



HAL
open science

L'intérêt de la RMN dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de lavande fine (*lavanda augustifolia*)

Khansaâ Belkasseh

► **To cite this version:**

Khansaâ Belkasseh. L'intérêt de la RMN dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de lavande fine (*lavanda augustifolia*). Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02459408

HAL Id: dumas-02459408

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02459408>

Submitted on 29 Jan 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE
Par

04 Mars 2019
Khansaâ BELKASSEH

**L'INTÉRÊT DE LA RMN DANS L'ANALYSE DE LA
COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE
ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE (*LAVANDULA
ANGUSTIFOLIA*)**

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury : **Pascal SONNET**, Professeur et Docteur en Pharmacie

Membres du jury : **Jean-François ARTHAUD**, Docteur en Pharmacie
Roland MOLINIE, Maître de Conférence

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier les membres du jury qui ont pris de leur temps afin que ce projet se concrétise : Pascal SONNET, Professeur et Docteur en Pharmacie et président du jury ; Jean-François ARTHAUD, Docteur en Pharmacie ; Roland MOLINIÉ, Maître de Conférence et directeur de thèse.

À Jean-François Arthaud, je vous remercie pour ces six mois de stage. Vous m'avez aidée à prendre confiance en moi et tous vos conseils m'ont beaucoup apporté, tant humainement que professionnellement.

À Roland Molinié, je vous remercie d'avoir accepté aussi rapidement d'être mon directeur de thèse. J'ai pu, grâce à vous, me reconstruire après l'internat.

À mes parents, merci pour votre amour inconditionnel. Merci d'avoir eu confiance en moi pendant toutes ces années. Je vous aime tant.

À Kaoutar, Fouad, Soundous, Samih et Othmane. Vous qui êtes loin, et pourtant si proches. Je sais que, quoi qu'il advienne, vous serez toujours là pour moi. Et merci à mon petit chouchou Isaac d'avoir mis son plus beau nœud papillon pour venir me voir.

À Manon, ma compagne de galère. Nous y sommes arrivées !!! En partie grâce à tes gouters riches en chocolat et huile de palme. Merci de m'avoir nourrie tous les jours, principale motivation pour aller en cours à 8 heures.

À Lucie. Merci pour tous ces moments de douceur. Je suis toujours ressortie de ton cocon coloré, l'esprit apaisé, et des étoiles pleins les yeux.

À Najat aussi, qui a insisté pour être citée ici. Settat RPZ.

À Arthur, mon pilier constant dans ce monde de chaos. Merci pour ta patience, tes conseils, tes leçons de conduite, tes remarques acerbes et j'en passe. Ne change pas. Nos disputes risqueraient de me manquer.

Aux pharmaciens, préparateurs et préparatrices que j'ai pu rencontrer sur mon début de chemin, je vous suis reconnaissante de m'avoir apporté votre expérience et votre savoir qui ont construit la professionnelle que je deviens.

À tous ceux que j'aurais malencontreusement oubliés de citer en espérant qu'ils se reconnaîtront.

Et bien sûr, vous, pour le temps que vous allez me consacrer en lisant ce manuscrit.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	4
LISTE DES TABLEAUX	6
LEXIQUE BOTANIQUE	7
INTRODUCTION GÉNÉRALE	9
PARTIE A	10
LES HUILES ESSENTIELLES	10
I- GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES	11
1- Définition.....	11
2- Réglementation.....	12
3- Monopole pharmaceutique	13
II - QUALITE DES HUILES ESSENTIELLES	15
1- Matières végétales primaires.....	15
2- Huiles essentielles.....	19
PARTIE B	29
L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE	29
I- DE LA FLEUR A L'HUILE ESSENTIELLE	30
1- Caractéristiques famille des lamiacées	30
2- Les différentes lavandes.....	33
II- COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE	42
1- Linalol.....	42
2- Acétate de linalyle	46
III- UTILISATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE	49
1- Propriétés.....	49
2- Toxicité et tolérance	51
3- Cas particulier des enfants	53
4- Modes d'administration	54
5- Conseils à l'officine	56
PARTIE C	59
LA RMN APPLIQUÉE À L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE	59
I- Technique de RMN	60
1- Généralités sur la RMN	60
2- RMN monodimensionnelle.....	61
3- RMN bi-dimensionnelle :	63
4- RMN quantitative :	65
5- RMN appliquée aux huiles essentielles :	67
II- Analyse de l'huile essentielle de lavande fine par RMN	69
1- Matériels et méthodes	69
2- Résultats et discussion	71
Conclusion générale	99

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Huile essentielle de *Citrus aurantifolia*

Figure 2 : Feuilles de Ravintsara (*Cinnamomum camphora Sieb.*) à droite ; et feuilles de Ravensare (*Ravensara aromatica Sonnerat*) à gauche

Figure 3 : Huile essentielle de Cannelle de Ceylan feuille (à gauche), et huile essentielle de Cannelle de Ceylan écorce (à droite)

Figure 4 : Processus d'hydro-distillation de matière végétale

Figure 5 : Teneur en tocophérols dans l'huile de *Citrus reticulata*

Figure 6 : Évolution du nombre de publications dans le domaine des techniques analytiques appliquées aux HE de 2000-2015

Figure 7 : Dessin de cymes de formes différentes

Figure 8 : Caractéristiques de la famille des Lamiacées

Figure 9 : Dessin des différents types de lavandes

Figure 10 : Structure chimique des principaux composés de l'huile essentielle de lavande fine

Figure 11 : Structure chimique de la molécule de linalol

Figure 12 : Structure chimique de la molécule d'acétate de linalyle

Figure 13 : spectre RMN-¹H de la quinine, à 500 MHz

Figure 14 : Spectre RMN-¹³C de la quinine, à 500 MHz sans découplage des protons

Figure 15 : Spectre RMN-¹³C de la quinine, à 500 MHz avec découplage à large bande des protons

Figure 16 : Carte HSQC de l'éthylbenzène

Figure 17 : molécule de linalol numérotée

Figure 18 : Triangle de Pascal et son application à la RMN pour $I = \frac{1}{2}$

Figure 19 : Spectre RMN-¹H du linalol entre 0 et 8 ppm

Figure 20 : Spectre RMN-¹H du linalol entre 4,8 et 6 ppm

Figure 21 : DEPT 135-q RMN-¹³C du linalol entre 0 et 160 ppm

Figure 22 : Carte HSQC du linalol

Figure 23 : molécule d'acétate de linalyle numérotée

Figure 24 : Spectre RMN-¹H de l'acétate de linalyle entre 4,6 ppm et 6,4 ppm

Figure 25 : Spectre RMN-¹H de l'acétate de linalyle entre 1,3 ppm et 2,1 ppm

Figure 26 : DEPT 135-q RMN-¹³C de l'acétate de linalyle entre 0 et 180 ppm

Figure 27 : Carte HSQC de l'acétate de linalyle

Figure 28 : Spectre RMN de l'huile essentielle de lavande commerciale entre 1,0 et 2,2 ppm

Figure 29 : Spectre RMN de l'huile essentielle de lavande commerciale entre 4,9 et 6,1 ppm

Figure 30 : Spectre RMN-1H de l'huile essentielle commerciale entre 0 et 6,8 ppm

Figure 31 : Carte HSQC de l'huile essentielle commerciale (zoom 1)

Figure 32 : Carte HSQC de l'huile essentielle commerciale (Zoom 2)

Figure 33 : Signaux RMN-¹H des solutions de la gamme étalon superposés

Figure 34 : Gamme d'étalonnage pour le dosage du linalol dans l'huile essentielle commerciale

Figure 35 : Gamme d'étalonnage pour le dosage de l'acétate de linalyle dans l'huile essentielle commerciale

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielles de *Cinnamomum camphora* et de *Ravensara aromatica*

Tableau 2 : Caractéristiques de l'huile essentielle de coriandre (*Coriandrum sativum L.*)

Tableau 3 : Caractéristiques des trois chémotypes de l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*)

Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle de lavande fine (*Lavandula angustifolia*)

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de lavande aspic (*Lavandula latifolia*)

Tableau 6 : Composition chimique des trois principales sous-variétés de Lavandin

Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de lavande papillon *Lavandula stoechas*

Tableau 8 : Principales caractéristiques physico-chimiques du linalol

Tableau 9 : Principales caractéristiques physico-chimiques de l'acétate de linalyle

Tableau 10 : Récapitulatif de l'utilisation de l'huile essentielle de lavande fine

Tableau 11 : Attribution des signaux RMN-¹H du linalol

Tableau 12 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹H du linalol avec la littérature

Tableau 13 : Déplacement des signaux RMN-¹³C du linalol

Tableau 14 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹³C du linalol avec la littérature

Tableau 15 : Attribution des signaux RMN-¹H de l'acétate de linalyle

Tableau 16 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹H de l'acétate de linalyle avec la littérature

Tableau 17 : Attribution des signaux RMN-¹³C de l'acétate de linalyle

Tableau 18 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹³C de l'acétate de linalyle avec la littérature

Tableau 19 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹H du linalol de l'huile essentielle commerciale avec le standard

Tableau 20 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹H de l'acétate de linalyle de l'huile essentielle commerciale avec le standard

Tableau 21 : Corrélation entre la concentration en linalol et l'aire sous la courbe (AUC) du signal de H₂

Tableau 22 : Corrélation entre la concentration en acétate de linalyle et l'aire sous la courbe (AUC) du signal de H₂

LEXIQUE BOTANIQUE

Akène : fruit sec indéhiscent à graine unique.

Anthère : partie terminale de l'étamine ; produit et renferme le pollen.

Bilabié : qualifie une fleur dont le calice ou la corolle ont leurs pièces soudées et forment deux lèvres, l'une au-dessus de l'autre.

Calice : ensemble des sépales.

Carpelle : organe sexuel femelle de la fleur. Comprend trois parties : l'ovaire surmonté du style et le stigmate.

Corolle : ensemble formé par les pétales d'une fleur. En général colorée, elle a pour fonction d'attirer les insectes pollinisateurs.

Cuticule : revêtement externe de la paroi des cellules de l'épiderme de la tige et des feuilles.

Cymes : Inflorescence composée dont l'axe principal terminé par une fleur, se ramifie en axes secondaires, eux mêmes terminés par une fleur.

Didynme : androcée présentant deux grandes étamines et deux petites.

Étamine : organe sexuel mâle de la fleur.

Exalbuminée : Graine dépourvue d'albumen.

Gynécée : ensemble des carpelles formant la partie femelle d'une fleur.

Herbacées : qui a la consistance des herbes, non ligneux.

Inflorescence : mode de groupement des fleurs sur une même tige (épi, grappe etc.).

Limbe : partie élargie de la feuille ou du pétale

Opposées-décussées : deux feuilles insérées au même niveau, formant un angle de 90° avec le plan foliaire suivant.

Pétale : pièce de la corolle.

Périanthe : enveloppe protectrice d'une fleur, constituée d'un calice et d'une corolle

Poils tecteurs : poil épidermique. Possède un rôle protecteur.

Sépales : Pièce du calice de la fleur.

Stipules : petits appendices symétriques disposés de chaque côté du pétiole de certaines feuilles.

Stigmates : partie différenciée du carpelle, destinée à recevoir les grains de pollen.

Tétrakène : Fruit constitué de quatre akènes.

Tricolpés : muni de trois sillons.

Verticille : ensemble d'organes disposés en cercle au même niveau autour d'un axe.

Zygomorphes : fleur comportant un seul axe de symétrie.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Aujourd'hui, l'intérêt porté à la préservation de la planète et le développement de produits naturels redonne toute sa place à l'aromathérapie. C'est dans ce contexte que les huiles essentielles de lavandes connaissent un essor, notamment comme une alternative thérapeutique à la médecine traditionnelle dans certaines indications. Cependant cette naturalité ne garantit pas une absence totale de risque et de toxicité. Pour y remédier, il existe des critères d'appréciation de qualité des huiles essentielles, dont l'étude de leur composition chimique. L'objectif de ce travail est d'évaluer la place de la technique de résonance magnétique nucléaire dans l'analyse chimique de l'huile essentielle de lavande fine. Ce travail sera appuyé par une recherche bibliographique et une analyse des recommandations appliquées aux huiles essentielles.

Nous étudierons d'abord les huiles essentielles dans leur ensemble, ainsi que les critères garantissant leur qualité. Cette première partie permet de comprendre la problématique de la reconnaissance variétale des huiles essentielles, et l'importance de la composition chimique. Par la suite, nous nous pencherons sur l'aspect botanique du genre *Lavandula* ; avant de nous concentrer sur l'huile essentielle de lavande fine, sa composition chimique et les modalités de son utilisation. Enfin, la dernière partie est consacrée à la résonance magnétique nucléaire appliquée sur une huile essentielle de lavande fine commerciale. On y exposera et on discutera des différents résultats obtenus pour l'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle.

PARTIE A

LES HUILES ESSENTIELLES

I- GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES

1- Définition

Plusieurs définitions des huiles essentielles existent dans la littérature. Lorsqu'on se tourne vers la Pharmacopée Européenne, on peut lire que l'huile essentielle est un « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».(1)

Pour l'Association Française de Normalisation (AFNOR) par contre, l'huile essentielle est perçue comme un « produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche », selon la définition donnée par la norme ISO 9235.(2)

Ainsi, on remarque assez aisément les similitudes entre ces deux définitions, où la notion essentielle de matière première végétale qui apparaît en amont, laisse suite aux diverses techniques d'extraction effectuées lors de la synthèse. La Pharmacopée Européenne ajoute toutefois quelques précisions quant à l'état de la matière première végétale et des traitements appropriés applicables aux huiles essentielles. Certains fruits du genre *Citrus* ne peuvent être traités autrement qu'à l'état frais ; cette exception étant faite, la matière première végétale peut être « fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée ».(1)



Figure 1 : Huile essentielle de *Citrus aurantifolia*(3)

Enfin, les huiles essentielles peuvent voir leur dénomination modifiée en fonction du traitement qui leur est apporté. Ainsi elles peuvent être commercialisées comme des huiles « déterpénées » ou « désesquiterpénées » si elles sont privées partiellement ou totalement d'hydrocarbures monoterpéniques et/ou sesquiterpéniques. Dans le cas où elles subissent une distillation fractionnée, elles sont dites « rectifiées » ; et enfin, si elles subissent une séparation partielle ou complète d'un ou plusieurs constituants, on dit que l'huile essentielle est privée de « x ».(1)

2- Réglementation

Les huiles essentielles, hors monopole pharmaceutique, sont facilement accessibles en France. Vendues en pharmacie, parapharmacie, magasins spécialisés (BIO) ou encore sur internet, elles ont la particularité de ne pas être soumises à une réglementation qui leur est propre. Il faut donc appliquer la réglementation en vigueur, en fonction de l'usage préconisé.

