses (0,25, 0,5 et 1 mg par animal), a contribué à minimiser l'inflammation localisée par la réduction de l'œdème, la synthèse d'oxyde nitrique (NO) et l'activité de la myélopéroxydase (MPO). Dans le même sillage, une autre technique (œdème des pattes induit par la carraghénane) a révélé que l'HELO, administrée oralement à différentes concentrations (75, 100 et 250 mg/kg), possède un pouvoir anti-inflammatoire à travers la diminution des taux d'histamine et de cytokines pro-inflammatoires [Cardia et al., 2018].

— Insomnie

L'HELO est utilisée pour les problèmes d'insomnie, associée ou non à des symptômes dépressifs. Ceci a été confirmée par plusieurs travaux et études cliniques [Araj-Khodaei et al., 2020]. Field et al. [2008] ont rapporté qu'un bain parfumé à l'HE de lavande permet la diminution de l'agitation chez enfants et favorise aussi un endormissement profond, en comparaison avec un bain non parfumé.

— Activités antibactérienne et antifongique

L'HELO est active contre de nombreuses espèces de micro-organismes [Białoń et al., 2019]. L'activité antimicrobienne a été documentée pour certains agents pathogènes courants, tels que le les bactéries à Gram + (*S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*) et à Gram - (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp.), et fongique (*Candida albicans*) [Cavanagh et Wilkinson, 2002]. Les résultats ont indiqué que l'HELO pourrait être utile comme prophylactique ou pour une application topique dans les infections superficielles, mais pas pour les infections profondes, avec une plus grande efficacité contre les espèces Gram + [Prusinowska et Śmigielski, 2014].

Les HELO provenant de la partie aérienne (fraîche et sèche) et des inflorescences ont démontré une activité élevée contre les bactéries, les levures et champignons filamenteux (*Candida* sp., *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum*), en inhibant leur croissance à des doses variant de 0,4 et 4,5 µg/mL [Smigielski et al., 2018]. De plus, l'HE de lavande et ses principaux composants, le linalool (monoterpénol) et l'acétate de linalyle (acétate monoterpénique), sont utilisés en aromathérapie par inhalation et par massage [Chien et al., 2012 ; Bejar, 2020].

Le pouvoir anti-infectieux de l'HELO a été mis en évidence dans plusieurs publications scientifiques et a été validé sur un large spectre de microbes. Le travail de Yap et al. [2014], publié dans le « Journal of Applied Microbiology », a révélé le potentiel antibactérien (*E. coli* multi-résistante) de l'HELO en association avec un médicament antibiotique. Le mode d'action est basé principalement sur l'altération des membrane cellulaires de la bactérie ainsi que l'inhibition du quorum sensing (aptitude de communication des micro-organismes par émission des signaux moléculaires).

Aussi, plusieurs expérimentations ont démontré l'efficacité de l'HELO dans l'inhibition de la multiplication fongique de la levure *C. albicans* [D'auria et al., 2005]. A la dose utilisée (0,062%), l'HELO a présenté des activités fongistatiques et fongicides (inhibition de la sporulation). Il a été démontré aussi que les espèces fongiques isolées des infections vaginales ont été fortement inhibées par l'HELO, en comparaison avec les espèces isolées des infections oropharyngées. Toujours dans la même étude, le monoterpénol nommé linalool est la molécule qui a donné le plus grand effet cytotoxique avec un effet mortel (dose de 0,5%) sur toutes les souches de levure en 30 secondes seulement, alors que l'ester monoterpénique (acétate de linalyle) a donné un taux d'inhibition cellulaire de 93% en 30 min.

Une autre publication scientifique a évalué l'efficacité d'une combinaison de plusieurs essences aromatiques (lavande vraie, géranium odorant et clou de girofle), administrées sous formes de gouttes auriculaires chez des personnes souffrantes d'otite externe, en comparaison avec un antibiotique de référence de la famille des fluoroquinolones (ciprofloxacine). Ce travail n'a pas révélé une disparité ou différence entre les 2 groupes de patients traités. En conclusion, ce mélange des huiles présente une efficacité identique à celle du médicament antibiotique de choix pour traiter cette maladie infectieuse [Panahi et al., 2014].

Plusieurs rapports scientifiques ont mentionné que les composés oxygénés prédominants dans l'HE de lavande, tels que le linalool (monoterpénol), présente un pouvoir inhibiteur sur plusieurs espèces bactériennes retrouvées dans l'appareil respiratoire, la sphère ORL et la peau, en particulier *S. pyogenes*, *S. aureus*, et *E. coli* [Hui et al., 2010 ; Panahi et al., 2014]. Il a été rapporté que, dans certains cas, l'HELO a exhibé un pouvoir inhibiteur élevé en comparaison avec les médicaments antibiotiques utilisés comme traitement anti-infectieux [Miladinović et al., 2012].

Malgré les résultats prometteurs obtenus concernant l'activité antimicrobienne de l'HE, il existe certains obstacles à la prochaine étape vers le développement des thérapies. L'un d'eux est le manque de standardisation des dosages et du dispositif expérimental par rapport à la littérature scientifique, ce qui rend difficile l'obtention d'un consensus sur les concentrations optimales.

— Cicatrisation des plaies

Mori et al. [2016] se sont intéressés au pouvoir cicatrisant de l'HELO en publiant une étude qui a confirmé que l'administration cutanée de cette essence végétale permet la différenciation des fibroblastes et la biosynthèse du collagène dans le tissu cutané, et donc une meilleure cicatrisation des plaies à travers le développement d'un tissu de granulation et la contraction des plaies.

Une autre investigation *in vivo* (souris) [Altaei, 2012] a rapporté que l'huile de lavande constitue une option thérapeutique dans les ulcérations aphteuses. En effet, les animaux traités par application locale de l'huile ont répondu favorablement avec une régénération significative des muqueuses, une diminution de la taille des ulcères et un soulagement total après 3 jours de traitement, en comparaison avec le groupe témoin et placébo.

Le mécanisme d'action concernant l'effet regénérant des huiles aromatiques distillées des plantes médicinales n'est pas encore identifié. En revanche, il a été rapporté que l'application des huiles à fort pouvoir astringent (favorisant la contraction des tissus) permet de mieux tonifier la peau et la raffermir. Certaines molécules terpéniques oxygénées, telles que le linalool, un composé majoritaire dans l'HE de lavande et incorporé dans différentes formes cosmétiques topiques, présente un effet cicatrisant avéré, avec une triple action anti-inflammatoire, anti-infectieuse et analgésique, participant à une meilleure régénération tissulaire [Peana et al., 2002 ; Goetz et Busser, 2007].
Certaines molécules ont une action sur les kératinocytes de l'épiderme en augmentant la réparation tissulaire. Elles maintiennent également l'asepsie tout en inhibant l'inflammation ce qui favorise la cicatrisation.

En résumé, L'HE de lavande est considérée comme une panacée universelle pour ses multiples vertus thérapeutiques. Elle est réputée surtout pour son potentiel cicatrisant. En outre, elle est d'une parfaite innocuité et d'une bonne tolérance cutanée dans la majorité des cas [Lis-Balchin, 2002 ; Mori et al., 2006 ; Samuelson et al., 2020].

1.2.7.4. Applications environnementales et agronomiques

L'usage ornemental de la lavande est très apprécié du grand public. En aménagement paysager, les lavandes peuvent être utilisées pour les bordures, les jardins ou en pot. La lavande peut être mélangée à d'autres plantes tolérantes à la sécheresse originaires des régions sèches de la Méditerranée [Bader, 2012].

Les fermes de lavande ont une excellente opportunité d'utiliser leurs cultures pour gagner un revenu ou créer des biens pour un revenu complémentaire [Vijulie et al., 2022]. Comme il s'agit d'une plante mellifère, la quantité de miel obtenue à partir de la lavande est d'environ 50 à 100 kg/ha [Constantinescu et al., 2022].

La lavande pourrait également être intégrée dans le marketing stratégique des destinations touristiques rurales pour contribuer à attirer des revenus supplémentaires, basés sur les services, afin de soutenir les communautés rurales en diversifiant les activités génératrices de revenus dans les fermes de lavande [Giray et al., 2019].

En agriculture, il existe des utilisations intéressantes pour les produits et sous-produits de la lavande. Le sous-produit solide résultant de l'extraction de l'HE a été utilisé comme engrais pour le sol [Lesage-Meessen et al., 2015].

Parce que le parfum de lavande repousse efficacement les mites et les mouches, il est à cet effet placé dans les placards et les tiroirs, avec une activité insecticide prouvée [Prusinowska et Śmigielski, 2014]. Pour un usage domestique, les doses nécessaires sont minimes que pour une application industrielle et sont donc plus répandues. Étant donné que d'autres espèces et cultivars appartenant au genre *Lavandula* sont réputés d'avoir une teneur en camphre plus élevée que l'HELO, ils sont plus adaptés pour qu'ils soient utilisés comme répulsifs des insectes [Cavanagh et Wilkinson, 2002].

1.2.8. Réglementation, qualité et normes

En raison de la forte demande ainsi que de l'utilisation croissante des HE, l'élaboration de réglementations, de lignes directrices et de normes visant à maintenir une meilleure qualité reste une priorité. L'exigence est nécessaire pour garantir que les acheteurs reçoivent un produit répondant à leurs attentes et, en outre, en fonction de la destination d'utilisation et de l'industrie, pour garantir que la qualité du produit dérivé ne soit pas affectée.

1.2.8.1. Qualité sensorielle de l'huile aromatique

Le parfum caractéristique de l'HELO est floral frais, ressemblant aux sommités fleuries de la plante [ISO, 2002]. Les monoterpènes oxygénés sont le constituant principal de l'HE de lavande et sont responsables de son parfum caractéristique. Les monoterpénoïdes fréquemment détectés dans l'huile sont les molécules oxygénées telles que les alcools monoterpéniques et leurs esters, les aldéhydes et les oxydes [Aprotosoaie et al., 2017]. Le composant principal de l'HE de lavande est le linalool, à la fois estérifié sous forme d'acétate de linalyle et libre [Bogdan et al., 2020].

L'HE de lavande vraie est appréciée pour son bouquet olfactif plus doux en comparaison à d'autres espèces végétales appartenant au genre *Lavandula* [Lis-Balchin, 2002 ; Aprotosoaie et al., 2017]. L'HELO, distillée à partir des sommités fleuries, possède un parfum plus doux que celle obtenue à partir des feuilles ou d'autres parties de plante. Il a été proposé que le 4-terpinéol, à des concentrations plus élevées (plus de 2 %), diminue la valeur de l'HELO en lui donnant un parfum d'herbe [Bogdan et al., 2020]. Ces aspects liés à la qualité aromatique sont importants, sachant que les HE sont aussi exploitées en parfumerie. Par conséquent, un équilibre entre les composants est une qualité sensorielle déterminante.

1.2.8.2. Normes et lignes directrices pour la qualité des huiles essentielles

L'HELO doit avoir l'apparence d'un liquide clair et de couleur jaune pâle. Pour répondre aux normes, la densité relative à 20 °C doit être comprise entre 0,878-0,892, l'indice de réfraction entre 1,457-1,466 et la rotation optique entre 12,5°-6°. Pour l'obtention d'une solution présentant un aspect clair avec un volume d'HE de lavande authentique, il ne faut pas utiliser plus de 2 à 3 volumes d'éthanol (70°). Les valeurs d'acide maximales doivent être comprises entre 1-1,2, tandis que les valeurs d'ester doivent être comprises entre 90-160 [ISO, 2002].

Le profil des HE de lavande, déterminé par analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG), doit présenter des composés caractéristiques. Les composés représentatifs sont présentés dans le tableau 1.2, selon les normes actuelles [ISO, 2002 ; Pharmacopée Européenne, 2010]. Les principaux composants des HE des génotypes commerciaux de lavande sont le linalool (monoterpénol) ainsi que son ester (acétate de linalyle) en quantités supérieures à 20 % chacun [Peter, 2006 ; Béjar, 2020].

Tableau 1.2. Normes de la qualité chimique du distillat aromatique de la lavande officinale.

Composés	Pharmacopée Européenne [2010]	ISO 3515 [2002]				
		Génotype spontané	Lavande à propagation clonée			
		France (graines)	France 'Maillette'	Bulgarie	Russie	Autres origines
Linalool	20-45	25-38	30-45	22-34	20-35	20-43
Acétate de linalyle	25-47	25-45	33-46	30-42	29-44	25-47
4-Terpinéol	0,1-8	2-6	0,5-1,5	2-5	1,2–5	<8
cis-*β*-Ocimène	ns	4 à 10	<2,5	3 à 9	3-8	1-10
trans-*β*-Ocimène	ns	1,5 à 6	<2	2 à 5	2-5	0,5-6
1,8-Cinéole	<2,5	<1	<0,5	<2	<2,5	<3
α-Terpinéol	<2	<1	0,5-1,5	0,8-2	0,5-2	<2
Camphre	<1,2	<0,5	<1,2	<0,6	<0,6	<1,5
Limonène	<1	<0,5	<0,3	<0,6	<1	<1
Lavandulol	>0,1	>0,3	<0,5	>0,3	>0,1	<3

Valeurs numériques du tableau représentent % (minimum-maximum); ns : non spécifié.

Les travaux scientifiques menés, pour identifier le chémotype et le profil chimique de l'HELO, ont permis la détection de plus de 150 composés terpéniques, beaucoup d'entre eux étant présents à de faibles concentrations (traces). En résumé, ces travaux ont révélé que l'HELO est riche en monoterpènes oxygénés qu'en sesquiterpènes, et que ces deux familles chimiques représentent le taux le plus élevé. La lavande officinale a été plus largement étudiée en raison de ses vertus thérapeutiques intéressantes, son aire de localisation géographique très vaste, ainsi que l'intérêt économique de ses distillats aromatiques [Lis-Balchin, 2002 ; Prusinowska et al., 2014 ; Smigielski et al., 2018 ; Bogdan et al., 2020].
Le profil chromatographique de l'HELO pourra subir des variations selon plusieurs facteurs et paramètres, comme par exemple les conditions de culture végétale et de cueillette, la localisation géographique et la période post-récolte. Des travaux antérieurs ont mentionné que la composition de l'HELO, provenant de la région de Rabat (Maroc), contenait du linalool (44,67%), d'acétate de linalyle (42%), et d'eucalyptol (5,30%) [Alnamer et al., 2011] comme composés principaux, tandis que dans un autre travail scientifique mené dans la région de Meknès, les auteurs ont révélé que les terpènes dominants sont le linalool (29,9%), l'acétate de linalyle (18,8%), le *p*-cymène (14,6%) et l'*α*-campholénal (10,2%) [Slimani et al., 2022].

À Azrou, situé dans le Moyen Atlas marocain, les constituants majeurs étaient l'acétate de linalyle (44,96%) et le linalool (44,64%) [Talbaoui et al., 2012]. Ce travail a permis de montrer une grande diversité génétique des cultivars et sous espèces du genre *Lavandula*, ce qui pourrait expliquer les variations de composition des HE. Outre la diversité génétique, les différentes conditions climatiques de ces trois régions peuvent également affecter la composition.

En examinant le profil chromatographique de l'HELO de Konya (Turquie), Omurtag Özgen et al. [2022] ont également donné un résultat différent puisqu'ils ont détecté 28 composés avec la présence du linalool comme constituant majoritaire (35,9%), suivi par le terpinen-4-ol (6,1%) et l'*α*-terpinéol (4,5%). Une autre étude réalisée aussi en Turquie, et travaillant sur l'identification chimique et l'estimation quantitative de l'HE de lavande, a montré la présence de 3 principaux constituants, à savoir le linalool (22,1%), l'acétate de lavandulyle (15,3%), et le *β*-ocimène (10,4%) [Kirimer et al., 2017].

Dans le matériel évalué par Cong et al. [2008], l'HELO du Xinjiang (Chine), a été caractérisée par un total de 17 composés comprenant le linalool (44,5%), le géraniol (11%) et l'acétate de lavandulyle (10,7%) comme principales molécules.

Une autre publication scientifique, concernant l'HELO de Wielkopolska (Pologne), a montré que cette huile contient du linalool (24,6-24,9%), d'acétate de linalyle (14,4-18%), et du bornéol (6,2%) comme principaux éléments [Śmigielski et al., 2013]. Deux autres études dans la même région ont été menées. Dans la première, le profil chimique des HE provenant des sommités fleuries fraîches et sèches et des parties aériennes de lavande a été comparée, et le profil chromatographique a révélé la prédominance du linalool (26,5-34,7%), l'acétate de linalyle (19,7-23,4%), le *β*-ocimène (2,9-10,7%)

et l'α-terpinéol (2,8-5,1%) [Smigielski et al., 2018]. Dans la seconde investigation, 78 molécules terpéniques ont été caractérisées avec présence du linalool (30,6%) et de l'acétate de linalyle (14,2%) comme composés majoritaires. Les autres composés terpéniques (géraniol, β-caryophyllène et acétate de lavandulyle) ont été détectés mais à des taux inférieurs à 6% [Shafaghat et al., 2012].

Plusieurs travaux ont rapporté que le profil chromatographique de l'HELO est influencé par plusieurs facteurs tels que le génotype, l'origine géographique [Despinasse et al., 2020], les conditions climatiques lors de la croissance [Hassiotis et al., 2014]. De plus, la qualité de l'HELO repose sur sa forte teneur en monoterpènes oxygénés, plus particulièrement le linalool et son ester (acétate de linalyle) ainsi que leurs proportions mutuelles [Prusinowska et Śmigielski, 2014].

1.2.8.3. Récolte, séchage et rendement

La récolte de la lavande commence la deuxième année de la culture, lors de la période de floraison, (entre juin-juillet) et se poursuit chaque année pendant 12 à 15 ans dans des conditions de productivité élevée [Muntean et al., 2007]. La culture atteint sa pleine capacité productive au cours des deuxième et troisième années suivant son établissement [Giannoulis et al., 2020].

La partie végétale récoltée pour la production d'es HE est constituée de sommités fleuries-inflorescences, collectées pendant la pleine floraison [Hassiotis et al., 2014 ; Vârban et al., 2022]. Par contre, d'autres parties aériennes de plantes peuvent également être utilisées, telles que des pousses et des feuilles, avec ou sans tiges, mais le rendement en HE est minime, et les paramètres qualitatifs sont également inférieurs [Aprotosoaie et al., 2017].

Dans le climat de la région méditerranéenne, région d'origine de cette espèce, le rendement des pousses fleuries varie entre 5,5 et 15 tonnes/ha. Le rendement en fleurs sèches est d'environ 1000 kg/ha [Giannoulis et al., 2020].

1.2.8.4. Problèmes de sécurité et d'authenticité

En général, le profil aromatique des HE peut être donné par un constituant dominant ou un mélange de composés, en fonction de l'identité botanique [Lee et Ding, 2016]. Compte tenu de la forte demande ces dernières années, la falsification n'est pas rare dans les chaînes d'approvisionnement en HE [Do et al., 2015 ; Capetti et al., 2021] et consiste en l'ajout des HE moins chères et de matériaux synthétiques bon marché, ou en une dilution avec de l'huile minérale ou végétale, demeurent parmi les pratiques les plus courantes [Bejar, 2020 ; Capetti et al., 2021].
La falsification de l'HELO est également obtenue par l'addition des huiles aromatiques telles que le lavandin et/ou la lavande aspic, qui ont des taux de camphre plus élevés (> 6%). Par conséquent, pour déterminer l'authenticité et la qualité de l'HE de lavande, il est important de distinguer la cause du camphre présent à des niveaux élevés. Cela pourrait être attribué soit à l'ajout de lavandin/lavande aspic, soit au mélange des sommités fleuries de lavande avec de grandes quantités de feuilles de lavande pour l'extraction [Wilson et al., 2021].

Une étude comparative analytique de 72 échantillons d'HELO a montré que les échantillons non identifiés ou commerciaux présentaient une plus grande variation dans leur composition que les échantillons authentiques d'origine connue. Quant aux composés indicateurs, dans certains échantillons, l'eucalyptol, l'acétate de linalyle, le linalool et le camphre dépassaient les normes ISO, tandis que le β-ocimène, le lavandulol et le 4-terpinéol étaient en dehors de la plage des valeurs authentiques. Les auteurs ont montré que les normes ISO, à elles seules, ne suffisent pas toujours à faire la distinction entre les HE authentiques et frelatées [Capetti et al., 2021].

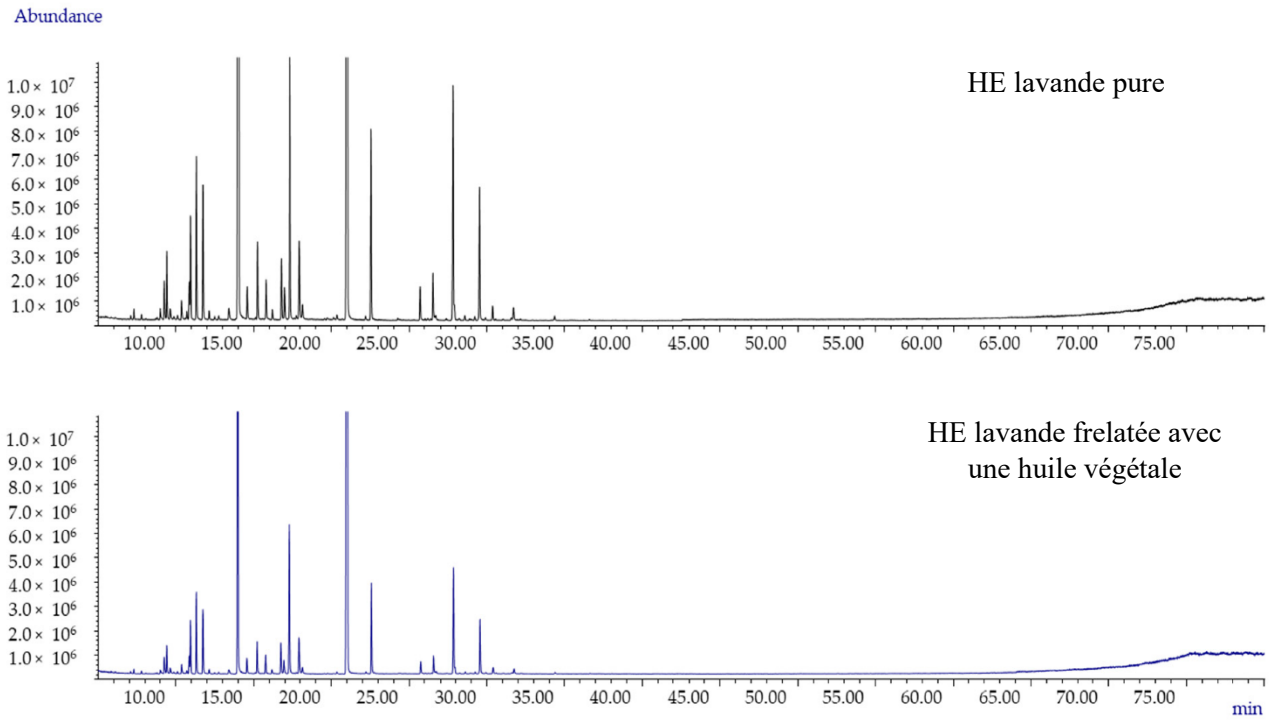


Figure 1.15. Profils chromatographiques de l'HE de lavande authentique en comparaison avec une HE enrichie volontairement à l'huile végétale [Capetti et al., 2021].

Comme mentionné précédemment (Figure 1.15), l'ajout d'huile végétale produit une dilution de l'HE, qui n'affecte pas le profil qualitatif généré par la chromatographie en phase gazeuse (CG), mais entraîne une diminution des quantités absolues des molécules détectées. Les profils chromatographiques indiquent clairement l'absence de pics due aux huiles végétales, et c'est parfaitement superposable sur le plan qualitatif. Cependant, l'aspect du profil de l'échantillon enrichi présente des pics de moindre intensité, peut-être révélateurs d'un effet de dilution dû à la présence d'une huile végétale lourde.

1.2.9. Facteurs influençant la qualité des distillats aromatiques

Les nombreux facteurs influençant les caractéristiques des HE des plantes aromatiques peuvent être divisés en deux catégories principales : (1) avant et jusqu'à la récolte et (2) facteurs après la récolte [Gilly, 1997 ; Hassiotis et al., 2014 ; Bogdan et al., 2020]. La première catégorie de facteurs fait référence à tous les aspects qui influencent la plante vivante et se reflètent directement sur la qualité du matériel biologique au moment de la récolte. La deuxième catégorie fait référence à tous les

aspects qui interviennent après la récolte et concerne ce qui arrive au matériel biologique après sa collecte. Les deux catégories sont, dans une certaine mesure, liées car toutes influencent le résultat final.

La valeur des PAM est directement liée à leur application, qui dépend de la composition quantitative et qualitative constante du matériel biologique fourni. Cependant, en raison de la culture et de la transformation, une variabilité importante peut survenir. L'objectif est de réduire, autant que possible, cette variabilité et en même temps d'augmenter le niveau d'uniformité qualitative. Habituellement, les plantes aromatiques plus jeunes synthétisent plus d'HE, mais les plus âgées ont une composition plus riche [Barbieri et Borsotto, 2018]. Il existe des fluctuations d'une année à l'autre pour un même génotype de lavande [Bogdan et al., 2020]. Récemment, un travail réalisé en Italie a révélé que la teneur en linalool de l'HE de lavande présentait une forte corrélation positive avec l'âge de la plante, avec une tendance à la hausse entre la première et la quatrième année, contrairement à l'acétate de linalyle. Les organes végétaux peuvent influencer la composition des HE, comme démontré dans le travail de Wilson et al. [2021] où la plus haute qualité étant obtenue à partir de fleurs ; par conséquent, l'inclusion de tiges et de feuilles doit être réduite au minimum pendant la récolte.

Il a été démontré que des facteurs agronomiques, tels que le génotype utilisé [Détár et al., 2021 ; Pokajewicz et al., 2022] et des aspects liés à la technologie de culture, tels que la fertilisation [Mihalașcu et al., 2020] et l'irrigation [Sałata et al., 2020], influencent l'HE obtenue à partir de lavande. Certains facteurs sont très spécifiques, comme l'heure au moment de récolte [Hassiotis et al., 2010]. Il y a également un lien entre les pollinisateurs des plantes de lavande et la production optimale d'HE, étant donné que la récolte est effectuée vers la fin de la floraison, et que les fleurs non pollinisées tombent tôt [Valchev et al., 2022].

Parmi les conditions environnementales, le facteur climatique, tel que la répartition de la température et des précipitations, selon certaines particularités géographiques, peut contribuer aux différences entre les chémotypes des plantes aromatiques [Lee et Ding, 2016]. Un travail scientifique, réalisé en Hongrie, a prouvé que les conditions météorologiques, en particulier les précipitations, influençaient le rapport linalool/acétate de linalyle dans la lavande [Détár et al., 2020].

Il existe également des facteurs géographiques qui influencent les caractères agronomiques des génotypes de lavande. Ainsi, les variations des métabolites secondaires, tant qualitativement que quantitativement, ont été associées au gradient latitudinal [Demasi et al., 2018]. De plus, la lavande cultivée, à des altitudes plus élevées, a une teneur plus élevée en HE [Aprotosoaie et al., 2017].

Les aspects de pré-traitement peuvent influencer l'HE obtenue, comme les méthodes de séchage. Le stockage peut également jouer un rôle [Sałata et al., 2020]. Des recherches sur deux variétés de lavande, menées sur une période de huit ans, ont montré que, lors du stockage à long terme des fleurs sèches, la teneur en HE diminuait en moyenne de 2,56% par an, avec également des changements notables dans le profil volatil [Dušková et al., 2016].

Concernant la distillation, plusieurs paramètres, comme la température, le pH, la durée d'extraction, le milieu aqueux, peuvent tous influencer la qualité de l'HE [Aprotosoaie et al., 2017]. Des enquêtes comparatives ont également montré que la méthode d'extraction peut également influencer les paramètres et l'efficacité de distillation de l'HELO [Iriti et al., 2006 ; Chemat et al., 2012 ; Binello et al., 2014]. Une fois obtenues, la stabilité des HE obtenues est importante pour maintenir, à long terme, des propriétés et des caractéristiques adéquates [Turek et Stintzing, 2013].

1.2.10. Culture et production

La lavande est l'une des plantes les plus précieuses de la gamme des PAM ayant une importance commerciale, et elle est cultivée à des fins industrielles. L'HELO est le produit le plus recherché obtenu à partir de la culture de lavande car elle est, en outre, incorporée dans une large gamme de produits [Gallotte et al., 2020]. A partir des espèces et hybrides du genre *Lavandula*, les HE obtenues représentent environ 1 500 tonnes par an [Wells et al., 2018]. Sur ce total, la production mondiale d'HE de lavande vraie est estimée entre 300 et 500 tonnes par an [Muntean et al., 2007]. Les principaux pays producteurs de lavande sont la Bulgarie et la France, suivis par d'autres pays européens, le Maroc, les États-Unis et l'Australie [Giray, 2018 ; Bejar, 2020]. Les plantations de lavande, qu'elles soient à l'extérieur ou à l'intérieur du continent européen, ont récemment augmenté en nombre [Vijulie et al., 2022].

Bien que la culture de la lavande soit devenue une tradition dans de nombreux pays européens et dans le monde [Lis-Balchin, 2002], la littérature récente manque d'un aperçu général de l'ensemble du processus de culture des lavandes et de la production de ses HE [Gallotte et al., 2020].

1.2.11. Toxicité et précautions d'emploi

Lorsqu'il s'agit d'HE, la sécurité et les doses efficaces sont des aspects à prendre en compte avant toute utilisation ou application. Etant donné que les HE authentiques sont très concentrées, elles nécessitent des précautions lorsqu'elles sont utilisées [Tisserand et Young, 2013]. Plusieurs travaux scientifiques ont été menés par plusieurs équipes de recherche et des laboratoires spécialisés, mais en utilisant des tests différents et des expérimentations variables [Alnamer et al., 2011 ; Antonelli et Donelli, 2020]. Par conséquent, il serait très difficile, voire problématique, de conclure sur la toxicité des HE. En outre, la toxicocinétique des distillats aromatiques constitue une tâche compliquée à établir au laboratoire. Si l'étude des propriétés pharmacologiques ou biologiques des molécules terpéniques paraît une tâche faisable, il est, par contre, compliqué d'aborder les notions de métabolisme ou de pharmacologie des huiles aromatiques constituées par un complexe de plusieurs molécules et de différentes familles chimiques [Bruneton, 1999]. La lavande officinale présente une toxicité faible et ses HE peuvent être employées dans la prise en charge de certaines brûlures cutanées superficielles grâce à son pouvoir cicatrisant [Samuelson et al., 2020]. En contrepartie, plusieurs cas cliniques de dermatite allergique ont été enregistrés [Lis-Balchin, 2002 ; Gangemi et al., 2015 ; Corazza et al., 2019]. Par ailleurs, cette HELO possède le camphre, à concentration faible à modérée (5 à 15%), mais pouvant dépasser les 50%. Il a été signalé qu'une concentration forte de ce composé peut provoquer une toxicité sur le système nerveux.

L'une des rares études [Prashar et al., 2004] sur la cytotoxicité de l'HELO a montré que les lignées cellulaires dermiques présentaient une viabilité de 80% à 100%, à des concentrations allant jusqu'à 0,125% (*v*/*v*), mais pas au-delà. Cela suggère une précaution importante lors de l'usage de cette essence sur le tissu cutané pour prévenir la sensibilisation. Les résultats suggèrent également que l'acétate de linalyle pourrait avoir un risque plus élevé de provoquer une réaction allergique cutanée que le linalool [Prashar et al., 2004].

Par ailleurs, il n'est pas recommandé d'utiliser l'HELO par voie atmosphérique (inhalation ou diffusion) car il existe un risque non négligeable de survenu des réactions allergiques cutanées ou respiratoires, avec une interdiction d'administration aux nourrissons, aux personnes allergiques et aux femmes durant les périodes de grossesse ou d'allaitement [Tisserand et Young, 2013 ; Corazza et al., 2019].

Chapitre 2
MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel

2.1.1. Technique de distillation

L'extraction des HELO a été faite à échelle industrielle (alambic sous pression) de la partie aérienne. Nous avons conservé cette HELO dans des flacons stériles et teintés.

Dans la distillerie, les HE sont extraites par entrainement à la vapeur avec un appareillage composé de :

• Un grand alambic, de capacité de 2 m^3, qui possède une séparation métallique dans sa partie inférieure pour le dépôt du végétal ; cet alambic est relié avec une chaudière qui dégage la vapeur ;

• Un compartiment nommé condensateur (réfrigérant), localisé d'une façon inclinée, et permettant la condensation des vapeurs eau-HE.

• Un vase florentin ou essencier permet de récupérer le distillat aromatique (HE et hydrolat) pour les séparer, par la suite, par simple décantation.

La vapeur condensée obtenue conduit à l'obtention de 2 parties non miscibles :

- une phase huileuse (HE) qui peut être récupérée par simple décantation ;
- une phase aqueuse (eau aromatique ou hydrolat ou eau florale).

Aussi, l'HELO distillée est considérée comme étant une huile naturelle qui n'a pas été mélangée à d'autres solvants ou composés chimiques au cours de la distillation. L'HELO sera par la suite conservée à basse température (réfrigérateur) dans des flacons stériles, afin de limiter de possibles réactions de contamination ou de dégradation.

2.1.2. Espèces bactériennes et fongiques

Plusieurs micro-organismes ont été testés pour la réalisation du screening antimicrobien de l'HELO *in vitro*. Au total, 3 bactéries et deux champignons (uni et pluricellulaire) ont été utilisés lors de cette activité en appliquant différents volumes en HE (20, 30 et 40 µL par disque).

Les espèces microbiennes testées sont mentionnées dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1. Bactéries et champignons testés en aromatogramme et en microatmosphère.

Souches microbiennes	Groupe	Référence
Bactéries		
Bacillus subtilis	Gram +	ATCC6633
Staphylococcus aureus	Gram +	ATCC6538
Escherichia coli	Gram -	ATCC8739
Champignons		
Candida albicans	Levure	ATCC10231
Aspergillus niger	Moisissure	ATCC16404

ATCC : American Type Culture Collection.

2.1.3. Animaux de laboratoire

En ce qui concerne la détermination, *in vivo*, du pouvoir topique de l'HELO, nous avons utilisé des souris des deux sexes, avec une masse corporelle variant entre 22-29 g. Toutes les souris ont été placées au laboratoire (température ambiante) dans des box en plastique, avec un libre accès à l'alimentation. Notre étude expérimentale a été réalisée sur des animaux sains.

2.1.4. Réactifs chimiques et milieux gélosés utilisés

Plusieurs milieux gélosés ont été employés, comme par exemple les géloses Muller-Hinton (MHA) et Sabouraud-chloramphénicol (SAB). Par ailleurs et afin de réaliser une analyse comparative, nous avons utilisé 2 antibiotiques (céfalexine et sulfaméthoxazole-triméthoprime) et un antifongique (terbinafine) comme contrôle positif.

Pour la partie histologique, plusieurs solvants et colorants ont été utilisés, à l'exemple du tween 80, l'acétone, le xylène, l'éthanol (à différents degré), le formol, l'hématoxyline, l'eau physiologiques, l'éosine et la paraffine.

2.2. Méthodes

2.2.1. Caractérisation du profil chromatographique de l'HELO

Le profil de l'HELO a été analysé par technique CG-SM. Les conditions sont mentionnées dans le tableau 2.2. L'identification des molécules terpéniques est faite en calculant leur indice de rétention (IR), aussi appelés indices de Kovats (IK). L'appareillage est piloté par un logiciel nommé « HP ChemStation », comprenant deux bases de de données des spectres de masse (Wiley7 et NIST 2002) qui sont utilisées pour une caractérisation précise des composés terpéniques.

Tableau 2.2. Conditions opératoires de l'analyse chromatographique de l'HELO.

Compartiment	Conditions
Injecteur	Température = 250 °C Méthode = Split 1:80 Volume d'injection en HELO = 0,2 µL
Colonne	Nom : HP-5MS Dimensions : longueur = 30 m * diamètre interne = 0,25 mm * épaisseur du film = 0,25 µm Phase stationnaire = 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane
Température du four	60 °C pendant 8 min, 2 °C/min – 250 °C ; Isotherme 10 min Durée = 113 min Gaz vecteur = Hélium (débit de 0,6 mL/min)
Détecteur de masse	Mode analytique = SIM Température = 270 °C Ionisation = Impact électronique Température de la source = 230 °C

2.2.2. Activité inhibitrice microbienne de l'HELO *in vitro*

La détermination des propriétés antimicrobiennes de l'HELO est réalisée en mesurant l'inhibition des micro-organismes soumis à l'action de cette huile. Dans cette optique, nous avons testé, *in vitro*, deux méthodes qualitatives (diffusion gélosé et atmosphérique) et deux quantitatives (CMI et CMB).

2.2.2.1. Technique de l'aromatogramme

Cette technique est adoptée afin d'estimer, dans un premier temps, les propriétés antimicrobiennes des essences aromatiques [Pibiri, 2006 ; Tyagi et Malik, 2011]. Elle est similaire à l'antibiogramme et se base sur le pouvoir de diffusion de l'HELO sur un milieu de culture gélosé (Figure 2.1). Nous avons employé des disques qui ont été imprégnés d'une quantité précise en HELO (20, 30, 40 µL). Tous les disques ont été stérilisés préalablement. Par la suite, le disque est mis dans la boite Pétri qui contient un milieu gélosé auparavant ensemencé par une espèce de micro-organisme. Les boites Pétri seront ensuite fermées et mis dans un incubateur. Pour les espèces bactériennes, la température d'incubation est de 37°C pendant 24h, et est de 25°C pendant 3 à 5 jours pour les souches fongiques. L'HELO diffuse sur le milieu et inhibe le développement des microbes en contact. Après l'incubation, l'inhibition de la multiplication se manifeste par l'apparition d'une zone entourant le papier imprégné par l'HE. Par la suite, nous avons mesuré les DZI et dont les valeurs seront exprimées en mm.

Une étude comparative a été menée en testant, dans les mêmes conditions, des disques imprégnés en médicaments antibiotiques ou antifongiques.

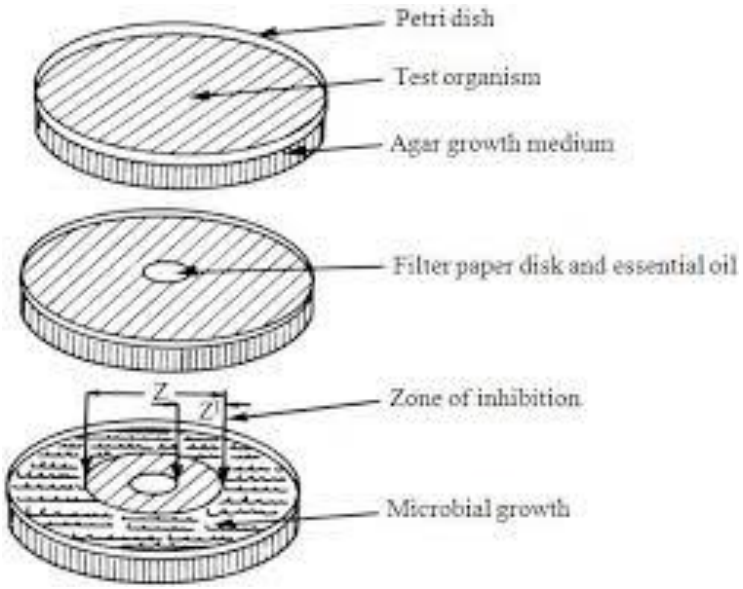


Figure 2.1. Schéma illustratif de la technique de l'aromatogramme [Zaika, 1988].

2.2.2.2. Méthode de microatmosphère

Nous avons adopté cette technique pour vérifier les effets inhibiteurs des vapeurs de L'HELO sur la multiplication microbienne. La seule différence entre la microatmosphère et la méthode de diffusion est dans la disposition du papier filtre imprégné en HELO qui sera mis au niveau du couvercle de la boîte Pétri (Figure 2.2). Comme décrit précédemment en aromatogramme, nous avons testé trois quantités croissantes en HELO. Les différentes étapes citées précédemment (ensemencement, incubation et la lecture) sont menées de la même façon que la technique précédente. Après incubation, il y aura une évaporation de l'HELO qui va exercer son pouvoir inhibiteur lors du contact avec les souches microbiennes ensemencées [Pibiri, 2006 ; Tyagi et Malik, 2010].

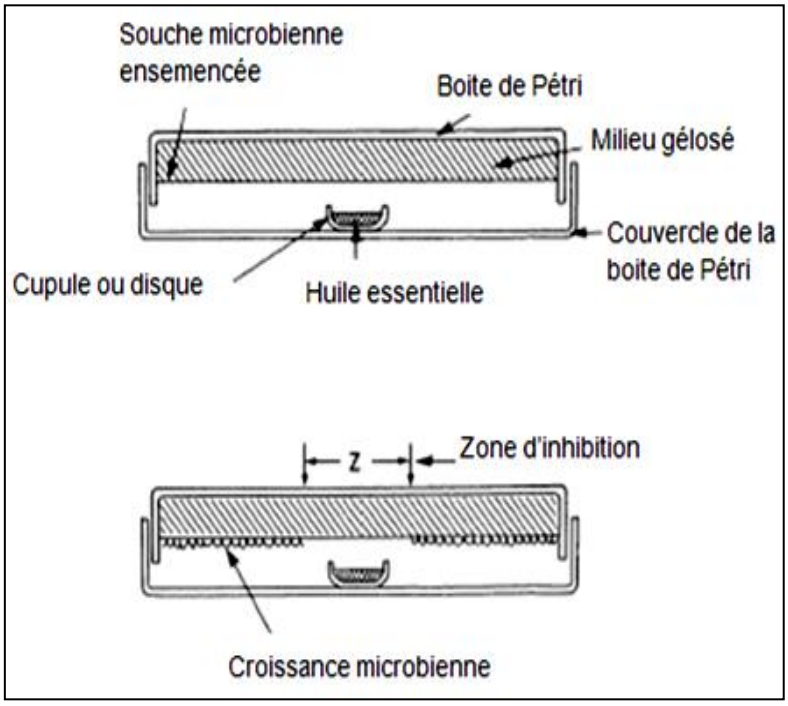


Figure 2.2. Schéma illustratif de la technique de diffusion en phase vapeur [Zaika, 1988].

2.2.2.3. Détermination des concentrations CMI et CMB par macrodilution

Nous avons employé la technique de macrodilution, appelée aussi dilution de l'HELO dans un milieu gélosé [Tyagi et Malik, 2011]. Dans notre étude, nous avons ensemencé l'inoculum sur le milieu gélosé contenant différentes doses en HELO. La recherche d'une inhibition microbienne permet de déterminer la valeur de la CMI correspondant à la plus petite dose en HELO pouvant inhiber totalement la croissance de l'espèce microbienne. Le problème rencontré dans cette méthode réside dans la mauvaise dispersion de l'HELO dans le milieu gélosé. Pour cela, nous avons additionné un agent dispersant (Tween 80 à la dose de 0,5%) pour une meilleure diffusion. Nous avons incorporé l'HELO dans le milieu en utilisant différentes doses, suivie par un ensemencement de la gélose par l'inoculum microbien. Après, l'étape d'incubation des boites a été réalisée dans les même conditions citées précédemment. Un témoin a été aussi utilisé et qui a consisté à ensemencer une gélose neutre (sans HELO) pour vérifier la croissance microbienne. Après incubation, la lecture du résultat est basée sur une observation de la présence des colonies microbiennes. Par définition, la CMI est la plus faible dose en HELO qui a provoqué une inhibition de la croissance, et l'expression des résultats sera en % (v/v). Par la suite, la CMB a été déterminée par repiquage sur milieu gélosé (sans inhibiteurs) à partir des zones translucides obtenues avec CMI. La CMB se définie par la dose la plus faible qui a donné une absence de toutes colonie microbienne.

2.2.3. Evaluation des propriétés anti-inflammatoires cutanées

Des animaux (souris) ont été utilisés pour évaluer le potentiel anti-inflammatoire de l'HELO au niveau cutané. Le modèle de l'inflammation auriculaire (oreilles des animaux) induite par une solution irritante de xylène a été choisi [Xiao et al., 2021]. Nous avons formé plusieurs groupes d'animaux. Nous avons appliqué les différents traitements par voie auriculaire. Ces groupes ont reçu les traitements ci-après :

- Groupe du médicament AINS (contrôle positif) sera traité par un gel de type Voltarène Emulgel® 1% (Diclofénac de diéthylamine, Novartis, France) ;
- Groupe du médicament AIS (contrôle positif) traité par une crème dermique de type Betasone® 0,1% (Betaméthasone pommade, Saidal, Alger) ;
- Groupe recevra une application topique en HELO (diluée dans l'huile d'amande) à trois différentes concentrations (35,2 mg/kg, 3,52 mg/kg et 0,352 mg/kg) ;
- Groupe traité par l'excipient (20 µL d'huile d'amande douce) comme contrôle négatif ;
- Groupe qui recevra l'agent irritant (xylène) avec une quantité de 20 µL par oreille ;
- Groupe témoin (sans traitement).

Après 45 minutes suivant l'application des différents traitements, la réaction inflammatoire sera générée par application d'une solution phlogogène (xylène) sur les oreilles de tous les animaux. Après 3 heures, le sacrifice des souris sera fait par dislocation cervicale. Ensuite, nous allons couper et retirer des pièces auriculaires (5 mm de diamètre) des 2 oreilles en utilisant un instrument appelé punch à biopsie. Une pesée de toutes ces pièces auriculaires a été faite. Ces dernières seront alors mises dans une solution de formol (10%) en vue de leur conservation pour l'examen histologique.

2.2.4. Examen histologique des coupes auriculaires

Les propriétés anti-inflammatoires topiques de l'HELO ont été confirmées au niveau tissulaire à travers la réalisation d'une étude histologique des pièces auriculaires. Nous avons opté pour la coloration histologique de l'hématoxyline-éosine (H&E) [Martoja et al., 1967]. Toutes les coupes histologiques ont été faites à l'aide d'un appareil de microtome permettant d'avoir des coupes avec une épaisseur de 5 µm. Nous avons réalisé l'examen microscopique en utilisant un microscope optique avec différents grossissements. A la fin, des micrographies ont été capturées pour mieux estimer le degré de l'infiltration cellulaire par les polynucléaires, l'intensité de la congestion vasculaire et la présence de l'œdème.

2.2.5. Préparation d'une émulsion dermique (crème) et contrôle de sa qualité microbienne

Nous avons opté pour la préparation d'une crème dermique (émulsion hydrophile) contenant l'HELO comme bioactif naturel. Le protocole de fabrication consiste à préparer une phase huileuse à travers le dépôt d'une quantité appropriée d'huile végétale (huile d'amande), des émulsifiants et co-émulsifiants, et de la cire d'abeille. Ensuite, la préparation de la phase aqueuse se fait en mélangeant de l'hydrolat de lavande avec la glycérine et un correcteur d'acidité. Nous portons les 2 récipients (béchers) à température de 65°C (bain-marie) jusqu'à fusion totale de tous les ingrédients. Nous versons la phase aqueuse dans la phase huileuse doucement tout en mélangeant.

Pour une meilleure conservation de cette préparation des contaminations microbiennes, nous avons ajouté un conservateur nommé Kathon CG®. A la fin, l'HELO a été additionnée à la crème préparée à une dose de (1%) sous une homogénéisation continue.

2.2.6. Analyse microbiologique de la crème

Ce contrôle est fait pour vérifier la conformité des préparations topiques aux normes microbiologiques rapportées dans la Pharmacopée Européenne [2010]. L'analyse microbiologique consiste à rechercher et dénombrer les micro-organismes aérobies totaux et la mise en évidence de certaines bactéries spécifiques, telles que les espèces fongiques, le *Staphylococcus aureus* et le *Pseudomonas aeruginosa*.

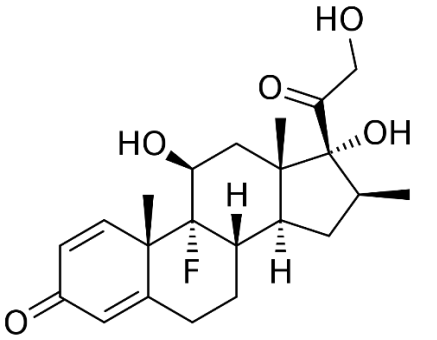
Nous avons exprimé les résultats en UFC (unité format colonie). Selon les normes en vigueur [Pharmacopée Européenne, 2010], l'interprétation des résultats microbiologiques se fait comme suit :

- Nombre de UFC/gr observé < niveau cible : Préparation déclarée conforme.
- Nombre de UFC/gr observé > niveau d'alerte : Préparation déclarée non conforme.

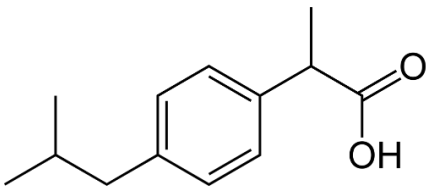
2.2.7. Etude de l'activité inhibitrice *in silico*

2.2.7.1. Structure des ligands

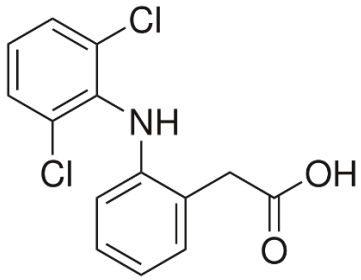
Une revue de littérature a fait ressortit que l'HELO est composée de plusieurs molécules terpéniques. Dans notre travail d'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire *in silico*, nous avons choisi de tester 29 molécules terpéniques (Figure 2.5 et Tableau 2.4) détectées dans l'HELO, en comparaison avec cinq médicaments anti-inflammatoires, trois non sélectifs pour la COX-2 (diclofénac de sodium, ibuprofène et kétoprofène), un seul sélectif (célécoxib), et un anti-inflammatoire stéroïdien (bétaméthasone) (Figure 2.3). Aussi, le pouvoir antibactérien des molécules terpéniques a été estimé à travers l'inhibition d'une protéine responsable de la synthèse du peptidoglycane, en comparaison avec cinq antibiotiques (Figure 2.4 et Tableau 2.3).



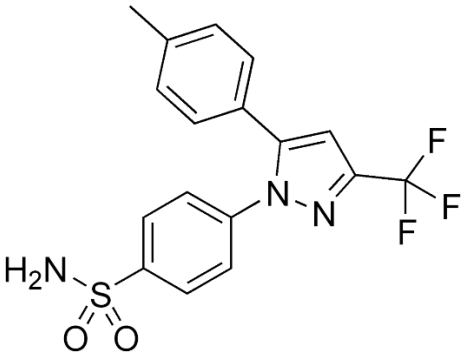
Bétaméthasone



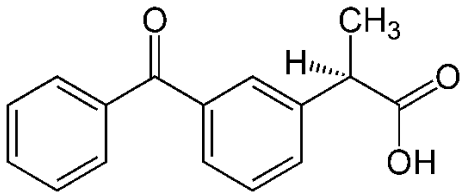
Ibuprofène



Diclofénac de sodium

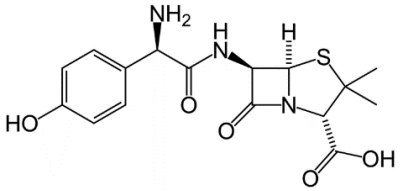


Célécoxib

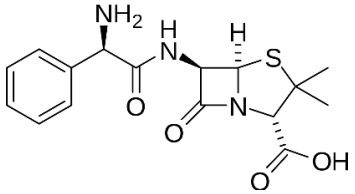


Kétoprofène

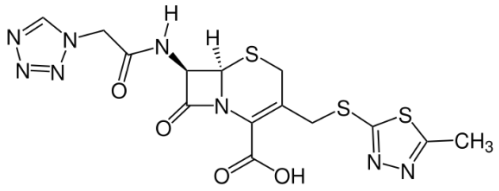
Figure 2.3. Structure chimique des différents médicaments anti-inflammatoires testés dans l'amarrage contre le récepteur COX-2.



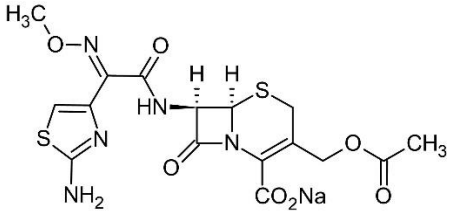
Amoxicilline



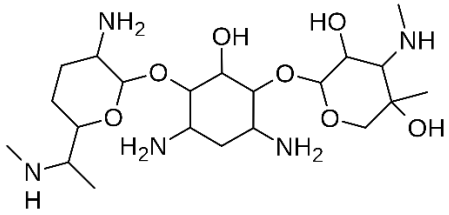
Ampicilline



Céfazoline

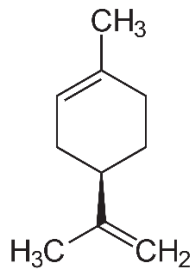


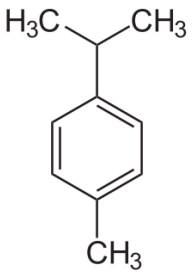
Céfotaxime

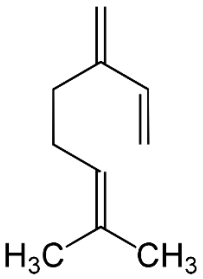


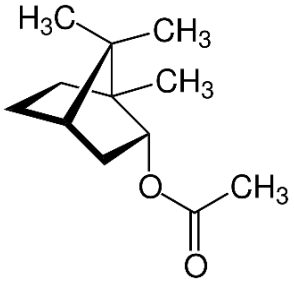
Gentamicine

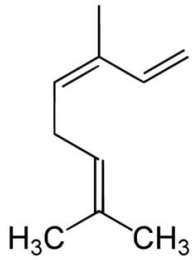
Figure 2.4. Structure chimique des antibiotiques utilisés dans l'amarrage moléculaire contre la protéine PBP.

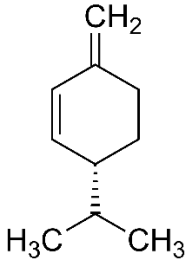

Limonène

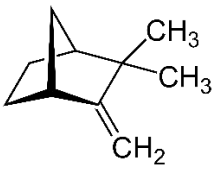

p-Cymène

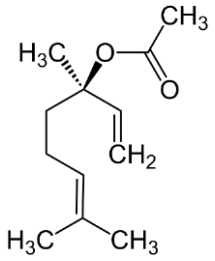

β-Myrcène

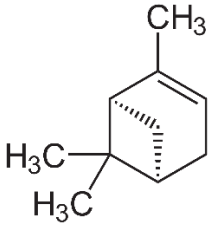

Acétate de bornyle

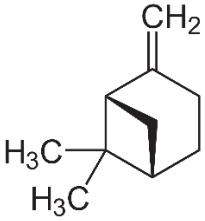

β-Ocimène

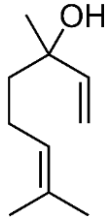

β-Phellandrène

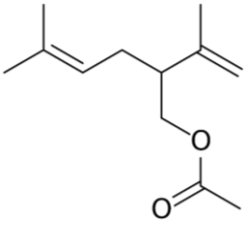

Camphène

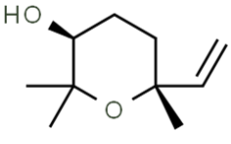

Acétate de linalyle

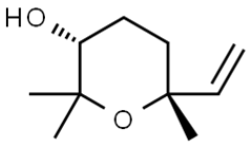

α-Pinène

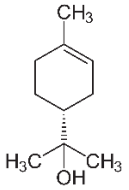

β-Pinène

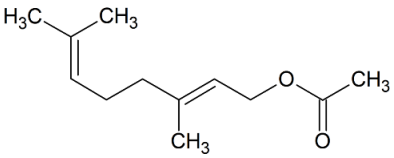

Linalool

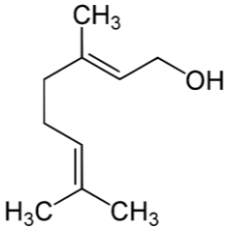

Acétate de lavandulyle

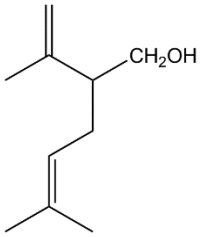

trans-Oxyde de linalool

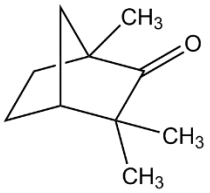

cis-Oxyde de linalool

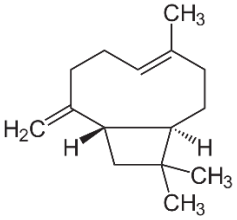

α-Terpinéol

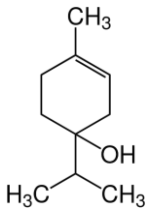

Acétate de géranyle

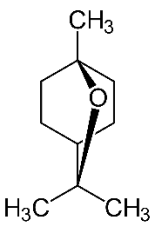

Géraniol

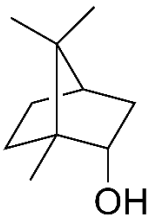

Lavandulol

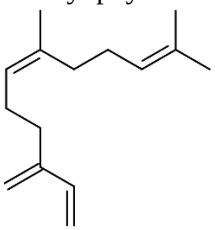

Fenchone


Caryophyllène

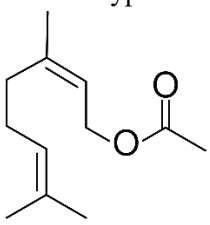

4-Terpinéol

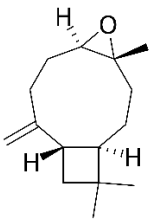

Eucalyptol

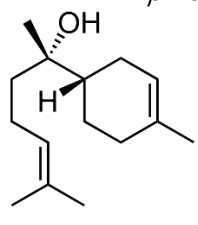

Bornéol


β-Farnesène


Camphre


Acétate de néryle


Oxyde de caryophyllène


α-Bisabolol

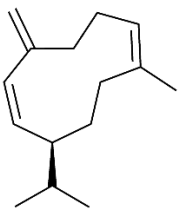

Germacrène D

Figure 2.5. Structure chimique des différents composés terpéniques testés dans l'amarrage.

Tableau 2.3. Ligands (médicaments anti-inflammatoire et antibiotique) testés *in silico*.

CID	Ligand	Synonymes	Classe	PM (g/mole)
Médicaments anti-inflammatoires stéroïdien (AIS) et non stéroïdien (AINS)				
9782	Bétaméthasone	Celestene	AIS	392
2662	Célécoxib	Celebrex	AINS sélectif COX-2	381
3825	Kétoprofène	Capisten	AINS non sélectifs	254
3672	Ibuprofène	Advil		206
5018304	Diclofénac de sodium	Voltaren		318
Médicaments antibiotiques				
33613	Amoxicilline	Amolin	Bêta-lactamines	365
6249	Ampicilline	Omnipen		349
33255	Céfazoline	Cefamezin	Céphalosporine 1ère génération	454
57426736	Céfotaxime	Cefotaxima	Céphalosporine 3ème génération	455
441305	Gentamicine	Gentavet	Aminoside	477

Tableau 2.4. Ligands (molécules terpéniques) testés dans le docking moléculaire *in silico*.

CID	Ligand	Synonymes	Formule moléculaire	PM (g/mole)
Monoterpènes hydrocarbonés				
22311	Limonène	Dipentène	$C_{10}H_{16}$	136
7463	*p*-Cymène	*p*-Cymol	$C_{10}H_{14}$	134
18756	*β*-Ocimène	Ocimène	$C_{10}H_{16}$	136
31253	*β*-Myrcène	Myrcène	$C_{10}H_{16}$	136
11142	*β*-Phellandrène	2-p-Menthadiene	$C_{10}H_{16}$	136
6654	*α*-Pinène	Acintene	$C_{10}H_{16}$	136
14896	*β*-Pinène	Terbenthene	$C_{10}H_{16}$	136
6616	Camphène	Comphene	$C_{10}H_{16}$	136
Monoterpènes oxygénés				
6549	Linalool	allo-Ocimenol	$C_{10}H_{18}O$	154
8294	Acétate de linalyle	Bergamiol	$C_{12}H_{20}O_2$	196
6428573	*cis*-Oxyde de linalool	Furanoid linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	170
6432254	*Trans*-Oxyde de linalool	Linalool oxide A	$C_{10}H_{18}O_2$	170
637566	Géraniol	Lemonol	$C_{10}H_{18}O$	154
1549026	Acétate de géranyle	Geranyl ethanoate	$C_{12}H_{20}O_2$	196
5464156	Lavandulol	Lavandulol	$C_{10}H_{18}O$	154
30247	Acétate de lavandulyle	Acetic acid lavandulyl ester	$C_{12}H_{20}O_2$	196
17100	*α*-Terpinéol	Terpinéol	$C_{10}H_{18}O$	154
11230	4-Terpinéol	Terpin-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	154
2758	Eucalyptol	1,8-Cinéole	$C_{10}H_{18}O$	154
64685	Bornéol	Isobornéol	$C_{10}H_{18}O$	154
93009	Acétate de bornyle	Levo-bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	196
14525	Fenchone	Fenchone	$C_{10}H_{16}O$	152
2537	Camphre	2-Camphanone	$C_{10}H_{16}O$	152
1549025	Acétate de néryle	Neryl ethanoate	$C_{12}H_{20}O_2$	196
Sesquiterpène oxygénés				
1742210	Oxyde de caryophyllène	Epoxycaryophyllene	$C_{15}H_{24}O$	220
1549992	*α*-Bisabolol	Bisabolol	$C_{15}H_{26}O$	222
Sesquiterpènes hydrocarbonés				
5317570	Germacrène D	Germacrène	$C_{15}H_{24}$	204
5281515	*β*-Caryophyllène	*trans*-Caryophyllène	$C_{15}H_{24}$	204
5281517	*β*-Farnesène	Farnesène	$C_{15}H_{24}$	204

Toutes les molécules ont été téléchargées sous format SDF de PubChem (base de données chimiques) (site web : http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

2.2.7.2. Structure et préparation du récepteur enzymatique

— Protéine de liaison à l'antibiotique pénicilline

La structure tridimensionnelle du récepteur nommé protéine de liaison à l'antibiotique 3 (PBP3) [PDB ID = 3VSL] a été obtenue de la banque de donnée PDB (site web : www.rcsb.org/structure/3VSL) (Figure 2.6). Cette protéine est considérée comme un récepteur essentiel dans la synthèse d'un composé (peptidoglycane) de la paroi cellulaire des bactéries. Elle est considérée aussi comme une potentielle cible pharmacologique pour bloquer la formation de la paroi des espèces bactériennes [Kumar et al., 2014]. Au cours de notre travail, nous avons d'abord effectué une préparation de ce récepteur protéique par suppression de la chaine B et tous les ligands et molécules d'eaux (Figure 2.7) en utilisant le logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021 (Dassault Sytem, France) [site web de téléchargement : https://discover.3ds.com/]. Ce même logiciel a été utilisé dans la recherche et génération des coordonnés du site actif (Figure 2.8).

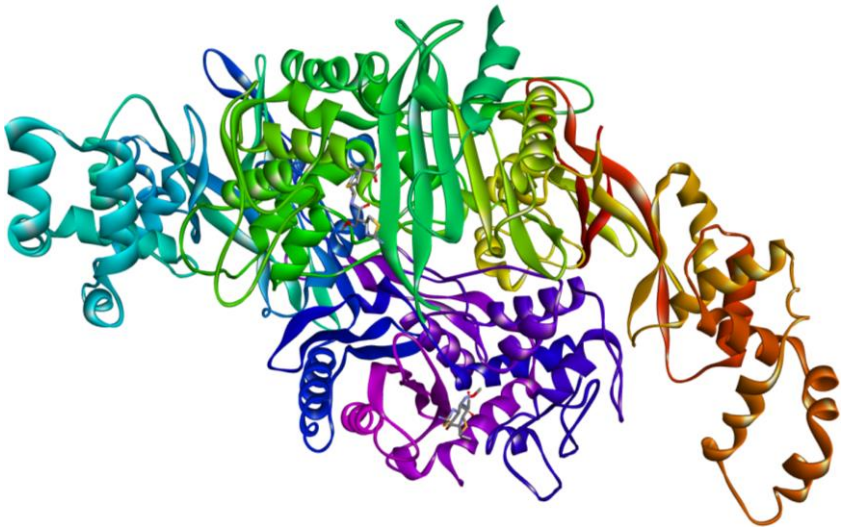


Figure 2.6. Structure du récepteur protéique (PBP3) [PDB = 3VSL].

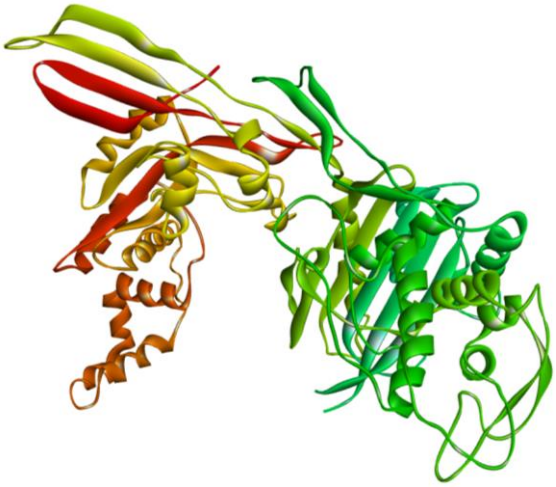


Figure 2.7. Structure de la chaine A de la protéine PBP3.

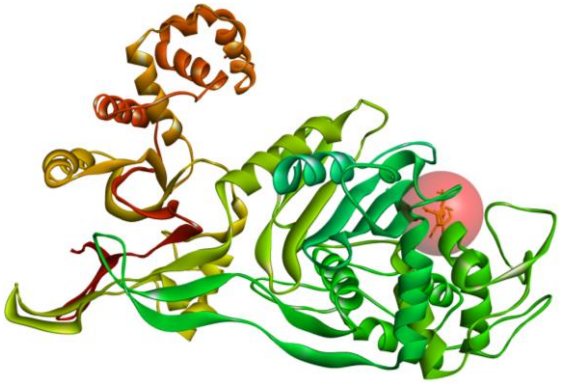


Figure 2.8. Site catalytique localisé dans la sous unité protéique A.

— Cyclo-oxygénase 2

La structure 3D de la protéine enzymatique COX-2 [ID = 3LN1] a été aussi téléchargée de la base protéique PDB (site web : https://www.rcsb.org/structure/3LN1) (Figure 2.9). Cette enzyme appartient à une famille de protéines inductives par de multiples facteurs pro-inflammatoires. Elle est exprimée dans plusieurs types cellulaires. Contrairement à son isoforme nommé COX-1, la COX-2 est induite uniquement par des facteurs inflammatoires et est principalement liée à la réponse inflammatoire. Ce récepteur intervient aussi dans la genèse de nombreuses pathologies aigues ou chroniques, comme les inflammations intestinales (maladie de Crohn) et les maladies articulaires (arthrite rhumatoïde). Des principes actifs de synthèse ont été développés pour l'inhibition sélective du site catalytique de la COX-2 et ainsi diminuer la douleur inflammatoire, en bloquant spécifiquement la biosynthèse des prostaglandines par la protéine enzymatique COX-2 sans inhiber la COX-1 qui est importante dans la protection de la muqueuse gastrique et du tissu rénal [Chiolero et al., 2000].

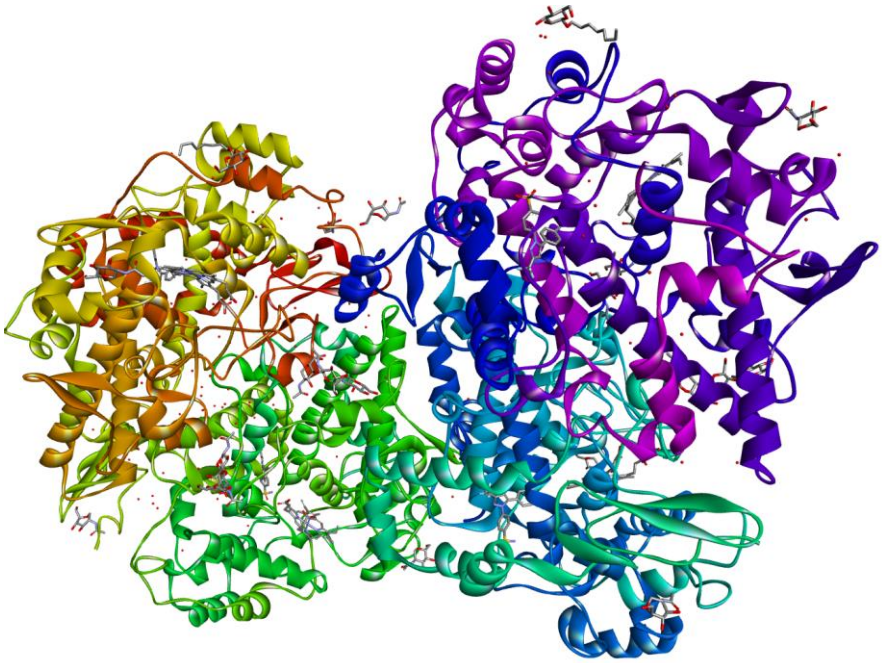


Figure 2.9. Structure de la protéine COX-2 [PDB = 3LN1] téléchargée du site PDB (Protein data bank).

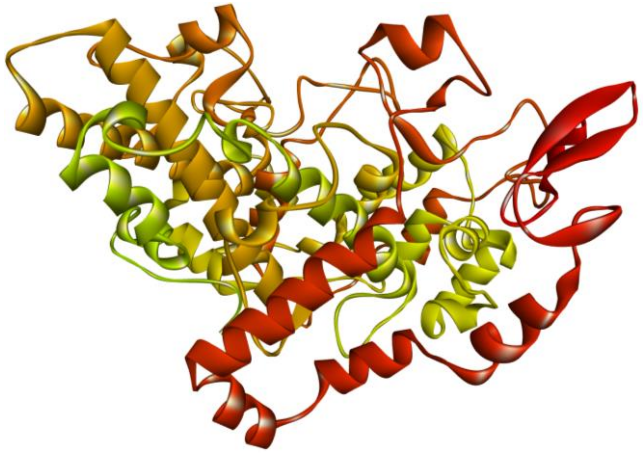


Figure 2.10. Structure de la COX-2 préparée.



Figure 2.11. Localisation du site actif dans la chaine A de la COX-2.

La préparation de la structure protéique a été faite en supprimant toutes les molécules d'eau et ligands, avec protonation et suppression de la chaine B (figure 2.10). Enfin, les coordonnées du le site actif inhibiteur ont été déterminées (Figure 2.11) dans le but de restreindre l'amarrage à son niveau. Toute cette préparation a été faite avec le logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer (version 2021, Dassault Systems, France).

2.2.7.3. Estimation du pouvoir antibactérien par inhibition de la PBP

Le Docking ou amarrage moléculaire est utilisé dans le but de faire des prédictions et simulations entre deux molécules (ligand-protéine) et d'en déduire la meilleure conformation la plus stable du complexe formé. Nous avons axé notre étude sur l'évaluation des possibles interactions entre les composés terpéniques de l'HELO et le site catalytique du récepteur PBP 3.

Tous les ligands testés ont été considérés comme flexibles, alors que la chaîne A du récepteur a été gardée comme rigide (non flexible). Pour chaque molécule testée, plusieurs conformations ou poses ont été générées par le logiciel (8 poses). Et afin de mener une étude comparative, plusieurs antibiotiques (amoxicilline, ampicilline, céfazoline céfotaxime et gentamicine) ont été choisis pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants de l'HELO.

2.2.7.4. Estimation du pouvoir anti-inflammatoire des ligands par inhibition de la COX-2

Nous avons mené cette analyse *in silico* pour estimer l'efficacité des composés terpéniques de l'HELO dans l'inhibition du site catalytique du récepteur COX-2, ainsi qu'une meilleure visualisation des interactions chimiques impliquées dans l'inhibition du site actif de cette enzyme. Notre choix s'est porté sur la COX-2 car elle est essentiellement synthétisée en réponse à des stimuli inflammatoires. Contrairement aux AINS non sélectifs (kétoprofène et ibuprofène) qui inhibent les deux formes enzymatiques de COX, les médicaments AINS sélectifs pour COX-2 ont été développés pour minimer la toxicité et les effets néfastes liés au blocage de la COX-1, tels que les ulcères gastro-intestinaux [Morita, 2002]. La simulation de l'affinité entre la COX-2 et les différents ligands a été réalisée par amarrage moléculaire en utilisant le serveur web nommé DockThor [https://www.dockthor.lncc.br/v2] créé par l'équipe de recherche « modélisation moléculaire des systèmes biologiques » du laboratoire national des sciences computationnelles (Petrópolis, Brésil) [Da silveira et al., 2019]. Le résultat de cette interaction-ligand-protéine sera exprimé en énergie d'affinité (kcal/mole).