De ce fait, ces huiles doivent être présentées sur le marché avec une fonction déterminée. Elles sont classées dans une catégorie spécifique, qui elle, est soumise à une réglementation particulière, comme c'est le cas des produits chimiques, des compléments alimentaires, des dispositifs médicaux etc.

La responsabilité de la fonction, de l'étiquetage et de la classification des huiles essentielles dans la catégorie appropriée incombe à l'institution qui les met sur le marché, comme le précise la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) qui s'appuie sur l'article L. 111-1 du Code de la consommation : « Avant que le consommateur ne soit lié par un contrat de vente de biens ou de fourniture de services, le professionnel communique au consommateur, de manière lisible et compréhensible (...) Les caractéristiques essentielles du bien ou du service ».(4)

En cas de manquement à ces règles, et de commercialisation d'huiles essentielles pour un usage auxquelles elles n'étaient pas destinées initialement, l'article L. 213-1 du Code de la consommation s'applique, pour délit de tromperie : « Sera puni d'un emprisonnement de deux ans au plus et d'une amende de 300 000 euros quiconque, qu'il soit ou non partie au contrat, aura trompé ou tenté de tromper le contractant, par quelque moyen ou procédé que ce soit, même par l'intermédiaire d'un tiers :

1° Soit sur la nature, l'espèce, l'origine, les qualités substantielles, la composition ou la teneur en principes utiles de toutes marchandises ;

2° Soit sur la quantité des choses livrées ou sur leur identité par la livraison d'une marchandise autre que la chose déterminée qui a fait l'objet du contrat ;

3° Soit sur l'aptitude à l'emploi, les risques inhérents à l'utilisation du produit, les contrôles effectués, les modes d'emploi ou les précautions à prendre. »(5)

Les fabricants doivent se soumettre à la législation chimique, REACH (Registration Evaluation Autorisation and restriction of CHemicals) pour les étapes de classification, étiquetage, et emballage ; mais peuvent en être exemptés dans certaines conditions :

« Sauf disposition contraire du présent règlement, tout fabricant ou importateur d'une substance, telle quelle ou contenue dans un ou plusieurs mélange(s), en quantités de 1 tonne ou plus par an, soumet une demande d'enregistrement à l'agence (l'agence européenne des produits chimiques instituée par le présent règlement). Les substances chimiques déjà soumises à d'autres législations, comme les médicaments, les déchets ou les substances radioactives, sont partiellement ou complètement exemptées des exigences de REACH. »(6)

3- Monopole pharmaceutique

Toutes les huiles essentielles ne sont pas commercialisables librement. Certaines d'entre elles sont soumises au monopole pharmaceutique, comme le précise l'article L4211-1 du Code de la Santé Publique CSP : « Sont réservées aux pharmaciens, sauf les dérogations prévues aux articles du présent code : 6° La vente au détail et toute dispensation au public des huiles essentielles dont la liste est fixée par décret ainsi que de leurs dilutions et préparations ne constituant ni des produits cosmétiques, ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires ». (7)

Sont incluses dans ce monopole les 15 huiles essentielles listées dans le décret n°2007-1221 du 3 août 2007 (modifiant l'article D.4211-13 du Code de la Santé Publique), avec les noms vernaculaires et les dénominations botaniques des plantes dont elles proviennent :

- grande absinthe, *Artemisia absinthium* L.
- petite absinthe, *Artemisia pontica* L.
- armoise commune, *Artemisia vulgaris* L.
- armoise blanche, *Artemisia herba alba* Asso
- armoise arborescente, *Artemisia arborescens* L.
- chénopode vermifuge, *Chenopodium ambrosioides* L. et *Chenopodium anthelminticum* L.
- hysope, *Hyssopus officinalis* L.
- moutarde jonciforme, *Brassica juncea* [L.] Czernj. et Cosson
- rue, *Ruta graveolens* L.
- sabine, *Juniperus sabina* L.
- sassafras, *Sassafras albidum* [Nutt.] Nees
- sauge officinale, *Salvia officinalis* L.
- tanaïsie, *Tanacetum vulgare* L.
- thuya, *Thuja plicata* Donn ex D. Don.
- thuya du Canada ou cèdre blanc, *Thuja occidentalis* L. ; et cèdre de Corée *Thuja Koraenensis* Nakai, dits "cèdre feuille". (8)

La commercialisation de ces huiles de manière intentionnelle, en absence des qualifications requises constitue un délit d'exercice illégal de la pharmacie, passible de 2 ans d'emprisonnement et de 30000€ d'amende, conformément à l'article L 4223-1 du CSP.(9)

II - QUALITE DES HUILES ESSENTIELLES

1- Matières végétales primaires

a- Dénomination botanique

La dénomination des matières premières végétales, doit impérativement correspondre à une définition scientifique botanique selon les règles linnéennes, dans le but d'avoir un maximum de précisions concernant la plante et sa taxonomie.

Autrement, en se basant uniquement sur la dénomination commune (en français), des confusions sont possibles, soit à cause d'un quelconque changement de nomenclature, soit parce que les plantes possèdent des noms proches. L'exemple le plus parlant est celui de la marjolaine. En effet, malgré ce que l'on pourrait croire de prime abord, la Marjolaine à coquille (*Origanum majorana L.*) et la Marjolaine sylvestre (*Thymus mastichina L.*) appartiennent à deux genres botaniques différents (*Origanum* pour l'une, et *Thymus* pour l'autre). Elles possèdent ainsi des propriétés différentes.(10)

Nous pouvons également citer le cas de ravintsara et ravensare. En effet, il y a souvent confusion entre l'huile essentielle de ravintsara (*Cinnamomum camphora Sieb.*) et l'huile de ravensare (*Ravensara aromatica Sonnerat*), malgré leur appartenance à deux genres différents.



Figure 2 : Feuilles de Ravintsara (*Cinnamomum camphora Sieb.*) à droite (11) ; et feuilles de Ravensare (*Ravensara aromatica Sonnerat*) à gauche (12)

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielles de *Cinnamomum camphora* et de *Ravensara aromatica*

<i>Cinnamomum camphora</i>	<i>Ravensara aromatica</i>
Sabinène 11-17%	Limonène 16 – 22%
Alpha-pinène 4,5 – 5,5 %	Sabinène 16,5 – 22 %
Béta-pinène 2 – 2,7 %	Alcool monoterpénique 6 – 12%
1,8 cinéole 52 – 58 %	Carbures sesquiterpéniques 4 – 7 %
Alpha-terpinéol 6,60 – 9,5 %	Méthyleugénol 4 – 7 %
Terpinène 1-ol-4 1,7 – 3,5%	Méthylchavicol 1,5 – 4 %
Linalol 1,7%	
Carbures Sesquiterpéniques 1 – 2%	

En analysant les constituants de chacune des huiles, nous pouvons constater la différence évidente de composition, impliquant des indications différentes pour chacune d'elle. L'huile de ravintsara est un excellent anti-infectieux (bactéricide, antifongique et antiviral) utilisé surtout au niveau de la sphère ORL (oto-rhino-laryngologie) ; tandis que l'huile de ravensara possède des propriétés anti-inflammatoires et immuno-stimulantes.(10)

Pour éviter ce type d'erreur, la classification communément utilisée, appelée classification linéenne, se base sur le nom latin. En premier lieu, on cite le genre (avec la première lettre en majuscule), suivi du nom d'espèce (avec la première lettre en minuscule), et enfin l'initiale ou l'abréviation du premier botaniste ayant décrit la plante (on utilisera L. pour désigner Linné, Labill. pour Labillardière, etc.). Éventuellement quand cela parait nécessaire, il est possible de citer la sous-espèce ou la variété.(1)

Pour l'exemple de la lavande fine, on obtient ainsi : (*Lavandula angustifolia* Mill.)

Genre : Lavandula

Espèce : Angustifolia

Premier botaniste descripteur : Phillip Miller

En cas de doute sur la correspondance des noms communs et de la dénomination latine, ou sur la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle, la norme ISO 4720 reste la référence à suivre. Elle fournit la liste exhaustive des noms botaniques des plantes utilisées pour la production des huiles essentielles, ainsi que les noms communs des huiles essentielles en anglais et en français. Toutefois cette liste n'est pas définitive ; une nouvelle norme, ISO/DIS 4720 est actuellement en cours d'élaboration pour remplacer celle-ci.(13)

b- Conditions de production de la plante

Après l'identification précise de la matière première végétale, l'étape suivante consiste à déterminer les conditions de sa production ; tout d'abord en déterminant le caractère sauvage ou cultivé de la plante.

En effet, cette distinction joue un rôle déterminant à la fois sur l'aspect qualitatif mais aussi quantitatif des métabolites produits par la plante.(1)

Quand il s'agit de plantes cultivées, il faut veiller à récolter un maximum d'informations concernant leur condition de culture et de récolte ; à savoir le lieu exact de la culture, l'altitude, les conditions environnementales d'obtention et de production, l'éventuelle utilisation de pesticides etc. Les conditions de séchage, de fragmentation, et de stockage sont tout aussi importantes pour déterminer la qualité des végétaux.(1)

De plus, il est primordial de garantir l'absence d'impuretés quelles qu'elles soient ; comme par exemple les infections fongiques, une éventuelle contamination animale, ou la présence de terre ou de poussière. La plante ne doit pas non plus présenter de signe de pourriture ni d'endommagement.(1)

Pour ce qui est de la récolte, l'accumulation de certains métabolites peut varier au cours du temps, en fonction des poussées de biosynthèse. Selon certaines études scientifiques, il est possible de définir le moment optimal de la récolte. Cela peut correspondre à une saison, un mois ou même un moment déterminé dans la journée. Ainsi la période de récolte optimale est déterminée afin d'avoir un pourcentage élevé en métabolites actifs et/ou un faible taux de molécules toxiques. On parle alors de chronobiologie.(1)

S'ensuit alors la phase de stockage et de conservation. Les deux procédés fréquemment employés pour assurer la bonne conservation de la plante sont la distillation immédiate ou le séchage soigneux de la plante. Leur but est de limiter voire de supprimer toute prolifération microbienne, qu'elle soit bactérienne ou fongique, sans pour autant dégrader les constituants de la plante, notamment ceux dont découle l'activité thérapeutique. Il faut donc inhiber toute activité enzymatique pendant le stockage.(1)

Dans l'éventualité où des traitements additionnels ont été employés lors du processus d'exploitation de la plante, il est primordial de démontrer leur innocuité directe, et indirecte (leur toxicité pouvant être exercée par le biais de résidus nocifs) ; et de toute évidence ils ne doivent en aucun cas altérer les constituants originels de la plante.(1)

c- Partie de la plante utilisée

Tout d'abord, il faut rappeler que toutes les plantes ne produisent pas des huiles essentielles. C'est une caractéristique quasi exclusive des végétaux supérieurs.

Ces huiles peuvent s'accumuler dans un ou plusieurs organes végétaux. L'eucalyptus et le laurier noble par exemple produisent leurs huiles essentielles respectives à partir de leurs feuilles, tandis que les huiles de lavande et de rose s'accumulent dans les fleurs. Le bois, les racines, les rhizomes ou encore les graines peuvent également être sources d'huiles essentielles.(14)

Toutefois, dans certains cas, une même plante peut produire deux types d'huiles essentielles à partir de deux organes différents, comme c'est le cas pour la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*). À partir de l'écorce de la plante, on peut extraire une huile jaune clair tirant sur le brun, dont le composé majoritaire est l'aldéhyde cinnamique à 65%. Tandis qu'à partir des feuilles de cette même plante, on obtient une huile jaune clair, composée à 80% d'eugénol, se rapprochant beaucoup plus de la composition de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). On en déduit ainsi le caractère important que constitue la partie utilisée de la plante dans la production de l'huile essentielle.(15)



Figure 3 : Huile essentielle de Cannelle de Ceylan feuille (à gauche), et huile essentielle de Cannelle de Ceylan écorce (à droite)(16)

2- Huiles essentielles

a- Mode d'obtention

La Pharmacopée Européenne définit trois modes d'obtentions d'huiles essentielles :

- L'entraînement à la vapeur d'eau appelé « hydro- distillation »
- La distillation sèche
- Un « procédé mécanique sans chauffage » correspondant à l'expression à froid

Le choix de la méthode la plus adéquate dépend en grande partie de la nature et de l'état initial de la matière première. Il conditionne ainsi les caractéristiques de l'huile essentielle, que sont la viscosité, la couleur, la solubilité, et la volatilité de l'huile, mais également la teneur en certains composés qui sont ainsi plus ou moins concentrés.(1)

Entraînement à la vapeur d'eau ou hydro-distillation

Ce procédé ancien, datant de l'antiquité, consiste à extraire les substances aromatiques du matériel végétal, en les entraînant grâce à la vapeur d'eau.