Ces interactions ligand-protéine ont été visualisées à l'aide de différents logiciels, tels que BIOVIA Discovery Studio Visualizer (2020), Schrodinger Maestro (2018), LigPlot+ (2022), et le serveur ProteinPlus (https://proteins.plus/) [Salentin et al., 2015 ; Schöning-Stierand et al., 2020].

2.2.7.5. Prédiction des propriétés ADME-Tox

Les propriétés ADME-Tox sont un ensemble de caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des composés et qui sont importantes pour leur absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité. Dans notre étude, nous avons opté pour un serveur en ligne nommé ADMTELab2.0 (https://admetmesh.scbdd.com) pour prédire les propriétés régissant les paramètres ADMET aussi bien des composés terpéniques de l'HELO que des anti-inflammatoires testés comme contrôle positif [Xiong et al., 2021]. De plus, la règle 5 de Lipinski a été aussi examinée pour tous les composés. Cette règle est un ensemble de critères utilisés en chimie médicinale pour évaluer la probabilité qu'un composé donné soit biodisponible, c'est-à-dire qu'il puisse être absorbé et distribué dans l'organisme. Les critères de la règle de Lipinski [Kesharwani et al., 2020] sont représentés par le poids moléculaire inférieur ou égal à 500 g/mole, un LogP (coefficient de partition octanol/eau) inférieur ou égal à 5, des groupes donneurs d'électrons d'hydrogène inférieur à 5, et enfin pas plus de 10 groupes accepteurs d'électrons.

2.2.7.6. Génération d'un modèle pharmacophore

La génération d'un modèle pharmacophore est une étape clé dans le design de nouveau principes actifs. Un modèle pharmacophorique est une représentation tridimensionnelle des interactions moléculaires entre un ligand (par exemple, les molécules terpéniques) et sa cible biologique, dans notre étude la COX-2. Il est utilisé pour prédire la liaison des ligands à la cible biologique et pour concevoir de nouveaux composés ayant des propriétés similaires [Qing et al., 2014]. Les étapes typiques de la génération d'un pharmacophore consistent à collecter et recueillir des données sur les composés ou ligands ayant présenté la meilleure affinité pour le site catalytique de la cible biologique d'intérêt (COX-2). Cela doit inclure des données d'activité biologique (énergies de liaisons), des données de structure moléculaire et des informations sur les différentes liaisons établies entre les composés et le récepteur enzymatique. Par la suite, un alignement des structures moléculaires des composés actifs sur la cible permet de mettre en évidence les points similaires ou différents entre les structures et ce afin d'identifier des caractéristiques moléculaires communes à tous les composés actifs. Cela peut inclure des noyaux aromatiques, des groupes fonctionnels (cationiques ou anioniques), des interactions hydrophobes ou des liaisons hydrogène (donneur ou accepteur). Le résultat sera compilé sur un pharmacophore en 3 dimensions. Dans ce pharmacophore-3D, nous reportons, les distances qui ont été calculées à partir des conformères les plus stables des molécules sélectionnées.

Chapitre 3
RESULTATS ET DISCUSSION

A titre de rappel, le travail de notre thèse de doctorat consistait à déterminer le profil chimique de l'HELO par analyse chromatographique, et d'évaluer aussi ses propriétés antimicrobiennes (*in vitro*) par différentes techniques microbiologiques (diffusion en milieu gélosé et en phase vapeur, dilution en milieu gélosé pour la détermination des CMI et CMB), et son pouvoir anti-inflammatoire topique (*in vivo*) par technique d'induction de réaction inflammatoire auriculaire, complété par une étude histologique (coloration hématoxyline-éosine) des pièces auriculaires prélevées pour une confirmation tissulaire, concomitamment avec une approche *in silico* basée sur l'amarrage ou docking moléculaire entre les ligands (molécules terpéniques détectées dans l'HELO et médicaments antibiotiques ou anti-inflammatoires) et le site actif des récepteurs enzymatiques PBP (protéine de liaison aux pénicillines) et COX-2 (cyclo-oxygénase 2), suivi par la génération d'un modèle pharmacophorique ainsi que la prédiction des propriétés ADMET (pharmacocinétique, pharmacodynamique et toxicité).

3.1. Détermination du profil chimique de l'HELO

La caractérisation chimique de L'HELO, distillée de la partie aérienne de la lavande vraie, a été faite par technique chromatographique. Nous rapportons (Tableau 3.1 & Figure 3.1) les constituants terpéniques détectés, selon l'ordre d'élution. Dix-huit (18) molécules ont été identifiées.

Au vu des résultats obtenus, l'HELO contient l'acétate de linalyle (ester monoterpénique) comme composé prédominant avec un taux de 53,64%, suivi par le linalool (monoterpénol, 22,85%), le camphre (4,08%), le 1,8-cinéole (3,27%), appelé aussi l'eucalyptol, et le α-pinène (3,22%). Les autres constituants sont considérés comme minoritaires (inférieur à 3%). Le groupe des monoterpènes oxygénés est majoritaire (86,53%), suivi par les monoterpènes hydrocarbonés (4,24%). Un seul sesquiterpène oxygéné (oxyde de caryophyllène) a été trouvé dans l'HELO, mais avec un taux très faible (1,9%).

Tableau 3.1. Composés chimiques détectés et identifiés dans l'HELO par analyse chromatographique.

N°	Composé	Temps de rétention (Tr, min)	Indice de rétention (IR)	%
1	*α*-Pinène	4,058	926	3,22
2	Camphène	4,410	942	0,17
3	*β*-Pinène	5,245	974	0,43
4	*β*-Myrcène	5,845	988	0,09
5	*p*-Cymène	7,248	1029	0,33
6	1,8-Cinéole	7,560	1037	3,27
7	*cis*-Oxyde de linalool	10,085	1091	0,44
8	*trans*-Oxyde de linalool	11,127	1077	0,34
9	Linalool	12,688	1125	22,85
10	Camphre	14,491	1158	4,08
11	4-Terpinéol	16,884	1191	1,44
12	Acétate de linalyle	23,319	1256	53,64
13	Acétate de bornyle	24,155	1288	0,23
14	Acétate de géranyle	30,739	1394	0,24
15	*trans*-Caryophyllène	31,926	1418	0,88
16	*β*-Farnesène	34,981	1453	0,18
17	*α*-Amorphène	37,731	1485	0,13
18	Oxyde de caryophyllène	41,470	1560	1,90
	Monoterpènes hydrocarbonés			4,24
	Monoterpènes oxygénés			86,53
	Sesquiterpènes hydrocarbonés			1,19
	Sesquiterpènes oxygénés			1,9
	Total			93,86

Concernant l'analyse des chémotypes de l'HELO, les travaux scientifiques menés ont montré qu'elles sont riches en monoterpènes oxygénés (linalool, acétate de linalyle, terpinéol et 1,8-cinéole) qu'en sesquiterpènes (farnesène et caryophyllène) (Tableau 3.2).

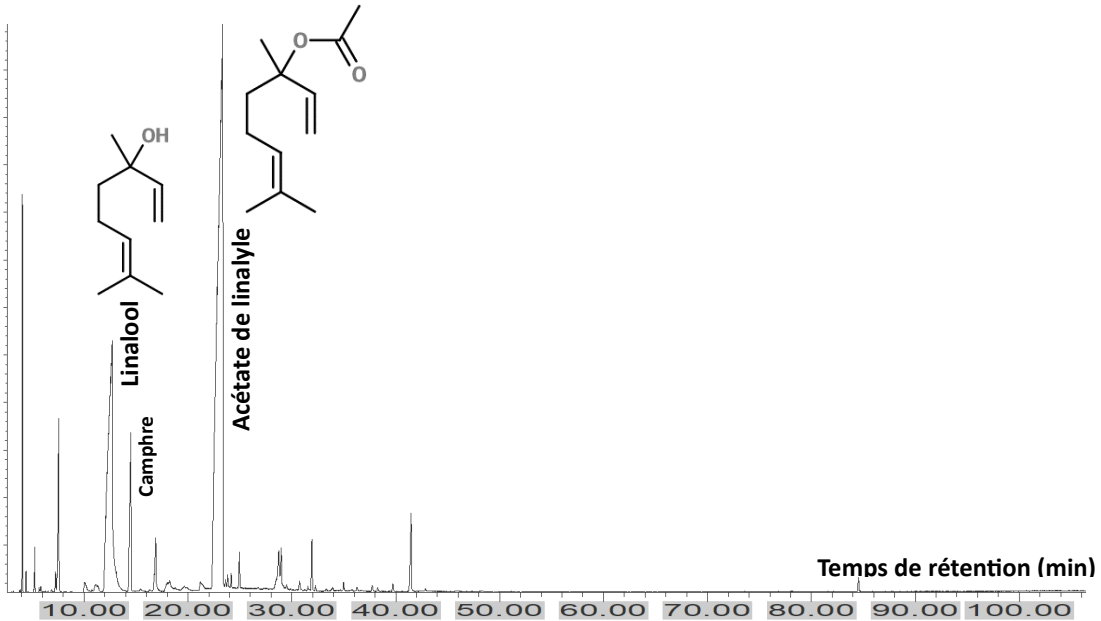


Figure 3.1. Tracé chromatographique de l'HELO.

Tableau 3.2. Molécules terpéniques majoritaires identifiées dans les HELO provenant de différents écosystèmes.

Auteurs [année]	**Matériel végétal (Origine, Pays)**	**Extraction / Rendement**	**Composition chimique (%)**
Chen et al. [2020]	Inflorescences sèches (Xinjiang, Chine)	Entrainement à la vapeur d'eau	Acétate de linalyle = 28,9 Linalool = 24,3 *β*-Caryophyllène = 7,9 4-Terpinéol = 4,04
Dong et al. [2020]	Partie aérienne séchée à l'ombre (Xinjiang, China)	Hydrodistillation avec un Clevenger (3 heures) % HE = 1,15-1,39	Acétate de linalyle = 26,61 Linalool = 19,71 Acétate de lavandulyle = 12,68 Oxyde de caryophyllène = 3,65 *α*-Terpinéol = 3,61 *β-cis*-Ocimène = 3,31
Najibullah et al. [2021]	Inflorescences frèches (Kashmir, Inde)	Hydrodistillation dans un Clevenger % HE = 1,2-1,4% (Végétal frais)	Acétate de linalyle = 39,28 Linalool = 26,76 1,8-Cinéole = 2,15
Caprari et al. [2021]	Inflorescences sèches et fraiches (Abruzzo, Italie)	Hydrodistillation (3 heures) % HE Fleurs sèches = 3,8 %	Linalool = 35,3 Bornéol = 15,67 1,8-Cinéole = 11 4-Terpinéol = 6,51 Camphre = 6,02 Acétate de linalyle = 3,77
		% HE Fleurs fraîche = 3,6 %	Linalool = 36,03 Bornéol = 19,35 1,8-Cinéole = 9 4-Terpinéol = 6,81 Camphre = 6,8 Acétate de linalyle = 2,75
El-Akhal et al. [2021]	Deux espèces de lavandes (Région montagneuse de Taounate, Maroc)	Hydrodistillation (3 heures) dans un Clevenger.	- *L. angustifolia* Linalool = 32,23 Acétate de linalyle = 14,23 Géraniol = 5,8 Acétate de lavandulyle = 4,8 Camphre = 4,21 *β*-Caryophyllène = 4,2 4-Terpinéol = 3,4
			- *L. dentata* Eucalyptol = 49,82 Camphre = 6,31 *α*-Pinène = 4,12
Slimani et al. [2022]	Partie aérienne de la plante broyée en poudre (Meknes, Maroc)	Hydrodistillation dans un Clevenger % HE = 2,13%	Linalool = 29,95 Acétate de linalyle = 18,86 *p*-Cymène = 14,68 *α*-Campholénal = 10,26
Nedeltcheva-Antonova et al. [2022]	Fleurs fraîches. 7 échantillons industriels d'HE étudiés (2008-2017) fournis par la société « BulPhyto Oils » (Sofia, Bulgarie)	Extraction par solvant apolaire (éther de pétrole ou n-héxane).	Acétate de linalyle = 26,58 - 37,39 Linalool = 20,74 - 38,24 4-Terpinéol = 3,05 - 6,5 *β*-Farnesène = 0,86 - 6,42 *β*-Caryophyllène = 2,97-4,34

La lecture comparative du tableau 3.2 révèle que l'HELO a été étudiée par plusieurs équipes de recherche de différents pays (Chine, Inde, Maroc, Italie, Bulgarie) et qui ont obtenus des résultats variables, qualitatives (molécules différentes) ou quantitatives (taux variables). Ces variations peuvent être expliquées par plusieurs facteurs comme les conditions pédoclimatiques, les pratiques culturales ou encore les techniques de distillations et les pratiques frauduleuses (HELO commerciales) [Lis-Balchin, 2002 ; Smigielski et al., 2018 ; Détár et al., 2020 ; Pokajewicz et al., 2022 ; Nedeltcheva-Antonova et al., 2022].

En conformité avec nos données, plusieurs travaux ont révélé que l'HELO est caractérisée par une teneur importante en acétate de linalyle et en linalool, une quantité modérée de 4-terpinéol et de lavandulol, et des niveaux variables d'eucalyptol (1,8-cinéole) et de camphre [Beale et al., 2017 ; Białoń et al., 2019]. Ce ne sont là que quelques composants, parmi d'autres, qui contribuent aux propriétés biologiques de l'HE. Néanmoins, la composition de l'HELO est réglementée par la Pharmacopée Européenne [2010] et certaines normes internationales [ISO, 2002].

La composition chimique de l'HELO peut être très variée, et est principalement déterminée par un génotype végétal [Détár et al., 2020 ; Shellie et al., 2002] ou encore la présence des cultivars (Tableau 3.3). Cependant, les facteurs liés à l'environnement et la localisation géographique, les pratiques culturales, les procédures de traitement après récolte et une partie de la plante, influencent également les compositions chimiques de l'HELO [Smigielski et al., 2018 ; Détár et al., 2020].

Tableau 3.3. Dix principaux composés des huiles essentielles des cultivars (cv.) de lavande officinale [Pokajewicz et al., 2022]

	Numéro du Cultivars	**3**	**7**		**8**	**9**	**10**	**13**	
N°	Composés	2016	2017	2018	2017	2017	2017	2017	2018
1	Acétate de linalyle	26,4	25,7	38,0	39,3	19,7	38,0	7,5	7,4
2	Linalool	29,2	38,2	26,7	28,9	19,8	23,3	38,5	46,7
3	4-Terpinéol	11,3	11,0	7,3	10,7	18,7	7,6	18,6	11,6
4	Acétate de lavandulyle	3,7	2,9	2,4	4,7	12,3	4,3	4,8	4,9
5	*α*-Terpinéol	2,0	3,5	2,4	3,3	1,3	2,5	1,0	0,5
6	Lavandulol	0,7	0,9	0,4	0,7	3,6	0,9	7,8	4,4
7	*cis*-Oxyde de linalool	2,3	0,8	1,6	0,5	0,7	1,8	0,5	2,6
8	Acétate de géranyle	1,6	1,9	1,9	1,3	1,3	1,4	1,2	0,8
9	*trans*-Oxyde de linalool	2,1	0,7	1,4	0,4	0,6	1,6	0,5	2,5
10	Acétate de néryle	2,2	1,1	1,8	0,8	0,6	1,9	0,5	1,9
% total identifié		82	87	84	91	79	83	81	83

Les composants sont répertoriés par ordre décroissant de la somme des % d'abondance pour chaque composant.

Nonobstant toutes les études menée sur le profil chromatographique et les chémotypes existants de l'HELO, sa qualité demeure toujours une question ambiguë. Même les fabricants et les producteurs-distributeurs des HE ont des problèmes pour déterminer clairement cette qualité chimique. Une chose est certaine, la falsification de l'huile de la lavande fine n'est pas appréciée comme pratique, et l'huile frelatée est reconnue comme une huile de mauvaise qualité. De plus, certaines origines d'HE de lavande sont plus valorisées que d'autres [ISO, 2002 ; Beale et al., 2017 ; Bejar, 2020]. Parmi les paramètres essentiels pour la qualité de l'huile de lavande, nous citerons un arôme agréable (une caractéristique hautement subjective) et une composition souhaitée en molécules. Cette dernière caractéristique peut être mesurée et la composition de l'HELO est réglementée par plusieurs normes internationales, notamment l'ISO [2002] et la Pharmacopée Européenne [2010]. Les exigences comparatives de ces deux normes internationales sont fournies dans le tableau 3.4.

Tableau 3.4. Exigences comparatives de la Pharmacopée Européenne (10e édition) et ISO 3515 pour l'huile essentielle distillée de la lavande officinale.

Composés	**Exigences**	
	Ph. Eur. [2010]	**ISO [2002]**
Limonène	≤ 1	≤ 1
Eucalyptol	≤ 2,5	≤ 3
β-Ocimène	–	0,5 - 10
Camphre	≤ 1,2	≤ 1,5
Linalool	20 - 45	20 - 43
Acétate de linalyle	25 - 47	25 - 47
4-Terpinéol	0,1 - 8	≤ 8
Acétate de lavandulyle	min. 0,2	≤ 8
Lavandulol	min. 0,1	≤ 3
α-Terpinéol	≤ 2	≤ 2

La Pharmacopée Européenne (10ème édition) fixe les limites de composition de l'HELO à usage pharmaceutique (Tableau 3.4). L'ISO spécifie également certaines caractéristiques des HE de lavande de diverses origines afin de faciliter l'évaluation de leur qualité. L'ISO 3515:2002 donne plus de composants pour l'évaluation des HE de lavande par rapport à la Pharmacopée Européenne.

Il convient de mentionner que la Pharmacopée Européenne [2010] fixe des limites minimales pour le 4-terpinéol, l'acétate de lavandulyle et le lavandulol comme composants caractéristiques. Selon la norme ISO [2002], aucune limite inférieure n'est requise pour ces composés. De plus, pour certains composants, les limites entre ces deux documents sont relativement différentes, comme présenté dans le tableau 3.4.

Dans le même sillage et conformément aux données publiées par Bejar [2020], certaines HELO contiennent des compositions chimiques très différentes et ne sont conformes à aucune des spécifications réglementées, même si elles sont authentiques. Un autre travail similaire, mené par Détár et al. [2020], a évalué la composition chimique de 6 cultivars de l'HELO d'origine

Hongroise. Ces auteurs ont révélé que la teneur en linalool était comprise entre 25,7% et 55,4%. Deux cultivars ne sont pas conformes aux recommandations de la Pharmacopée Européenne [2010] pour le taux en linalool, puisqu'il était de 50,1% et 55,4%. La teneur en acétate de linalyle était comprise entre 17,7% et 42,1%. Les deux cultivars contenaient 17,7% et 18,7% d'acétate de linalyle, et deux autres cultivars en contenaient 25,2% et 25,3% (environ la limite inférieure). Il a été révélé que la teneur *en* α-terpinéol était comprise entre 2,9% et 6%, ce qui signifie qu'aucuns des cultivars ne répondait aux exigences de la Pharmacopée Européenne [2010] pour l'α-terpinéol.

Dans le cas de notre étude, il a été rapporté que trois composés terpéniques (1,8-cinéole, camphre et l'acétate de linalyle) ne sont pas inclus dans les limites des normes exigées [Ph. Eur., 2010]. Bialoń et al. [2019] ont caractérisé le profil chromatographique de l'HELO commerciale produite en Pologne, et de l'HELO cultivée dans les jardins de l'Institut des Sciences Agricoles à Simferopol (Ukraine). Ils ont révélé que l'HE commerciale ne répondait pas aux exigences de la Pharmacopée Européenne pour le limonène (19,0% vs ≤ 1% pour les normes) et l'acétate de lavandulyle (0,06% vs min 0,2%), tandis que l'huile du cultivar de l'Ukraine n'était pas en total accord avec les exigences de la Ph. Eur. [2010] concernant l'eucalyptol (5% vs 2,5%) et l'acétate de linalyle (23,3% vs 25 - 47%).

Le profil des HELO, distillées des inflorescences (fraîches et sèches) et provenant des plantes cultivées au niveau de la région Wielkopolska (Pologne), a été caractérisé [Smigielski et al., 2018]. Les principaux composants volatils des HE des fleurs fraîches et séchées étaient le linalool (26,5 - 34,7%), l'acétate de linalyle (19,7 - 23,4%), le β-ocimène (2,9 - 10,7%) et l'α-terpinéol (2,8 - 5,1%). De plus, ces auteurs ont étudié l'influence des parties de la plante et du processus de transformation post-récolte sur le profil chromatographique des distillats. Les HE des fleurs fraîches et séchées contenaient 1,5% et 0,5% de 1,8-cinéole ; 3,6% et 5,1% d'α-terpinéol ; 34,5% et 34,7% de linalool ; et 23,4 % et 19,7 % d'acétate de linalyle, respectivement. En revanche, les HE distillées des parties aériennes fraîches et sèches contenaient le 1,8-cinéole (0,2% et 3,4%), le 4-terpinéol (4,8% et 4,5%), le linalool (31,2% et 26,5%) et l'acétate de linalyle (23% et 22,5%), respectivement. Par conséquent, les cultivars évalués d'origine Polonaise ne sont pas en conformité avec les normes rapportées dans la Ph. Eur. [2010] et ISO [2002] pour les teneurs en acétate de linalyle.

Dong et al. (2020) ont analysé l'HELO distillée des parties aériennes séchées collectées à Xinjiang (Chine). Ces auteurs ont utilisé la technique CG-SM équipée de trois colonnes capillaires de polarités différentes et ont identifié une quarantaine de composés. Le linalool (19,7%), l'acétate de linalyle (26,6%) étaient les constituants majoritaires détectés dans l'HELO. Parmi les composants mineurs figuraient le 4-terpinéol (0,4%), le lavandulol (0,5%) et l'α-terpinéol (3,6%). Ainsi, cette HELO ne répondait pas non plus aux exigences internationales pour la teneur en linalool et en α terpinéol.

Quelle que soit la richesse des composés naturels présents dans les HELO, l'ISO [2002] et la Ph. Eur. [2010] ne réglementent qu'une douzaine de composants sur des centaines. Une analyse aussi ciblée de quelques composés phytochimiques seulement est une approche très simplifiée et présente un risque élevé de mauvaise classification qualitative de l'HELO [Beale et al., 2017].

3.2. Propriétés antimicrobiennes de l'HELO *in vitro*

3.2.1. Détermination des zones d'inhibition par aromatogramme et microatmosphère

L'effet antimicrobien de l'HELO est réalisé en appliquant 2 tests complémentaires (diffusion dans un milieu de culture (aromatogramme) et la diffusion en phase vapeur (microatmosphère)). Trois espèces bactériennes (*E. coli*, *S. aureus* et *B. subtilis*) et 2 isolats fongiques (*C. albicans* et *A. niger*) ont été testés. Toutes les souches sont de références ATCC. Nous avons rapporté les résultats en moyenne de DZI dans le tableau 3.5, en comparaison avec des antibiotiques (céfalexine et triméthoprime-sulfaméthoxazole) et un antifongique (terbinafine) de référence.

En aromatogramme, la souche levuriforme (*C. albicans*) est le germe qui a montré la plus forte sensibilité à l'HELO avec des DZI de 20 mm, 19 mm et 23 mm en utilisant, respectivement, des volumes croissants en HELO (20, 30 et 40 µL).
Les autres bactéries ont été aussi inhibées mais d'une façon faible en comparaison avec la levure. A titre d'exemple et pour la bactérie à Gram-positive comme le staphylocoque (*S. aureus*), les DZI variaient entre 11 mm et 14 mm. Par contre, l'espèce mycélienne d'*A. niger* a montré une forte résistance au pouvoir inhibiteur de l'HELO où nous n'avons pas constaté l'apparition d'une zone d'inhibition.

Tableau 3.5. Diamètres d'inhibition de l'HELO *in vitro* déterminés par techniques d'aromatogramme et de microatmosphère.

	Diamètres des zones d'inhibition (DZI, mm)					
	Technique d'aromatogramme			**Contrôle positif**		
	Volume en huile essentielle (µL/disque)			**CN**	**SXT**	**TRF**
Souches testées	**20**	**30**	**40**			
E. coli	10	12	13	42	37	
S. aureus	11	13	14	6	39	
B. subtilis	10	11	13	25	38	
C. albicans	20	19	23			33
A. niger	9	9	9			52
	Technique de microatmosphère					
Souches testées	**20**	**30**	**40**			
E. coli	-	-	-			
S. aureus	-	-	-			
B. subtilis	18	18	28			
C. albicans	-	-	36			
A. niger	-	-	-			

(-) Aucune zone d'inhibition ; HE : Huile essentielle ; TRF : Terbinafine ; CN : Céfalexine ; SXT : Triméthoprime-Sulfaméthoxazole.

Par ailleurs, l'étude comparative du pouvoir antimicrobien entre l'HELO et les antibiotiques testés a révélé, d'une façon générale, que ces derniers ont présenté un effet inhibiteur élevé et ce pour toutes les souches étudiées. A titre de comparaison, l'antibiotique de la famille des sulfamides (Bactrim) a inhibé d'une façon importante toutes les souches bactériennes avec des DZI variant entre 37 et 39 mm. Même constat s'applique avec le médicament antifongique utilisé comme contrôle positif dans le screening antifongique de l'HELO. Les DZI obtenus (33 et 52 mm) avec l'antifongique sont largement supérieurs à ceux donnés par l'HELO. De plus, une action inhibitrice dose-dépendante de l'HELO est notée pour la quasi-totalité des germes. En résumé le pouvoir antimicrobien de l'HELO peut être classé comme modéré (*C. albicans*) à faible (souches bactériennes), en comparaison avec les antibiotiques testés.

Nous avons constaté qu'il n'existe pas de différente d'inhibition entre les souches bactériennes Gram + et Gram -, ce qui est en opposition à plusieurs études scientifiques [Pibiri, 2006 ; Tyagi et Malik, 2011] ayant démontré que des espèces à Gram + présentaient la sensibilité la plus élevée au pouvoir inhibiteur des HE. La raison de cette différence de sensibilité réside dans le fait que la paroi des Gram - est résistante aux molécules biocides. Il semble aussi que les lipopolysaccharides qui recouvrent la surface membranaire des Gram - pourrait expliquer leur résistance aux composés hautement hydrophobes en limitant leur pénétration dans la membrane.

Nous avons aussi testé une 2ème technique (microatmosphère), complémentaire à l'aromatogramme, dans le but d'estimer le pouvoir inhibiteur de l'HELO par diffusion atmosphérique. Nous consignons dans le tableau 3.5 les résultats de cette activité. En microatmosphère, nous avons enregistré de meilleurs résultats uniquement pour la bactérie à Gram-positive *B. subtilis* où les DZI sont de 18 mm, 18 mm et 28 mm et ce pour les volumes en HELO de 20 µL, 30 µL et 40 µL, respectivement. En revanche, les souches *E. coli, S. aureus* et *A. niger* demeurent les espèces qui ont présenté une grande résistance à la phase volatile de l'HELO.

L'étude comparative entre les deux techniques utilisées (aromatogramme et microatmosphère) fait ressortir des résultats divergents. Avec certaines souches telles que la levure *C. albicans* ou encore les bactéries (*S. aureus* et *E. coli*), la phase huileuse de l'HELO présente une efficacité élevée dans l'inhibition des bactéries, alors qu'avec d'autres espèces microbiennes (*B. subtilis*), c'est principalement la phase vapeur de l'HELO qui a présenté un fort pouvoir inhibiteur, particulièrement à forte dose.

Tableau 3.6. Études scientifiques décrivant les propriétés antibactériennes et antifongiques de l'HELO en phase vapeur *in vitro*.

Auteurs (Pays)	Matériel végétal	Composés majoritaires (%)	Objectives	Principaux résultats
Křůmal et al. [2015] (Boleslav, République tchèque)	- Lavande (*Lavandula angustifolia*) - Bergamote (*Citrus bergamia*) - Citronnelle (*Cymbopogon nardus*) - Eucalyptus (*Eucalyptus radiata*) - Genévrier (*Juniperus communis*) - Myrte (*Myrtus communis*)	No déterminé	Évaluation de l'activité antimicrobienne de plusieurs HE testées contre 17 micro-organismes à l'aide du test de contact vapeur-agar.	Les composés chimiques volatils de la lavande ont présenté l'effet inhibiteur microbien le plus important avec une totale inhibition des souches fongiques et bactériennes testées en 1 semaine et 3 jours, respectivement.
Garzoli et al. [2019] (Lazio, Italy)	- *Lavandula intermedia*	Linalool = 41,6 Acétate de linalyle = 23	Évaluation de l'activité inhibitrice des phases liquide et vapeur de l'HE contre *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *B. cereus et Kocuria marina*.	● Test en phase vapeur de l'HE montrant la CMI (µL) contre les bactéries testées. *E. coli* = 20 µL *P. fluorescens* = >40 µL *B. cereus* et *K. marina* = 20 µL.
Brożyna et al. [2021] (Pologne)	Sept HE testées : - Lavande (*Lavandula angustifolia*) - Thym (*Thymus vulgaris*) - Arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) - Basilic (*Ocimum basilicum*) - Romarin (*Rosmarinus officinalis*) - Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) - Menthe (*Mentha arvensis*)	● Lavande = Acétate de linalyle & Linalool. ● Thyme = Thymol & *p*-Cymène ● Arbre à thé = 4-Terpinéol & *γ*-Terpinène ● Basilic = Methyl chavicol & Linalool. ● Romarin = Eucalyptol & Camphre. ● Eucalyptus = Eucalyptol & *γ*-Terpinène. ● Mentha = Menthone & Menthol	Évaluation de l'effet antibactérien et antibiofilm *in vitro* des phases vapeur et liquide des HE contre des souches cliniques et de référence de *S. aureus* résistantes (SARM) ou sensibles (SASM) à l'antibiotique méticilline et isolées d'infections de plaies et d'os.	● La vapeur des HE de lavande et d'arbre à thé a un faible effet anti-staphylococcique. ● La phase vapeur des HE (arbre à thé, basilic et lavande) est considérée comme inefficaces dans l'inhibition de la majorité des bactéries. ● La vapeur d'HE du Thym possède la propriété anti-staphylococcique la plus puissante.
Sumalan et al. [2020] (Timisoar, Romanie)	Parties aériennes des plantes de : - Lavande (*Lavandula angustifolia*) - Menthe poivrée (*Mentha piperita*) - Basilic (*Ocimum basilicum*)	● Lavande : Linalool = 31,44 Acétate de linalyle = 31,78 ● Menthe : *p*-Menthan-3-one = 31 Menthol = 25,19 ● Basilic : Estragole = 49,94 Linalool = 41,5	Détermination de l'efficacité des phases vapeur des HE dans la conservation du citron pour la protection antifongique contre la souche *Penicillium digitatum* et de son effet sur les indicateurs de qualité des fruits.	● Les vapeurs de l'HELO ont un pouvoir inhibiteur sur la croissance de *P. digitatum* de manière dose-dépendante. ● Dose HE = 50 µL: Une réduction de la croissance des mycéliums, mais uniquement pour les HE de basilic et de lavande. ● La croissance fongique du champignon est devenue nulle avec 150 µL de basilic, 200 µL de lavande et 300 µL d'HE de menthe.
Valková et al. [2021] (Nitra, Slovaquie)	HE commerciales = - Lavande (*Lavandula angustifolia*) - Romarin (*Rosmarinus officinalis*) - Menthe poivrée (*Mentha piperita*)	● Lavande : Acétate de linalyle = 35 Linalool = 32,7 ● Romarin : 1,8-Cinéole = 40,4 ● Menthe poivrée : Menthol = 40,1	Évaluation du potentiel inhibiteur des HE contre plusieurs microbes par la technique de diffusion de vapeur.	● HE de lavande : puissant inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida tropicalis*. ● HE ont un potentiel intéressant pour utilisation comme additifs naturels dans le stockage des produits de boulangerie afin de prolonger leur durée de conservation.

A la lecture de la littérature scientifique (tableau 3.6), nous avons constaté que les études de l'activité antimicrobiennes des HE par diffusion atmosphérique sont peu nombreuses [Tyagi et Malik, 2011 ; Sumalan et al., 2020 ; Valková et al., 2021].

Nos résultats sont en adéquation avec ceux des autres études indiquant que les HE distillées des espèces botaniques de lavande possèdent également des activités inhibitrices sur uniquement certaines souches microbiennes [Brożyna et al., 2021]. Bouzouita et al. [2005] ont constaté que l'HELO (Tunisie) est douée d'un pouvoir antibactérien sur le *S. aureus*. Même constat a été rapporté avec les HE provenant de Turquie et d'Italie ou encore d'Australie [Gören et al., 2002 ; Moon et al., 2007].

Un nombre important de publications scientifiques ont testé l'effet de l'HELO, aussi bien sur les espèces fongiques que bactériennes [Panahi et al., 2014 ; Brożyna et al., 2021]. Yap et al. [2014] ont prouvé que l'HELO présente une certaine efficacité antimicrobienne, en combinaison avec un antibiotique, sur une BMR (*E. coli*). Les modes d'action de l'HELO, au niveau cellulaire, consistent à détruire les membranes externes de la bactérie et à inhiber la détection du quorum sensing (faculté de communication inter-bactérienne par l'émission des signaux moléculaires).

Panahi et al. [2014] ont exploré une combinaison de plusieurs HE (lavande vraie, clou de girofle et géranium) sur une infection auriculaire (otite externe), et ce en comparaison avec un médicament antibiotique (ciprofloxacine) de référence. Aucune différence n'a été notée dans cet essai clinique, ce qui peut suggérer une potentielle application thérapeutique des HE pour ce type d'infection.

Sienkiewicz et al. [2014] ont mené un essai concernant le pouvoir antimicrobien des HE extraites de la lavande vraie, du géranium odorant et de la cannelle, sur une espèce bactérienne multirésistante incriminée dans les infections nosocomiales (*Acinetobacter* sp.). Ils ont rapporté que l'HELO présente une efficacité modérée, en comparaison avec les deux autres HE.

Les effets antimicrobiens de l'HELO ont été également documentés sur d'autres micro-organismes, comme *Acinetobacter* sp., *S. aureus*, *Candida* ou *Trichophyton* [Lis-Balchin, 2002]. Giovannini et al. [2016] ont donné une autre explication concernant le mode d'action de l'HELO et qui consiste à augmenter l'activité phagocytaire des cellules immunitaires (macrophages) de l'espèce bactérienne *S. aureus*. En outre, il a été démontré que le pouvoir inhibiteur de l'HELO et leur mécanisme d'action au niveau cellulaire sont étroitement liés au profil chimique des distillats, principalement aux molécules majoritaires.

Les activités antibactériennes dépendent de la concentration des composés terpéniques de l'HE. Récemment, une variabilité des activités antibactériennes de l'HE de différents cultivars de lavande a été trouvée, ce qui a été corroboré par d'autres investigations sur différents cultivars [Walasek-Janusz et al., 2022].

De plus et en opposition aux résultats que nous avons obtenus, Predoi et al. [2018] ont noté que espèces à Gram-négatives, *E. coli* ATCC25922 et *E. coli* BLSE (β-lactamase à spectre élargie) étaient très sensibles à l'HE de lavande, indiquant sa forte activité antimicrobienne.

Des études de corrélation entre le profil chromatographique de l'HELO et les activités antibactériennes ont suggéré les activités antibactériennes importantes du linalool [Walasek-Janusz et al., 2022] confirmées par Jianu et al. [2013]. L'acétate de linalyle est doué également de puissantes propriétés antibactériennes [Jianu et al., 2013].

Nos résultats ont révélé que notre échantillon d'HELO est composé en majorité par les molécules oxygénées, telles que les alcools et les esters terpéniques, avec un taux supérieur au 3/4 de la quantité totale. Les composés alcooliques sont particulièrement efficaces dans l'inhibition de la croissance microbienne, avec une action bactéricide [Trombetta et al., 2005 ; Pereira et al., 2015].

En revanche, certains auteurs ont une autre vision concernant la corrélation composition chimique-activité antimicrobienne, estimant que les composés majoritaires des HE ne sont pas responsables seuls dans l'inhibition des souches microbiennes. Viljoen et al. [2003] ont révélé la présence d'une synergie entre le camphre et l'eucalyptol, deux composés trouvés comme minoritaires dans notre échantillon d'HELO. Par conséquence, le pouvoir antimicrobien de l'HELO ne peut pas s'expliquer par la présence des composés majoritaires, mais probablement par l'interaction entre les différentes molécules pouvant agir en synergie [Duraffourd et Lapraz, 2002 ; Goetz et Ghedira, 2012].

En outre, d'autres travaux ont démontré que les HE entières présentent généralement une plus grande action antibactérienne que leurs molécules majeures seules, indiquant que les constituants minoritaires peuvent agir en synergie [Miladinović et al., 2021]. De ces comparaisons, nous concluons que l'effet antibactérien des HE ne dépend pas que de la quantité en substances actives, mais également des propriétés chimiques de ces molécules, et de la nature de l'espèce bactérienne.

En résumé, l'action inhibitrice de l'HELO peut s'expliquer par un effet double des phases vapeur et liquide, particulièrement pour la levure, en comparaison avec les autres isolats bactériens. A souligner aussi que ces huiles aromatiques, distillées du genre *Lavandula*, sont reconnues comme « GRAS » (*Generally Recognised As Safe*), ce qui peut les rendre bénéfiques comme agents naturels de conservation [Fukushima et al., 2020].

3.2.2. Détermination des concentrations inhibitrices et bactéricides

Les valeurs des CMI et CMB de l'HELO ont été déterminées sur 3 souches bactériennes et 1 seul isolat fongique (*C. albicans*). Les valeurs des CMI varient entre 1,25% et 0,625%, mais c'est principalement la levure *C. albicans* qui a montré la plus grande sensibilité à l'HELO avec une CMI la plus faible. Ceci est en étroite corrélation avec les résultats obtenus précédemment en aromatogramme et en microatmosphère où c'est la même espèce levuriforme qui a montré forte sensibilité à l'effet inhibiteur de l'HELO.

Concernant le calcul des CMB, il a été constaté que les deux espèces bactériennes *S. aureus* et *E. coli* présentaient les mêmes valeurs que la CMI (1,25%).

Plusieurs auteurs ont émis des critiques concernant les techniques testées *in vitro* pour déterminer ces concentrations [Pibiri, 2006 ; Tyagi et Malik, 2011]. De plus, aucune technique universelle n'a été homologuée ou validée pour déterminer les CMI et CMB avec expression des résultats d'une façon uniforme. Ceci confère une certaine difficulté dans l'étude comparative entre les résultats.

3.3. Etude du pouvoir antibactérien *in silico* par docking moléculaire

L'étude interactive entre une molécule et sa cible protéique constitue une étape clé pour mieux apprécier le degré d'affinité, les résidus participant dans cette interaction et l'énergie de liaison. Au cours de notre simulation, nous avons étudié les interactions formées entre les composés terpéniques de l'HELO avec le site catalytique d'une protéine de liaison à l'antibiotique Pénicilline (PBP3) [PDB = 3SVL]. Notre choix pour la PBP est motivé par le fait que c'est une cible thérapeutique impliquée dans la synthèse du peptidoglycane, un constituant important dans la paroi bactérienne [Zervosen et al., 2012].

Dans notre étude, différents antibiotiques (gentamicine, amoxicilline, ampicilline, céfazoline et céfotaxime) ont été choisis pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants terpéniques de la lavande vraie. Les résultats de cet amarrage (Tableau 3.7) ont montré que ces antibiotiques (contrôle positif) ont inhibé fortement le récepteur PBP avec la plus faible énergie de liaison. En effet, l'énergie d'affinité enregistrée pour les différents antibiotiques testés variait entre -7,365 et -6,174 kcal/mol. Aussi, c'est la gentamicine qui a présenté la plus forte affinité pour le site catalytique du récepteur PBP, suivi par la céfazoline et la céfotaxime avec un score de -7,197 kcal/mol et -7,128 kcal/mol, respectivement.

Concernant les composés terpéniques de l'HELO, c'est l'acétate de lavandulyle qui a montré une forte affinité pour l'enzyme bactérienne avec une énergie de liaison de -5,780 kcal/mol, suivi par d'autres esters monoterpéniques à l'exemple de l'acétate de néryle (-5,560 kcal/mol), l'acétate de géranyle (-5,416 kcal/mol) et l'acétate de linalyle (-5,324 kcal/mol). En revanche, les monoterpènes hydrocarbonés (*β*-ocimène, pinène, *p*-cymène et camphène) ont présenté l'affinité de liaison la plus faible (entre -4,516 et -4,236 kcal/mol) de tous les composés testés.

Concernant les interactions enregistrées, il a été constaté que plusieurs types de liaison sont impliqués dans l'inhibition du site actif de la protéine bactérienne PBP. La figure 3.2 donne un aperçu global de ces interactions et la nature des liaisons formées.

Tableau 3.7. Résultats du pouvoir antibactérien des composés terpéniques de l'HELO en comparaison avec des antibiotiques *in silico* (docking moléculaire).

Famille	**Composé**	**Energie de liaison (kcal/mole)**
Aminoside	Gentamicine	-7,365
Céphalosporine 1ère génération	Céfazoline	-7,197
Céphalosporine 3ème génération	Céfotaxime	-7,128
Bêtalactamines	Amoxicilline	-6,894
	Ampicilline	-6,174
Ester monoterpénique	Acétate de lavandulyle	-5,780
Sesquiterpène hydrocarboné	*β*-Farnesène	-5,725
Ester monoterpénique	Acétate de néryle	-5,560
	Acétate de géranyle	-5,416
Alcool sesquiterpénique	*α*-Bisabolol	-5,364
Sesquiterpène oxygéné	Oxyde de caryophyllène	-5,356
Ester monoterpénique	Acétate de linalyle	-5,324
	Acétate de bornyle	-5,126
Sesquiterpène hydrocarboné	Germacrène D	-5,085
Monoterpène oxygéné	*trans*-Oxyde de linalool	-5,007
	Lavandulol	-4,923
	Linalool	-4,883
	cis-Oxyde de linalool	-4,863
	Géraniol	-4,839
Sesquiterpène hydrocarboné	*β*-Caryophyllène	-4,664
Oxyde monoterpénique	Eucalyptol	-4,659
Monoterpène hydrocarboné	Limonène	-4,654
Monoterpénol	4-Terpinéol	-4,650
	α-Terpinéol	-4,614
	Bornéol	-4,585
Monoterpène hydrocarboné	Myrcène	-4,582
Monoterpène oxygéné	Fenchone	-4,554
Monoterpène hydrocarboné	*β*-Phellandrène	-4,552
	β-Ocimène	-4,516
	α-Pinène	-4,510
Cétone monoterpénique	Camphre	-4,503
Monoterpène hydrocarboné	*β*-Pinène	-4,463
	p-Cymène	-4,437
	Camphène	-4,236

Pour la gentamicine, nous avons remarqué que plusieurs liaisons hydrogènes sont formées avec différents résidus d'acides aminés du site catalytique protéique PBP, ainsi qu'une seule liaison hydrophobique formée avec la PRO660. C'est le même constat qui a été noté pour l'amoxicilline où nous avons constaté l'établissement de plusieurs liaisons hydrogènes et trois interactions hydrophobiques, une avec la TYR636, et les deux autres avec la PRO660. Concernant la céfazoline (céphalosporine de 1ère génération), une seule liaison électrostatique s'est établie avec un acide aminé acide (GLU623), quatre interactions hydrophobiques avec les PRO660, VAL606, TYR636 et VAL632, ainsi que plusieurs liaisons hydrogènes.

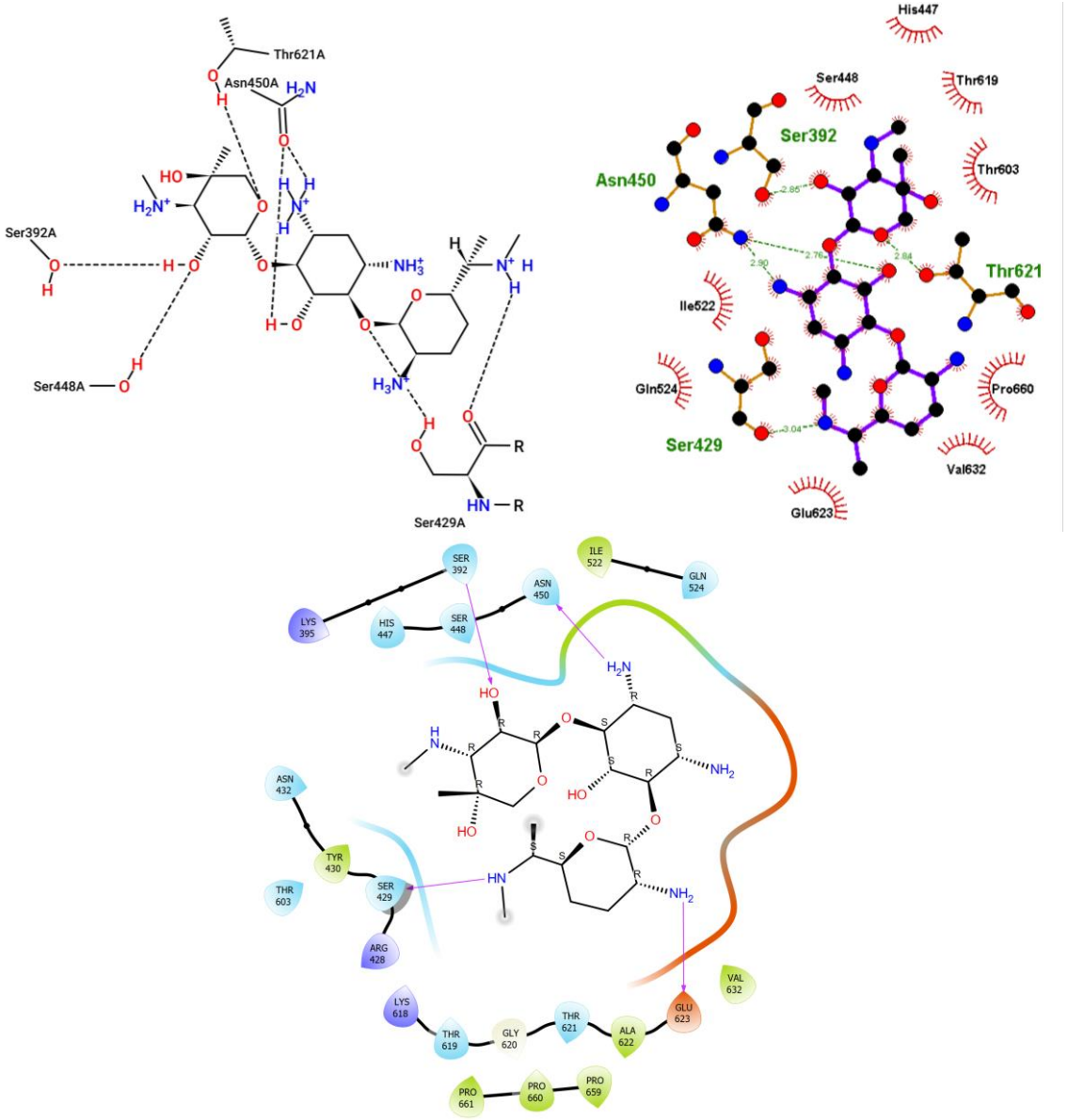
Pour la céphalosporine de 3ème génération nommée la céfotaxime, une seule interaction pi-sulfure a été formée avec l'acide aminé HIS447, deux interactions hydrophobiques établies avec la TYR430 et la PRO660, ainsi que plusieurs interactions hydrogènes formées. Et concernant les deux antibiotiques restants de la famille des béta-lactamines, en l'occurrence l'amoxicilline et l'ampicilline, les liaisons établies sont dominées principalement par des interactions hydrogènes, avec une seule liaison hydrophobique formée entre l'ampicilline et l'acide aminé basique ARG428.

Pour les interactions établies lors du docking moléculaire entre les composés terpéniques et la protéine enzymatique PBP (Tableau 3.9 et Figure 3.3), nous avons noté principalement que c'est les liaisons hydrogène et hydrophobe qui sont dominants pour le ligand acétate de lavandulyle (ester monoterpénique). En effet, plusieurs acides aminés sont impliqués dans les interactions hydrogène (SER392, THR619, THR621 et GLY620) et hydrophobe (ARG428, PRO660 et TYR430). C'est le même constat pour les autres esterpes monoterpéniques testés où nous avons enregistré la formation des liaisons hydrogène et hydrophobe avec le site catalytique enzymatique de la PBP. A titre d'exemple, l'acétate de néryle a formé deux interactions hydrogènes avec la SER429, ainsi que deux hydrophobiques avec les acides aminés PRO660 et TYR430. Un autre composé oxygéné (acétate de géranyle) a établi une seule liaison hydrogène avec la TYR636 et trois hydrophobiques avec la PRO660 et la TYR430. Cependant et en contradiction avec les antibiotiques, les composés terpéniques n'ont pas formé des interactions électrostatiques ou soufrés avec le site actif du récepteur protéique. Uniquement les liaisons hydrogène et hydrophobe qui ont été notées.

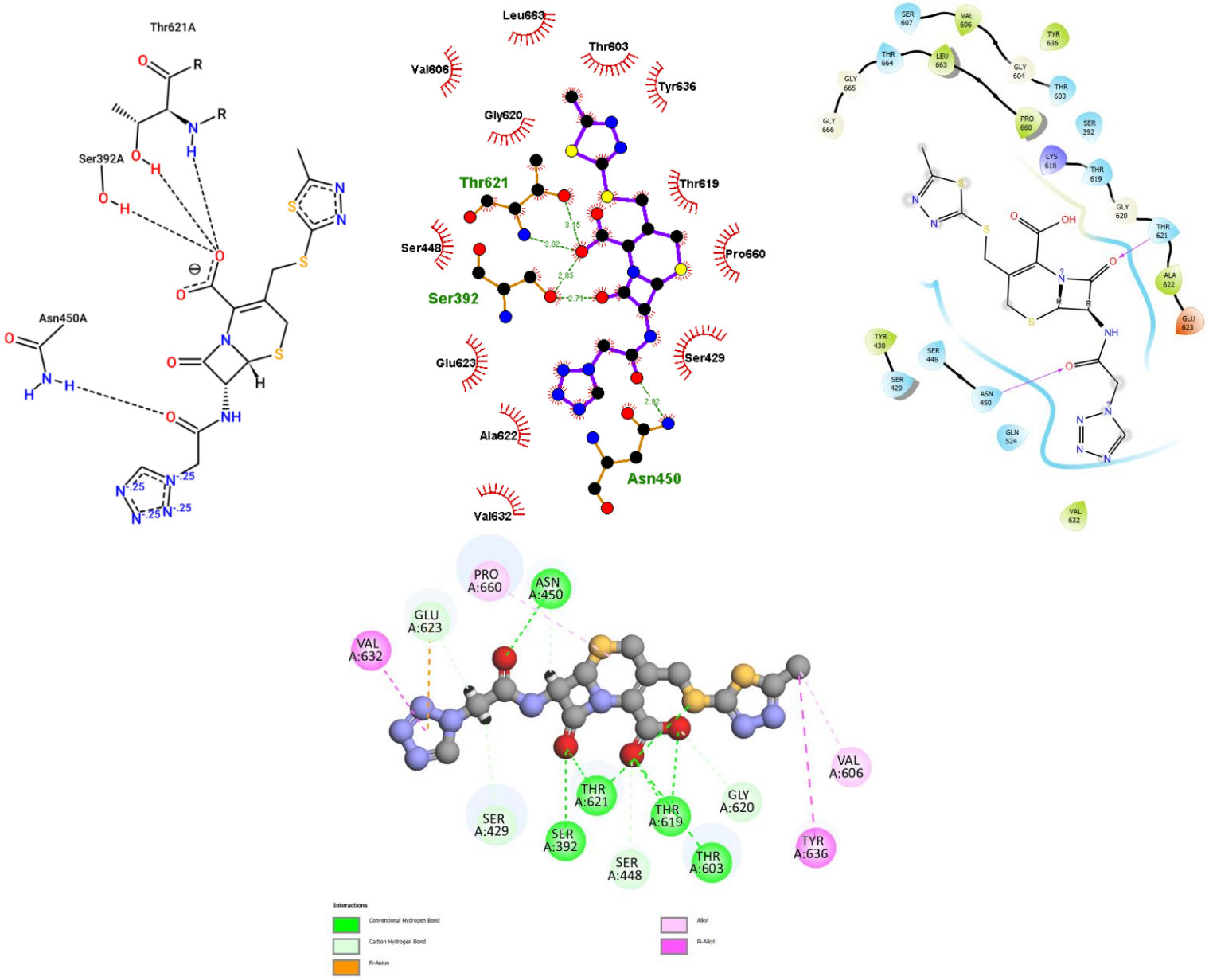
Tableau 3.8. Types des interactions constituées entre les ligands (antibiotiques) testés et le site catalytique protéique PBP (PDB = 3SVL).

Composés	Acides aminés	Distance (A)	Nature de liaison	Type de liaison
Gentamicine	SER392	1,91	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	ASN450	2,38		
	ASN450	2,89		
	THR621	2,28		
	ASN450	2,73		
	GLU623	2,74		
	SER448	2,88		
	SER429	2,16		

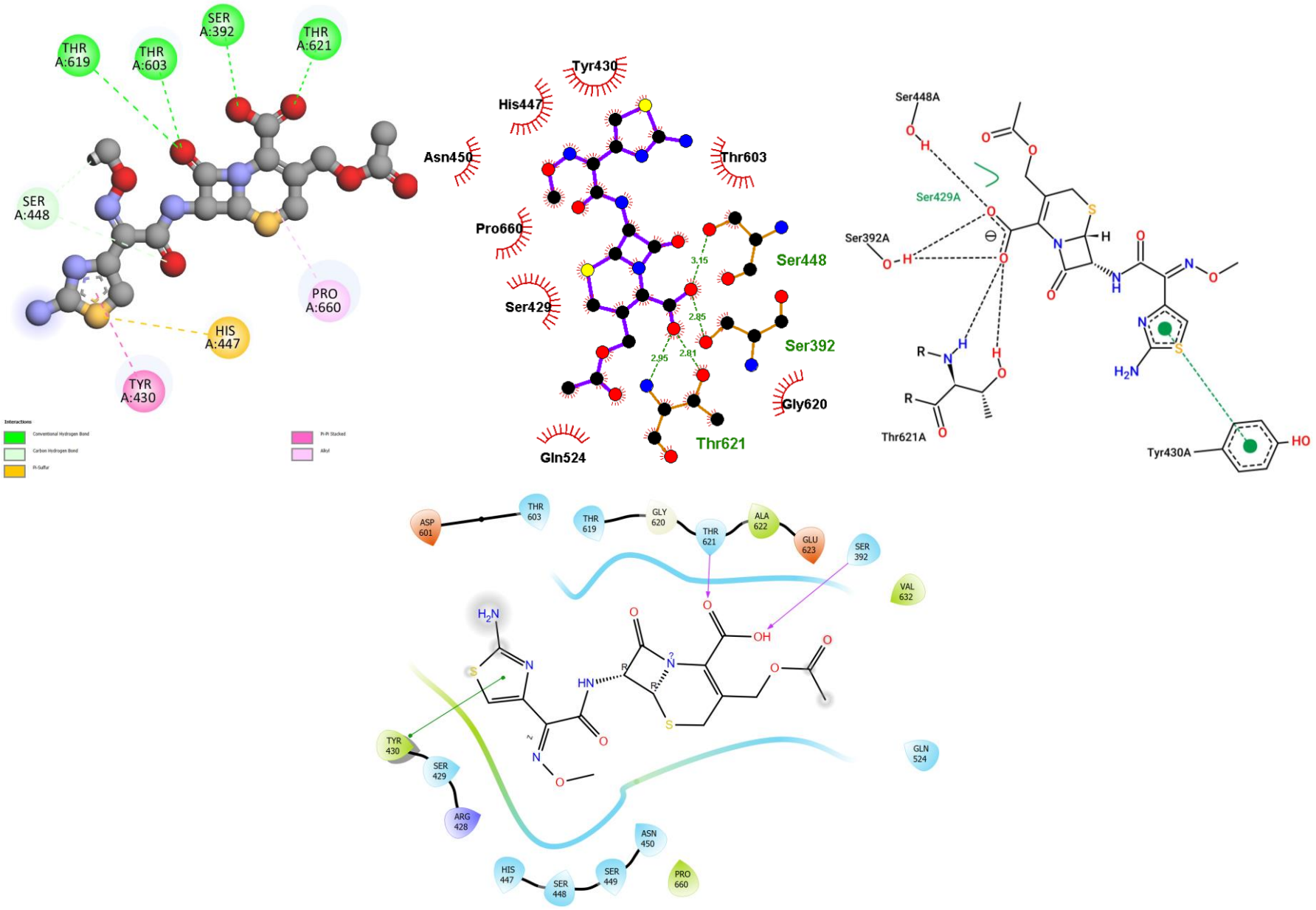
	THR621	2,63	Liaison H	Liaison C-H
	THR621	2,63		
	THR621	2,26		
	GLU623	2,43		
	HIS447	2,58		
	SER429	3,03		
	PRO660	4,81	Hydrophobique	Alkyl
Céfazoline	SER392	2,19	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	ASN450	1,97		
	THR603	2,83		
	THR619	2,94		
	THR619	2,77		
	THR621	2,74		
	THR621	2,91		
	SER448	2,80	Liaison H	Liaison C-H
	GLY620	2,78		
	THR621	2,38		
	ASN450	2,66		
	SER429	2,67		
	GLU623	2,57		
	GLU623	3,69	Electrostatique	Pi-Anion
	PRO660	4,60	Hydrophobique	Alkyl
	VAL606	4,67		
	TYR636	5,33	Hydrophobique	Pi-Alkyl
	VAL632	5,35		
Céfotaxime	SER392	1,89	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	THR603	2,88		
	THR619	3,01		
	THR621	2,12		
	THR621	1,85		
	SER448	2,44	Liaison H	Liaison C-H
	THR603	2,50		
	THR621	2,90		
	SER448	2,78		
	HIS447	4,61	Soufrée	Pi-Sulfur
	TYR430	3,82	Hydrophobique	Pi-Pi Stacked
	PRO660	3,81	Hydrophobique	Alkyl
Amoxicilline	THR603	2,85	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	TYR605	2,65		
	VAL606	2,58		
	THR619	2,68		
	ASN450	2,15		
	LYS600	2,84		
	GLY602	2,81		
	SER448	2,78	Liaison H	Liaison C-H
	THR621	2,60		
Ampicilline	ASN450	2,27	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	SER448	2,78	Liaison H	Liaison C-H
	THR603	2,62		
	SER448	2,81		
	ARG428	4,67	Hydrophobique	Alkyl



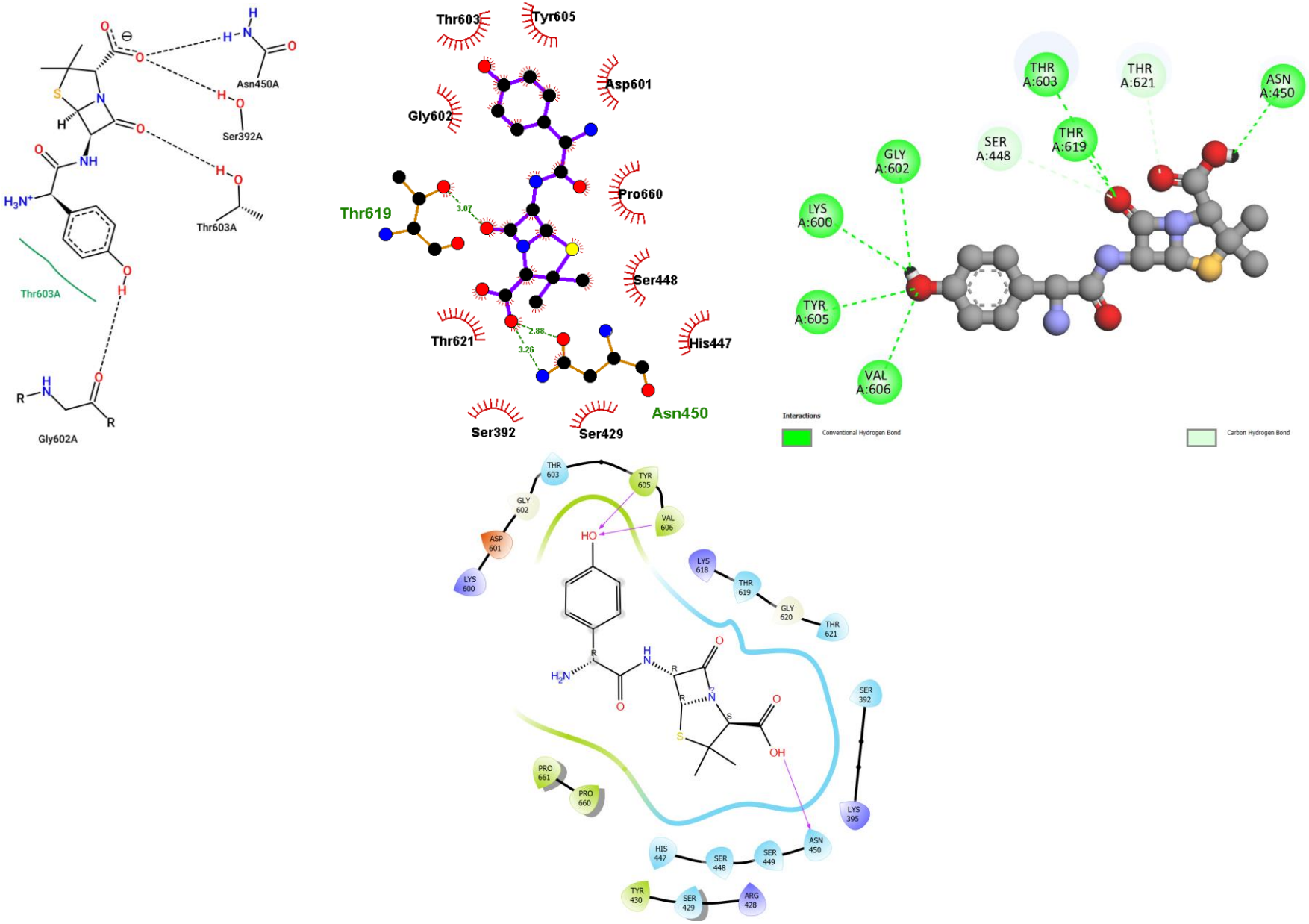
Gentamicine


Thr621A
Ser392A
Asn450A
Leu663
Thr603
Val606
Tyr636
Gly620
Thr621
Thr619
Ser448
Pro660
Ser392
Glu623
Ser429
Ala622
Asn450
Val632
PRO A:660
ASN A:450
GLU A:623
VAL A:632
THR A:621
THR A:619
GLY A:620
VAL A:606
SER A:429
SER A:392
SER A:448
THR A:603
TYR A:636
Interactions
Conventional Hydrogen Bond
Carbon Hydrogen Bond
Pi-Anion
Alkyl
Pi-Alkyl

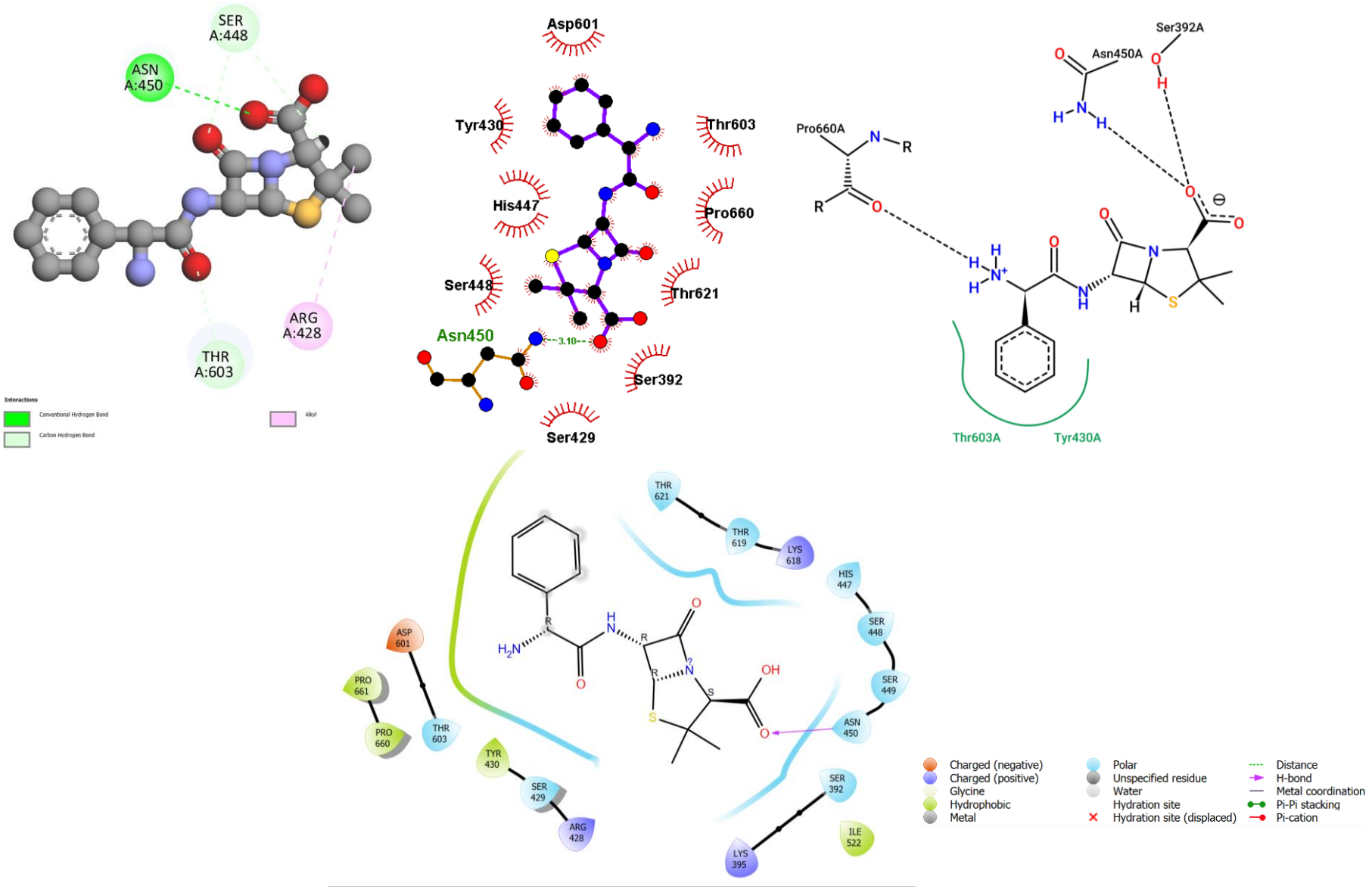
Céfazoline


THR A:619
THR A:603
SER A:392
THR A:621
SER A:448
PRO A:660
HIS A:447
TYR A:430
Interactions
Conventional Hydrogen Bond
Carbon Hydrogen Bond
Pi-Sulfur
Pi-Pi Stacked
Alkyl
Tyr430
His447
Asn450
Thr603
Pro660
Ser429
Ser448
Ser392
Gly620
Thr621
Gln524
3.15
2.85
2.95
2.81
Ser448A
Ser429A
Ser392A
Thr621A
Tyr430A
HO
ASP 601
THR 603
THR 619
GLY 620
THR 621
ALA 622
GLU 623
SER 392
VAL 632
TYR 430
SER 429
ARG 428
HIS 447
SER 448
SER 449
ASN 450
PRO 660
GLN 524