Pour ce faire, de la vapeur d'eau est d'abord produite dans un premier ballon avant d'être mise en présence avec la matière première végétale. Lors de son avancée dans le circuit de l'appareil, cette vapeur entraîne avec elle des substances volatiles dans une sorte de mélange vaporeux. En passant par un conduit réfrigéré, on assiste alors à un phénomène de condensation. Le distillat recueilli à la fin du conduit est composé de deux phases qu'il va falloir séparer par décantation :

- Une phase huileuse qui correspond à l'huile essentielle
- Une phase aqueuse, appelée également « eau aromatique » ou « eau distillée florale »

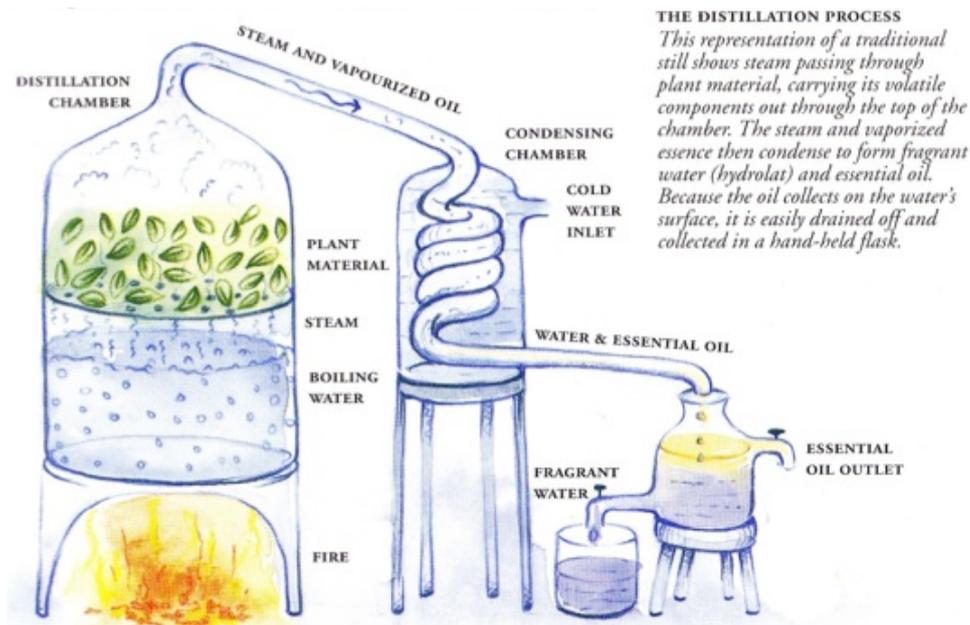


Figure 4 : Processus d'hydro-distillation de matière végétale (17)

Cette technique d'extraction présente plusieurs avantages. D'un point de vue purement chimique, elle garantit la conservation des composés thermolabiles. Autrement, avec une simple distillation, de nombreux composés de faible volatilité, finiraient par se dégrader au-delà d'une certaine température.

L'hydro-distillation permet également d'obtenir le meilleur rendement en huile essentielle, tout en restant simple et peu coûteuse. Elle est en effet considérée comme étant la méthode d'extraction la plus économique. Toutefois, certaines exceptions subsistent. En effet, quelques huiles essentielles possèdent un rendement extrêmement faible même en utilisant cette technique. C'est le cas par exemple de la Mélisse officinale (*Melissa officinalis*) dont le rendement avoisine les 0,01%.

Actuellement, diverses variantes à cette méthode voient le jour, dans le but d'améliorer le rendement et/ou de diminuer le temps de chauffage. Cela passe par une distillation sous pression réduite par exemple.(1,18)

Distillation sèche

Même si elle est citée dans la Pharmacopée Européenne, la distillation sèche reste une technique d'extraction peu utilisée dans le cadre de synthèse des huiles essentielles. Principalement réservée aux plantes fragiles tels que le jasmin et la rose, elle est également applicable pour traiter des parties précises des végétaux comme le bois, l'écorce et les racines.(1)

Le principe est simple. Il consiste à chauffer les plantes ou des parties de plantes, sans addition d'eau ou de vapeur d'eau, à température graduellement élevée. La chaleur, par son action catalytique, induit la décomposition du corps chauffé en substances non volatiles d'un côté et volatiles de l'autre. Ces dernières vont par la suite se condenser au contact des parois froides du récipient de récupération, donnant ainsi l'huile essentielle.(19)

Globalement, ce procédé permet à la matière de se décomposer sans altérer les molécules thermosensibles ; toutefois son rendement reste extrêmement faible.(19)

Expression à froid

Cette technique d'extraction concerne principalement les fruits d'agrumes à l'état frais, *Citrus spp.*, tels que l'orange, la mandarine, le citron ou encore la bergamote. Le procédé purement mécanique, est réalisé à température ambiante dans le but de préserver les composants terpéniques et aldéhydiques thermosensibles. Pour ce faire, les péricarpes des fruits, appelés plus communément « zestes », sont dilacérés, induisant ainsi une rupture des poches sécrétrices (sacs oléifères). Il suffit alors de récupérer le contenu de ces poches par un procédé physique.(14)

Grâce aux avancées technologiques et aux installations industrielles performantes, il est maintenant possible de récupérer simultanément le jus du fruit et l'huile essentielle. Les eaux résiduaires sont également recyclées, grâce à un traitement enzymatique, ce qui peut conduire à un rendement final en huile essentielle très élevé. S'ajoute à cet avantage, la présence non négligeable de tocophérols à activité antioxydante, assurant la stabilité de l'huile. C'est le cas par exemple de *Citrus reticulata*, pour lequel la chromatographie liquide à haute performance permet d'affirmer la présence de 66 mg de tocophérols pour 100 g d'huile.(14,20)

Teneurs en familles de constituants insaponifiables dans l'huile de la graine

Famille chimique insaponifiable	Teneurs (mg/100 g d'huile)
	Réf. (2)
Tocophérols (α -tocophérol domine)	66 (CLHP)

Figure 5 : Teneur en tocophérols dans l'huile de *Citrus reticulata*

La singularité des huiles obtenues grâce à cette technique, par rapport aux deux précédentes, réside dans la présence de constituants apolaires et non volatiles, tels que les flavonoïdes ou les furanocoumarines, non extractibles par distillation. Cette composition chimique différente confère aux huiles des propriétés supplémentaires, toxiques, photosensibilisantes, notamment à cause de la phototoxicité des furanocoumarines linéaires tels que 8-méthoxypsoralène ou le 5-méthoxypsoralène. Effectivement, en cas d'exposition à la lumière solaire après un contact cutané avec des huiles essentielles de *Citrus*, des dermatites aiguës ou des vésicules peuvent apparaître sur la surface de la peau, laissant place à des plaques d'hyperpigmentation par la suite. Ces risques sont toutefois limités grâce à la réglementation européenne qui interdit la présence de furanocoumarines dans la composition des produits cosmétiques, sauf s'ils sont naturellement présents dans les huiles essentielles.(14)

b- Caractéristiques physico-chimiques

Les huiles essentielles partagent des propriétés physiques communes entre elles. Habituellement liquides à température ambiante, certaines cristallisent à température plus basse comme l'huile d'anis vert (*Pimpinella anisum L. = Anisum vulgare Gärtner*) par exemple. Leur consistance est huileuse, mais non grasse contrairement aux idées répandues.(1,21)

En général, chacune d'entre elles possède une odeur particulière en fonction des composés qui la constituent.

Les huiles essentielles sont habituellement teintées d'une couleur jaune plus ou moins intense. Cependant certaines d'entre elles font exception à la règle. L'huile essentielle de Bergamote (*Citrus aurantium L.*) se distingue par sa couleur vert pâle ; tandis que l'huile de Cannelle de Ceylan (*Cinnamomum aromaticum L.*) offre une gamme de rouge allant d'une teinte blafarde à un rouge intense et prononcé.(15)

La densité des huiles essentielles figure également parmi les critères physico-chimiques d'identification ; d'autant plus que ce facteur détermine la phase à récupérer à l'issue de l'hydro-distillation. Dans la grande majorité des cas, la densité de l'huile est inférieure à celle de l'eau. Dans le cas de la Valériane officinale (*Valeriana officinalis*), l'huile essentielle possède une densité variant entre 0,92 et 0,965 par exemple. Mais ce n'est pas le cas de toutes les huiles. En effet, la densité de l'huile essentielle de clou de girofle (*Eugenia caryophyllus*) se situe entre 1,05 et 1,070, supérieure donc à celle de l'eau. Dans ce cas précis, il faudra donc récupérer l'huile au fond de l'essencier en fin de distillation, le surnageant étant la phase aqueuse.(22)

Après avoir analysé l'aspect et la densité de ces huiles, il est nécessaire d'évaluer leur indice de réfraction, leur pouvoir rotatoire ainsi que leur solubilité dans différents solvants organiques tels que l'acétone et l'éthanol.(1)

Enfin, la pharmacopée européenne exige, en plus des critères énumérés ci-dessus, le dosage des principaux constituants chimiques des huiles essentielles. Un dosage exhaustif relève de l'impossible au vu de la complexité de la composition ; c'est pourquoi les principales molécules recherchées appartiennent principalement à deux groupes : les terpénoïdes et les substances dérivées de l'acide shikimique.(1)

En appliquant tous ces critères sur l'huile essentielle de coriandre, on obtient la fiche caractéristique suivante (21) :

Tableau 2 : Caractéristiques de l'huile essentielle de coriandre (*Coriandrum sativum L.*)

Nom latin	<i>Coriandrum sativum L.</i>	
Organe végétal	- Fruits - Herbe	
Couleur	Liquide mobile, incolore à jaune pâle	
Odeur	Caractéristique, douce, liquoreuse	
Densité	0,862 à 0,878	
Indice de réfraction	1,462 à 1,470	
Pouvoir rotatoire	+ 7° à + 13°	
Solubilité dans l'éthanol dilué (% en volume)	Moins de 8 volumes d'éthanol 65%	
Principaux constituants chimiques	Huile essentielle de fruits	Huile essentielle d'herbe
	Alpha pinène (3 à 7%)	n-décanal
	Beta-myrcène (0,5 à 1,5%)	
	Limonène (2 à 5%)	n-déc-2-én-1-al
	Gamma-terpinène (2 à 7 %)	
	Linalol (65 à 78%)	2-méthylnon-2-én-1-al (configuration E)
	Camphre (4 à 6%)	
	Alpha terpinéol (0,5 à 1,5 %)	
	Geraniol (0,5 à 3%)	Béta-myrcène
Acétate de géranyle (1 à 3,5%)		

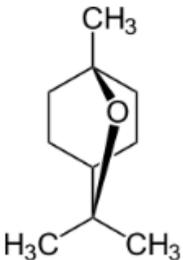
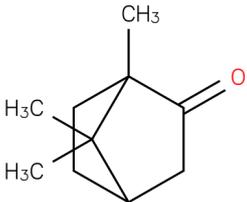
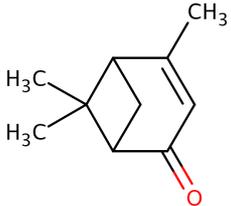
c- Chémotype

Si une seule et même plante peut produire deux huiles essentielles différentes, deux plantes, appartenant à la même espèce botanique, possédant le même nom latin, cultivées à deux endroits différents peuvent également présenter un polymorphisme chimique, avec une variation au niveau de leur composition : c'est la notion de chémotype ou chimiotype, indiquée par l'abréviation (ct).(23)

Ce phénomène peut s'expliquer par différents facteurs, tels que l'altitude, l'humidité, l'ensoleillement, la composition du sol de culture, ou encore la période de récolte. Nous prendrons pour exemple le cas du romarin (*Rosmarinus officinalis*). Nous pouvons recenser trois chémotypes différents pour cette plante aromatique, en fonction de son lieu de culture : le 1-8 cinéole en Afrique du nord (Maroc) ; le camphre en Europe (France et Espagne) ; et le verbénone en Europe également (Corse).(10)

Dans chacune de ces huiles essentielles, nous retrouvons des proportions différentes des métabolites présents. Certains sont parfois complètement absents, comme la molécule verbénone dont la teneur est nulle dans le chémotype 1-8 cinéole. Ce sont ces variations qui expliquent leur différence d'activité, de toxicité et d'utilisation.(10)

Tableau 3 : Caractéristiques des trois chémotypes de l'huile essentielle de romarin
(*Rosmarinus officinalis*)

Chémotype	Activités	Constituants
<p>1-8 cinéole</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Expectorant - Mucolytique 	<p>1-8 cinéole (40 à 45 %) Camphre (9 à 12 %) Acétate de bornyle (1%)</p>
<p>Camphre</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Décontractant - Musculaire - Spasmolytique - Circulatoire 	<p>1-8 cinéole (17 à 25 %) Camphre (20 à 25 %) Verbénone (1,5%) Acétate de bornyle (2,5%)</p>
<p>Verbénone</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Spasmolytique - Mucolytique 	<p>1-8 cinéole (5 %) Camphre (15 à 17 %) Verbénone (10%) Acétate de bornyle (12 %)</p>

Un autre exemple marquant reste celui du Thym (*Thymus vulgaris*), qui ne possède pas moins de sept chémotypes (thymol, linalol, carvacrol, géraniol, thuyanol, paracymène et alpha terpinéol), et donc sept huiles essentielles de compositions différentes.(10)

Nous pouvons ainsi en déduire que la précision du chémotype est un critère déterminant pour s'assurer de la bonne activité recherchée et de la toxicité éventuelle de l'huile essentielle.

d- Identification chimique

L'analyse qualité des huiles essentielles passe par tout d'abord par l'identification chimique de la matière végétale.