Céfotaxime

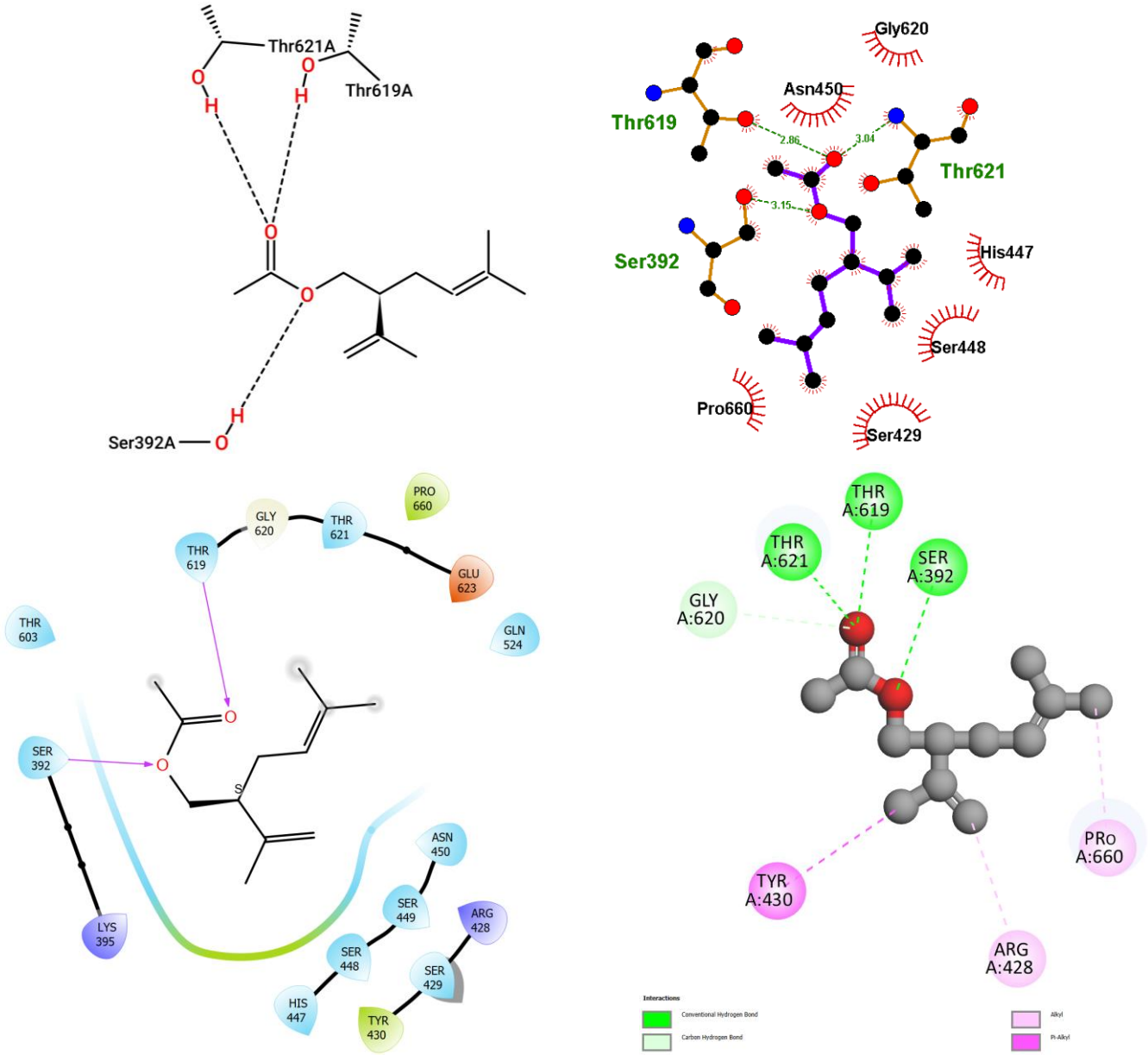


Amoxicilline

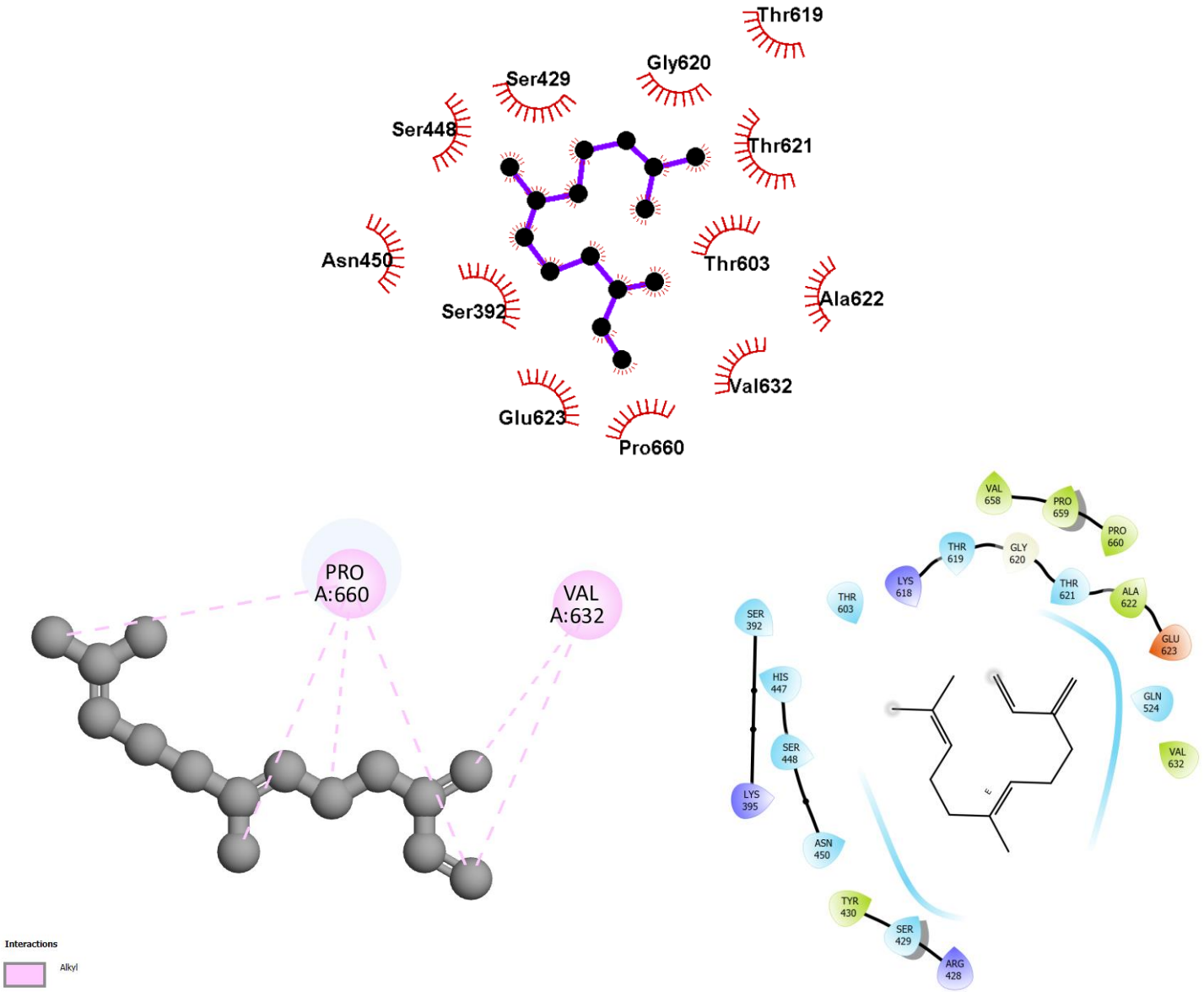


Ampicilline

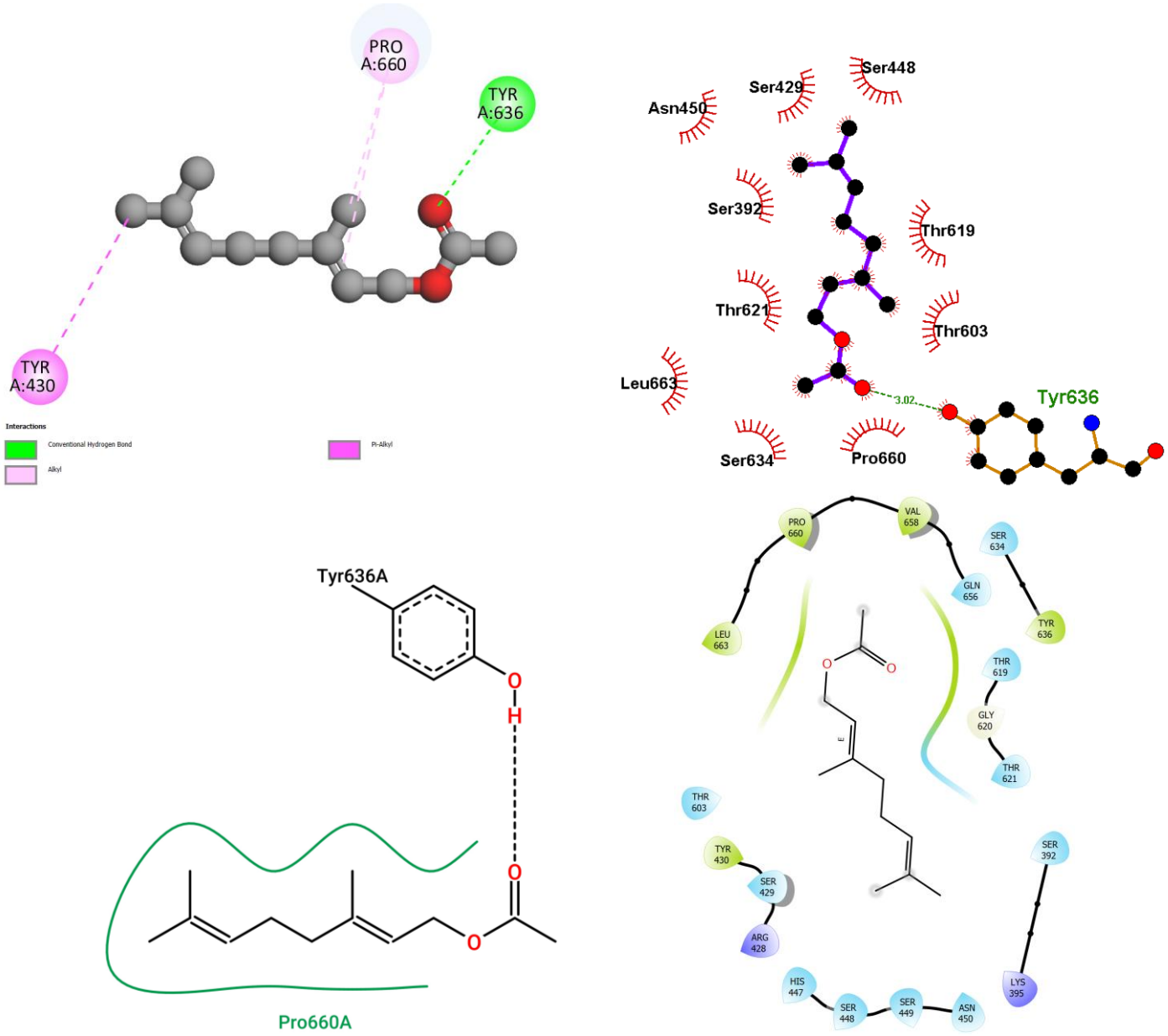
Figure 3.2. Différents types d'interaction entre antibiotiques-site actif du récepteur enzymatique.



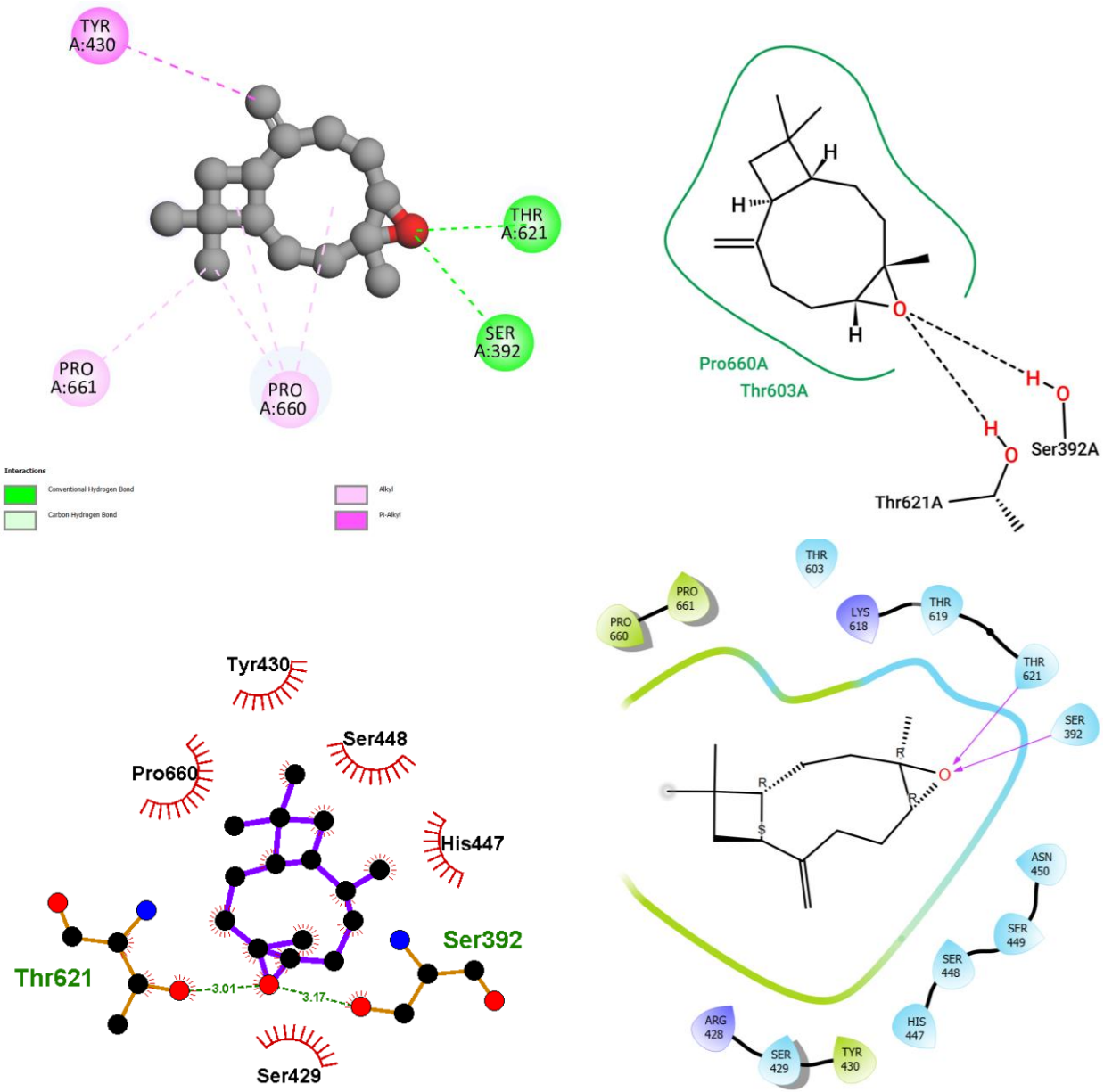
Acétate de lavandulyle



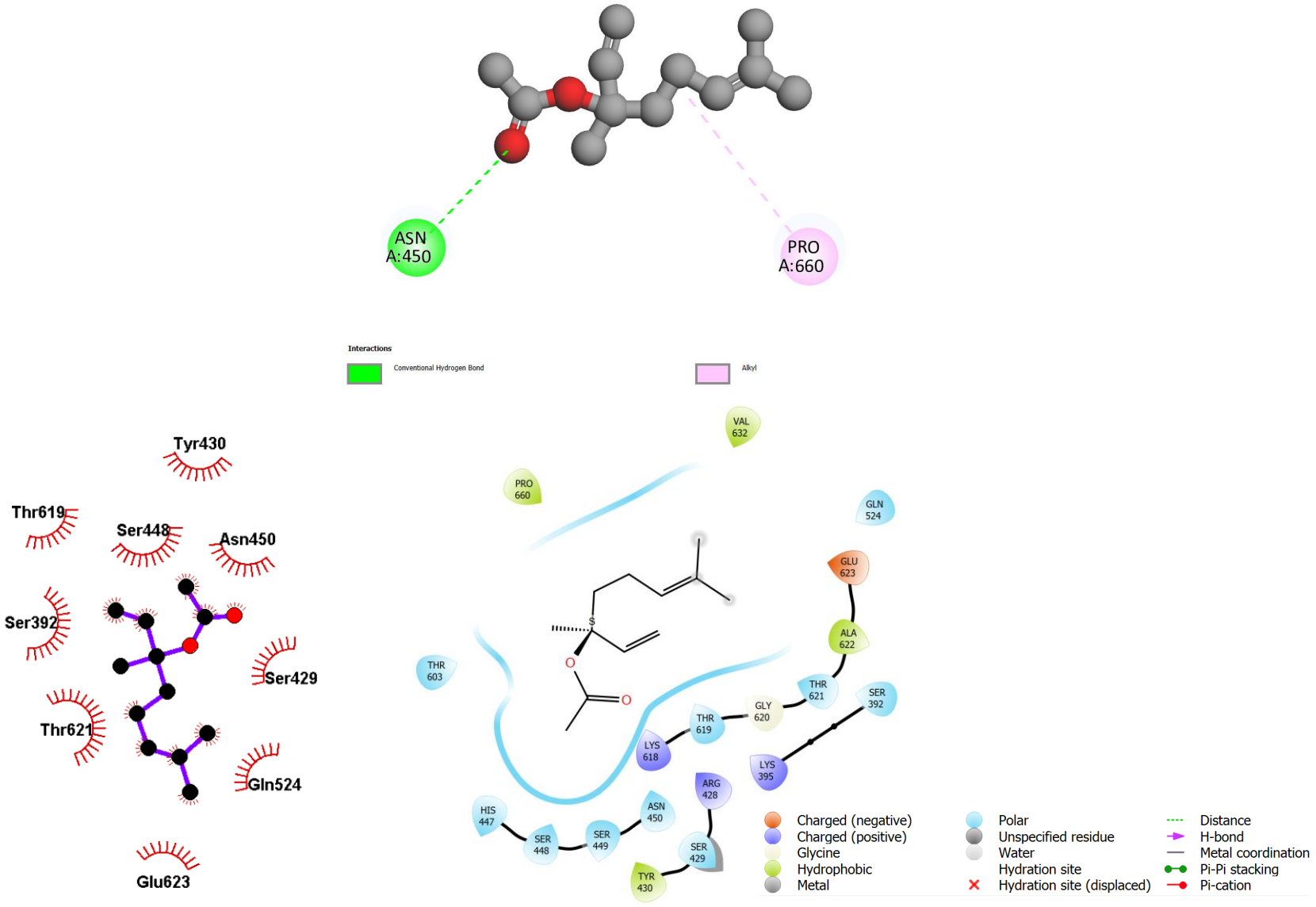
Acétate de néryle



Acétate de géranyle



Oxyde de caryophyllène



Acétate de linalyle

Figure 3.3. Interactions formées entre les molécules terpéniques-site catalytique du récepteur enzymatique PBP.

Tableau 3.9. Types des interactions formées entre les différents ligands (molécules terpéniques) testés et le site actif de l'enzyme bactérienne PBP (PDB = 3SVL).

Composés	Acides aminés	Distances (A)	Nature et type des liaisons formées	
Acétate de lavandulyle	SER392	2,24	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	THR619	1,99		
	THR621	2,43		
	GLY620	2,53	Liaison H	Liaison C-H
	ARG428	4,31	Hydrophobique	Alkyl
	PRO660	4,12		
	TYR430	4,89	Hydrophobique	Pi-Alkyl
Farnesène	PRO660	5,38	Hydrophobique	Alkyl
	PRO660	4,36		
	PRO660	4,93		
	VAL632	4,74		
	VAL632	4,85		
	PRO660	4,64		
Acétate de néryle	SER429	2,18	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	SER429	2,70	Liaison H	Liaison C-H
	PRO660	4,71	Hydrophobique	Alkyl
	TYR430	4,45	Hydrophobique	Pi-Alkyl
Acétate de géranyle	TYR636	2,41	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	PRO660	4,92	Hydrophobique	Alkyl
	PRO660	4,98		Alkyl
	TYR430	5,48	Hydrophobique	Pi-Alkyl
Oxyde de caryophyllène	SER39	2,41	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	THR621	2,66		
	THR621	2,23		
	THR621	2,47	Liaison H	Liaison C-H
	PRO660	5,11	Hydrophobique	Alkyl
	PRO660	4,77		
	PRO660	4,20		
	PRO661	4,45		
	TYR430	4,58	Hydrophobique	Pi-Alkyl
Acétate de linalyle	ASN450	2,81	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	PRO660	4,68	Hydrophobique	Alkyl

Le docking moléculaire est considéré comme une méthode utilisée pour générer des prédictions de l'interaction formée entre un récepteur protéique et des molécules appelées ligand, dans le but de former un complexe et donc l'inhibition de la fonction protéique d'une façon provisoire. Plusieurs études ont utilisé l'amarrage moléculaire pour étudier la liaison de composés antibactériens à la PBP. Ces études ont suggéré que la PBP est une cible possible pour de nombreux composés antibactériens [Alves et al., 2014 ; Alhadrami et al., 2020].

3.4. Etude *in vivo* du pouvoir anti-inflammatoire cutané

Nous avons évalué les propriétés anti-inflammatoires cutanées de l'HELO par la technique d'induction d'une réaction inflammatoire auriculaire avec un produit chimique (xylène), et ce en comparaison avec deux médicaments anti-inflammatoires, un non stéroïdien de type Voltarène Emulgel® (Diclofénac de sodium 1%), et un stéroïdien de type Betasone® (Bétaméthasone 0,1%) pris comme contrôles positifs. Nous rapportons les résultats dans le tableau 3.10.

Tableau 3.10. Taux de réduction de l'inflammation topique chez les différents lots d'animaux traités en comparaison avec le xylène.

Traitements	Moyenne ± écart-type (mg)	% inhibition
HE lavande officinale 35,2 (mg/kg)	7,25 ± 1,5	50,89
HE lavande officinale 3,52 (mg/kg)	5,75 ± 1	64,17
HE lavande officinale 0,352 (mg/kg)	3,75 ± 1	98,40
Diclofénac de sodium (contrôle positif)	6,23 ± 1	59,22
Bétaméthasone (contrôle positif)	4,91 ± 0,6	75,15
Xylène (agent phlogogène)	8,41 ± 3,4	43,87
Véhicule (huile d'amande)	5,76 ± 1,1	64,06
Témoin (sans traitement)	3,69 ± 0,3	

D'après nos résultats, nous avons remarqué que le groupe d'animaux ayant reçu l'HELO (0,352 mg/kg), a présenté une réduction importante de l'inflammation avec un taux de 98,4%, avec une différence significative, en comparaison au lot traité par l'agent phlogogène. Les deux autres lots traités avec l'HELO, à dose croissante, ont présenté un taux d'inhibition de l'inflammation variant entre 64,17% et 50,89%. Par ailleurs, l'agent phlogogène utilisé (xylène) a provoqué une forte irritation auriculaire chez tous les animaux et qui s'est manifestée par un œdème et une augmentation la plus élevée de la masse auriculaire (8,41±3,4 mg). Nous avons complété notre expérimentation animale par un examen histologique des pièces auriculaires prélevées de chaque animal afin de confirmer ou d'infirmer cet effet anti-inflammatoire à échelle tissulaire.

En ce qui concerne le potentiel anti-inflammatoire des espèces de *Lavandula*, la majorité des études scientifiques ont confirmé les effets inhibiteurs en utilisant la technique de l'inflammation générée par la carraghénane au niveau des pattes des animaux [Hajhashemi et al., 2003], ou par l'huile de croton au niveau auriculaire [Cardia et al., 2018]. De plus, la capacité de cette espèce à diminuer les niveaux des cytokines pro-inflammatoires (TNF-α (facteur de nécrose tumorale) et interleukine 1β (IL-1β)), et à augmenter ceux d'une cytokine anti-inflammatoire (IL-10) dans un modèle d'infarctus du myocarde, a été récemment démontrée [Souri et al., 2019].

Cardia et al. [2018] ont testé les propriétés anti-inflammatoires cutanées (niveau auriculaire) de l'HELO sur la réponse inflammatoire aiguë en utilisant un modèle d'inflammation chez les souris. Ils ont montré que cette HE, utilisée à différentes doses (0,25, 0,5 et 1 mg/animal), a permis la diminution aussi bien de l'œdème que l'activité enzymatique de la MPO (myéloperoxydase), qui est considérée comme une protéine présente dans les cellules immunitaires (neutrophiles) et dont la production excessive peut contribuer à l'inflammation et aux dommages tissulaires. Aussi, ils ont révélé une réduction dans la production de l'oxyde nitrique (NO), un composé considéré comme stimulant de la biosynthèse des médiateurs pro-inflammatoires.

Une équipe scientifique Brésilienne [Silva et al., 2015] a exploré les effets antalgique et anti-inflammatoire de l'HELO, en appliquant le test d'œdème induit par la carraghénane, au niveau des pattes des animaux (rats), et l'inflammation cutanée générée par l'huile de croton, en comparaison avec la dexaméthasone. Dans les tissus auriculaires de souris, l'HELO a diminué les niveaux d'expression du facteur de transcription nucléaire (NFκB, une famille de protéines régulatrices possédant une fonction dans la régulation de l'inflammation), de COX-2 et du TNFα [Chen et al., 2020].

Ueno-Iio et al. [2014] ont déterminer le pouvoir anti-inflammatoire de l'HELO en utilisant un modèle animal (inflammation bronchique induite par injection de l'ovalbumine). L'HELO a été administrée aux animaux par inhalation pour une période de 14 jours. Les auteurs de cette expérimentation ont trouvé une réduction de l'inflammation allergique, ce qui laisse présager des possibilités d'exploitation de l'HELO dans la maladie asthmatique.

Dans notre échantillon d'HELO, le linalool et son ester (acétate de linalyle) sont les deux composés majoritaires, ce qui pourra donner une explication aux propriétés anti-inflammatoires de cette HE. En effet, plusieurs publications [Peana et al., 2002 ; Sosa et al., 2005 ; Alqahtani et al., 2023] ont rapporté que les alcools monoterpéniques, comme le linalool, sont doués d'un pouvoir anti-inflammatoire en utilisant la technique d'induction de l'œdème par la carraghénane au niveau des pattes des animaux.

Deux études cliniques ont confirmé les vertus thérapeutiques régénérantes de l'HELO et ce pour la prise en charge des plaies générées suite à un accouchement [Vakilian et al., 2011 ; Sheikhan et al., 2012]. Les auteurs ont constaté une réduction significative des symptômes inflammatoires (hématome, irritation, œdème) en utilisant des bains de siège additionnés d'HE, en comparaison avec la Povidone (antiseptique).

Pour rappel, l'huile de lavande est un composant courant des lotions corporelles pour apaiser les irritations. Elle a prouvé aussi son efficacité dans le soulagement des symptômes liés à certaines maladies (dermatite atopique et psoriasis).

Par ailleurs, l'HELO est douée d'un pouvoir anti-inflammatoire qui, associée à d'autres médicaments, peut accélérer le processus de guérison des brûlures et des plaies. Elle a aussi des applications thérapeutiques dans la réduction des douleurs articulaires, tendineuses ou musculaires [Panahi et al., 2012 ; Nadiri et al., 2016].

D'un autre côté, plusieurs publications ont démontré que la lavande a un effet irritant après son exposition à la peau [Gangemi et al., 2015 ; Corazza et al., 2017]. Certaines molécules terpéniques caractéristiques de l'HELO peuvent engendrer des irritations cutanées après dégradation par oxydation [Hagvall et al., 2008]. Dans de telles conditions, l'utilisation topique de l'HELO dans les cosmétiques, les produits de nettoyage et les parfums doit être faite avec une grande prudence.

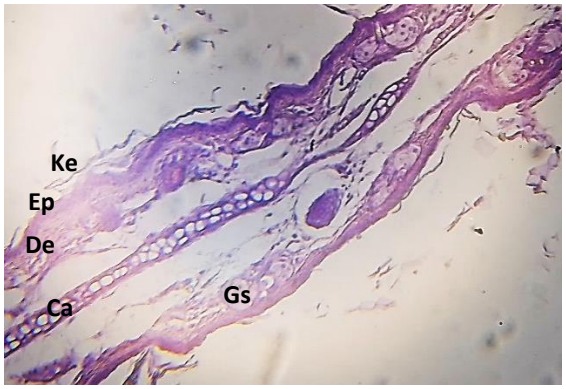
3.5. Etude histologique de la morphologie tissulaire auriculaire

Dans le but de démontrer l'effet anti-inflammatoire de l'HELO testée au niveau tissulaire, des coupes histologiques des pièces auriculaires ont été effectuées, suivies par une coloration H&E et observations microscopiques à différents grossissements. Les résultats concernant les observations microscopiques sont illustrés dans la figure 3.4.

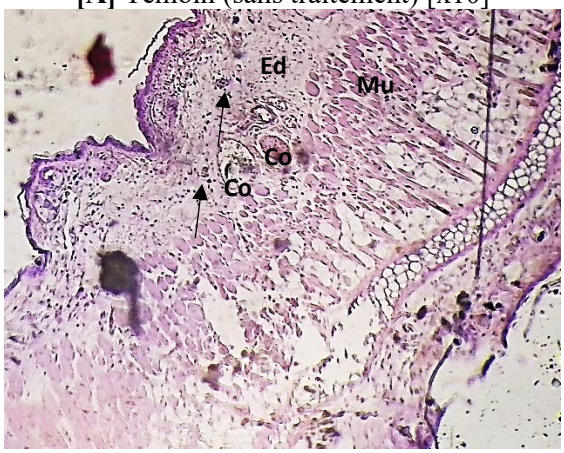
Chez le groupe d'animaux contrôle positif traité par un gel AINS, nous avons constaté la présence d'un œdème d'intensité faible. En revanche, chez le lot contrôle négatif (xylène), un taux d'inflammation très élevé, marqué par la présence d'une congestion, d'un œdème et le recrutement des polynucléaires neutrophiles, a été constaté dans toutes les oreilles des souris (Figure 3.4-B).

Le même constat a été rapporté avec les animaux traités avec le véhicule (huile d'amande) où nous avons noté la présence d'un œdème avec une congestion vasculaire (Figure 3.4-D) et un infiltrat cellulaire modéré, en comparaison avec le témoin (Figure 2.4-A)

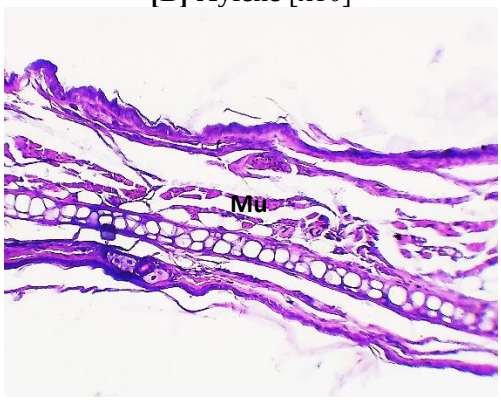
La réaction inflammatoire est considérée comme un phénomène impliquant plusieurs réactions au niveau des cellules avec synthèse de différents médiateurs chimiques pro-inflammatoires (histamine, prostaglandines, leucotriènes). Cette réaction est associée à une vasodilatation et l'extravasation des polynucléaires neutrophiles et des macrophages pour se diriger vers le tissu endommagé [Hersini et al., 2014].



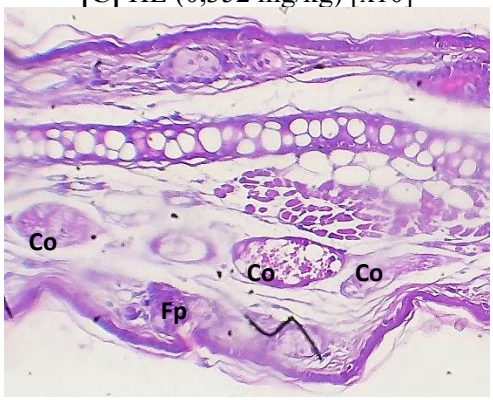
[A] Témoin (sans traitement) [x10]



[B] Xylène [x10]



[C] HE (0,352 mg/kg) [x10]



[D] Véhicule (Huile d'amande) [x10]

Figure 3.4. Micrographies des quelques observations histologiques des tissus auriculaires chez des animaux traités, en comparaison avec le témoin.

Coupes histopathologiques des pièces auriculaires montrant des couches kératinique (Ke), épidermique (Ep), dermique (De), musculaire (Mu) et cartilagineuse (Ca) avec follicules pileux (Fp) et glandes sébacées (Gs). Les coupes colorées à l'hématoxyline-éosine ont été notées pour l'œdème (Ed), la congestion (Co) et l'infiltration inflammatoire (flèches) des polynucléaires neutrophiles.

Concernant notre échantillon d'HELO qui a été testé *in vivo*, les coupes histopathologiques au niveau des oreilles ont montré, d'une façon générale, une réduction de l'œdème avec présence d'un infiltrat inflammatoire cellulaire (polynucléaires) d'intensité faible (Figure 3.4-C).

Notre travail histopathologique a démontré les propriétés anti-inflammatoires cutanées de l'HELO au niveau auriculaire. En conséquence, l'application cutanée de l'HELO, comme bioactif dans des préparations galéniques, peut constituer une démarche thérapeutique intéressante. Ces propriétés sont en corrélation avec le profil de l'HELO, caractérisé par la présence de molécules terpéniques ayant une activité inhibitrice des certaines enzymes pro-inflammatoires.

La publication de Kim et al. [1999] a mentionné que l'HELO possède une capacité dans la réduction de la composante inflammatoire qui caractérise les réactions allergiques, par l'arrêt de la biosynthèse des médiateurs inflammatoires, comme par exemple l'histamine.

Irmak Sapmaz et al. [2015] ont exploré le potentiel anti-inflammatoire et analgésique de l'HELO par un essai clinique, à travers une application chez des patients ayant des coliques néphrétiques, en association avec des médicaments AINS (diclofénac). Cette étude a démontré le bien-fondé de l'usage de l'HELO dans les douleurs inflammatoires générées par les coliques néphrétiques.

L'HELO a présenté une grande efficacité dans la réduction du processus inflammatoire induit chez les souris, au niveau auriculaire, en comparaison avec un médicament AINS (ibuprofène). Le taux de réduction de l'inflammation auriculaire était de 58,7% en utilisant 100 mg/kg en HE. Les niveaux d'expression de certains médiateurs et enzymes pro-inflammatoires (facteur NF-κB, cytokine, COX-2 et le TNF-α) ont également diminué de manière significative. En adéquation avec nos résultats, les composés majoritaires identifiés, dans l'HELO testée, étaient l'acétate de linalyle (28,9%) et le linalool (24,3%) [Chen et al., 2020]. Luo et al. [2019] ont, eux aussi, observé que cette HELO réduit, *in vivo*, l'expression de médiateurs inflammatoires tels que les IL-6, NF-κB et TNF-α dans le même modèle expérimental de l'inflammation.

Nombreux rapports scientifiques [Husseini et al., 2016 ; Zuzarte et al., 2022] indiquent que le genre *Lavandula* est une source de composés terpéniques avec une activité anti-inflammatoire. L'un des nombreux mécanismes antiphlogiques de ces molécules est leur capacité à inhiber les enzymes, notamment l'iNOS, la lipo-oxygénase (LOX) et la COX [Yassine et al., 2016].

3.6. Contrôle de la qualité microbienne de la crème préparée

L'analyse de la qualité microbienne de la crème dermique préparée a révélé que notre préparation est exempte de toute contamination bactérienne ou fongique et, par conséquent, est déclarée conforme aux normes en vigueur [Ph. Eur., 2010].

3.7. Evaluation du pouvoir anti-inflammatoire *in silico* par amarrage moléculaire

L'amarrage est une approche de simulation, *in silico*, appliquée dans le but de réaliser une prédiction des interactions entre deux molécules, à savoir le ligand et le récepteur protéique. Dans le cas de l'inhibition de la COX-2, le docking est utilisé pour prédire comment les différents composés vont interagir et inhiber le site actif de cette protéine responsable de la production de prostaglandines et autres médiateurs inflammatoires.

Notre travail a porté sur l'évaluation des interactions entre le site catalytique protéique de la COX-2 et les composés terpéniques de l'HELO pour constituer, d'une manière provisoire, un complexe stable. Le docking moléculaire est réalisé avec un serveur web en ligne nommé « Dockthor » [Da silveira et al., 2019] (https://dockthor.lncc.br/v2/) créé par le laboratoire national des sciences computationnelles (Petrópolis, Brésil).

Dans notre étude, un seul AINS sélectif (célécoxib) et trois autres non sélectifs (ibuprofène, diclofénac de sodium et kétoprofène) ainsi qu'un AIS (bétaméthasone) ont été choisis pour comparer leurs énergies d'affinité avec celles des constituants terpéniques de l'HELO. Nous rapportons les scores de l'amarrage moléculaire dans le tableau 3.11.

Une analyse comparative des scores obtenus montre que le célécoxib est le composé qui a présenté la plus grande affinité pour le site catalytique de la COX-2 avec un score ou une énergie d'interaction la plus faible (−8,673 kcal/mole), suivi par le myrcène (−8,495 kcal/mol), le α-bisabolol (−8,458 kcal/mol), le β-caryophyllène (−8,400 kcal/mol), le β-ocimène (−8,353 kcal/mol), et le géraniol (−8,303 kcal/mole).

La liaison des différents ligands testés (AINS et composés terpéniques de l'HELO) avec le site catalytique du récepteur protéique (COX-2) est souvent hautement spécifique. Ces interactions ligand-protéine ont été visualisées à l'aide de différents logiciels, tels que BIOVIA Discovery Studio Visualizer (2021), Schrodinger Maestro (2018), LigPlot+ (2022), ProteinPlus server [Schöning-Stierand et al., 2020] et PLIP server [Salentin et al., 2015].

Ces applications permettent de visualiser la structure tridimensionnelle du complexe molécule-COX-2 pour une meilleure compréhension et illustration des interactions moléculaires qui contribuent à la liaison du ligand. Les résultats des différentes interactions établies sont illustrés dans le tableau 3.12, et les figures 3.5 et 3.6. Pour les types de liaisons établies, lors du docking moléculaire, entre les composés terpéniques et la protéine enzymatique COX-2, nous avons noté principalement que c'est les interactions hydrophobiques qui sont prédominantes pour le myrcène, le β-caryophyllène et le β-ocimène. Pour d'autres ligands tels que le α-bisabolol et le géraniol, il a été constaté la présence des liaisons hydrogènes avec plusieurs résidus (THR179, HIS181 et TRP354). En revanche et en analysant les interactions établies avec les AINS, nous avons remarqué la présence de ces liaisons d'hydrogène avec un nombre important de résidus. C'est le cas de l'AINS sélectif (célécoxib) où les

résidus impliqués sont au nombre de six (ASN189, GLU257, GLN256, LYS178, HIS353 et HIS181) et de deux (GLN170 et HIS174) pour un AINS non sélectif (diclofénac de sodium).

Tableau 3.11. Résultats du pouvoir inhibiteur *in silico* de la COX-2 par les composés terpéniques de l'HELO, comparativement avec les médicaments anti-inflammatoires.

PubChem ID	Composés	Energie (kcal/mole)		PubChem ID	Composés	Energie (kcal/mole)
2662	Célécoxib	-8.673		93009	Acétate de bornyle	-7.561
31253	Myrcène	-8.495		1549025	Acétate de néryle	-7.537
1549992	*α*-Bisabolol	-8.458		6428573	*cis*-Oxyde de linalool	-7.522
5281515	*β*-Caryophyllène	-8.400		3825	Kétoprofène	-7.478
18756	*β*-Ocimène	-8.353		11230	4-Terpinéol	-7.228
5018304	Diclofénac Na	-8.313		1549026	Acétate de géranyle	-7.211
637566	Géraniol	-8.303		6549	Linalool	-7.073
5317570	Germacrène D	-8.271		2758	Eucalyptol	-6.999
5281517	*β*-Farnesène	-8.257		6432254	*trans*-Oxyde de linalool	-6.992
11142	*β*-Phellandrène	-8.179		6654	*α*-Pinène	-6.980
7463	*p*-Cymène	-8.018		64685	Bornéol	-6.945
9782	Bétaméthasone	-7.990		14896	*β*-Pinène	-6.929
8294	Acétate de linalyle	-7.979		3672	Ibuprofène	-6.929
1742210	Oxyde de caryophyllène	-7.893		14525	Fenchone	-6.917
17100	*α*-Terpinéol	-7.868		6616	Camphène	-6.913
5464156	Lavandulol	-7.731		22311	Limonène	-6.904
30247	Acétate de lavandulyle	-7.586		2537	Camphre	-6.835

Tableau 3.12. Interactions formées entre le site catalytique de la COX-2 et les ligands.

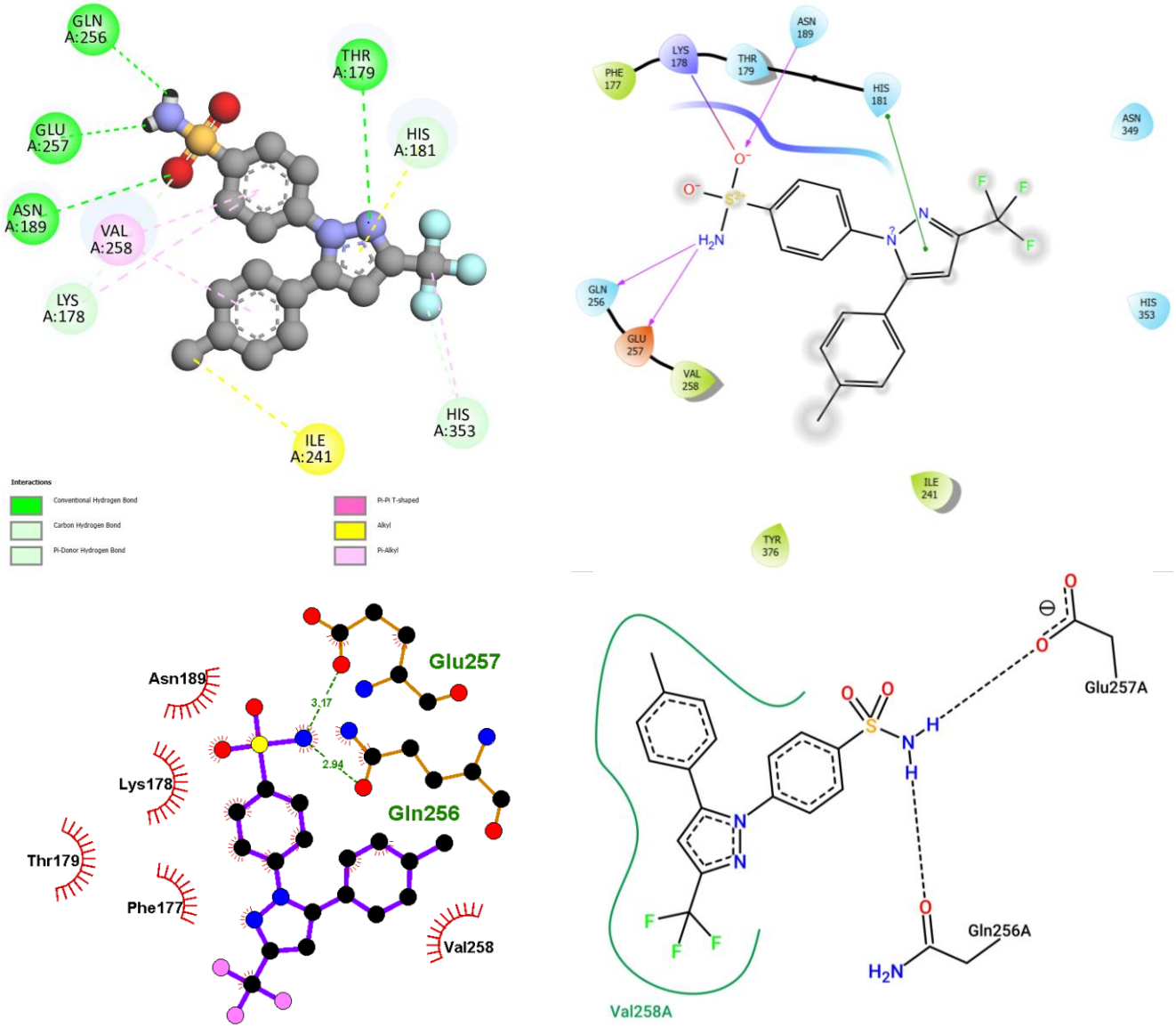
Composés	Acide aminé	Distance (A)	Nature de liaison	Type de liaison
Célécoxib	ASN189	2,64	Liaison hydrogène	Liaison H conventionnelle
	GLU257	2,19		
	GLN256	2,02		
	LYS178	3,32	Liaison hydrogène	Liaison H-C
	HIS353	3,78		
	HIS181	3,09	Liaison hydrogène	Liaison H Pi-Donur
	HIS181	4,93	Liaison hydrophobe	Pi-Pi T-shaped
	ILE241	4,79	Liaison hydrophobe	Alkyl
	HIS353	5,25	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	LYS178	5,34		
	VAL258	4,60		
	VAL258	4,75		
Myrcène	ALA169	4,05	Liaison hydrophobe	Alkyl
	LEU357	5,31		
	LEU358	4,81		
	HIS174	5,05	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	HIS174	5,01		
	HIS174	4,97		
	PHE177	4,71		
	HIS353	4,63		

	HIS353	4,03		
	TRP354	4,65		
	TRP354	4,85		
	HIS355	4,88		
	HIS355	4,48		
α-Bisabolol	THR179	2,30	Liaison hydrogène	Liaison H conventionnelle
	HIS181	2,22		
	VAL258	5,14	Liaison hydrophobe	Alkyl
	LYS178	4,15		
	VAL258	5,05		
	VAL258	5,27		
	HIS174	4,48	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	HIS174	5,19		
	HIS181	5,06		
	HIS353	4,90		
	HIS353	3,61		
β-Caryophyllène	VAL258	3,86	Liaison hydrophobe	Alkyl
	HIS174	5,46	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	HIS174	4,71		
	HIS174	5,28		
	HIS174	4,58		
	HIS181	4,93		
	HIS353	4,28		
β-Ocimène	LEU358	4,86	Liaison hydrophobe	Alkyl
	ALA169	4,49		
	LEU357	5,33		
	HIS174	5,05	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	HIS174	4,94		
	HIS174	4,89		
	PHE177	4,92		
	HIS353	4,48		
	HIS353	4,29		
	HIS355	4,23		
Géraniol	TRP354	1,82	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	HIS355	2,93	Liaison hydrophobe	Pi-Sigma
	ALA169	4,25	Liaison hydrophobe	Alkyl
	HIS174	4,49	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	HIS174	4,86		
	PHE177	4,76		
	HIS353	4,24		
Diclofénac Na	GLN170	2,90	Liaison H	Liaison H conventionnelle
	HIS174	1,47		
	VAL414	3,60	Liaison hydrophobe	Pi-Sigma
	HIS353	4,37	Liaison hydrophobe	Pi-Pi Stacked
	HIS355	5,56	Liaison hydrophobe	Pi-Pi T-shaped
	HIS174	5,29	Liaison hydrophobe	Pi-Alkyl
	HIS353	4,33		
	HIS355	3,98		

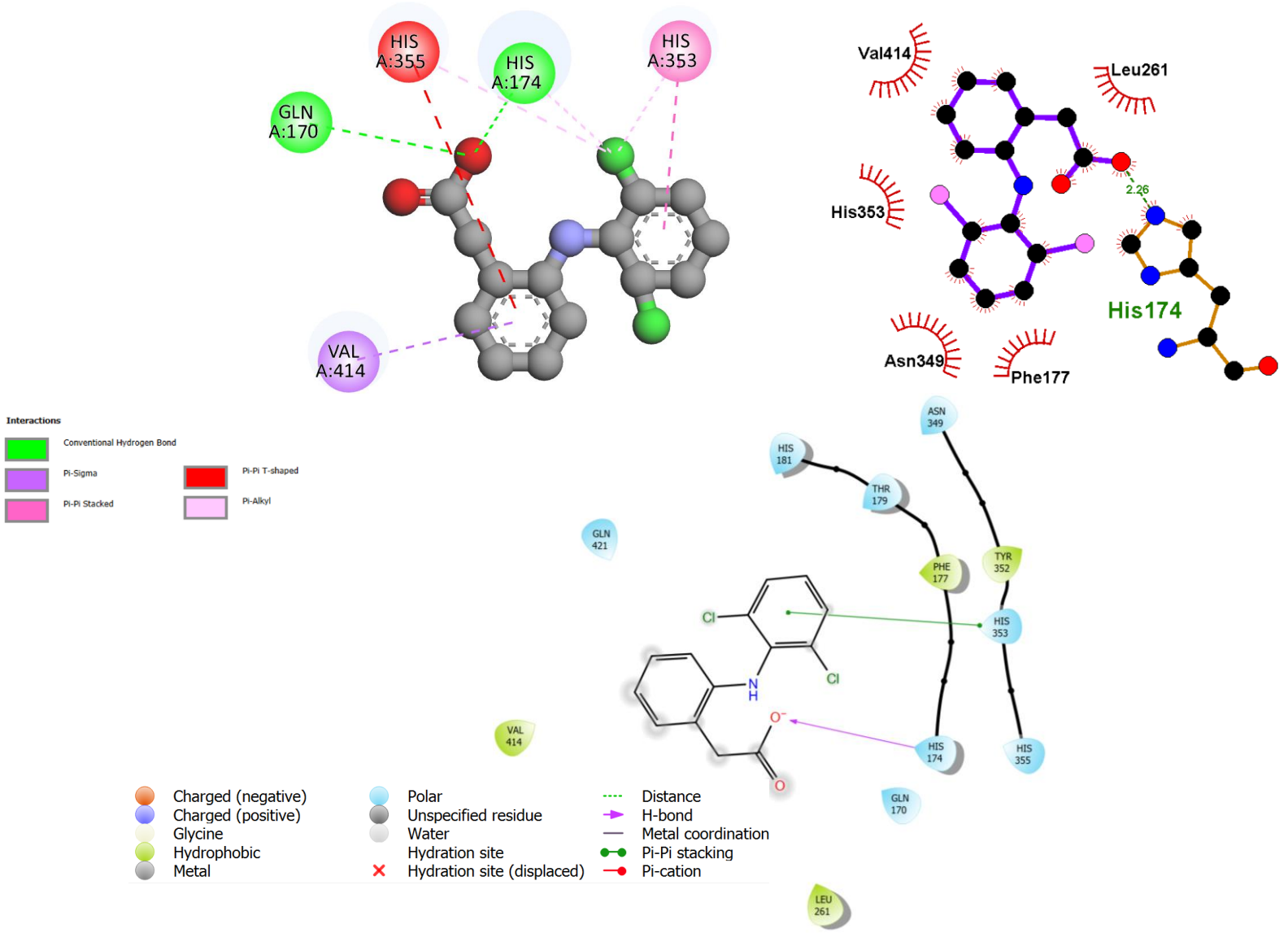
Les études de docking moléculaire peuvent être utilisées pour identifier et concevoir de nouveaux composés capables de se lier, de manière sélective, à des cibles inflammatoires, tels que la COX et la LOX, et d'inhiber leur activité [Herowati et Widodo, 2017]. Par exemple, des études de docking ont été utilisées pour identifier de nouveaux composés capables de se lier de manière sélective au niveau de la protéine COX-2 incriminée dans la production de prostaglandines inflammatoires, tout en évitant le blocage de la COX-1 [Vishwakarma et al., 2022].

Rufino et al. [(2015] ont utilisé des cultures de chondrocytes humains stimulées par l'IL-1β, comme modèle de dégradation du cartilage *in vitro*, qui imite les dommages observés dans la réaction inflammatoire induite par l'arthrose. À des concentrations non cytotoxiques, le myrcène a provoqué une inhibition du NO généré par l'IL-1β, mais le caryophyllène était inactif. Le myrcène a également inhiber la réaction d'activation de NF-κB. Ces données montrent que le myrcène est doué d'un pouvoir anti-inflammatoire significatif sur les chondrocytes humaines et que, par conséquent, sa capacité à arrêter ou, au moins, à ralentir la destruction des articulations et la progression de l'arthrose justifie des recherches plus approfondies.

McDougall et McKenna [2022] ont examiné le rôle du myrcène dans le contrôle de l'inflammation et de la douleur articulaires chroniques. L'application locale de myrcène (1 et 5 mg/kg) a réduit les douleurs articulaires et l'inflammation. Ces données suggèrent que le myrcène topique a un potentiel de réduire la douleur et l'inflammation chroniques liées à l'arthrite.

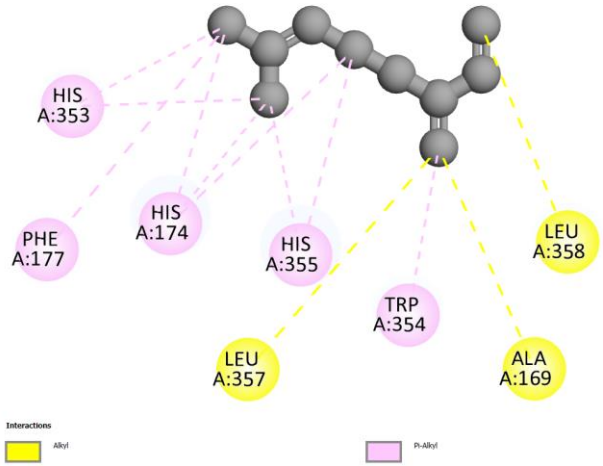

GLN A:256
THR A:179
GLU A:257
HIS A:181
ASN A:189
VAL A:258
LYS A:178
HIS A:353
ILE A:241
Interactions
Conventional Hydrogen Bond
Carbon Hydrogen Bond
Pi-Donor Hydrogen Bond
Pi-Pi T-shaped
Alkyl
Pi-Alkyl
ASN 189
LYS 178
THR 179
PHE 177
HIS 181
ASN 349
GLN 256
GLU 257
VAL 258
HIS 353
ILE 241
TYR 376
Glu257
Asn189
3.17
2.94
Lys178
Gln256
Thr179
Phe177
Val258
Glu257A
Gln256A
Val258A

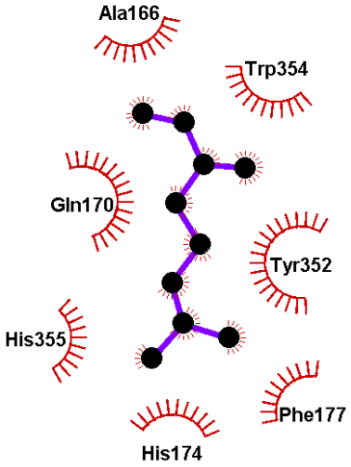
Célécoxib

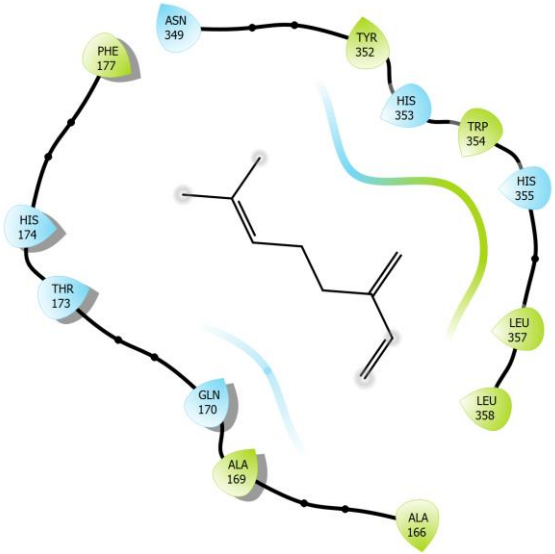


Diclofénac de sodium

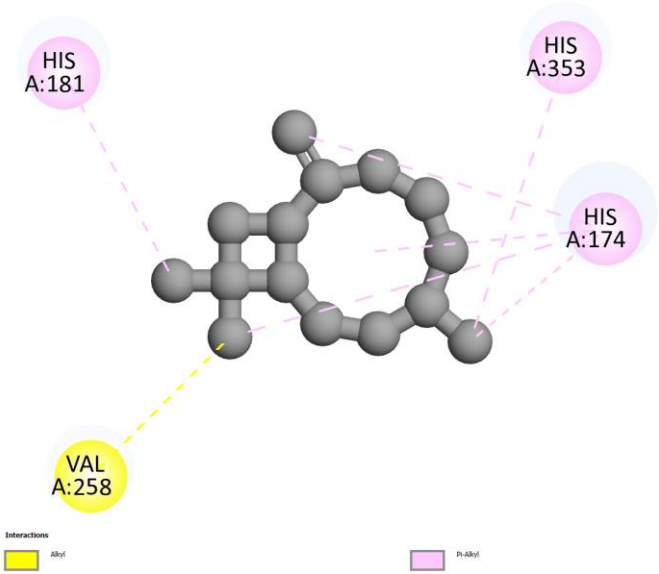
Figure 3.5. Types d'interactions entre deux anti-inflammatoires et le site actif du récepteur protéique de la cyclo-oxygénase 2.

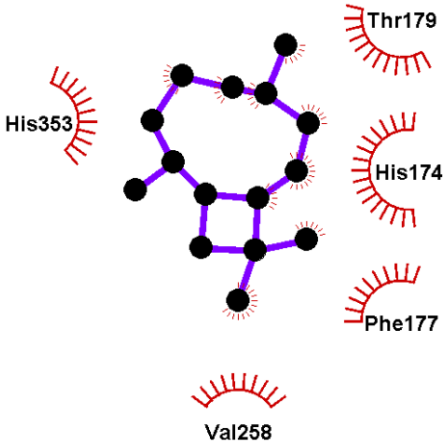


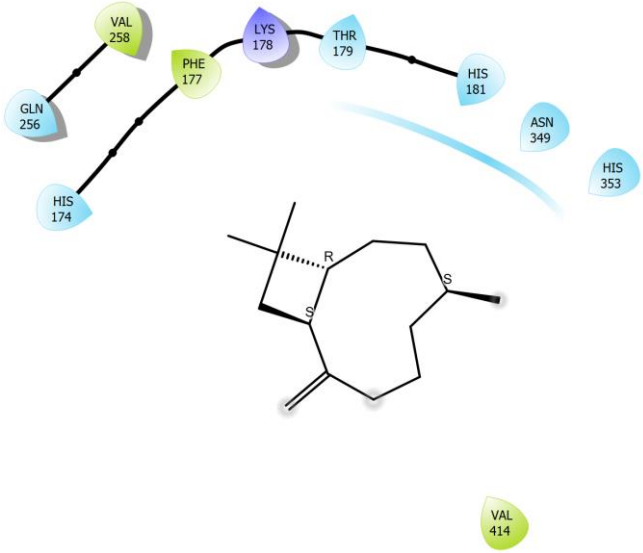




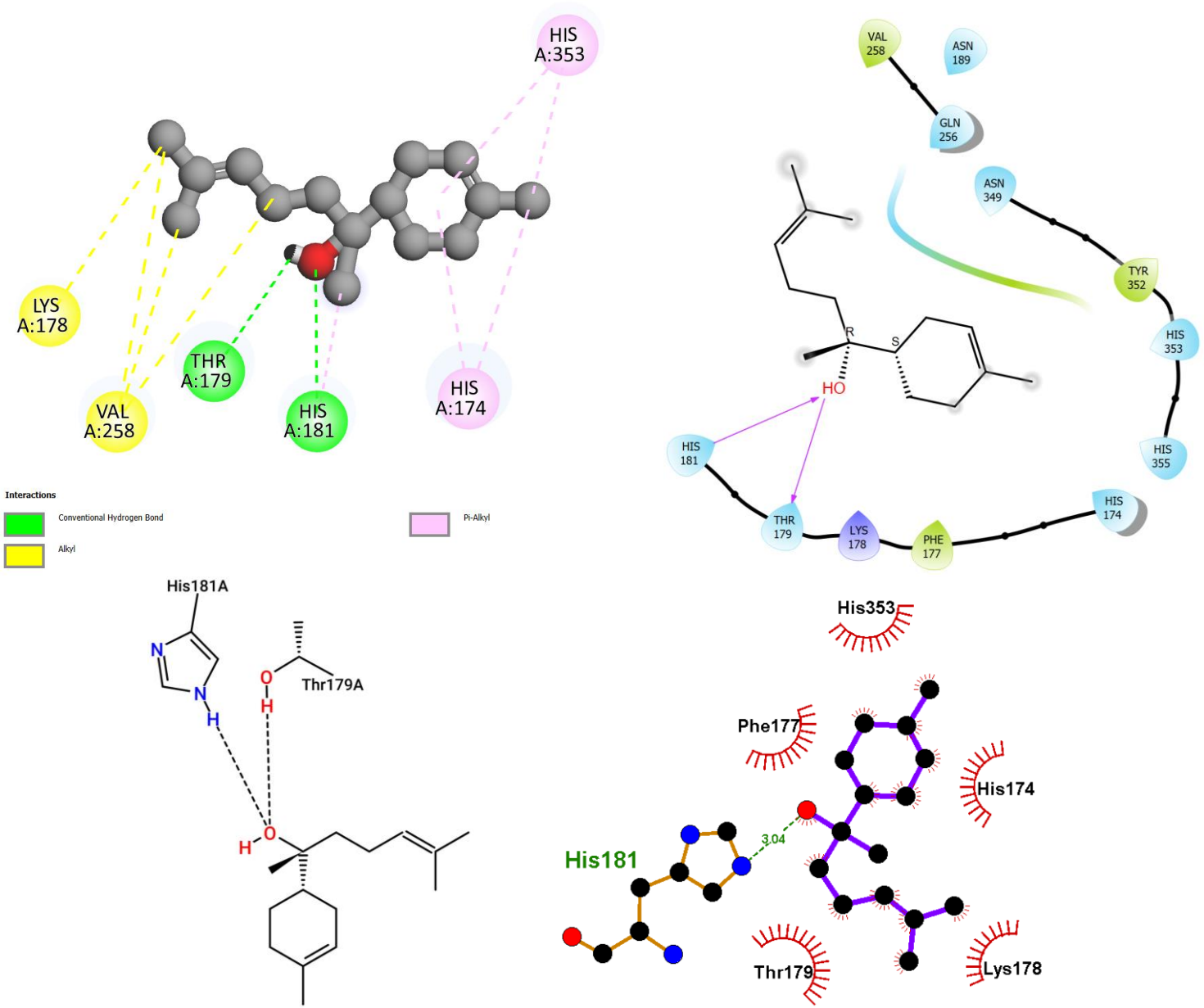
Myrcène



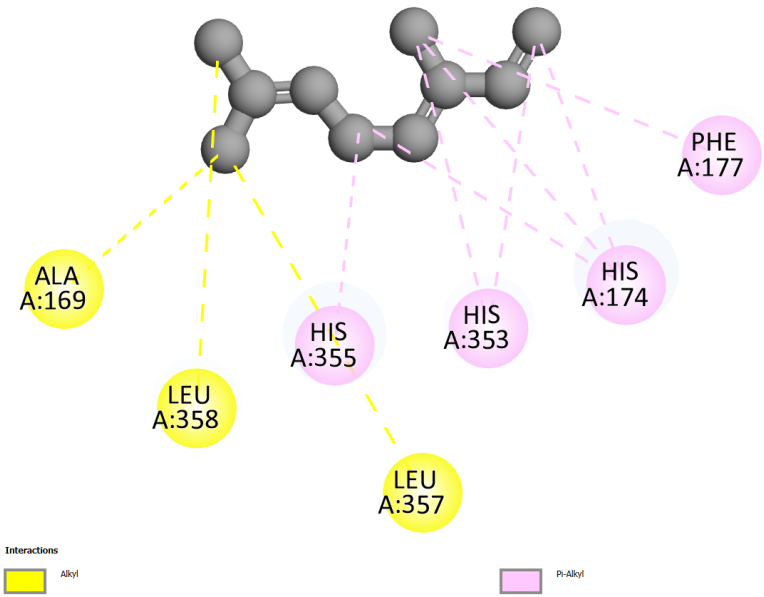


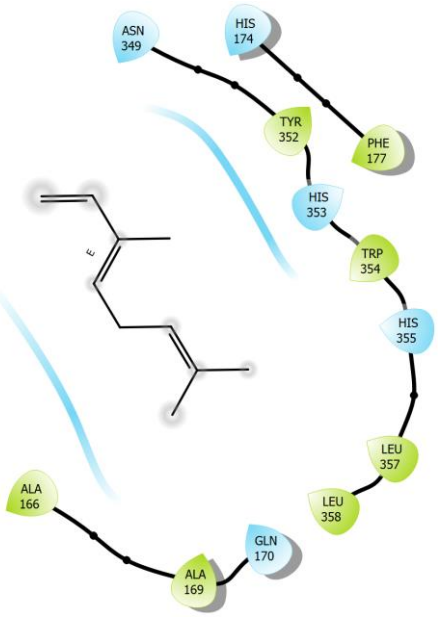


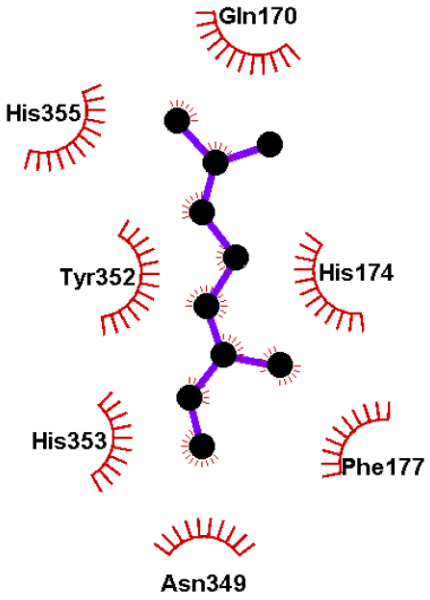
***β*-Caryophyllène**


HIS A:353
LYS A:178
THR A:179
VAL A:258
HIS A:181
HIS A:174
Interactions
Conventional Hydrogen Bond
Alkyl
Pi-Alkyl
VAL 258
ASN 189
GLN 256
ASN 349
TYR 352
HIS 353
HIS 355
HIS 174
PHE 177
LYS 178
THR 179
HIS 181
HO
R
S
His181A
Thr179A
His353
Phe177
His174
His181
3.04
Thr179
Lys178

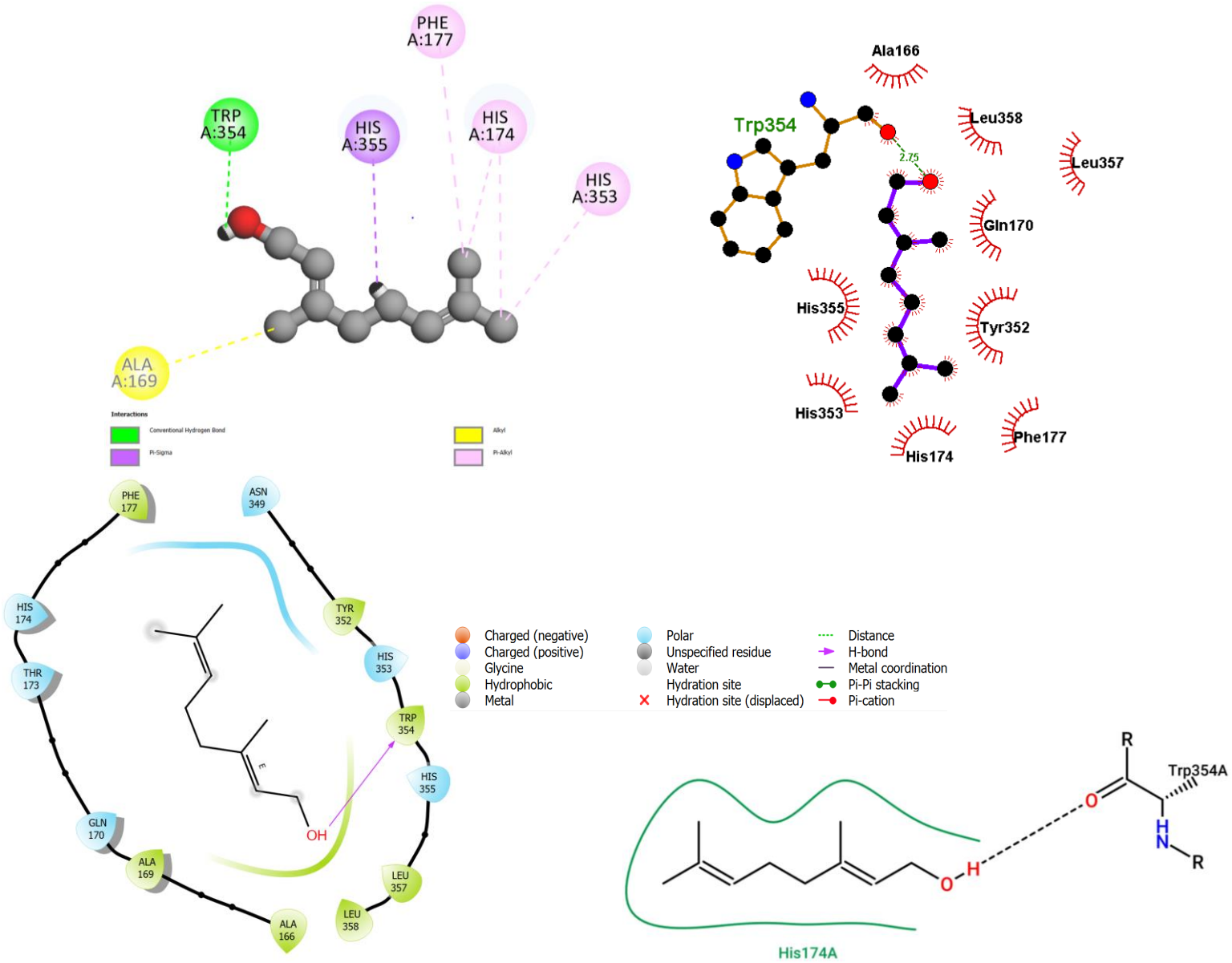
α-Bisabolol


PHE
A:177
ALA
A:169
HIS
A:355
HIS
A:353
HIS
A:174
LEU
A:358
LEU
A:357
Interactions
Alkyl
Pi-Alkyl


ASN
349
HIS
174
TYR
352
PHE
177
HIS
353
TRP
354
HIS
355
LEU
357
LEU
358
GLN
170
ALA
169
ALA
166


Gln170
His355
Tyr352
His174
His353
Phe177
Asn349

***β*-Ocimène**



Géraniol

Figure 3.6. Types d'interaction entre les composés terpéniques de l'HELO et le site actif de la COX-2.

Par ailleurs, le géraniol présent dans les HE de certaines espèces botaniques, y compris la lavande officinale, a été testé pour son effet anti-inflammatoire et immunomodulateur à travers la synthèse des cytokines anti-inflammatoires (interleukine (IL-10)) par des cellules humaines [Murbach Teles Andrade et al., 2014]. Les données ont montré que des concentrations non cytotoxiques du géraniol exerçaient une action anti-inflammatoire en augmentant la production d'IL-10.

Une autre étude scientifique [Su et al., 2010] a été menée pour déterminer les effets des alcools terpéniques tels que le citronellol et le géraniol sur la synthèse de NO et de prostaglandine E2 (PGE2) dans les cellules macrophages *in vitro*. Ces monoterpénols ont inhibé la synthèse du NO et PGE2 d'une façon concentration-dépendante. En ajoutant le géraniol, les taux d'expression enzymatique de COX-2 ont été réduits d'une manière significative, ce qui suggère son efficacité dans les pathologies inflammatoires. Cependant, il convient de rappeler que plusieurs travaux et investigation scientifiques, concernant l'activité anti-inflammatoire des monoterpènes oxygénés comme les monoterpènes alcooliques et leurs esters correspondants, ont été menées au niveau des laboratoires (études *in vitro*) ou en utilisant un modèle animal (*in vivo*). Des essais cliniques humains doivent être menés pour infirmer ou confirmer son efficacité-innocuité en tant qu'agent anti-inflammatoire.

Par ailleurs, il est à noter que le docking est basé sur des modèles informatiques, des simulations et approximations qui peuvent ne pas toujours refléter la complexité réelle des interactions dans les systèmes cellulaires et tissulaires [Ghasemi et al., 2017 ; Sethi et al., 2019]. Les données du docking moléculaire doivent donc être validés par différentes expérimentations au laboratoire, voire des essais cliniques pour confirmer l'activité réelle des composés identifiés dans l'HELO.

Actuellement, la recherche médicale optimise continuellement toutes les procédures d'invention de nouvelles biomolécules actives. La chimio-informatique constitue un outil pour réduire les paramètres coût-temps dans le développement d'un médicament anti-inflammatoire. La bio-informatique participe dans l'étude des interactions protéine-ligand [Krimm, 2015 ; Doré et al., 2021].

3.8. Prédiction des propriétés ADMET

La prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétique *in silico* des composés terpéniques de l'HELO a été menée en utilisant un serveur web nommé ADMTELab2.0 (https://admetmesh.scbdd.com/), en comparaison avec des médicaments anti-inflammatoires sélectif (diclofénac Na) et non sélectif (célécoxib) (Tableau 3.13) [Xiong et al., 2021]. Et dans le but de mieux cerner les effets toxicologiques de ces molécules, nous avons complété cette étude par la prédiction de la toxicité aigüe avec l'aide d'un serveur en ligne ProToxII. Enfin, tous les composés testés ont été confrontés à la règle 5 de Lipinski qui donne une prédiction de la biodisponibilité orale [Banerjee et al., 2018].

A la lecture des résultats obtenus, il apparait que les composés, ayant une solubilité aqueuse (LogS) située dans la plage de -4 à 0,5 log mole/L, seront considérés comme présentant une solubilité aqueuse appropriée. Dans notre analyse de prédiction, et excepté les deux composés majoritaires (linalool et acétate de linalyle) et le géraniol, tous les ligands terpéniques testés présentent une solubilité aqueuse non satisfaisante.
La première étape du processus d'absorption du médicament est la désintégration du comprimé ou de la capsule, suivie de la dissolution du principe actif. Une solubilité faible est préjudiciable à meilleure et totale absorption orale. La prédiction ou mesure précoce de ce paramètre, exprimée en log mole/L, demeure primordiale [Rashid, 2020].

Un autre paramètre, le logP, exprimé en mole/L, donne le coefficient de distribution n-octanol/eau. Dans notre étude, seuls deux alcools terpéniques (géraniol et linalool) ont présenté une meilleure lipophilicité avec une valeur de logP de 2,95 et 2,97 mole/L, respectivement. A noter que les composés, ayant une valeur de logP comprise dans un intervalle de 0 à 3 log mole/L, seront considérés comme appropriés [Wang et Skolnik, 2009].

Dans les résultats obtenus lors de ces prédictions ADMET, tous les composés terpéniques de l'HELO ont présenté une grande absorption gastro-intestinale et, par conséquent, une meilleure distribution dans l'organisme [Xiong et al., 2021]. Cette absorption constitue un processus essentiel qui détermine la quantité de médicament absorbée dans la circulation sanguine après administration orale. Elle est influencée par de nombreux facteurs, notamment la solubilité du médicament, sa perméabilité et les interactions avec les enzymes intestinales.

Concernant le paramètre Caco-2 qui permet de prédire la perméabilité intestinale (lignée cellulaire tumorale digestive), tous les composés terpéniques ont présenté une excellente perméabilité Caco-2 avec des valeurs prédites qui oscillent entre -4,62 et -4,34 log cm/s. A noter que le composé est considéré comme ayant une bonne perméabilité au Caco-2 s'il a une valeur prédite supérieure à -5,15log cm/s [Awadelkareem et al., 2022].

Tableau 3.13. Prédiction des propriétés ADMET de certains ligands.