En effet, afin d'assurer la traçabilité de l'huile essentielle, il est primordial de s'assurer de manière catégorique de l'identité de la matière première initiale, que ça soit la plante entière ou la partie de la plante employée pour l'extraction. Pour ce faire, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé, (ANSM, anciennement AFSSAPS) recommande l'utilisation de la chromatographie : la chromatographie sur couche mince (CCM) et/ou la chromatographie en phase gazeuse (CPG).(1)

Ainsi il faudra extraire une solution à partir du végétal, et la soumettre à ces deux techniques. Le chromatogramme obtenu est comparé à une solution témoin avec au moins deux substances de référence dans le cadre de la CCM. Ensuite les deux profils chromatographiques sont comparés grâce à la CPG. Dans le cas éventuel, une identification du chémotype aura lieu après le recensement des métabolites.(1)

D'autres techniques peuvent s'ajouter à cette batterie d'exams, afin d'avoir une vision complète. Des réactions colorées caractéristiques sont possibles, tout comme la détermination des cendres totales, la perte à la dessiccation ou la teneur en eau. Certains critères de qualité peuvent être exigés en plus, comme la teneur de résidus de pesticides par exemple.(1)

Dans un second temps, il faudra joindre ces informations à une analyse chimique des huiles essentielles, permettant l'identification qualitative et quantitative de leurs constituants, et la recherche d'éventuelles falsifications. Pour y parvenir, une multitude de techniques existent.

Si on se tourne vers les référentiels habituels, que sont la Pharmacopée Européenne, les normes ISO et AFNOR, on observe qu'ils recommandent un certain nombre de techniques précises, telles que la mesure d'indices physiques et chimiques définis ainsi que la réalisation de certaines analyses chromatographiques.

Les indices physiques recherchés correspondent aux critères cités précédemment, à savoir la densité relative, l'indice de réfraction, l'angle de rotation optique, le point de solidification, la solubilité dans des solvants organiques comme l'éthanol, ainsi que le résidu d'évaporation.(24–29)

S'ajoute à cela un certain nombre d'indices chimiques, tels que l'indice d'acide, d'esters ou encore de peroxyde de l'huile essentielle.(30–33)

Les analyses chromatographiques recommandées sont quant à elles multiples. Elles sont à adapter en fonction de l'huile essentielle en question. L'étude scientifique « *Caractérisation, traçabilité et contrôle qualité des huiles essentielles de lavandes et de lavandins : Apports des signatures chromatographiques et spectroscopiques* » a recensé et trié les techniques d'analyse appliquées aux huiles essentielles entre 2000 et 2015.(34)

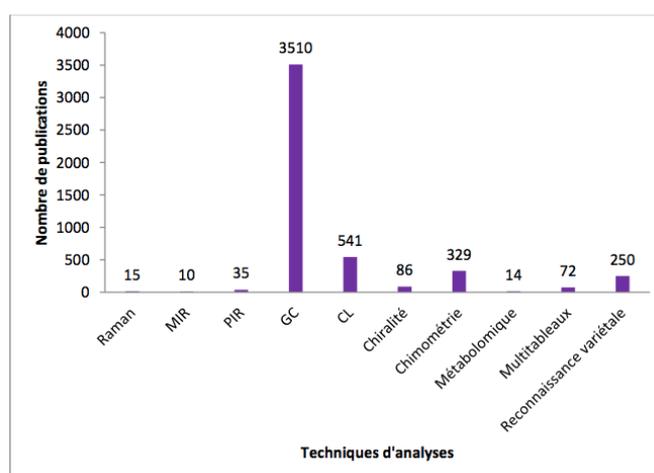


Figure 6 : Évolution du nombre de publications dans le domaine des techniques analytiques appliquées aux HE de 2000-2015

Il en ressort que la technique la plus fréquemment utilisée est incontestablement la chromatographie en phase gazeuse. Ce phénomène s'explique notamment par la présence majoritaire de molécules volatiles, facilement détectables à l'aide de cette technique. La chromatographie liquide vient quant à elle, en deuxième position.

Malgré cette tendance, il est impossible d'affirmer une démarche type pour analyser une huile essentielle. Plusieurs stratégies possibles s'offrent aux scientifiques en fonction de la complexité du mélange et de son référencement dans la littérature.

Face à une huile essentielle décrite à maintes reprises dans le passé, les composants et leurs teneurs sont déjà connus. Le but de l'analyse chimique sera donc de comparer qualitativement et quantitativement le profil de ce mélange avec les données spectrales de produits de référence. Pour cela, il est plus intéressant de coupler une des deux techniques chromatographiques citées, avec une technique spectroscopique telle que la spectrométrie de masse (SM) ou la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Ainsi, les chromatographies effectuées ont pour but d'individualiser les divers composants et de les quantifier, tandis que la technique spectroscopique permet d'identifier la molécule, la quantifier avec plus de précision, et analyser sa structure.

Par contre, face à des mélanges complexes contenant des molécules de structures proches, ou face à des huiles dont les données spectrales sont insuffisamment décrites dans la littérature, l'approche est différente. Celle-ci se scinde en deux phases : d'abord la purification puis l'identification. En effet, il est plus intéressant de fractionner dans un premier temps les différents composés à l'aide de techniques chromatographiques, pour pouvoir ensuite les identifier à l'aide de méthodes spectroscopiques traditionnelles, notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN ^1H et ^{13}C) ou encore la spectroscopie Ultra-violet (UV).

Maintenant que nous avons défini les principaux critères de qualité des huiles essentielles, nous allons pouvoir les appliquer sur le cas précis de la lavande.

PARTIE B

L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE

I- DE LA FLEUR A L'HUILE ESSENTIELLE

Selon la classification botanique APG (Angiosperms Phylogeny Group) apparue en 1998, puis modifiée en 2003 (APG II), la lavande appartient à la sous-classe des astéridées.

Sous classe	: Astéridées
Ordre	: Lamiales
Famille	: Lamiacées
Genre	: Lavandula

1- Caractéristiques famille des lamiacées

Les Lamiacées sont une importante famille de l'ordre des lamiales, comprenant 258 genres, et plus de 7000 espèces. Leur distribution est cosmopolite, se concentrant principalement autour du bassin méditerranéen, mais pouvant s'étendre jusqu'en Asie centrale. (35)

- Appareil végétatif

Ce sont le plus souvent des plantes herbacées*, des sous arbrisseaux, et parfois même des arbres ; caractérisés par leur tige à section carrée.

Les feuilles dépourvues de stipules*, sont opposées-décussées*, parfois verticillées*. Elles sont généralement simples, quelquefois lobées ou découpées. Grâce à leur limbe coriace et leurs poils sécréteurs, elles sont capables de s'adapter aux climats secs et arides. L'essence produite par ces poils s'accumule sous la cuticule qu'elle distend, produisant alors une odeur aromatique lorsque les feuilles sont froissées. Les poils tecteurs quant à eux, sont allongés et non glanduleux. Ils possèdent une fonction protectrice.

- Appareil reproducteur

Les fleurs sont réunies en inflorescence. En général deux cymes bipares naissent chacune à l'aisselle d'une feuille, puis se ramifient pour former des cymes unipares scorpioides. Toutefois, les cymes peuvent également se réduire aux 3 fleurs élémentaires, comme c'est le cas pour le genre *Salvia*.

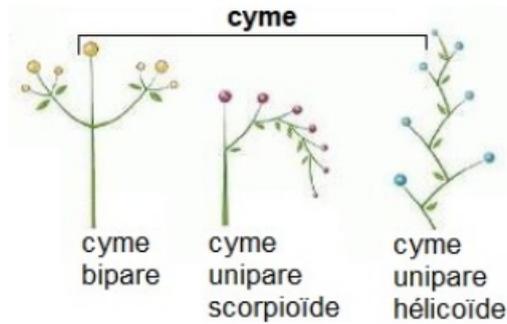


Figure 7 : Dessin de cymes de formes différentes (36)

Description des Fleurs :

Le périanthe est composé d'un calice bilabié à cinq sépales soudés ; ainsi que d'une corolle à cinq pétales zygomorphes, également soudés. Cette dernière est souvent bilabiée. Sa lèvre supérieure (pétales postérieurs) est constituée de deux lobes ; tandis que sa lèvre inférieure (pétales antérieurs) en possède trois.

L'androcée est dit didyname, car son étamine postérieure est quasi-systématiquement avorté. Il ne reste alors que quatre étamines, soudés par leur filet au tube de la corolle. Les anthères sont déhiscentes par des fentes longitudinales. Quant aux grains de pollen, ils sont le plus souvent tricolpés.

Le gynécée des Lamiaceae est très comparable à celui des boraginaceae. Il est formé de deux carpelles antéro-postérieurs, soudés en un ovaire supère, biloculaire. La fausse-cloison crée alors quatre loges avec un seul ovule par loge unitégimenté et ténuinucellé, en placentation axile. L'unique style est souvent gynobasique, et en général bifurqué au sommet, avec deux minuscules stigmates à l'extrémité de chaque branche.

Ainsi, la formule florale correspondante est la suivante : $5 S + (2 + 3) P + (2 + 2) E + 2 C$

5S = 5 sépales soudés

5P = 5 pétales soudés puis séparés en 2 lèvres

2 + 2 E = 4 étamines (androcée didyname)

2 C = 2 carpelles

Les fleurs semblent particulièrement adaptées à la pollinisation entomophile. En effet, un disque nectarifère est présent à la base de l’ovaire. La lèvre inférieure de la corolle sert alors de piste d’atterrissage pour les insectes, tandis que la lèvre supérieure recourbée protège les étamines et le stigmate. Ces mêmes insectes pourront alors se poser par la suite sur le stigmate d’autres fleurs, où ils répandront le pollen dont ils sont saupoudrés.

Description du fruit :

Après maturation, l’ovaire devient un tétrakène, tandis que le calice persiste. La graine est exalbuminée.

L’ensemble des caractéristiques citées dans cette partie décrivent la famille des Lamiacées dans sa globalité ; mais elles ne suffisent pas pour pouvoir distinguer les lavandes de manière spécifique. C’est pourquoi nous allons établir, dans ce qui suit, une brève fiche descriptive des lavandes les plus rencontrées dans le monde de l’aromathérapie.

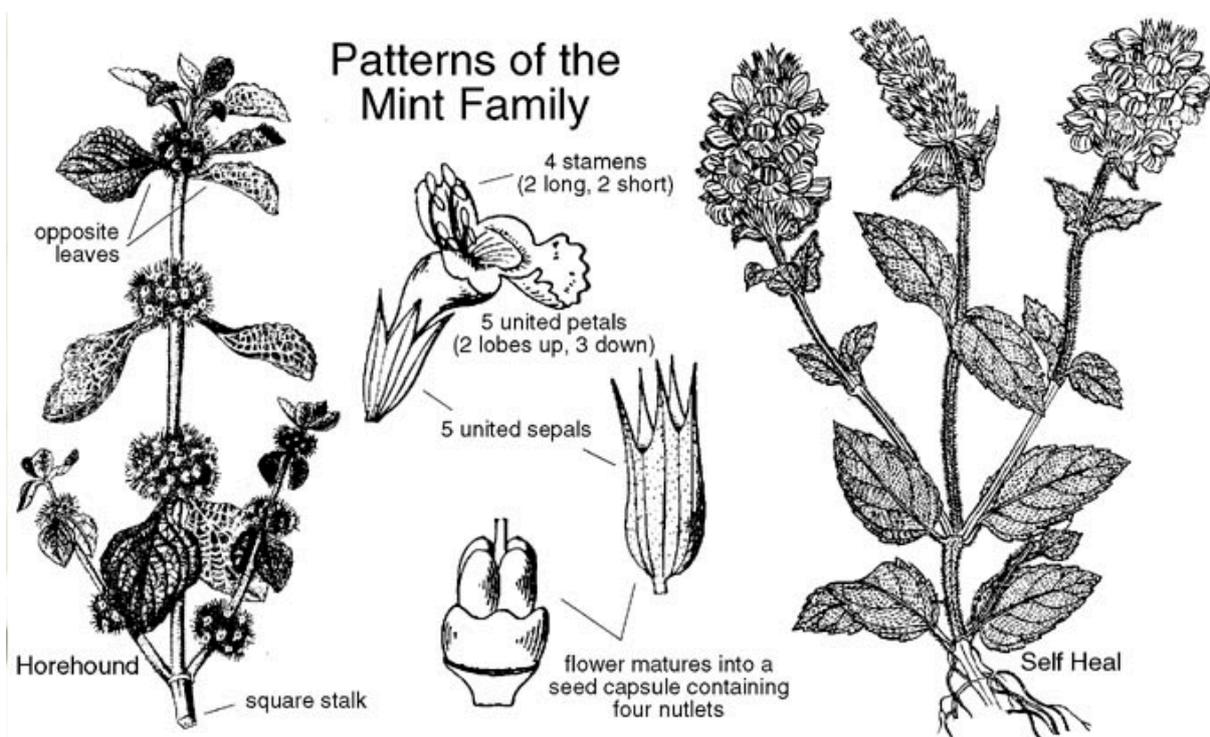


Figure 8 : Caractéristiques de la famille des Lamiacées (37)

2- Les différentes lavandes

Sous le nom de « lavande » se cachent une multitude d'espèces partageant des caractéristiques communes. Quatre parmi elles se distinguent nettement dans la sphère de l'aromathérapie :

- Lavande fine ou Lavande officinale, *Lavandula angustifolia* Miller.
- Lavande aspic, *Lavandula latifolia* Medik.
- Lavandin, *Lavandula x intermedia* Emeric et Loisel.
- Lavande papillon, *Lavandula stoechas* L.