	Solubilité		Pharmacocinétique-Pharmacodynamique					Paramètres de toxicité										
Composés	**LogS**	**LogP**	**HIA**	**Caco-2**	**BBB**	**PPB**	**CL**	**hERG**	**H-HT**	**ROA**	**SkinSen**	**Carc.**	**EC**	**EI**	**Resp.**	**Lipinski**	**DL50 mg/kg**	**Catégorie**
Célécoxib	-5.29	3.52	0.003	-4.76	0.58	94.9	0.99	0.105	0.64	0.77	0.01	0.13	0.003	0.07	0.58	+	1400	4
Diclofénac Na	-3.67	2.90	0.004	-4.32	0.43	99.1	0.71	0.017	0.95	0.44	0.81	0.33	0.005	0.10	0.35	+	53	3
Myrcène	-4.17	4.32	0.003	-4.40	0.85	89.8	13.10	0.009	0.61	0.02	0.94	0.80	0.925	0.98	0.93	-	5000	5
***α*-Bisabolol**	-4.9	5.36	0.006	-4.42	0.19	95.6	10.30	0.02	0.68	0.00	0.93	0.15	0.894	0.97	0.02	-	2830	5
***β*-Caryophyllène**	-5.81	5.34	0.004	-4.61	0.55	92.1	5.45	0.019	0.15	0.03	0.60	0.06	0.661	0.88	0.30	-	5300	5
***β*-Ocimène**	-4.04	4.41	0.005	-4.43	0.9	87.2	14.17	0.02	0.94	0.04	0.95	0.73	0.977	0.99	0.88	-	113	3
Géraniol	-3.03	2.95	0.01	-4.34	0.99	90.8	9.77	0.011	0.78	0.01	0.95	0.06	0.707	0.98	0.02	+	2100	5
Linalool	-2.37	2.97	0.004	-4.37	0.95	85.3	9.73	0.019	0.33	0.02	0.63	0.23	0.607	0.98	0.03	+	2200	5
Acétate de linalyle	-2.92	3.29	0.007	-4.46	0.89	82.2	6.36	0.018	0.66	0.01	0.87	0.29	0.831	0.97	0.07	-	12000	6

logS = Solubilité aqueuse (-4 à 0,5 log mol/L : approprié) ; logP = Log du coefficient de distribution n-octanol/eau (0 à 3 log mol/L : approprié) ; HIA = Absorption intestinale humaine ; Caco-2 = Cellules d'adénocarcinome colorectal humain [Si > -5,15 : excellent (vert) ; sinon : médiocre (rouge)] ; BBB = barrière hémato-encéphalique ; PPB = Liaisons aux protéines plasmatiques [PPB approprié si < 90 %] ; CL = clairance [≥ 5 : excellent (vert) ; < 5 : médiocre (rouge)] ; H-HT = Hépatotoxicité humaine ; ROA = toxicité aiguë chez les mammifères ; hERG = Toxicité cardiaque (human Ether-à-go-go-Related Gene) ; SkinSet = sensibilisation cutanée ; Carc. : Carcinogénicité ; EC = Corrosion oculaire ; EI = Irritation oculaire ; Resp. Toxicité respiratoire ; Règle 5 de Lipinski [MW≤500 ; logP≤5 ; Hacc≤10 ; Hdon≤5]. Couleur = 0-0,3 : excellent (vert) ; 0,3-0,7 : moyen (jaune) ; 0,7-1,0 : faible (rouge)]

Pour le paramètre BBB (barrière hémato-encéphalique qui sépare le sang du système nerveux central), uniquement le α-bisabolol qui est apte à franchir cette barrière selon les résultats de nos prédictions. Cette barrière peut avoir un effet protecteur en empêchant l'entrée de certaines molécules potentiellement toxiques pour le système nerveux central [Zhang et al., 2017].

La prédiction du paramètre de liaison aux protéines plasmatiques (PPB) peut influencer, directement, la biodisponibilité orale car la concentration libre du médicament est en jeu lorsqu'il se lie aux protéines sériques. Dans nos tests, les composés majoritaires de l'HELO (linalool et acétate de linalyle) ainsi que le myrcène et le β-ocimène ont présenté une faible probabilité de liaison aux protéines plasmatiques. Un composé est considéré comme ayant un PPB approprié s'il a une valeur prédite inférieure à 90 % [Stoll et al., 2011].

En ce qui concerne la clairance (CL, ml/min/kg), et excepté les deux AINS (célécoxib et diclofénac de sodium), tous les composés terpéniques ont présenté une clairance importante. La clairance est considérée comme faible si elle est inférieure à 5 ml/min/kg [Toutain, 2012].

Parmi les divers paramètres toxicologiques des substances chimiques, la cancérogénicité est très préoccupante. Il apparaît que le myrcène et le β-ocimène ont un fort effet cancérigène se traduisant par leur possibilité à induire des changements dans le matériel génétique. De nombreux médicaments approuvés, identifiés comme cancérogènes chez l'homme ou l'animal, ont été retirés du marché [Valerio, 2009].

En revanche, les prédictions ADMET ont mis en évidence une faible probabilité d'inhibition du gène hERG et ce pour tous les ligands testés. L'inhibition de ce gène provoque des problèmes cardiaques associés au rythme cardiaque.

Excepté le β-caryophyllène, tous les composés terpéniques testés ont manifesté une hépatotoxicité, modérée à forte, prédite par le paramètre H-HT. L'apparition d'une toxicité hépatique grave implique souvent l'arrêt immédiat des essais cliniques avec des répercutions économiques sur les programmes de développement des médicaments [Kumachev et Wu, 2021].

La sensibilisation cutanée (SkinSen) est un effet indésirable potentiel des produits administrés au niveau cutané, et constitue un paramètre clé dans la prédiction des potentiels effets indésirables topiques (réactions allergiques, dermatite de contact, eczéma) des composés sur le tissu cutané [Wang et al., 2017]. Seul le linalool et le β-caryophyllène ont montré un pouvoir irritant modéré sur la peau, contrairement aux autres terpènes qui ont présenté une grande irritation.

L'évaluation du potentiel d'irritation/corrosion des yeux (EI/EC) d'une molécule est une composante nécessaire de l'évaluation des risques toxicologiques sur les yeux qui sont exposés aux vapeurs et fumés émanant des produits chimiques [Wang et al., 2017]. Au vu des résultats obtenus lors de ces prédictions, il s'avère que toutes les biomolécules ont présenté un fort degré d'irritation oculaire.

Enfin et concernant la règle 5 de Lipinski, il a été constaté que seuls les deux alcools terpéniques, géraniol et linalool, sont en conformité avec cette règle et, par conséquent, présentent une biodisponibilité orale satisfaisante [Ahire et al., 2021].

Par ailleurs, nous avons constaté que les deux AINS testés présentent un profil ADMET défavorable, avec des DL50 les plus faibles, se classant ainsi dans la catégorie des molécules ayant une toxicité aigüe avérée et importante. En revanche et pour tous les composés terpéniques oxygénés, ils ont été tous répertoriés dans la classe 5 ou 6 (faible toxicité), sauf exception pour le β-ocimène.

L'échec dans la procédure de mettre sur le marché un nouveau principe actif réside généralement dans la présence d'un profil ADMET défavorable. Cette problématique peut être résolue en ayant recours aux prédictions *in silico* à travers l'usage des filtres par ADME-Tox [Norinder et Bergström, 2006 ; Xiong et al., 2021]. En somme, c'est le monoterpénol (linalool) et son ester (acétate de linalyle) qui ont présenté un profil favorable en comparaison avec les autres molécules, les plaçant comme de potentiels bioactifs pour d'autres expérimentations.

Cependant, il faut mentionner que ces paramètres prédictifs ne sont que des approximations ou estimations et ne remplacent pas les études cliniques et expérimentales pour valider ces propriétés. Les prédictions ADMET doivent être utilisées comme un outil de conception et de dépistage, plutôt que comme une alternative aux essais expérimentaux [Cheng et al., 2013 ; Kesharwani et al., 2020].

3.9. Développement d'un modèle pharmacophorique

Les modèles de pharmacophore sont utilisés dans la découverte des médicaments pour identifier de nouveaux composés susceptibles d'avoir l'activité biologique souhaitée. Dans notre étude, un modèle de pharmacophore a été généré en superposant deux AINS (célécoxib et diclofénac de sodium) avec deux composés terpéniques (myrcène et géraniol), en raison des fortes affinités de liaison avec le site catalytique de la COX-2 obtenues précédemment lors du docking moléculaire.

A noter que la création d'un pharmacophore permet de détecter les caractéristiques communes entre les quatre composés cités précédemment ; ces caractéristiques peuvent inclure des cycles aromatiques, des donneurs et des accepteurs d'hydrogène, des régions hydrophobes et des groupes chargés positivement ou négativement.

La disposition spatiale (distances et angles formés) entre les différents points pharmacophoriques a été enregistrée, et la représentation schématique est rapportée dans la figure 3.7. Dans notre étude, nous avons la constitution de quatre points pharmacophoriques, deux de nature aromatique hydrophobe, un accepteur d'hydrogène et un donneur d'hydrogène.

Par la suite, ce modèle pharmacophore sera utilisé pour le criblage des bases de données chimiques disponibles en ligne (https://pharmit.csb.pitt.edu/search.html) pour la recherche de nouvelles molécules présentant les mêmes points pharmacophoriques, à savoir deux aromes hydrophobiques, un donneur et un accepteur d'hydrogène et, par conséquent, pouvant présenter une possible activité inhibitrice de la COX-2 [Sunseri et Koes, 2016]. La figure 3.8 illustre des exemples de quelques molécules obtenues selon le modèle pharmacophore généré.

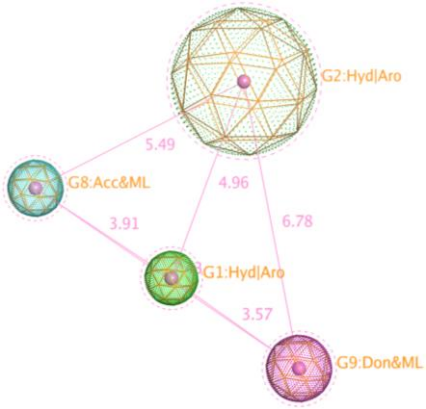
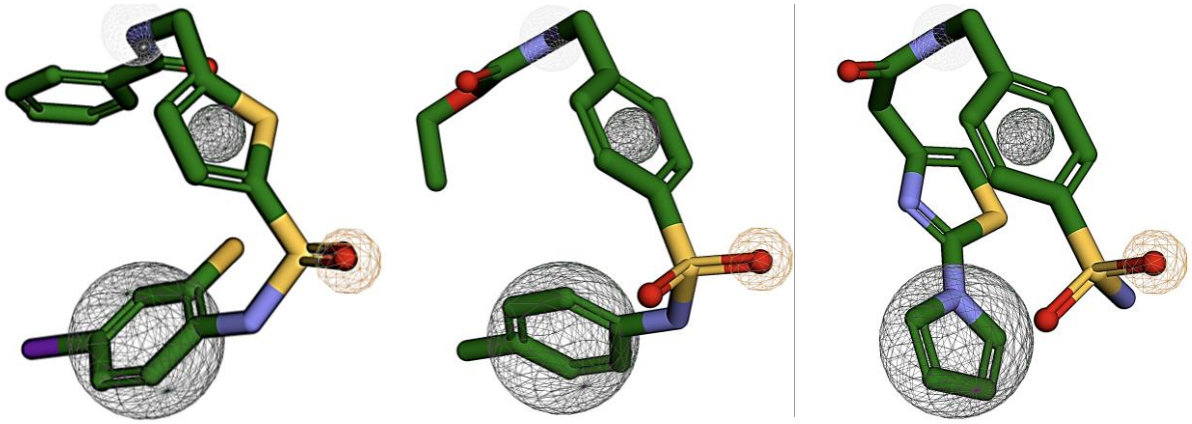
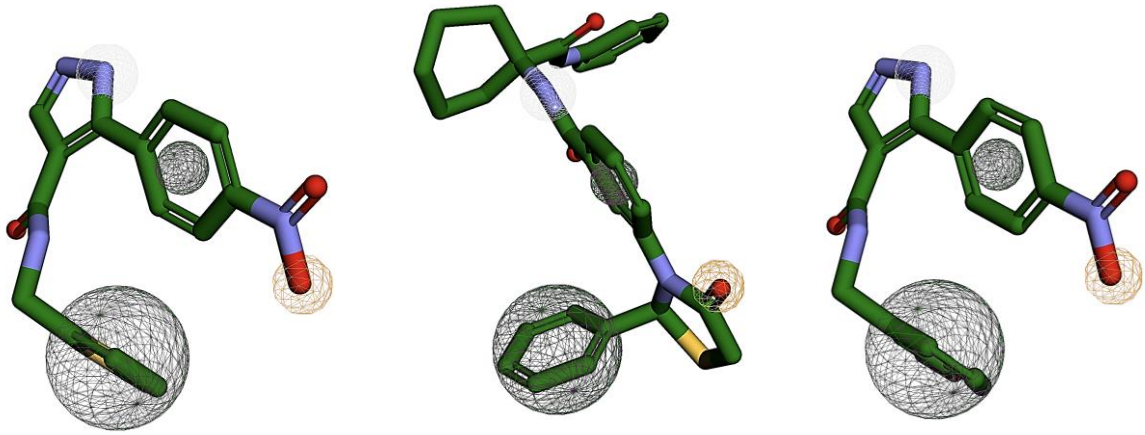


Figure 3.7. Modèle pharmacophore généré par superposition des quatre ligands : molécules terpéniques et deux AINS (célécoxib et diclofénac de sodium).



PubChem ID 2823690 PubChem ID 847926 PubChem ID 37963667



PubChem ID 71824185 PubChem ID 3343318 PubChem ID 71824208

Figure 3.8. Structure chimique de quelques composés obtenus par criblage du modèle pharmacophore en utilisant le serveur en ligne Pharmit.

La génération des modèles pharmacophoriques peuvent être utilisées pour identifier des motifs moléculaires communs dans des composés connus pour avoir une pharmacologique, dans notre cas le pouvoir anti-inflammatoire. Ces motifs peuvent, ensuite, être utilisés pour concevoir de nouveaux composés ou principes actifs ayant une structure similaire et une activité anti-inflammatoire prévue.

Les chercheurs peuvent utiliser des méthodes de criblage virtuel pour identifier de nouvelles molécules candidates qui correspondent au modèle de pharmacophore. Les molécules candidates identifiées peuvent ensuite être testées, expérimentalement, pour leur activité biologique-pharmacologique et leur toxicité. Les composés les plus prometteurs peuvent être optimisés en modifiant leur structure moléculaire pour améliorer leur efficacité, leur sélectivité et leur pharmacocinétique.

Il existe plusieurs exemples de médicaments anti-inflammatoires conçus en utilisant la méthode du modèle pharmacophore. C'est l'exemple de la célécoxib, un inhibiteur sélectif du site enzymatique de la COX-2, et qui est utilisé dans le cadre des douleurs inflammatoires provoquées par l'arthrite. Il a été développé en utilisant un modèle pharmacophore basé sur les interactions entre l'enzyme COX-2 et ses inhibiteurs [Ahmadi et al., 2022]. Le modèle a permis de concevoir de nouveaux composés ayant une meilleure sélectivité pour la COX-2 en comparaison avec la COX-1, réduisant ainsi les effets secondaires gastro-intestinaux associés aux molécules inhibitrices non sélectives. La génération d'un modèle pharmacophorique anti-inflammatoire peut aider à identifier les caractéristiques moléculaires clés nécessaires pour une activité pharmacologique efficace.

En résumé, les études du pharmacophore et du docking moléculaire pourraient offrir plus d'informations pour une meilleure compréhension des interactions ligand-protéine formées, ainsi que les groupes fonctionnels impliqués dans l'inhibition du site catalytique [Hassan Baig et al., 2016 ; Muhammed et Esin, 2021].

CONCLUSION

Synthétisées comme métabolites par les structures glandulaires des espèces végétales aromatiques, les distillats aromatiques sont exploités dans des secteurs industriels variés (produits cosmétiques et parapharmaceutiques, parfums et senteurs, bioactifs en phyto-aromathérapie). Ces dernières décennies, un grand intérêt pour ces distillats s'est émergé, particulièrement pour une éventuelle application thérapeutique ou comme alternative aux médicaments synthétiques dont le marché a été éclaboussé, récemment, par des scandales à répétition. L'exploration des extraits phytochimiques en général, et des huiles aromatiques en particulier, pour la mise en évidence des biomolécules naturelles à visée thérapeutique, peut constituer une voie de recherche prometteuse. Eu égard de l'importance, sans cesse grandissante, des essences végétales des espèces botaniques du genre *Lavandula* en phyto-aromathérapie, nous leur avons consacré ce travail pour vérifier les propriétés antimicrobiennes (*in vitro* et *in silico*) et anti-inflammatoires cutanées (*in vivo* et *in silico*), pour une potentielle incorporation dans l'arsenal thérapeutique via la préparation des formes galéniques topiques.

L'objectif premier de notre thèse était la caractérisation du profil chimique et l'estimation, *in vitro*, des propriétés inhibitrices de l'essence aromatique distillée de lavande vraie sur plusieurs espèces microbiennes. Le tracé chromatographique de l'HELO a révélé la présence du linalool et de son ester (acétate de linalyle) comme composés majoritaires. L'évaluation du pouvoir antimicrobien de l'HELO est faite en appliquant deux tests complémentaires à savoir la diffusion gélosée et la diffusion en phase vapeur, et ce en comparaison avec des médicaments comme référence. Cette HE a présenté un pouvoir inhibiteur faible contre les espèces bactériennes, et modéré contre la levure *C. albicans*. En microatmosphère, des résultats moins reluisants ont été obtenus où nous avons constaté qu'uniquement le *Bacillus subtilis* qui a été inhibé à des degrés variables. Les deux bactéries *E. coli* et *S. aureus* et le champignon filamenteux *Aspergillus niger* ont présenté une grande résistance à l'effet inhibiteur de l'HELO. Aussi, la détermination des concentration minimales inhibitrice et bactéricide a été menée par macro-dilution, et a révélé que c'est principalement *C. albicans* qui a présenté une grande sensibilité à l'HELO, ce qui est en étroite corrélation avec les résultats obtenus précédemment.

Cette expérimentation *in vitro* a été complétée par une étude *in silico* (docking moléculaire) avec, comme objectif, l'évaluation du pouvoir antimicrobien des composés terpéniques de l'HELO, à travers l'inhibition du site actif d'un récepteur impliqué dans la synthèse du peptidoglycane, en l'occurrence la protéine de liaison à l'antibiotique de la famille des pénicillines (PBP), considérée comme une potentielle cible thérapeutique pour bloquer la formation du peptidoglycane. Nos données de l'amarrage ont révélé que c'est les antibiotiques qui ont fortement inhibé le récepteur PBP.

Les propriétés anti-inflammatoires topiques de l'HELO ont été évaluées par technique de l'œdème auriculaire induit par le xylène, et ce en comparaison avec le contrôle positif (médicaments anti-inflammatoires). Le groupe d'animaux traité avec l'HELO a donné réduit considérablement l'inflammation auriculaire. Cette expérimentation animale a été complétée par un examen histologique. Ces résultats démontrent les propriétés de l'HELO dans le tissu cible, fournissant une confirmation supplémentaire dans la réduction de l'inflammation cutanée.

Enfin et pour mettre en exergue l'effet inhibiteur des molécules terpéniques de l'HELO, *in silico*, sur un récepteur protéique (COX-2) générateur des médiateurs chimiques impliqués dans le processus inflammatoire, nous avons opté pour le docking moléculaire. Cette simulation a montré l'efficacité de deux AINS (célécoxib et diclofénac de sodium) et de certaines molécules terpéniques (myrcène, α-bisabolol, β-caryophyllène, β-ocimène et géraniol) dans l'inhibition du site catalytique enzymatique de la COX-2. La prédiction des propriétés pharmacocinétiques-pharmacodynamiques et le profil de toxicité a révélé que les deux terpènes (myrcène et géraniol) ont un profil favorable avec une biodisponibilité orale satisfaisante, raison pour laquelle ils ont été utilisés pour la génération d'un modèle pharmacophore.

Comme perspectives, il serait utile de déterminer le pouvoir antimicrobien des huiles aromatiques sur un spectre large de bactéries et champignons pathogènes, tels que les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, ou encore de tester les associations HE-antibiotique ou HE-AINS pour mettre en évidence de possibles effets synergiques. Cette piste peut constituer une approche de recherche intéressante dans le but de réduire la toxicité des médicaments de synthèse. Il est primordial aussi d'investir dans l'évaluation de la toxicité et de l'irritation cutanée des distillats aromatiques, étape primordiale avant toute application ou test pharmacologique. Pour améliorer la compréhension des mécanismes d'action pharmacologique, une investigation approfondie doit être réalisée sur les molécules terpéniques caractéristiques des distillats. Les études *in silico* peuvent fournir une base solide pour la conception rationnelle de nouveaux composés, mais des essais biologiques et études cliniques sont une nécessité pour confirmer leur activité pharmacologique et évaluer leur toxicité potentielle.

Références Bibliographiques

1. Aboutaleb, N., Jamali, H., Abolhasani, M., & Toroudi, H. P. (2019). Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis. Biomedicine & Pharmacotherapy, 110, 9-19.
2. AFNOR. (2000). Recueil de normes : Huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris, France.
3. AFSSAPS. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, Paris, France. www.afssaps.sante.fr
4. Ahire, E. D., Sonawane, V. N., Surana, K. R., & Talele, G. S. (2021). Drug discovery, drug-likeness screening, and bioavailability: Development of drug-likeness rule for natural products. Applied Pharmaceutical Practice and Nutraceuticals. Apple Academic Press, New York, USA. ISBN 9781003054894.
5. Ahmadi, M., Bekeschus, S., Weltmann, K. D., von Woedtke, T., & Wende, K. (2022). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors. RSC Medicinal Chemistry, 13(5), 471-496.
6. Aiache, J. M., Carnat, A. P., Coudert, P., &Teulade, J. C. (2011). Sources actuelles et futures du médicament, Chimie du médicament: Conforme au programme PAES. Edition Elsevier Masson, France. ISBN 978-2-294-71217-3.
7. Akhondzadeh, S., Kashani, L., Fotouhi, A., Jarvandi, S., Mobaseri, M. et al. (2003). Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: A double-blind, randomized trial. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 27(1), 123-127.
8. Alhadrami, H. A., Hamed, A. A., Hassan, H. M., Belbahri, L., Rateb, M. E. et al. (2020). Flavonoids as potential anti-MRSA agents through modulation of PBP2a: A computational and experimental study. Antibiotics, 9(9), 562.
9. Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., & Lim, S. H. E. (2021). An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. Molecules, 26(3), 628.
10. Alnamer, R., Alaoui, K., Houcine Bouidida, E., Benjouad, A., & Cherrah, Y. (2011). Toxicity and psychotropic activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula officinalis* from Morocco. Journal of Biologically Active Products from Nature, 1(4), 262-272.
11. Alqahtani, A., Abdelhameed, M. F., Abdou, R., Ibrahim, A. M., Dawoud, M. et al. (2023). Mechanistic action of linalyl acetate: Acyclic monoterpene isolated from bitter orange leaf as anti-inflammatory, analgesic, antipyretic agent: Role of TNF-α, IL1β, PGE2, and COX-2. Industrial Crops and Products, 203, 117131.
12. Altaei, D. T. (2012). Topical lavender oil for the treatment of recurrent aphthous ulceration. American Journal of Dentistry, 25(1), 39-43.
13. Alves, M. J., Froufe, H. J., Costa, A. F., Santos, A. F., Oliveira, L. G., et al. (2014). Docking studies in target proteins involved in antibacterial action mechanisms: Extending the knowledge on standard antibiotics to antimicrobial mushroom compounds. Molecules, 19(2), 1672-1684.
14. Antonelli, M., & Donelli, D. (2020). Efficacy, safety and tolerability of aroma massage with lavender essential oil: An overview. International Journal of Therapeutic Massage & Bodywork, 13(1), 32.
15. Aprotosoaie, A. C., Gille, E., Trifan, A., Luca, V. S., & Miron, A. (2017). Essential oils of *Lavandula* genus: A systematic review of their chemistry. Phytochemistry Reviews, 16, 761-799.
16. Aquino, R. -2002). Arômes méditerranéens pour la réalisation des lignes cosmétiques méditerranéenne. Journal of Cosmetic Sciences 53, 321-335.
17. Araj-Khodaei, M., Noorbala, A. A., Yarani, R., Emadi, F., Emaratkar, E., et al. (2020). A double-blind, randomized pilot study for comparison of *Melissa officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. with Fluoxetine for the treatment of depression. BMC Complementary Medicine and Therapies, 20(1), 1-9.

18. Awadelkareem, A. M., Al-Shammari, E., Elkhalifa, A. E. O., Adnan, M., Siddiqui, A. J., et al. (2022). Phytochemical and *in silico* ADME/Tox analysis of *Eruca sativa* extract with antioxidant, antibacterial and anticancer potential against Caco-2 and HCT-116 colorectal carcinoma cell lines. Molecules, 27(4), 1409.

19. Aziz, Z. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., et al. (2018). Essential oils: Extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. Current Drug Metabolism, 19(13), 1100-1110.

20. Bader, S. B. (2012). The lavender lover's handbook: The 100 most beautiful and fragrant varieties for growing, crafting, and cooking. Timber Press. ISBN 1604692219.

21. Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018). ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Research, 46(W1), W257-W263.

22. Barbieri, C., & Borsotto, P. (2018). Essential oils: market and legislation. Potential of essential oils. Edition IntechOpen, Londres, Grande-Bretage, ISBN 978-1-78923-780-1.

23. Bardeau, F. (2009). Les huiles essentielles: Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Fernand Lanore, Paris, France. ISBN 285157566X.

24. Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2010). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, Fl, USA. ISBN 9781420063165.

25. Baudoux, D. (2000). L'aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles. Edition Douce Alternative, Biarritz, France.

26. Bazrafshan, M. R., Jokar, M., Shokrpour, N., & Delam, H. (2020). The effect of lavender herbal tea on the anxiety and depression of the elderly: A randomized clinical trial. Complementary Therapies in Medicine, 50, 102393.

27. Beale, D. J., Morrison, P. D., Karpe, A. V., & Dunn, M. S. (2017). Chemometric analysis of lavender essential oils using targeted and untargeted GC-MS acquired data for the rapid identification and characterization of oil quality. Molecules, 22(8), 1339.

28. Bejar, E. (2020). Adulteration of English Lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil. Botanical Adulterants Prevention Bulletin, 1, 543-80.

29. Belmont, M. (2013). *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula* x *intermedia* E.: Etudes botaniques, chimiques et thérapeutiques. Thèse d'état en Pharmacie, Faculté de Pharmacie de Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble, France.

30. Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat en Sciences biologiques, ENS Kouba, Alger, Algérie.

31. Białoń, M., Krzyśko-Łupicka, T., Nowakowska-Bogdan, E., & Wieczorek, P. P. (2019). Chemical composition of two different lavender essential oils and their effect on facial skin microbiota. Molecules, 24(18), 3270.

32. Binello, A., Orio, L., Pignata, G., Nicola, S., Chemat, F., et al. (2014). Effect of microwaves on the *in situ* hydrodistillation of four different Lamiaceae. Comptes Rendus Chimie, 17(3), 181-186.

33. Bodiou, L., Frère, D., & Mehl, V. (2008). Parfums et odeurs dans l'antiquité. Presses Universitaires de Rennes.

34. Bogdan, M., Bungau, S., Tit, D. M., Copolovici, L., Behl, T., et al. (2020). Variations in the chemical composition of the essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill., Moldoveanca 4 Romanian variety. Revista de Chimie, 71, 307-315.

35. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., et al. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Phytothérapie, 16(S1), S173-S183.

36. Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., et al. (2005). Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. Journal of Essential Oil Research, 17(5), 584-586.

37. Brożyna, M., Paleczny, J., Kozłowska, W., Chodaczek, G., Dudek-Wicher, R., et al. (2021). The antimicrobial and antibiofilm *in vitro* activity of liquid and vapour phases of selected essential oils against *Staphylococcus aureus*. Pathogens, 10(9), 1207.

38. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Editions Tec & Doc, éditions médicales internationales, Paris, France.

39. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223-253.

40. Buxeraud, J., & Faure, S. (2023). Fluoroquinolones, la prudence est de règle. Actualités Pharmaceutiques, 62(624), 22-25.

41. Capetti, F., Marengo, A., Cagliero, C., Liberto, E., Bicchi, C., et al. (2021). Adulteration of essential oils: A multitask issue for quality control. Three case studies: *Lavandula angustifolia* Mill., *Citrus limon* (L.) Osbeck and *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) cheel. Molecules, 26(18), 5610.

42. Caprari, C., Fantasma, F., Divino, F., Bucci, A., Iorizzi, M., et al. (2021). Chemical profile, *in vitro* biological activity and comparison of essential oils from fresh and dried flowers of *Lavandula angustifolia* L. Molecules, 26(17), 5317.

43. Cardia, G. F. E., Silva-Filho, S. E., Silva, E. L., Uchida, N. S., Cavalcante, H. A. O., et al. (2018). Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on acute inflammatory response. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1413940, 1-11.

44. Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. Phytotherapy Research, 16(4), 301-308.

45. Cavanagh, H. M., & Wilkinson, J. M. (2005). Lavender essential oil: A review. Australian Infection Control, 10(1), 35-37.

46. Chemat, F., Abert-Vian, M., & Fernandez, X. (2012). Microwave-assisted extraction of essential oils and aromas. Microwave-assisted extraction for bioactive compounds : Theory and practice. Edition Springer, Boston, MA, USA.

47. Chen, X., Zhang, L., Qian, C., Du, Z., Xu, P., et al. (2020). Chemical compositions of essential oil extracted from *Lavandula angustifolia* and its prevention of TPA-induced inflammation. Microchemical Journal, 153, 104458.

48. Cheng, F., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2013). *In silico* ADMET prediction: Recent advances, current challenges and future trends. Current Topics in Medicinal Chemistry, 13(11), 1273-1289.

49. Chien, L. W., Cheng, S. L., & Liu, C. F. (2012). The effect of lavender aromatherapy on autonomic nervous system in midlife women with insomnia. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 740813, 1-8.

50. Chiolero, A., Würzner, G., & Burnier, M. (2000). Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: Moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques. Néphrologie, 21(8), 425-430.

51. Cong, Y., Abulizi, P., Zhi, L., Wang, X., & Mirensha. (2008). Chemical composition of the essential oil of *Lavandula angustifolia* from Xinjiang, China. Chemistry of Natural Compounds, 44, 810-810.

52. Constantinescu, E., Niţu, S., Boruz, V., & Ştefan, I. O. (2022). Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.)-medicinal-alternative species in the structure of crops in agricultural farms, in the context of climate change. Annals of the University of Craiova-Agriculture Montanology Cadastre Series, 52(1), 87-94.

53. Corazza, M., Amendolagine, G., Borghi, A., Toni, G., & Lauriola, M. M. (2019). Aromatherapy and occupational allergic contact dermatitis: Two further cases caused by lavender oil and other essential oils. Contact Dermatitis, 81(5), 378-379.

54. Couic-Marinier, F. (2018). Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. Actualités Pharmaceutiques, 57(580), 26-29.

55. Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. Actualités Pharmaceutiques, 52(525), 22-25.

56. Crișan, I., Ona, A., Vârban, D., Muntean, L., Vârban, R., et al. (2023). Current trends for lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) crops and products with emphasis on essential oil quality. Plants, 12(2), 357.

57. Da Silveira, N. J., Pereira, F. S. S., Elias, T. C., & Henrique, T. (2019). Web services for molecular docking simulations. Docking Screens for Drug Discovery, 221-229.
58. Dakhlaoui, S., Wannes, W. A., Sari, H., Hmida, M. B., Frouja, O., et al. (2022). Combined effect of essential oils from Lavender (*Lavandula officinalis* L.) aerial parts and coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds on antioxidant, anti-diabetic, anti-cancer and anti-inflammatory activities. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 25(1), 188-199.
59. D'auria, F. D., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., et al. (2005). Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. Medical Mycology, 43(5), 391-396.
60. De Billerbeck, V. G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 5(5), 249-253.
61. De Billerbeck, V. G., Roques, C., Vanière, P., & Marquier, P. (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Hygiènes, 3, 248-51.
62. Dehkordi, Z. R., Baharanchi, F. S. H., & Bekhradi, R. (2014). Effect of lavender inhalation on the symptoms of primary dysmenorrhea and the amount of menstrual bleeding: A randomized clinical trial. Complementary Therapies in Medicine, 22(2), 212-219.
63. Demasi, S., Caser, M., Lonati, M., Cioni, P. L., Pistelli, L., et al. (2018). Latitude and altitude influence secondary metabolite production in peripheral alpine populations of the Mediterranean species *Lavandula angustifolia* Mill. Frontiers in Plant Science, 983.
64. Despinasse, Y., Moja, S., Soler, C., Jullien, F., Pasquier, B., et al. (2020). Structure of the chemical and genetic diversity of the true lavender over its natural range. Plants, 9(12), 1640.
65. Détár, E., Németh, É. Z., Gosztola, B., Demján, I., & Pluhár, Z. (2020). Effects of variety and growth year on the essential oil properties of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and lavandin (*Lavandula* x *intermedia* Emeric ex Loisel.). Biochemical Systematics and Ecology, 90, 104020.
66. Do, T. K. T., Hadji-Minaglou, F., Antoniotti, S., & Fernandez, X. (2015). Authenticity of essential oils. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 66, 146-157.
67. Dobros, N., Zawada, K. D., & Paradowska, K. (2022). Phytochemical profiling, antioxidant and anti-inflammatory activity of plants belonging to the *Lavandula* genus. Molecules, 28(1), 256.
68. Dong, G., Bai, X., Aimila, A., Aisa, H. A., & Maiwulanjiang, M. (2020). Study on lavender essential oil chemical compositions by GC-MS and improved pGC. Molecules, 25(14), 3166.
69. Doré, J., Brun, M. P., & Cossy, J. (2021). Recherche de sondes pharmacologiques et candidats médicaments dans le cyberespace. Chimie et nouvelles thérapies. EDP Sciences, France. ISBN 9782759824786 ;
70. Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88(2), 308-316.
71. Duraffourd, C., & Lapraz, J. C. (2002). Traité de phytothérapie clinique. Edition Elsevier Masson, Paris, France. ISBN 9782294770494.
72. Dušková, E., Dušek, K., Indrák, P., & Smékalová, K. (2016). Postharvest changes in essential oil content and quality of lavender flowers. Industrial Crops and Products, 79, 225-231.
73. El-Akhal, F., Ramzi, A., Farah, A., Ez Zoubi, Y., Benboubker, M., et al. (2021). Chemical composition and larvicidal activity of *Lavandula angustifolia* subsp. *angustifolia* and *Lavandula dentata* spp. *dentata* essential oils against *Culex pipiens* larvae, vector of West Nile virus. Psyche: A Journal of Entomology, 2021, 1-7.
74. Fadia, A. Y., Al–Naser, Z., & Al-Hakim, W. (2015). Chemical composition of *Lavandula angustifolia* Miller and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils and fumigant toxicity against larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller. International Journal of ChemTech Research, 8, 1382-1390.
75. Falleh, H., Jemaa, M. B., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. Food Chemistry, 330, 127268.
76. Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : Conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences des procédés, sciences des aliments. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & l'Ecole Nationale d'Ingénieur de Gabès (Tunisie).