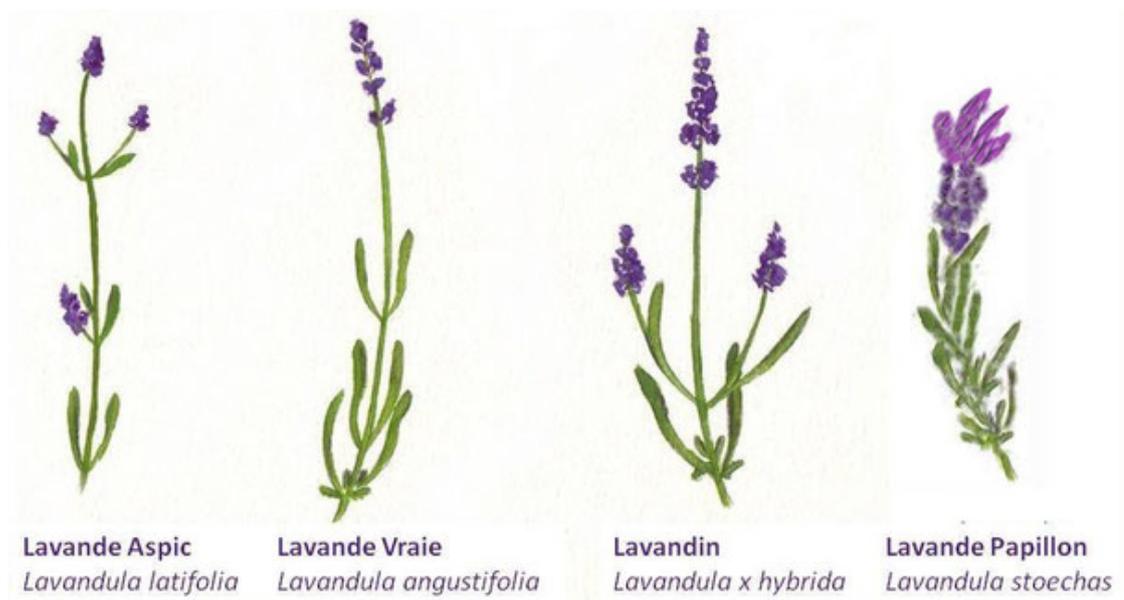


Figure 9 : Dessin des différents types de lavandes (38)

- **Lavande fine, *Lavandula angustifolia* Miller (1768)**

Noms vulgaires : lavande commune, lavande vraie, lavande femelle, lavande à feuilles étroites

Tout d'abord, il est nécessaire de préciser que deux lavandes communes coexistent sur le marché : *Lavandula angustifolia* et *Lavandula officinalis*. La distinction entre les deux, passe par leurs modes de culture respectifs. En effet, la lavande vraie *Lavandula angustifolia* correspond à l'espèce cueillie à l'état sauvage ; tandis que la lavande officinale *Lavandula officinalis* correspond à la même espèce cultivée par l'homme.(39)

Description botanique :

La plante se présente sous forme d'arbrisseau, se développant principalement dans les zones de moyenne montagne du bassin méditerranéen, sous une altitude variant entre 800 et 1800 m. La taille des tiges avoisine les quinze à vingt centimètres. Celles-ci se démarquent par l'absence de feuilles en-dessous des inflorescences.(14)

Les feuilles, étroites et allongées, sont de couleur vert cendré. Elles mesurent entre deux et cinq centimètres ; et sont enroulées sur les bords. Les fleurs quant à elles sont groupées en cymes bipares. Elles sont disposées en épi. Leurs pétales bleus s'organisent sous forme de tube, permettant de qualifier ainsi la corolle de « labiée ». Celle-ci se divise en deux parties distinctes : une lèvre supérieure bilobée, et une lèvre inférieure trilobée.(14)

Le calice est également de couleur gris bleuté. Il possède quatre dents très courtes, ainsi qu'un petit lobe arrondi. Et enfin, l'appareil reproducteur mâle de la fleur est constitué de quatre étamines de tailles différentes : deux grandes et deux petites. On dit alors que l'androcée est didyname.(14)

Répartition géographique :

La lavande fine se concentre principalement dans les régions subméditerranéenne et ouest-méditerranéenne. Commune les montagnes à une altitude dépassant les 800 mètres, on la retrouve dans les Alpes du Sud, la Provence ou encore les Pyrénées-Orientales. Par contre, elle se fait très rare en Corse, où elle est subspontanée.(40)

En France, l'INAO (Institut National de l'Origine et de la Qualité) a mis en place une aire d'appellation contrôlée, afin de commercialiser « l'huile essentielle de lavande de Haute-Provence ». L'altitude minimale requise pour les plantations est de 800 mètres sauf pour 38 communes de la Drôme et du Diois où la limite est fixée à 600m.(41)

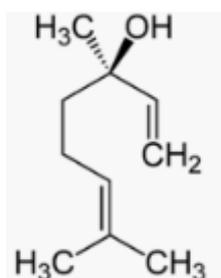
Composition chimique :

La pharmacopée européenne établit pour chacune des huiles essentielles la liste de ses composants essentiels, ainsi que leur concentration attendue et acceptable. En ce qui concerne l'huile essentielle de lavande fine, les teneurs des composés majoritaires sont réunis dans le tableau suivant :

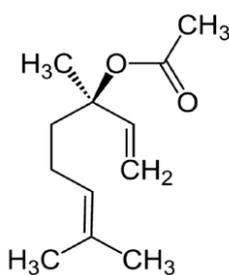
Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle de lavande fine (*Lavandula angustifolia*)

Composé	Teneur dans l'huile essentielle (en %)
Limonène	< 1
1,8-Cineol	< 2,5
3-octanone	0,1-5
Camphre	< 1,2
Linalol	20-45
Acétate de linalyle	25-47
Acétate de lavandulyl	> 0,2
Terpinén-4-ol	0,1-8
Lavandulol	> 0,1
α -Terpinéol	< 2

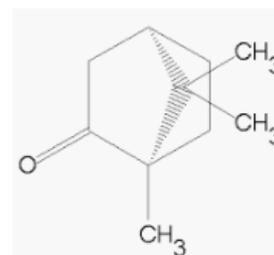
L'huile essentielle de lavande fine se démarque clairement des autres espèces par sa teneur élevée en linalol et acétate de linalyle ; ainsi que par sa très faible concentration en camphre.



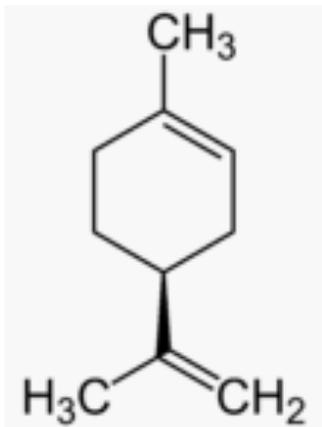
LINALOL



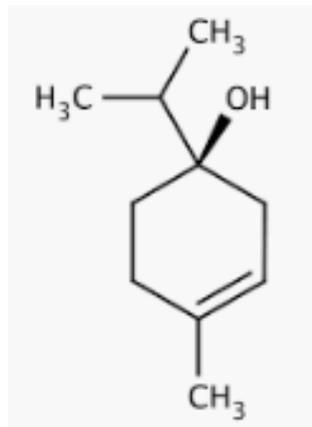
ACETATE DE LINAYLE



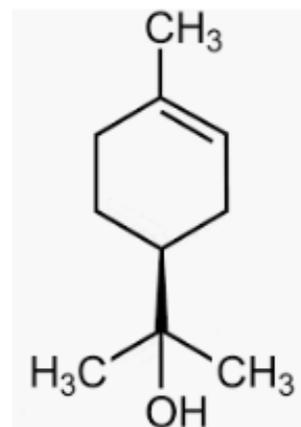
CAMPBRE



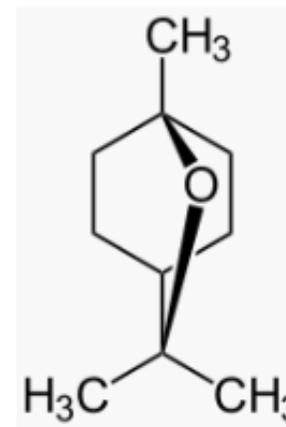
LIMONENE



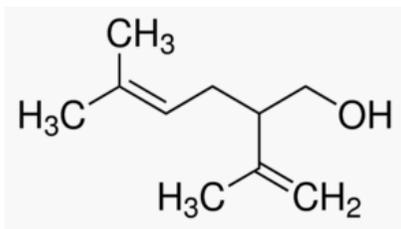
TERPINEN-4-OL



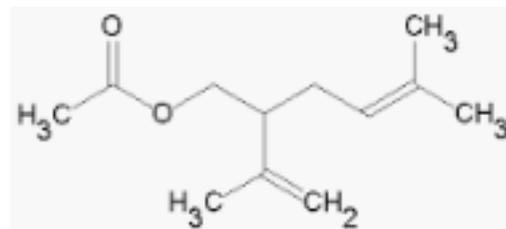
A-TERPINEOL



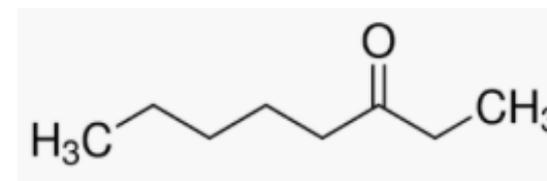
1,8-CINEOL



LAVANDULOL



ACETATE DE LAVANDULYL



3-OCTANONE

Figure 10 : Structure chimique des principaux composés de l'huile essentielle de lavande fine

- **La Lavande aspic, *Lavandula latifolia* Medik (1787)**

Noms vulgaires : lavande en épis, faux nard, lavande spic, lavande mâle, grande lavande, spiconard commun.(42)

Description botanique :

Cette espèce est buissonnante. Elle se présente elle aussi sous forme de sous-arbrisseau mesurant entre trente et quatre-vingts centimètres. À port haut et élancé, sa tige est courte et ligneuse, tandis que son feuillage est persistant.

Ses feuilles larges et veloutées, de couleur gris vert tout au long de l'année, prennent une teinte argentée l'été. Avec leur longueur de six centimètres ; elles se distinguent nettement de celles de la lavande fine. Ses fleurs sont de couleur violettes ou bleutées. Elles sont disposées sur des hampes florales ramifiées. Très parfumées, elles répandent une forte odeur camphrée.(35,42)

Répartition géographique :

La Lavande aspic est une plante méridionale. Non cultivée, elle pousse spontanément sur les pentes arides de la région méditerranéenne à moindre altitude, entre 400 et 1000m. En France, il est possible de la retrouver dans les coteaux arides peu élevés du Midi, jusque dans les Hautes-Alpes ; mais aussi dans l'Aveyron, la Drôme et la Dordogne.(42)

En effet, cette plante aérienne aime les sols pauvres, bien drainés, caillouteux voire légèrement sablonneux. Capable de supporter des températures très basses, allant jusqu'à -20°C, elle craint tout de même les vents violents. C'est pourquoi on la retrouve dans des endroits très ensoleillés, abrités du vent, où elle peut bénéficier du maximum de chaleur possible.(42)

Huile essentielle :

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de lavande aspic (*Lavandula latifolia*)(14)

Composé	Teneur dans l'huile essentielle (en %)
Limonène	0,5 – 3
Cinéole	20 – 35
Camphre	8 – 20
Linalol	25 – 50
Acétate de linalyl	< 3
α -terpinéol	0,5 – 3

L'huile essentielle de lavande aspic se distingue par rapport à l'huile de lavande fine, par sa concentration quasi nulle en acétate de linalyle, mais surtout par sa teneur élevée en cinéole et en camphre. (15)

Utilisée exclusivement par voie locale, c'est un excellent fongicide indiqué pour les mycoses cutanées tel que le pied d'athlète. Grâce à son action antitoxique, elle est également efficace pour traiter les piqûres de guêpes et de méduses. Et enfin, tout comme l'huile essentielle de lavande, elle est indiquée pour soulager les crampes et les asthénies nerveuses.(15,43)

- **Lavandin super : *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel**

Noms vulgaires : lavande bâtarde, grosse lavande

Cet hybride naturel est issu de la pollinisation croisée de deux variétés de lavande : la lavande fine (*Lavandula angustifolia*) et la lavande aspic (*Lavandula latifolia*). Plusieurs sous-variétés de lavandin existent, dont quatre principales sélectionnées par les agriculteurs :

Le lavandin Grosso est la sous-variété la plus répandue, représentant 80 % de la production de lavandin. Viennent ensuite les lavandin Abrial et Super, représentant respectivement entre 8 et 10% de la production. Et enfin, le lavandin Sumian avec seulement 5% de la production.(44,45)

Description botanique :

Multiplié par bouturage, chaque plant de lavandin se retrouve donc identique à son voisin. Il se présente sous la forme d'un sous-arbrisseau touffu, avec un rameau ramifié feuillu à sa base. Visuellement proche de la lavande fine, le lavandin se distingue principalement par la ramification de la tige en trois au niveau de sa base.(15)

Répartition géographique :

Cette espèce est stérile, et de ce fait, produite par bouturage dans des régions ensoleillées de basse altitude, entre 300 et 600 mètres. On la retrouve principalement dans le midi de la France, zone de contact entre les deux lavandes.(15,46)

Huile essentielle :

Tableau 6 : Composition chimique des trois principales sous-variétés de Lavandin (14,47)

Composé	Lavandin grosso	Lavandin abrial	Lavandin super
Limonène	0,5 – 1,5	-	0,5 – 1,5
Cinéol	4 – 7	6 – 11	-
Camphre	6 – 8	7 – 11	3,5 – 6,5
Linalol	24 – 35	26 – 38	25 – 37
Acétate de linalyl	28 – 38	20 – 29	35 – 47
α-terpinéol	0,5 – 1	-	-
Bornéol	1,5 – 3	-	1,4 – 3
Acétate de lavandulyle	1,5 – 3	1 – 2	0,6 – 2,3

Les trois sous-variétés de lavandin possèdent une composition chimique très proche de celle de l'huile essentielle de lavande fine, avec le linalol et l'acétate de linalyl comme constituants majoritaires. La différence majeure réside dans leur teneur en camphre bien plus élevée. Ainsi, les propriétés et les indications de ces deux huiles essentielles sont similaires

Avec un rendement plus élevé, l'huile essentielle de lavandin est donc souvent utilisée comme une alternative moins onéreuse à l'huile de lavande fine. Elle est toutefois contre-indiquée pendant la grossesse, en particulier durant les trois premiers mois, et doit être évitée chez le jeune enfant et le patient épileptique.(15,46)

- **Lavande papillon : *Lavandula stoechas* L. (1753)**

Noms vulgaires : lavande stéchade, lavande à toupet, lavande des îles d'Hyères

Description botanique :

Ce sous arbrisseau très ramifié mesure entre trente et soixante centimètres de hauteur. Ses rameaux très courts sont feuillés jusqu'à leur extrémité. Fortement odorante, elle fleurit entre les mois d'Avril et de Juin.

La lavande papillon se différencie particulièrement par ses inflorescences en épis serrés de petites fleurs pourpres, et ses feuilles entières et blanches sur leurs deux faces. Pollinisée par les insectes, la lavande papillon est également dispersée par gravité.(40)

Répartition géographique :

La lavande papillon est caractéristique des terrains silicieux. Commune dans la région méditerranéenne, on peut la retrouver à une altitude allant jusqu'à 1150 mètres. En France, elle est présente dans le Tarn, la Haute-Garonne, la Dordogne.(40)

Huile essentielle :

L'huile essentielle de lavande papillon est la moins connue de toutes les huiles de lavande, et pour cause. Hautement concentrée en cétones, elle est potentiellement neurotoxique et abortive. Effectivement, sa teneur en bornéone (camphre), fenchone et verbénone dépasse les 70 %. Elle est ainsi contre-indiquée chez la femme enceinte, l'enfant et les patients épileptiques.

Pour autant, elle reste une alternative de choix pour traiter les otites séreuses et moyennes. C'est également un excellent anti-infectieux, particulièrement efficace sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.(15)

Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de lavande papillon *Lavandula stoechas* (48)

Composé	Teneur (en %)
α-pinène	2,52
β-pinene	1,3
Campène	1,3
p-Cymène	4,90
1,8-Cineole	16,30
Frenchone	45,19
Camphor	9,90
Acétate de lavandulyl	3,21
Alpha-Cadinol	4,20
Linalol	1,20

II- COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE

Après analyse des compositions chimiques des différentes lavandes, il apparaît que la pharmacopée européenne établit deux types de seuils. Pour la grande majorité des molécules listées, les seuils définis correspondent aux concentrations minimales à atteindre, ou encore à un intervalle de concentration admis. Cependant, pour un certain nombre de molécules, les teneurs instaurées correspondent aux valeurs maximales à ne pas dépasser. C'est le cas du limonène, du cinéole et de l' α -terpineol.

Pour le cas de l'huile essentielle de lavande fine, les deux composés largement majoritaires sont deux terpènes : le linalol et l'acétate de linalyle. Nous choisissons donc de cibler ces deux molécules en particulier dans notre analyse chimique de cette huile essentielle.

1- Linalol

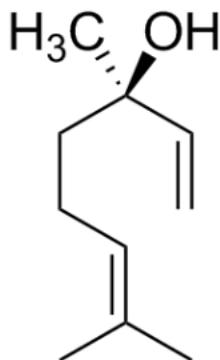


Figure 11 : Structure chimique de la molécule de linalol

a- Généralités sur le linalol

Le linalol est un alcool tertiaire de la famille des monoterpénols. Ce composé est présent dans des huiles essentielles de plus de 200 espèces de plantes, englobant monocotylédons et dicotylédons notamment dans trois grandes familles de plantes :

- i. les Lamiaceae avec le genre *Lavandula*
- ii. les Lauraceae, avec le genre *Cinnamomum*
- iii. les Apiaceae, avec le genre *Coriandrum*

La proportion de linalol dans les huiles essentielles issues de ces familles, varie en fonction de l'espèce et surtout de la partie de la plante employée afin d'extraire l'huile essentielle en question. (40)

b- Propriétés physico-chimiques :

Dans la littérature scientifique, il est possible d'identifier le linalol grâce à sa formule moléculaire brute $C_{10}H_{18}O$, ou grâce au nom chimique qui lui est attribué : 3,7-diméthyl-1,6-octadiène-3-ol.(50)

Ce composé se présente à température ambiante, sous forme de liquide jaune pâle ou incolore. Il se démarque surtout par son odeur caractéristique. Celle-ci est souvent décrite comme étant boisée, florale, se rapprochant du parfum émanant de l'huile de bergamote (*Citrus aurantium ssp. bergamia.*) ou de celle de la lavande papillon (*Lavandula stoechas*). (50)

Sa structure apolaire explique sa médiocre solubilité dans l'eau. En revanche, ce composé est très soluble dans les solvants organiques comme l'alcool, l'éther, le propylène glycol, ainsi que les huiles végétales.(50,51)

Tableau 8 : Principales caractéristiques physico-chimiques du linalol (50)

Propriété	Valeur
Poids moléculaire	154.25 g/mol
Densité (à 25°C)	0.87 g/mL
Point d'ébullition	198°C
Point de congélation	<-74°C
Point de fusion	20°C
Point d'inflammabilité	78°C
Indice de réfraction (à 20°C)	1.462

c- Propriétés pharmacologiques

Les études visant à démontrer les propriétés pharmacologiques du linalol, et les mécanismes d'actions correspondants, se sont succédé ces dernières années. On retrouve tout d'abord, une multitude d'expérimentations attestant de son activité anti-infectieuse, notamment pour son pouvoir antibactérien et antifongique.(52)

Le linalol a aussi été testé afin d'évaluer son action in vivo et in vitro sur les inflammations, et son impact sur le système nerveux. En ce qui concerne l'action anti-inflammatoire du linalol, cela s'explique par l'inhibition de la voie de signalisation NF- κ B, induisant ainsi une inhibition de la production de cytokines inflammatoires.(53,54)

L'effet antidépresseur-like, quant à lui, s'explique par l'interaction du linalol avec les systèmes monoaminergiques, à deux niveaux. En effet, la molécule exerce à la fois une action sur la voie sérotoninergique, via les récepteurs postsynaptiques 5-HT_{1A}, et sur le système adrénergique, via les récepteurs alpha-2 adrénergique.(55,56)

Ainsi les huiles essentielles contenant du linalol partagent ces propriétés communes à différentes échelles en fonction de leur concentration. L'huile essentielle de Petit grain bigarade (*Citrus aurantium L. Spp. amara Engl.*) par exemple, également riche en linalol et acétate de linalyle, est largement utilisée comme antispasmodique, cicatrisant, relaxant, sédatif ; antibactérien moyen. Des propriétés qui se rapprochent énormément de celles de l'huile essentielle de lavande. Le Thym vulgaire à linalol (*Thymus vulgaris ct linalol*) est quant à lui, reconnu pour être un excellent tonique et neurotonique. Cette huile essentielle est également employée pour son action antifongique globale. C'est en effet une huile essentielle antibactérienne, antifongique, antivirale, et vermifuge. C'est également un bon astringent cutané.(15,57)

De manière générale, les huiles contenant majoritairement du linalol entrent dans la catégorie des « huiles essentielles à monoterpénols ». Leurs propriétés se rapprochent sensiblement de celles des « huiles essentielles à phénols » d'un point de vue pharmacologique, mais ils présentent en plus l'avantage d'avoir une toxicité moindre, et d'être donc plus appropriés sur le long terme. Ces huiles essentielles sont reconnues pour leur action anti-infectieuse à large spectre. Leur activité parasiticide, quoique présente, demeure moins marquée. Enfin, ce sont des toniques et stimulants du système nerveux central.(57)

d- Toxicité

En ce qui concerne la toxicité cutanée, le linalol est considéré comme une substance non phototoxique, possédant un faible pouvoir allergisant. Cependant, suite à son exposition atmosphérique la molécule subit une réaction d'auto-oxidation. Ce phénomène est responsable de formation de molécules allergisantes telles que les hydroperoxydes ou les furanoxides. Pour pallier à cette problématique, l'utilisation de composés contenant du linalol est soumise à une réglementation stricte visant à ne pas dépasser une valeur seuil de peroxydes.(49)

D'autre part, quelle que soit la voie d'utilisation, aucune toxicité n'a été reliée au linalol. En effet, différents tests in vivo et in vitro ont échoué à démontrer une quelconque modification au niveau du matériel génétique, ou un éventuel potentiel cancérigène. Toutefois, aucune de ces études n'a été réalisée sur le long terme. Ces informations sont donc à pondérer.

En conclusion, les données de la littérature sont rassurantes quant à l'exposition au linalol à des doses thérapeutiques raisonnables. Au-delà d'un certain seuil, un effet sédatif est attendu.

2- Acétate de linalyle

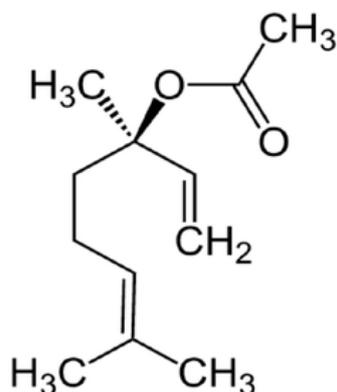


Figure 12 : Structure chimique de la molécule d'acétate de linalyle

a- Généralités sur l'acétate de linalyle

L'acétate de linalyle est le second composant majoritaire de l'huile essentielle de lavande fine (*Lavandula angustifolia*). Cet ester terpénique peut être synthétisé par une simple réaction d'estérification du linalol. Tout comme son alcool, l'acétate de linalyle est présent dans d'innombrables plantes et huiles essentielles, notamment les huiles de lavande en général, et dans l'huile de bergamote (*Citrus aurantium spp. bergamia*).

b- Propriétés physicochimiques

Dans la littérature scientifique, il est possible d'identifier l'acétate de linalyle grâce à sa formule moléculaire brute $C_{12}H_{20}O_2$, ou grâce au nom chimique qui lui est attribué : 3,7-diméthyl-1,6-octadiène-3-ol acétate.(58)

Tout comme le linalol, l'acétate de linalyle se présente à température ambiante, sous forme de liquide incolore. L'odeur et l'aspect des deux composants se rapprochent beaucoup, de telle sorte qu'il est difficile de les distinguer sans avoir recours à une méthode d'analyse chimique. C'est pour cette raison qu'on leur fait subir une batterie de tests, dont les grandes lignes sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 9 : Principales caractéristiques physico-chimiques de l'acétate de linalyle (58)

Propriété	Valeur
Poids moléculaire	196.29 g/mol
Densité (à 20°C)	0.895 g/mL
Point d'ébullition	221°C
Point de fusion	< 25°C
Point d'inflammabilité	85°C
Indice de réfraction (à 20°C)	1.450

c- Propriétés pharmacologiques

Comparées à celle portant sur le linalol, les études dédiées à identifier et à analyser l'action de l'acétate de linalyle sont moins nombreuses. Parmi les quelques expérimentations trouvées dans la littérature scientifique, les principales activités qui en ressortent, sont le potentiel anti-inflammatoire et spasmolytique. (59)

L'action anti-inflammatoire imputée à l'acétate de linalyle, est moins puissante que celle attribuée au linalol. Son délai d'apparition est également retardé. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une probable transformation de l'acétate de linalyle en une molécule active, le linalol. Ainsi, l'acétate de linalyle serait en réalité une prodrogue.(60)

En ce qui concerne le potentiel myorelaxant de l'acétate de linalyle, des expérimentations poussées ont établi un lien entre la relaxation cellules musculaires lisses vasculaires et la déphosphorylation de la chaîne légère de myosine.

Une fois administré, l'acétate de linalyle est capable d'induire une relaxation progressive et soutenue au niveau des cellules musculaires lisses. Il inhibe ainsi la contraction artificiellement induite dans l'expérimentation, et induit une vasodilatation. Ce phénomène s'explique par une activation de la phosphatase de la chaîne légère de myosine (MLC), qui en déphosphorylant la chaîne légère de myosine provoque la rupture de l'interaction actine-myosine et donc la décontraction musculaire.(61)

Ces propriétés pharmacologiques sont mises à contribution en aromathérapie. En effet, l'acétate de linalyle, comme tous les esters terpéniques, possède une action musculotrope. Certes moins puissant que les salicylates, il reste tout de même une excellente alternative quant à la prise en charge de spasmes d'étiologies diverses, qu'ils soient digestifs, respiratoires ou autres.(59)

En ce qui concerne l'action anti-inflammatoire, les huiles essentielles utilisées contiennent souvent à la fois du linalol et l'acétate de linalyle comme c'est le cas pour la lavande fine ou le petit grain bigarade par exemple. Ces deux molécules agissent probablement de manière synergique, amplifiant ainsi le potentiel anti-inflammatoire de l'huile essentielle employée.

d- Toxicité

Une fois exposé à l'air, l'acétate de linalyle est sujet à l'oxydation, formant alors des hydroperoxydes. Ce phénomène est amplifié par l'exposition à la chaleur et à la lumière. Certaines études recensent l'ensemble des tests de toxicité effectués sur les rongeurs et les humains, à plusieurs niveaux (irritation cutanée, génotoxicité etc.). On en arrive aux mêmes conclusions que celles citées précédemment avec la molécule de linalol. Toutes deux sont des molécules peu toxiques, responsables de sédation et de crises d'épilepsie à forte dose.(59,62)

Les huiles essentielles très concentrées en acétate de linalyle peuvent être utilisées durant la grossesse, et très tôt chez l'enfant. En effet, elles sont en grande majorité bien tolérées, lorsqu'elles sont employées à doses thérapeutiques. Cependant à doses élevées, ces huiles peuvent être engendrer des crises d'épilepsie ; tandis qu'une prise par voie orale pourrait induire une hypotension ; d'où l'importance de recueillir un avis spécialisé avant toute utilisation. Enfin, un emploi cutané prolongé ou répété peut être responsable à terme d'une hypersensibilité. C'est pourquoi, encore une fois, il est vivement recommandé de diluer ces huiles essentielles.(59)

III- UTILISATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE

1- Propriétés

Réclamée par les patients ou spontanément conseillée par les pharmaciens, l'huile essentielle de lavande fait incontestablement partie des huiles les plus sollicitées en officine. Parmi les multiples propriétés qui lui sont attribuées, trois actions principales se détachent du lot : anxiolytique, spasmolytique et cicatrisante.

Anxiolytique :

Après une utilisation empirique de l'huile essentielle de lavande en tant qu'anxiolytique, les études se sont multipliées pour apporter une preuve scientifique à cette pratique.