77. Festy, D. (2018). Ma bible des huiles essentielles. Éditions Leduc's, Paris, France. ISBN 979-10-285-1004-6.
78. Field, T., Field, T., Cullen, C., Largie, S., Diego, M., et al. (2008). Lavender bath oil reduces stress and crying and enhances sleep in very young infants. Early Human Development, 84(6), 399-401.
79. Filly, A., Fabiano-Tixier, A. S., Louis, C., Fernandez, X., & Chemat, F. (2016). Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers. Comptes Rendus Chimie, 19(6), 707-717.
80. Fisher, K., & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?. Trends in Food Science & Technology, 19(3), 156-164.
81. Franchomme, P., Jollois, R., &Pénoël, D. (1990). L'aromathérapie exactement: Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Roger Jollois Editeur, France. ISBN 2878190017.
82. Fukushima, S., Cohen, S. M., Eisenbrand, G., Gooderham, N. J., Guengerich, F. P., et al. (2020). FEMA GRAS assessment of natural flavor complexes: Lavender, guaiac coriander-derived and related flavoring ingredients. Food and Chemical Toxicology, 145, 111584.
83. Gainard, A. (2016). Lavandes et lavandin, utilisation en aromathérapie : Enquête auprès des pharmaciens d'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie, UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université de Bordeaux, France.
84. Gaceb-Terrak, R., Touam, D., Bouhired, L., Rahmania, F., Trabsi, S. (2017). Illustrations Cours De Biologie Végétale Troncs Communs. Edition Office des Publications Universitaires, Alger Algérie. ISBN 978.9961.0.0843.0.
85. Gallotte, P., Fremondière, G., Gallois, P., Bernier, J. P. B., Buchwalder, A., Walton, A., & Fopa-Fomeju, B. (2020). *Lavandula angustifolia* Mill. and *Lavandula* x *Intermedia* Emeric Ex Loisel: Lavender and Lavandin. Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants. Cham: Springer International Publishing, Suisse. ISBN 978-3-030-38791-4.
86. Gangemi, S., Minciullo, P. L., Miroddi, M., Chinou, I., Calapai, G., et al. (2015). Contact dermatitis as an adverse reaction to some topically used European herbal medicinal products–Part 2: *Echinacea purpurea*–*Lavandula angustifolia*. Contact Dermatitis, 72(4), 193-205.
87. Garreta, R. (2007). Des simples à l'essentiel: De l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales. Presses Universitaire du Mirail, Toulouse, France. ISBN 978-2-85816-886-6.
88. Garzoli, S., Turchetti, G., Giacomello, P., Tiezzi, A., Laghezza Masci, V., et al. (2019). Liquid and vapour phase of lavandin (*Lavandula* × *intermedia*) essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. Molecules, 24(15), 2701.
89. Géa, A., & Banel, P. (2022). Physiologie et huiles essentielles (Vol. 1). Malakoff, Edition Dunod, France. ISBN N 978-2-10-082077-1
90. Ghasemi, J. B., Abdolmaleki, A., & Shiri, F. (2017). Molecular docking challenges and limitations. Pharmaceutical sciences: breakthroughs in Research and Practice. IGI Global.
91. Ghelardini, C., Galeotti, N., Salvatore, G., & Mazzanti, G. (1999). Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. Planta Medica, 65(08), 700-703.
92. Giannoulis, K. D., Evangelopoulos, V., Gougoulias, N., & Wogiatzi, E. (2020). Lavender organic cultivation yield and essential oil can be improved by using bio-stimulants. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science, 70(8), 648-656.
93. Gilly, G. (1997). Les plantes à parfum et huiles essentielles à Grasse: Botanique, culture, chimie, production et marché. Editions L'Harmattan, Paris, France. ISBN 2296408982.
94. Giovannini, D., Gismondi, A., Basso, A., Canuti, L., Braglia, R., et al. (2016). *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil exerts antibacterial and anti-Inflammatory effect in macrophage mediated immune response to *Staphylococcus aureus*. Immunological Investigations, 45(1), 11-28.
95. Giray, F. H., Kadakoğlu, B., Çetin, F., & Bamoi, A. G. A. (2019). Rural tourism marketing: Lavender tourism in Turkey. Ciência Rural, 49.

96. Goetz, P., & Busser, C. (2007). La phytocosmétologie thérapeutique. Collection Phytothérapie Pratique, Edition Springer-Verlag, Paris, France. USBN 2287685243.
97. Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition Springer-Verlag, Paris, France. ISBN 2817800575.
98. Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmusç, Z., et al. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. Zeitschrift für Naturforschung (Journal of Biosciences) C, 57(9-10), 797-800.
99. Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: Séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse, France.
100. Guzmán, E., & Lucia, A. (2021). Essential oils and their individual components in cosmetic products. Cosmetics, 8(4), 114.
101. Hagvall, L., Sköld, M., Bråred-Christensson, J., Börje, A., & Karlberg, A. T. (2008). Lavender oil lacks natural protection against autoxidation, forming strong contact allergens on air exposure. Contact Dermatitis, 59(3), 143-150.
102. Hajhashemi, V., Ghannadi, A., & Sharif, B. (2003). Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. Journal of Ethnopharmacology, 89(1), 67-71.
103. Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86(6), 985-990.
104. Hassan Baig, M., Ahmad, K., Roy, S., Mohammad Ashraf, J., Adil, M., Haris Siddiqui, M., & Choi, I. (2016). Computer aided drug design: Success and limitations. Current Pharmaceutical Design, 22(5), 572-581.
105. Hassiotis, C. N., Ntana, F., Lazari, D. M., Poulios, S., & Vlachonasios, K. E. (2014). Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. Industrial Crops and Products, 62, 359-366.
106. Herowati, R., & Widodo, G. P. (2017). Molecular docking analysis: Interaction studies of natural compounds to anti-inflammatory targets. Quantitative Structure-Activity Relationship, IntechOpen Edition, Grande-Bretagne. ISBN 978-953-51-3410-7.
107. Hersini, K. J., Melgaard, L., Gazerani, P., & Petersen, L. J. (2014). Microdialysis of inflammatory mediators in the skin: A review. Acta Dermato-Venereologica, 94(5), 501-511.
108. Hoffmann, K. H. (2020). Essential oils. Journal of Biosciences C, 75(7-8), 177-177.
109. Holmes, C., Hopkins, V., Hensford, C., MacLaughlin, V., Wilkinson, D., et al. (2002). Lavender oil as a treatment for agitated behaviour in severe dementia: A placebo controlled study. International Journal of Geriatric Psychiatry, 17(4), 305-308.
110. Hudz, N., Makowicz, E., Shanaida, M., Białoń, M., Jasicka-Misiak, I., Yezerska, O., & Wieczorek, P. P. (2020). Phytochemical evaluation of tinctures and essential oil obtained from *Satureja montana* herb. Molecules, 25(20), 4763.
111. Hui, L., He, L., Huan, L., XiaoLan, L., & AiGuo, Z. (2010). Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. African Journal of Microbiology Research, 4(4), 309-313.
112. Huruba, M., Farcas, A., Leucuta, D. C., Sipos, M., & Mogosan, C. (2021). Survery of healthcare professionals to assess the awareness, knowledge and self-reported behavior regarding recent fluoroquinolones safety issues. Medicine and Pharmacy Reports, 94(4), 498.
113. Husseini, Y., Sahraei, H., Meftahi, G. H., Dargahian, M., Mohammadi, A., et al. (2016). Analgesic and anti-inflammatory activities of hydro-alcoholic extract of *Lavandula officinalis* in mice: Possible involvement of the cyclooxygenase type 1 and 2 enzymes. Revista Brasileira de Farmacognosia, 26, 102-108.
114. Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology, 3.
115. Inouye, S., & Abe, S. (2007). Nouvelle approache de l'aromathérapie anti-infectieuse. Phytothérapie, 5(1), 2-4.

116. Iriti, M., Colnaghi, G., Chemat, F., Smadja, J., Faoro, F., et al. (2006). Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: A comparative study. Flavour and Fragrance Journal, 21(4), 704-712.

117. Irmak Sapmaz, H., Uysal, M., Taş, U., Esen, M., Barut, M., et al. (2015). The effect of lavender oil in patients with renal colic: A prospective controlled study using objective and subjective outcome measurements. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 21(10), 617-622.

118. ISO 3515 (2002). Oil of Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). International Organization for Standardization, Genève, Suisse.

119. Ivanišová, E., Kačániová, M., Savitskaya, T. A., & Grinshpan, D. D. (2021). Medicinal herbs: Important source of bioactive compounds for food industry. Herbs and Spices—New Processing Technologies. Edition IntechOpen, Grande-Bretagne.

120. Jamróz, E., Juszczak, L., & Kucharek, M. (2018). Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. International Journal of Biological Macromolecules, 114, 1094-1101.

121. Jianu, C., Pop, G., Gruia, A. T., & Horhat, F. G. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula* x *intermedia*) grown in Western Romania. International Journal of Agriculture and Biology, 15(4), 772-776.

122. Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, 10(10), 813-829.

123. Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles: Qualitologie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie pratique, Springer-Verlag, Paris, France. ISBN 2817803086.

124. Kane, F. M., Brodie, E. E., Coull, A., Coyne, L., Howd, A., et al. (2004). The analgesic effect of odour and music upon dressing change. British Journal of Nursing, 13(Sup4), S4-S12.

125. Kassah-Laouar, A. (2020). De la définition princeps à la totorésistance. Revue Aurassienne du laboratoire, 29.

126. Kempf, I., & Zeitouni, S. (2012). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: Analyse et conséquences. Pathologie Biologie, 60(2), e9-e14.

127. Kempf, M., Eveillard, M., Kowalczyk, F., Rossines, E., Panhelleux, G., et al. (2011). Étude de la sensibilité de 224 bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des composés JCA 250 et JCA 251 à base d'huiles essentielles issus de la recherche Aroma Technologies. Pathologie Biologie, 59(1), 39-43.

128. Kesharwani, R. K., Vishwakarma, V. K., Keservani, R. K., Singh, P., Katiyar, N., et al. (2020). Role of ADMET tools in current scenario: Application and limitations. Computer-Aided Drug Design, 71-87.

129. Khandelwal, K. (2008). Practical pharmacognosy. Pragati Books, Maharashtra, Inde. ISBN 8185790302.

130. Kim, H. M., & Cho, S. H. (1999). Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 51(2), 221-226.

131. Kim, J. T., Ren, C. J., Fielding, G. A., Pitti, A., Kasumi, T., et al. (2007). Treatment with lavender aromatherapy in the post-anesthesia care unit reduces opioid requirements of morbidly obese patients undergoing laparoscopic adjustable gastric banding. Obesity Surgery, 17, 920-925.

132. Kim, M. G., Kim, S. M., Min, J. H., Kwon, O. K., Park, M. H., et al. (2019). Anti-inflammatory effects of linalool on ovalbumin-induced pulmonary inflammation. International Immuno-Pharmacology, 74, 105706.

133. Kirimer, N., Mokhtarzadeh, S., Demirci, B., Goger, F., Khawar, K. M., et al. (2017). Phytochemical profiling of volatile components of *Lavandula angustifolia* Miller propagated under *in vitro* conditions. Industrial Crops and Products, 96, 120-125.

134. Klusiewicz, P., & Fonteneau, J. M. (2008). Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments. Wolters Kluwer, France. Isbn 2915585504.

135. Koulivand, P. H., Khaleghi Ghadiri, M., & Gorji, A. (2013). Lavender and the nervous system. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 681304, 1-11.

136. Kpodji, P., Lozes, E., Dougnon, V., Assogba, P., Koudokpon, H., et al. (2019). Utilisation des plantes du sud-bénin dans le traitement des maladies inflammatoires: Enquête ethnopharmacologique auprès des herboristes. Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie, 34, 127-143.
137. Krimm, I. (2015). Le criblage de fragments-Une voie prometteuse pour la conception de médicaments. Médecine/Sciences, 31(2), 197-202.
138. Křůmal, K., Kubátková, N., Večeřa, Z., & Mikuška, P. (2015). Antimicrobial properties and chemical composition of liquid and gaseous phases of essential oils. Chemical Papers, 69(8), 1084-1092.
139. Krumholz, H. M., Ross, J. S., Presler, A. H., & Egilman, D. S. (2007). What have we learnt from Vioxx?. BMJ, 334(7585), 120-123.
140. Kumachev, A., & Wu, P. E. (2021). Atteinte hépatique médicamenteuse. Canadian Medical Association Journal, 193(20), E746-E747.
141. Kumar, K. M., Anbarasu, A., & Ramaiah, S. (2014). Molecular docking and molecular dynamics studies on β-lactamases and penicillin binding proteins. Molecular BioSystems, 10(4), 891-900.
142. Laird, K., & Phillips, C. (2012). Vapour phase: A potential future use for essential oils as antimicrobials?. Letters in Applied Microbiology, 54(3), 169-174.
143. Lee, Y. L., & Ding, P. (2016). Production of essential oil in plants: Ontogeny, secretory structures and seasonal variations. Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews, 2(1).
144. Lehmann, H. (2015). Les plantes médicinales en France, entre pharmacie et herboristerie: Aspects historiques et législatifs. Annales Pharmaceutiques Françaises, 73(5), 391-398.
145. Lesage-Meessen, L., Bou, M., Sigoillot, J. C., Faulds, C. B., & Lomascolo, A. (2015). Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: A review of current use and potential application in white biotechnology. Applied Microbiology and Biotechnology, 99, 3375-3385.
146. Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Vian, M. A., & Chemat, F. (2013). Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 47, 1-11.
147. Li, Y., Lv, O., Zhou, F., Li, Q., Wu, Z., & Zheng, Y. (2015). Linalool inhibits LPS-induced inflammation in BV2 microglia cells by activating Nrf2. Neurochemical Research, 40, 1520-1525.
148. Lim, T. K. (2014). Edible Medicinal and Non Medicinal Plants. Edition Springer, Dordrecht, Pays-Bas. ISBN 9401795118.
149. Lis-Balchin, M. (2006). Aromatherapy Science: A Guide For Healthcare Professionals. Pharmaceutical Press, Londres, Grande-Bretagne. ISBN 0853695784.
150. Lis-Balchin, M. (2002). Lavender: the genus *Lavandula*. CRC Press, Edition Taylor and Francis, Londres, Grande-Bretagne. ISBN 0203216520.
151. Lizarraga-Valderrama, L. R. (2021). Effects of essential oils on central nervous system: Focus on mental health. Phytotherapy Research, 35(2), 657-679.
152. Luo, W., Du, Z., Zheng, Y., Liang, X., Huang, G., et al. (2019). Phytochemical composition and bioactivities of essential oils from six Lamiaceae species. Industrial Crops and Products, 133, 357-364.
153. Ma, J., Xu, H., Wu, J., Qu, C., Sun, F., et al. (2015). Linalool inhibits cigarette smoke-induced lung inflammation by inhibiting NF-κB activation. International Immunopharmacology, 29(2), 708-713.
154. Maffei, M., Chialva, F., & Sacco, T. (1989). Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. New Phytologist, 111(4), 707-716.
155. Mallea, M., Soler, M., Anfosso, F., & Charpin, J. (1979). Activité antifongique d'essences aromatiques. Pathology Biology, 27, 597-602.
156. Marovska, G., Vasileva, I., Petkova, N., Ognyanov, M., Gandova, V., et al. (2022). Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) industrial by-products as a source of polysaccharides. Industrial Crops and Products, 188, 115678.
157. Martini, M. C. (2011). Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Edition Lavoisier, France.
158. Martoja, R., Martoja-Pierson, M., & Grassé, P. P. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Edition Masson, Paris, France.
159. Maurya, A., Prasad, J., Das, S., & Dwivedy, A. K. (2021). Essential oils and their application in food safety. Frontiers in Sustainable Food Systems, 5, 653420.

160. McDougall, J. J., & McKenna, M. K. (2022). Anti-inflammatory and analgesic properties of the cannabis terpene myrcene in rat adjuvant monoarthritis. International Journal of Molecular Sciences, 23(14), 7891.
161. Mihalașcu, C., Tudor, V., Bolohan, C., Mihalache, M., & Teodorescu, R. I. (2020). The effect of different fertilization upon the growth and yield of some *Lavandula angustifolia* (Mill.) varieties grown in south east Romania. Scientific Papers. Series B. Horticulture, 64(1).
162. Miladinović, D. L., Dimitrijević, M. V., Mihajilov-Krstev, T. M., Marković, M. S., & Ćirić, V. M. (2021). The significance of minor components on the antibacterial activity of essential oil via chemometrics. LWT, 136, 110305.
163. Miladinović, D. L., Ilić, B. S., Mihajilov-Krstev, T. M., Nikolić, N. D., Miladinović, L. C., et al. (2012). Investigation of the chemical composition–antibacterial activity relationship of essential oils by chemometric methods. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 403, 1007-1018.
164. Moon, T., Cavanagh, H. M., & Wilkinson, J. M. (2007). Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* spp. essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of Essential Oil Research, 19(2), 171-175.
165. Mori, H. M., Kawanami, H., Kawahata, H., & Aoki, M. (2016). Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF-β in a rat model. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16, 1-11.
166. Morita, I. (2002). Distinct functions of COX-1 and COX-2. Prostaglandins & other Lipid Mediators, 68, 165-175.
167. Morsy, N. F. S. (2017). Chemical structure, quality indices and bioactivity of essential oil constituents. Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants, 175-206.
168. Muhammed, M. T., & Esin, A. Y. (2021). Pharmacophore modeling in drug discovery: Methodology and current status. Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry, 8(3), 749-762.
169. Muntean, L. S., Tamas, M., Muntean, S., Muntean, L., Duda, M., et al. (2007). Treaty of cultivated and spontaneous medicinal plant. Risoprint Publishing House, Cluj-Napoca, Roumanie.
170. Murbach Teles Andrade, B. F., Conti, B. J., Santiago, K. B., Fernandes, A., & Sforcin, J. M. (2014). *Cymbopogon martinii* essential oil and geraniol at noncytotoxic concentrations exerted immunomodulatory/ anti-inflammatory effects in human monocytes. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 66(10), 1491-1496.
171. Najafi, Z., Taghadosi, M., Sharifi, K., Farrokhian, A., & Tagharrobi, Z. (2014). The effects of inhalation aromatherapy on anxiety in patients with myocardial infarction: A randomized clinical trial. Iranian Red Crescent Medical Journal, 16(8).
172. Najibullah, S. N. M., Ahamad, J., Aldahish, A. A., Sultana, S., & Sultana, S. (2021). Chemical characterization and α-glucosidase inhibitory activity of essential oil of *Lavandula angustifolia* flowers. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 24(3), 431-438.
173. Nardulli, P., Hall, G. G., Quarta, A., Fruscio, G., Laforgia, M., et al. (2022). Antibiotic Abuse and Antimicrobial Resistance in Hospital Environment: A Retrospective Observational Comparative Study. Medicina, 58(9), 1257.
174. Nasiri, A., Mahmodi, M. A., & Nobakht, Z. (2016). Effect of aromatherapy massage with lavender essential oil on pain in patients with osteoarthritis of the knee: A randomized controlled clinical trial. Complementary Therapies in Clinical Practice, 25, 75-80.
175. Nedeltcheva-Antonova, D., Gechovska, K., Bozhanov, S., & Antonov, L. (2022). Exploring the chemical composition of Bulgarian lavender absolute (*Lavandula Angustifolia* Mill.) by GC/MS and GC-FID. Plants, 11(22), 3150.
176. Norinder, U., & Bergström, C. A. (2006). Prediction of ADMET properties. ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery, 1(9), 920-937.
177. Omurtag Özgen, P. S., Biltekin, S. N., İduğ, T., Macit, Ç., Ayran, I., et al. (2022). Chemical composition and *in vitro* mutagenic, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil from Turkey. Journal of Research in Pharmacy, 26(4), 781-789.

178. Oussou K. R. (2009). Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Thèse de Doctorat en Phytochimie, Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire.

179. Panahi, Y., Akhavan, A., Sahebkar, A., Hosseini, S. M., Taghizadeh, M., Akbari, H., & Imani, S. (2014). Investigation of the effectiveness of *Syzygium aromaticum*, *Lavandula angustifolia* and *Geranium robertianum* essential oils in the treatment of acute external otitis: A comparative trial with ciprofloxacin. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 47(3), 211-216.

180. Panahi, Y., Beiraghdar, F., Akbari, H., Bekhradi, H., Taghizadeh, M., et al. (2012). A herbal cream consisting of *Aloe vera*, *Lavandula stoechas*, and *Pelargonium roseum* as an alternative for silver sulfadiazine in burn management. Asian Biomedicine, 6(2), 273-278.

181. Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (Eds.). (2008). Chemistry of spices. CAB International, Londres, Grande-Bretagne. ISBN 978-1-84593-405-7.

182. Passalacqua, N. G., Tundis, R., & Upson, T. M. (2017). A new species of *Lavandula* sect. *Lavandula* (Lamiaceae) and review of species boundaries in *Lavandula angustifolia*. Phytotaxa, 292(2), 161-170.

183. Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., et al. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. Phytomedicine, 9(8), 721-726.

184. Pereira, F. D. O., Mendes, J. M., Lima, I. O., Mota, K. S. D. L., Oliveira, W. A. D., et al. (2015). Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. Pharmaceutical Biology, 53(2), 228-234.

185. Peter, K. V. (Ed.). (2006). Handbook of herbs and spices: volume 3. Woodhead publishing, Cambridge, Grande-Bretagne. ISBN 978-1-85573-721-1.

186. Pharmacopée Européenne (2010). European Pharmacopoeia Commission, & European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare. (2010). European pharmacopoeia (Vol. 1). Council of Europe.

187. Pibiri, M. C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse.

188. Pokajewicz, K., Białoń, M., Svydenko, L., Hudz, N., Balwierz, R., et al. (2022). Comparative evaluation of the essential oil of the new Ukrainian *Lavandula angustifolia* and *Lavandula* x *intermedia* cultivars grown on the same plots. Molecules, 27(7), 2152.

189. Prashar, A., Locke, I. C., & Evans, C. S. (2004). Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. Cell Proliferation, 37(3), 221-229.

190. Predoi, D., Iconaru, S. L., Buton, N., Badea, M. L., & Marutescu, L. (2018). Antimicrobial activity of new materials based on lavender and basil essential oils and hydroxyapatite. Nanomaterials, 8(5), 291.

191. Prusinowska, R., & Śmigielski, K. B. (2014). Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L). A review. Herba Polonica, 60(2), 56-66.

192. Prusinowska, R., Śmigielski, K., Stobiecka, A., & Kunicka-Styczyńska, A. (2016). Hydrolates from lavender (*Lavandula angustifolia*) - their chemical composition as well as aromatic, antimicrobial and antioxidant properties. Natural Product Research, 30(4), 386-393.

193. Radu, D., Alexe, P., & Stănciuc, N. (2020). Overview on the potential role of phytochemicals from lavender as functional ingredients. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI-Food Technology, 44(2), 173-188.

194. Rahmati, B., Kiasalari, Z., Roghani, M., Khalili, M., & Ansari, F. (2017). Antidepressant and anxiolytic activity of *Lavandula officinalis* aerial parts hydroalcoholic extract in scopolamine-treated rats. Pharmaceutical Biology, 55(1), 958-965.

195. Rashid, M. (2020). Design, synthesis and ADMET prediction of bis-benzimidazole as anticancer agent. Bioorganic Chemistry, 96, 103576.

196. Rodgers, E., & Kupecz, D. (1999). Treating pain with Cox-2 inhibitors. The Nurse Practitioner, 24(11), 95-104.

197. Roux, D., & Catier, O. (2007). Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. Collection Porphyre, Edition Wolters Kluwer, Paris, France. ISBN 978-2-915585-52-0.

198. Rufino, A. T., Ribeiro, M., Sousa, C., Judas, F., Salgueiro, L., et al. (2015). Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. European Journal of Pharmacology, 750, 141-150.

199. Sałata, A., Buczkowska, H., & Nurzyńska-Wierdak, R. (2020). Yield, essential oil content, and quality performance of *Lavandula angustifolia* leaves, as affected by supplementary irrigation and drying methods. Agriculture, 10(12), 590.

200. Salehi, B., Mnayer, D., Özçelik, B., Altin, G., Kasapoğlu, K. N., et al. (2018). Plants of the genus *Lavandula*: From farm to pharmacy. Natural Product Communications, 13(10), 1934578X1801301037.

201. Salentin, S., Schreiber, S., Haupt, V. J., Adasme, M. F., & Schroeder, M. (2015). PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. Nucleic Acids Research, 43(W1), W443-W447.

202. Sallé, J. L., & Pelletier, J. (1991). Les huiles essentielles: Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Editions Frison-Roche, France. ISBN = 978-2-87671-073-3.

203. Samuelson, R., Lobl, M., Higgins, S., Clarey, D., & Wysong, A. (2020). The effects of Lavender essential oil on wound healing: A Review of the current evidence. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 26(8), 680-690.

204. Sayous, D. J., & Chevallier, J. (2008). La cosmétique bio (Vol. 10). Editions Eyrolles, France. ISBN = 978-2-212-54250-9.

205. Schöning-Stierand, K., Diedrich, K., Fährrolfes, R., Flachsenberg, F., Meyder, A., et al. (2020). Proteins Plus: Interactive analysis of protein–ligand binding interfaces. Nucleic Acids Research, 48(W1), W48-W53.

206. Serrato-Valenti, G., Bisio, A., Cornara, L., & Ciarallo, G. (1997). Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. Annals of Botany, 79(3), 329-336.

207. Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2019). Molecular docking in modern drug discovery: Principles and recent applications. Drug Discovery and Development-New Advances, 2, 1-21.

208. Shafaghat, A., Salimi, F., & Amani-Hooshyar, V. (2012). Phytochemical and antimicrobial activities of *Lavandula officinalis* leaves and stems against some pathogenic microorganisms. Journal of Medicinal Plants Research, 6(3), 455-60.

209. Sheikhan, F., Jahdi, F., Khoei, E. M., Shamsalizadeh, N., Sheikhan, M., et al. (2012). Episiotomy pain relief: Use of Lavender oil essence in primiparous Iranian women. Complementary Therapies in Clinical Practice, 18(1), 66-70.

210. Shellie, R., Mondello, L., Marriott, P., & Dugo, G. (2002). Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography–mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography. Journal of Chromatography A, 970(1-2), 225-234.

211. Shin, B. C., & Lee, M. S. (2007). Effects of aromatherapy acupressure on hemiplegic shoulder pain and motor power in stroke patients: A pilot study. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 13(2), 247-252.

212. Sienkiewicz, M., Głowacka, A., Kowalczyk, E., Wiktorowska-Owczarek, A., Jóźwiak-Bębenista, M., et al. (2014). The biological activities of cinnamon, geranium and lavender essential oils. Molecules, 19(12), 20929-20940.

213. Silva, G. L., Luft, C., Lunardelli, A., Amaral, R. H., Melo, D. A., et al. (2015). Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 87, 1397-1408.

214. Simpson, M. G. (2019). Plant systematics. Academic Press, Elsevier, MA, USA. ISBN = 9780128126288.

215. Skendi, A., Irakli, M., Chatzopoulou, P., Bouloumpasi, E., & Biliaderis, C. G. (2022). Phenolic extracts from solid wastes of the aromatic plant essential oil industry: Potential uses in food applications. Food Chemistry Advances, 100065.

216. Slimani, C., Sqalli, H., Chaimae, R. A. I. S., Farah, A., Lazraq, A., et al. (2022). Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of *Lavandula angustifolia* L. Notulae Scientia Biologicae, 14(1), 11172-11172.

217. Śmigielski, K. B., Prusinowska, R., Krosowiak, K., & Sikora, M. (2013). Comparison of qualitative and quantitative chemical composition of hydrolate and essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*). Journal of Essential Oil Research, 25(4), 291-299.

218. Smigielski, K., Prusinowska, R., Stobiecka, A., Kunicka-Styczyñska, A., & Gruska, R. (2018). Biological properties and chemical composition of essential oils from flowers and aerial parts of lavender (*Lavandula angustifolia*). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21(5), 1303-1314.

219. Sosa, S., Altinier, G., Politi, M., Braca, A., Morelli, I., et al. (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. Phytomedicine, 12(4), 271-277.

220. Souri, F., Rakhshan, K., Erfani, S., Azizi, Y., Nasseri Maleki, S., et al. (2019). Natural lavender oil (*Lavandula angustifolia*) exerts cardioprotective effects against myocardial infarction by targeting inflammation and oxidative stress. Inflammopharmacology, 27(4), 799-807.

221. Ștefan, G. A., Zamfirache, M. M., & Ivănescu, L. C. (2021). Histo-anatomical and micromorphological modifications of the stem and leaves in four cultivars of *Lavandula angustifolia* Mill. supplemented with hoagland nutrient solution. Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series), 31(4).

222. Stoll, F., Göller, A. H., & Hillisch, A. (2011). Utility of protein structures in overcoming ADMET-related issues of drug-like compounds. Drug Discovery Today, 16(11-12), 530-538.

223. Su, Y. W., Chao, S. H., Lee, M. H., Ou, T. Y., et al. (2010). Inhibitory effects of citronellol and geraniol on nitric oxide and prostaglandin E2 production in macrophages. Planta Medica, 76(15), 1666-1671.

224. Sumalan, R. M., Kuganov, R., Obistioiu, D., Popescu, I., Radulov, I., et al. (2020). Assessment of mint, basil, and lavender essential oil vapor-phase in antifungal protection and lemon fruit quality. Molecules, 25(8), 1831.

225. Sunseri, J., & Koes, D. R. (2016). Pharmit: interactive exploration of chemical space. Nucleic Acids Research, 44(W1), W442-W448.

226. Talbaoui, A., Jamaly, N., Aneb, M., Idrissi, A., Bouksaim, M., et al. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. Journal of Medicinal Plants Research, 6(31), 4593-4600.

227. Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Edition Tec et Doc, Lavoisier, France. ISBN 2-7430-0720-6.

228. Tisserand, R., & Young, R. (2013). Essential oil safety: A guide for health care professionals. Elsevier Health Sciences, Londres, Grande-Bretagne. ISBN 978-0-7020-5434-1.

229. Toutain, P. L. (2012). Paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques: Ce que tout praticien doit savoir. Pratique Veterinaire, 47, 414-417.

230. Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., et al. (2005). Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49(6), 2474-2478.

231. Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(1), 40-53.

232. Turner, G. W., Gershenzon, J., & Croteau, R. B. (2000). Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. Plant Physiology, 124(2), 655-664.

233. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2010). *In situ* SEM, TEM and AFM studies of the antimicrobial activity of lemon grass oil in liquid and vapour phase against *Candida albicans*. Micron, 41(7), 797-805.

234. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. Food Chemistry, 126(1), 228-235.

235. Ueno-Iio, T., Shibakura, M., Yokota, K., Aoe, M., Hyoda, T., et al. (2014). Lavender essential oil inhalation suppresses allergic airway inflammation and mucous cell hyperplasia in a murine model of asthma. Life Sciences, 108(2), 109-115.

236. Ulinski, T., & Bensman, A. (2004). Complications rénales des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Archives de Pédiatrie, 11(7), 885-888.

237. Upson, T.M. & Andrews, S. (2004). The Genus *Lavandula*. A Botanical Magazine Monograph. Royal Botanic Gardens, Kew, 442.

238. Uritu, C. M., Mihai, C. T., Stanciu, G. D., Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., et al. (2018). Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. Pain Research and Management, 7801543, 1-44.

239. Vakilian, K., Atarha, M., Bekhradi, R., & Chaman, R. (2011). Healing advantages of lavender essential oil during episiotomy recovery: A clinical trial. Complementary Therapies in Clinical Practice, 17(1), 50-53.

240. Valchev, H., Kolev, Z., Stoykova, B., & Kozuharova, E. (2022). Pollinators of *Lavandula angustifolia* Mill., an important factor for optimal production of lavender essential oil. BioRisk, 17, 297-307.

241. Valerio Jr, L. G. (2009). *In silico* toxicology for the pharmaceutical sciences. Toxicology and Applied Pharmacology, 241(3), 356-370.

242. Valková, V., Ďúranová, H., Galovičová, L., Vukovic, N. L., Vukic, M., et al. (2021). *In Vitro* antimicrobial activity of lavender, mint, and rosemary essential oils and the effect of their vapours on growth of Penicillium spp. in a bread model system. Molecules, 26(13), 3859.

243. Vârban, D., Zăhan, M., Pop, C. R., Socaci, S., Ștefan, R., et al. (2022). Physicochemical characterization and prospecting biological activity of some authentic transylvanian essential oils: Lavender, sage and basil. Metabolites, 12(10), 962.

244. Varban, R., Vidican, R., Vârban, D., Stoie, A., Gâdea, Ș., et al. (2022). Modelling plant morphometric parameters as predictors for successful cultivation of some medicinal Agastache species. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 50(1), 12638-12638.

245. Vijulie, I., Lequeux-Dincă, A. I., Preda, M., Mareci, A., & Matei, E. (2022). Could lavender farming go from a niche crop to a suitable solution for Romanian small farms?. Land, 11(5), 662.

246. Viljoen, A., Van Vuuren, S., Ernst, E., Klepser, M., Demirci, B., et al. (2003). Osmitopsis asteriscoides (Asteraceae)-the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. Journal of Ethnopharmacology, 88(2-3), 137-143.

247. Vishwakarma, R. K., Negi, A., & Negi, D. S. (2022). Development of potential COX inhibitor as anti-inflammatory agents from leaves of *Lantana camara* by *in-vitro* analysis, molecular docking and ADMET prediction. Journal of the Indian Chemical Society, 99(10), 100694.

248. Walasek-Janusz, M., Grzegorczyk, A., Zalewski, D., Malm, A., Gajcy, S., et al. (2022). Variation in the antimicrobial activity of essential oils from cultivars of *Lavandula angustifolia* and *L.× intermedia*. Agronomy, 12(12), 2955.

249. Wang, C. C., Lin, Y. C., Wang, S. S., Shih, C., Lin, Y. H., et al. (2017). SkinSensDB: A curated database for skin sensitization assays. Journal of Cheminformatics, 9(1), 1-6.

250. Wang, J., & Skolnik, S. (2009). Recent advances in physicochemical and ADMET profiling in drug discovery. Chemistry & Biodiversity, 6(11), 1887-1899.

251. Wang, Q., Li, X., Yang, H., Cai, Y., Wang, Y., et al. (2017). *In silico* prediction of serious eye irritation or corrosion potential of chemicals. RSC Advances, 7(11), 6697-6703.

252. Wells, R., Truong, F., Adal, A. M., Sarker, L. S., & Mahmoud, S. S. (2018). *Lavandula* essential oils: A current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. Natural Product Communications, 13(10), 1934578X1801301038.

253. Wilson, M. (2016). The New England Journal of Medicine: Commercial conflict of interest and revisiting the Vioxx scandal. Indian Journal of Medical Ethics, 1(3), 167-171.

254. Wilson, T. M., Poulson, A., Packer, C., Carlson, R. E., & Buch, R. M. (2021). Essential oil profile and yield of corolla, calyx, leaf, and whole flowering top of cultivated *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) from Utah. Molecules, 26(8), 2343.

255. Woronuk, G., Demissie, Z., Rheault, M., & Mahmoud, S. (2011). Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. Planta Medica, 77(01), 7-15.

256. Xiao, S., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., Fan, J., et al. (2021). The anti-inflammatory potential of *Cinnamomum camphora* (L.) essential oil *in vitro* and *in vivo*. Journal of Ethnopharmacology, 267, 113516.

257. Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., et al. (2021). ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. Nucleic Acids Research, 49(W1), W5-W14.

258. Yap, P. S. X., Krishnan, T., Yiap, B. C., Hu, C. P., Chan, K. G., et al. (2014). Membrane disruption and anti-quorum sensing effects of synergistic interaction between *Lavandula angustifolia* (lavender oil) in combination with antibiotic against plasmid-conferred multi-drug-resistant *Escherichia coli*. Journal of Applied Microbiology, 116(5), 1119-1128.

259. Yassine, E. Z., Dalila, B., Latifa, E. M., Smahan, B., Lebtar, S., et al. (2016). Phytochemical screening, anti-inflammatory activity and acute toxicity of hydro-ethanolic, flavonoid, tannin and mucilage extracts of *Lavandula stoechas* L. from Morocco. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 8(1), 31-37.

260. Zaika, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. Journal of Food Safety, 9(2), 97-118.

261. Zervosen, A., Sauvage, E., Frère, J. M., Charlier, P., & Luxen, A. (2012). Development of new drugs for an old target—the penicillin binding proteins. Molecules, 17(11), 12478-12505.

262. Zhang, C. E., Wong, S. M., Van de Haar, H. J., Staals, J., Jansen, J. F., et al. (2017). Blood–brain barrier leakage is more widespread in patients with cerebral small vessel disease. Neurology, 88(5), 426-432.

263. Zhang, L., Liang, X., Wang, B., Lin, Z., Ye, M., et al. (2020). Six herbs essential oils suppressing inflammatory responses via inhibiting COX-2/TNF-α/IL-6/NF-κB activation. Microchemical Journal, 156, 104769.

264. Zhao, Q., Zhu, L., Wang, S., Gao, Y., & Jin, F. (2022). Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: A systematic review. Journal of Ethnopharmacology, 115829.

265. Zhiri, A. et Baudoux, D. 2005. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Development, Luxembourg. ISBN 2-919905-27-9

266. Zuzarte, M., Francisco, V., Neves, B., Liberal, J., Cavaleiro, C., et al. (2022). *Lavandula viridis* L Her. essential oil inhibits the inflammatory response in macrophages through blockade of NF-KB signaling cascade. Frontiers in Pharmacology, 12, 695911.