Dans son étude réalisée en Mai 2013, le professeur Chioca et son équipe, cherchent à écarter l'influence psychologique de l'odeur de lavande sur l'état psychique des patients ; afin de réduire le mécanisme d'action de cette huile à un phénomène chimique et physiologique.(63)

Pour ce faire, un groupe de souris est soumis à une anosmie. Son état d'anxiété est alors mesuré avant et après l'utilisation d'une huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia*) standardisée. Le groupe contrôle quant à lui, reçoit des injections de Diazépam.

L'évaluation de l'anxiété se fait via le marble-burying test (test d'enterrement des billes).

À la fin de l'étude, force est de constater que l'huile essentielle de lavande induit une réduction significative de l'enterrement des billes, sans altérer pour autant l'activité de locomotion des souris, écartant ainsi le phénomène de sédation. Il est donc possible de conclure que l'huile essentielle de lavande possède une action anxiolytique indépendante de son odeur caractéristique.(63)

Cet effet anxiolytique a été mesuré de manière expérimentale, à maintes reprises chez les rongeurs, mais également chez l'homme. En Allemagne par exemple, quatre études portant sur l'huile essentielle de lavande, ont été menées par Kasper et son équipe entre 2010 et 2016.

Durant l'expérimentation de 2015, 318 patients atteints d'un trouble anxieux-dépressif mixte ont été sélectionnés. La moitié a reçu un extrait standardisé d'huile essentielle de lavande (SLO, Standardized Lavender Oil), tandis que l'autre moitié a reçu un placebo.

À l'issue des dix semaines d'expérimentation, l'effet anxiolytique et antidépresseur fut mesuré à l'aide du score HAMA. Une réduction significative a été observée dans le groupe SLO avec une diminution du score HAMA de 25,7 +/- 5,6 à 14,9 +/- 9,3 ; marquant ainsi une différence de 2,47 points avec le groupe placebo. Ces données sont confirmées par l'échelle de dépression de Montgomery et Asberg (MADRS, Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale), également appliquée à ces patients.(64)

Spasmolytique :

L'action spasmolytique de l'huile essentielle de lavande se manifeste quant à elle, par plusieurs indications.

En effet, cette huile souvent recommandée pour les crampes et spasmes musculaire des sportifs, peut également se révéler efficace pour atténuer les contractions des cellules musculaires lisses, notamment les spasmes digestifs, utérins ou encore respiratoires engendrant des crises d'asthme. En se basant sur ces informations, deux études scientifiques ont tenté de mettre en exergue l'action anti spastique de l'huile essentielle de lavande dans le soulagement de la dysménorrhée primaire, grâce à des essais cliniques différents en double et triple aveugle

L'équipe du professeur Ou a utilisé en 2012, l'huile essentielle de lavande sous forme de massage appliqués en bas du ventre ; tandis que Nikjou et son équipe se sont tournés vers l'inhalation sèche. Malgré la différence de voie d'administration, les résultats des deux expérimentations coïncident. Effectivement, dans les deux cas, une réduction significative de l'intensité de la douleur est observée, en comparaison avec le groupe placebo.(65,66)

Cicatrisant :

Et enfin, pour ce qui est de l'effet cicatrisant de l'huile essentielle de lavande, les études se sont multipliées pour démontrer ce phénomène, autant chez l'animal que chez l'homme. (65,66)

Cependant certaines études vont plus loin encore, et tentent d'identifier le mécanisme d'action de l'huile essentielle de lavande dans le processus de cicatrisation.

Selon l'étude de Mori, réalisée en 2016, cela s'explique par l'apparition de plusieurs phénomènes concomitants, suite à l'application topique de cette huile essentielle sur une plaie. La synthèse de collagène est en effet augmentée, tandis que la différenciation des fibroblastes est plus rapide, grâce à la stimulation du facteur de croissance TGF- β . La formation du tissu de granulation est donc accélérée.

Ainsi, il est possible d'affirmer que l'action cicatrisante de l'huile essentielle de lavande repose elle aussi sur des preuves scientifiques.(67)

Pour conclure, les propriétés reconnues de l'huile essentielle de lavande, ne se résument pas uniquement à celles énumérées ci-dessus. Également utilisée comme anti-inflammatoire, insecticide ou antidépresseur, son caractère polymorphe la place comme une huile essentielle incontournable dans le cadre de l'aromathérapie.

2- Toxicité et tolérance

L'aromathérapie est souvent considérée, à tort, comme une alternative sans risque à la médecine allopathique. Or, les huiles essentielles de par leur composition complexe et unique, peuvent exposer les patients à certains dangers. C'est pourquoi, chaque huile doit être analysée au cas par cas, afin d'en déterminer les formes et les doses où elle peut s'avérer toxique.

Dans le cas de l'huile essentielle de lavande, la littérature s'accorde à la placer dans la catégorie des huiles les mieux tolérées, quelle que soit la voie d'administration. Par voie orale par exemple, la FDA (Food and Drug Administration) (21CFR182.20 2015) la classe en tant qu'additif alimentaire sûr.(68)

Plus précisément, deux études scientifiques ont permis d'évaluer la toxicité orale de cette huile essentielle chez les rongeurs, grâce à la dose létale 50 ou DL50. Cette dernière correspond à la dose capable de tuer 50% des animaux traités.(69)

Les résultats des deux expérimentations concordent. On en arrive à la déduction que le DL50 de l'huile essentielle de lavande chez les souris et les rats est de 13,5 g/kg (+/- 0,9 g/kg). Après ingestion d'une telle dose, une dépression du système nerveux central est observée dans les 10 à 15 minutes ; s'ensuit alors un décès un à trois jours après.(62,70)

Cela signifie que l'huile essentielle de lavande est très faiblement toxique chez les rongeurs. Toutefois il n'y a pas de données qui puissent nous permettre de transposer cette conclusion chez l'homme. L'étude la plus proche à laquelle nous pourrions éventuellement nous référer reste le cas d'intoxication d'un garçon de 18 mois avec un extrait de lavandin (*Lavandula x intermedia*). Trois heures après l'ingestion d'une quantité indéterminée de cet extrait, l'enfant était confus, dans un état de somnolence profonde, avec un Score Coma Glasgow à 9. Son état neurologique s'est normalisé au bout de six heures d'hospitalisation ; tandis qu'un électroencéphalogramme effectué 24heures après s'est révélé normal.(71)

En ce qui concerne la voie cutanée, la dose létale 50 est supérieure à 5g/kg. Aucun symptôme systémique ni de décès n'a été décelé dans les 14 jours suivant l'ingestion.(62)

En conclusion, l'huile essentielle de lavande peut être considérée comme une huile essentielle peu toxique, par voie orale et cutanée. Elle ne possède aucune contre-indication aux doses thérapeutiques. Elle est ainsi autorisée chez la femme enceinte, l'enfant et le nourrisson à partir de trois mois. Cependant la prudence est de mise. Une réaction d'hypersensibilité à un des composants peut toujours avoir lieu.(72)

3- Cas particulier des enfants

De par son innocuité, l'huile essentielle de lavande fine est autorisée chez l'enfant et le nourrisson à partir de l'âge de trois mois. Cependant, les voies d'administration sont restreintes.

En effet, dans un premier temps et jusqu'à l'âge de trois ans, seuls les suppositoires, les massages et les diffusions sont tolérés, avec une concentration finale en huile essentielle ne dépassant pas 1 à 2%.

Les massages nécessitent une dilution dans une huile végétale, comme l'huile de noyau d'Abricot, de Calendula ou d'Amande douce. Effectivement, une huile essentielle se s'applique jamais pure sur la peau d'un enfant.

Pour ce qui est de la diffusion, elle doit nécessairement s'effectuer en l'absence de l'enfant, pendant une durée n'excédant pas 15 minutes, et au minimum une heure avant le coucher. L'enfant ne doit pas entrer dans la pièce directement après. Il faudra attendre au moins un quart d'heure. Ce mode d'administration est généralement employé pour apaiser le bébé et induire un sommeil réparateur.(73,74)

À partir de l'âge de trois ans, la voie orale peut être une alternative possible. L'enfant peut alors ingérer un support imprégné d'huile essentielle de lavande fine. Toutefois, pour éviter tout risque de fausse route, il est recommandé de réserver la forme solide à l'enfant de plus de six ans.

Et enfin, au-delà de six ans, il est conseillé d'administrer l'huile essentielle de lavande sous forme de capsule aromatique molle faiblement dosée. Disponibles en pharmacie, elles sont généralement standardisées, inodores et dépourvues de saveur, facilitant ainsi leur administration chez les enfants.

4- Modes d'administration

La faible toxicité de l'huile essentielle de lavande lui confère l'avantage d'être utilisée selon les trois voies possibles : cutanée, olfactive et interne.

Voie cutanée :(59,75)

Le caractère lipophile des huiles essentielles leur permet de traverser la barrière cutanée pour atteindre la circulation générale. C'est dans cette optique que l'huile essentielle de lavande est employée, dans les massages et les bains.

Elle peut être utilisée pure, par voie cutanée, sur de petites surfaces ; cependant, pour des zones plus étendues, la dilution s'impose, par prudence. Le ratio idéal correspond à 5% d'huile essentielle pour 95% d'huile végétale.

La zone d'application dépend principalement de l'activité thérapeutique attendue. Pour traiter les troubles psychiques comme l'anxiété et la dépression, le plexus solaire et l'intérieur des poignets sont les zones de massage de prédilection. Par contre, quand il s'agit de cibler un organe particulier, notamment les organes internes, il est plus intéressant de masser la peau à proximité ; comme frictionner le bas du ventre, par exemple, pour diminuer les spasmes de règles douloureuses.

Cependant la voie cutanée ne se résume pas aux massages uniquement. Elle inclut également les bains. Dans ce cas de figure, il est primordial d'utiliser un dispersant avant de mettre l'huile en contact avec l'eau. En effet celle-ci n'étant pas hydrosoluble, elle risque de se déposer à la surface de l'eau et irriter la peau ou les yeux.

Globalement, la voie cutanée diluée est de loin la plus intéressante pour tirer au maximum profit des propriétés de l'huile essentielle de lavande.

Voie respiratoire :

La voie respiratoire, appelée également voie olfactive, est une autre alternative qui s'offre aux patients afin d'utiliser différemment l'huile essentielle de lavande. Les molécules volatiles

inhalées lors de l'inspiration, traversent les muqueuses grâce aux échanges gazeux avant de se retrouver dans la circulation sanguine. Pour cela, deux techniques existent : l'inhalation sèche et l'inhalation humide.

L'inhalation humide est probablement le procédé le plus répandu des deux. Il consiste à déposer quelques gouttes d'huiles essentielles en contact avec de l'eau chaude ou de la vapeur d'eau. Cela nécessite parfois un matériel spécifique comme un diffuseur électrique ; mais celui-ci peut être remplacé par un simple bol d'eau chaude.

La durée de diffusion dépend du volume de la pièce, mais elle ne doit pas excéder 15 minutes. Cette technique peut être réitérée tous les trois à quatre heures. Elle doit se faire en l'absence d'enfants en bas âge, de femmes enceintes et globalement de toutes les personnes sensibles.

L'inhalation humide présente l'avantage de cibler plusieurs personnes en même temps. Toutes les personnes présentes dans la pièce peuvent effectivement tirer profit des molécules diffusées. Cependant, elle nécessite du matériel et un temps d'action. Le patient doit effectivement attendre que le temps de diffusion s'écoule, et que les molécules volatiles soient en suspension dans l'air avant de pouvoir les inhaler, pour qu'enfin elles puissent faire action.

L'inhalation sèche quant à elle est beaucoup plus simple. Elle se résume à quelques gouttes déposées sur mouchoir, comme nous avons pu voir précédemment dans l'étude de Nikjou.

Pour conclure, quelle que soit la technique de diffusion utilisée, un paramètre primordial rentre en jeu : l'interférence de l'odeur. Si la personne associe l'odeur de lavande à une notion positive agréable, l'action anxiolytique recherchée peut être amplifiée. Si, au contraire, elle n'apprécie pas cette odeur ou si elle l'associe à des idées négatives, cela peut être un obstacle. (59,75)

Voie orale :

Enfin, la dernière alternative d'utilisation de l'huile essentielle de lavande est la voie orale. Elle est réservée à l'adulte. Même si son utilisation est possible, et son efficacité comparable aux autres voies citées précédemment, elle demeure néanmoins la voie la moins utilisée.

Généralement, les patients s'orientent vers cette voie pour les propriétés spasmolytiques de cette huile essentielle. Cependant, il semblerait que son temps d'action soit plus long comparé à la voie cutanée, pour venir à bout des crampes musculaires. Son intérêt est donc limité.

En conclusion, comme nous pouvons le lire sur le tableau récapitulatif ci-dessus, les voies cutanée et respiratoire sont les modes d'utilisation de prédilection pour l'huile essentielle de lavande. La voie orale reste néanmoins possible.(59)

Tableau 10 : Récapitulatif de l'utilisation de l'huile essentielle de lavande fine

Voie d'utilisation	Cutanée	Respiratoire	Orale
Intérêt	+++	+++	+

5- Conseils à l'officine

Stress, anxiété

Concernant les indications nerveuses de l'huile essentielle de lavande, les exemples d'utilisations proposés dans la littérature sont excessivement nombreux ; tant dans la composition des mélanges, que dans les méthodes d'application. Nous proposons deux alternatives simples et faciles à utiliser pour le patient, qui aura toujours la possibilité d'incorporer d'autres huiles aux vertus similaires s'il le souhaite.

En massage :

En massage, l'action de l'huile essentielle de Lavande fine s'allie à celle du Bois de rose, un stimulant cérébral, riche en linalol et en α -terpinéol, fréquemment indiqué pour les dépressions et les surmenages intellectuels. Les propriétés de l'huile essentielle d'Ylang-Ylang sur l'anxiété peuvent également être mises à contribution dans ce mélange. L'ensemble doit être dilué dans une huile végétale.(43)

On peut réaliser un mélange avec les proportions suivantes :

- 20 gouttes d'huile essentielle de Lavande fine (*Lavandula angustifolia*)
- 20 gouttes de Bois de rose (*Aniba rosaeodora*)
- 10 gouttes d'huile essentielle d'Ylang-Ylang (*Cananga odorata*)
- 50 gouttes d'huile végétale de Macadamia (*Macadamia integrifolia*).

Masser le plexus solaire avec 4 ou 5 gouttes du mélange, 2 à 3 fois par jour.

En diffusion humide :

En diffusion humide, l'huile essentielle de lavande fine peut être utilisée seule, à partir du moment où son parfum n'est pas perçu comme désagréable. Il suffit de déposer entre 10 à 15 gouttes dans un diffuseur d'huiles essentielles ou dans un bol d'eau chaude, et de laisser diffuser 10 minutes toutes les deux heures.

La durée de diffusion et la quantité d'huile dépendent principalement de la surface de la pièce. Il faudra donc adapter cette technique au cas par cas.(76)

Brûlures superficielles et coups de soleil

En cas de brûlure ou de coup de soleil, appliquer le plus rapidement possible quelques gouttes d'huile essentielle de lavande fine directement sur les surfaces atteintes. Même appliquée pure, celle-ci ne pique pas. Répéter l'opération toutes les 15 minutes jusqu'à l'atténuation de l'inflammation. Cette utilisation reste toutefois limitée à de petites surfaces brûlées, à hauteur de cinq à six applications par jour.(77)

Par la suite, il est possible de mélanger quelques gouttes d'huile de lavande dans un gel d'aloë vera pour accélérer la cicatrisation.(39)

Contractures musculaires, crampes et courbatures

Pour une action complète et efficace sur les contractures musculaires, des crampes ou encore des courbatures, l'huile essentielle de Romarin à camphre (*Rosmarinus officinalis CT camphre*) est un allié de choix. Riche en camphre et en 1,8 cinéole, cette huile est un puissant décontractant musculaire, qui vient additionner ses effets à ceux de l'huile essentielle de lavande. Il est encore plus intéressant de diluer le tout dans l'huile végétale d'Arnica (*Arnica montana*) possédant des propriétés similaires.

On obtient ainsi le mélange suivant :

- 45 gouttes d'huile essentielle de lavande
- 45 gouttes d'huile essentielle de romarin à camphre (*Rosmarinus officinalis CT camphre*)
- Huile végétale d'arnica (*Arnica montana*) qsp 10 mL

Masser les zones douloureuses à l'aide du mélange.(78)

Pour répondre à tous les critères énumérés dans cette partie, tant sur l'action que sur la toxicité attendue, l'huile essentielle de lavande fine doit être de qualité. Pour s'en assurer, nous nous proposons de l'analyser grâce à la technique de résonance magnétique nucléaire (RMN).

PARTIE C

LA RMN APPLIQUÉE À L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE

I- Technique de RMN

1- Généralités sur la RMN

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode spectroscopique fréquemment employée en chimie et en imagerie médicale. Elle consiste à analyser les interactions entre les noyaux d'un échantillon soumis à l'effet d'un champ magnétique intense. Les informations tirées fournissent un graphique représentant l'intensité d'émission des signaux en fonction de la fréquence. (79,80)

Les spectres ainsi obtenus donnent des informations quant à la présence et le nombre de noyaux ; ainsi que les liaisons chimiques existant entre les différents noyaux de la même molécule, permettant ainsi d'élucider la structure moléculaire, et parfois de quantifier sa présence dans l'échantillon.

L'enregistrement du spectre RMN se fait selon plusieurs étapes successives. Tout d'abord, il est nécessaire que les spins atteignent leur équilibre thermique. Le délai nécessaire, nommé « délai de relaxation » varie entre quelques secondes à quelques minutes en fonction des isotopes mesurés. Une fois cet équilibre atteint, une puissante impulsion radiofréquence (RF) est émise. Extrêmement courte (moins de 20 microsecondes), elle est suffisante pour générer un signal oscillant : le signal de précession libre, appelé également FID (Free Induction Decay).

L'enregistrement du FID dure entre 50 ms et quelques secondes, pendant le temps d'acquisition (t_{acq}). Ce signal est difficilement interprétable, car il représente l'intensité en fonction du temps. C'est pourquoi, il est nécessaire d'appliquer la Transformation de Fourier sur le signal. Ce procédé mathématique, consiste à transformer le signal dans le domaine temporel en un signal dans le domaine fréquentiel, plus simplement interprétable.

Ces séquences sont répétées plusieurs fois, et les FID obtenus sont additionnés, pour améliorer le rapport signal-sur-bruit. On estime qu'après N expériences, le signal est N fois plus grand qu'après une seule expérience. On dit alors que N « scans » ont été réalisés. Cette dernière étape est appelée le « Time averaging ».

Dans une expérience RMN, on ne mesure que le spectre d'un isotope particulier à la fois. On parle alors de RMN monodimensionnelle. Pour être mesuré, la condition sine qua non est un nombre de spin I non nul, avec un nombre de protons et de nucléons tous les deux non pairs. C'est le cas du proton H^1 et du C^{13} , très largement utilisés dans l'identification structural moléculaire des composés organiques inconnus, et qui ont tous les deux un spin de $\frac{1}{2}$.

2- RMN monodimensionnelle

a- RMN du proton

L'hydrogène est un atome très abondant dans les composés organiques, fournissant ainsi une excellente sensibilité à la détection RMN.(81,82)

Dans un spectre, chaque proton apparaît sous la forme d'un signal caractérisé par un déplacement chimique (δ) exprimé en partie par million (ppm). La multiplicité du signal varie en fonction de l'environnement du proton considéré, notamment en fonction du nombre de protons voisins avec lesquels ce proton est couplé. Le signal peut prendre différentes formes : (d) doublet ; (t) triplet ; (dd) doublet de doublet ; (q) quadruplet ; (m) multiplet, etc. En analysant ces signaux, il est possible de déterminer des constantes de couplage J , exprimées en Hz.

La RMN du proton est d'une grande utilité pour élucider les structures des molécules. Elle fournit en effet une multitude de renseignements notamment, sur les différents types d'hydrogènes présents dans la molécule analysée, ainsi que le nombre d'hydrogènes « voisins » d'un proton donné.

Toutefois, malgré tous les avantages qu'elle présente, cette technique n'est pas suffisante pour fournir à elle seule l'ensemble des renseignements nécessaires sur la structure d'une molécule. C'est là qu'intervient la spectroscopie de RMN- ^{13}C , qui s'est hissée au premier rang des méthodes d'analyses dans l'attribution du squelette carboné des molécules.

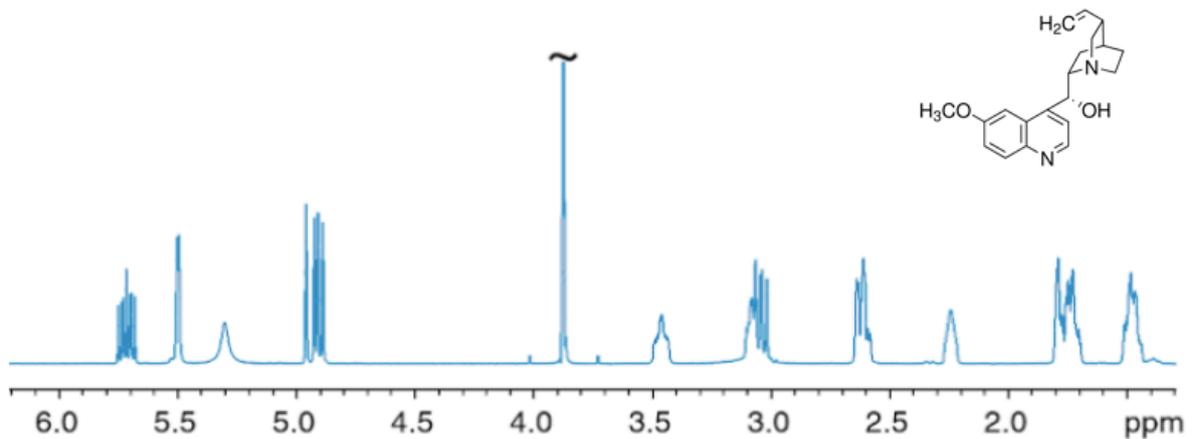


Figure 13 : spectre RMN-¹H de la quinine, à 500 MHz

b- RMN du Carbone :

L'enregistrement du spectre de RMN-¹³C respecte les mêmes étapes initiales que celui du ¹H, du « Délai de relaxation » à la Transformation de Fourier. On remarque toutefois que les forts couplages scalaires avec les protons des hydrogènes rendent le spectre moins lisible. En effet, lorsqu'on applique l'expérience de RMN sur les atomes de carbone d'une molécule, on observe plusieurs constantes de couplage ¹J_{C-H}, intenses et de courte distance, induisant des chevauchements de signaux. C'est pourquoi l'acquisition du signal en RMN-¹³C s'accompagne d'une séquence de découplage des protons. On obtient alors un spectre composé uniquement de pics simples : des singulets. (80)

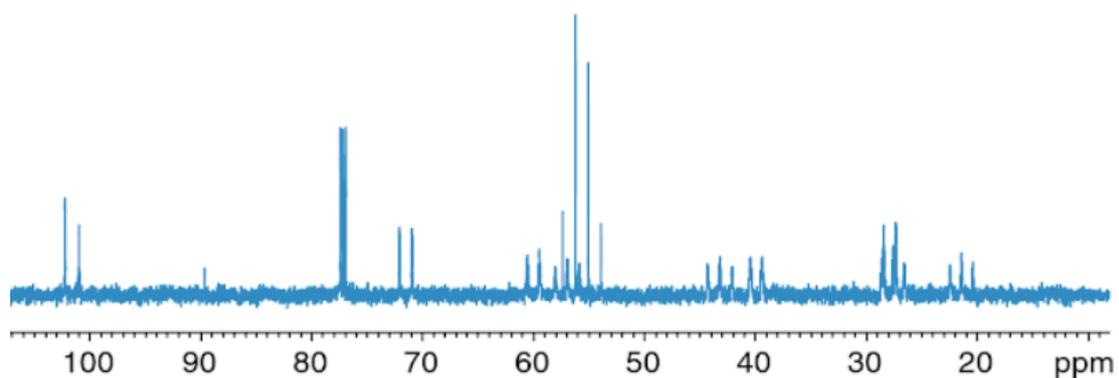


Figure 14 : Spectre RMN-¹³C de la quinine, à 500 MHz sans découplage des protons(79)

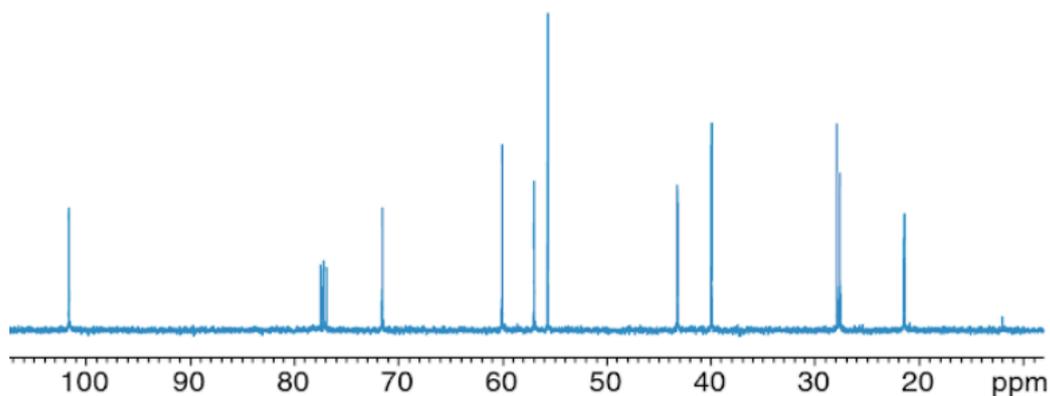


Figure 15 : Spectre RMN-¹³C de la quinine, à 500 MHz avec découplage à large bande des protons (79)

L'analyse du spectre peut être complétée par la suite, à l'aide de séquences spéciales appelées DEPT (*Distortionless Enhanced Polarization Transfer*), permettant de différencier les signaux des CH, CH₂, CH₃ et carbones quaternaires. Dans le cas du DEPT 135 par exemple, les signaux des CH et CH₃ apparaissent d'un côté du plan défini par la ligne de base, tandis que les signaux des CH₂ figurent de l'autre côté du plan. Les carbones quaternaires quant à eux, ne figurent pas sur le spectre, étant donné que cette séquence utilise les couplages avec les protons.

Au fil du temps, la spectroscopie de RMN-¹³C s'est révélée être un atout majeur dans l'analyse structurale moléculaire. Toutefois, la faible abondance isotopique naturelle du ¹³C (1,1%) et sa faible sensibilité limitent son utilisation. Une combinaison des données fournies par la RMN-¹H et ¹³C est donc du plus haut intérêt, afin d'élucider les structures des molécules organiques. Il est même possible de réunir ces informations dans un seul et même spectre dans le cadre de la RMN à deux dimensions, pour les molécules les plus complexes.

3- RMN bi-dimensionnelle :

La RMN à deux dimensions est représentée par un spectre où l'intensité est tracée par rapport à deux axes de fréquence. Cette technique vise en général à apporter des informations concernant les corrélations des différents atomes, qu'ils soient du même type (corrélations homonucléaires) ou non (corrélations hétéronucléaires). (83)

Afin d'étudier les corrélations homonucléaires, la technique la plus fréquemment utilisée est la séquence COSY (CORrelated SpectroscopY). Elle fournit des informations sur les couplages des mêmes noyaux séparés par deux ou trois liaisons.

Les corrélations hétéronucléaires quant à elles, sont souvent employées pour associer les signaux RMN- ^1H à des signaux RMN- ^{13}C . Plusieurs séquences existent. Parmi les plus utiles, on peut nommer la séquence HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation). Celle-ci permet d'observer les couplages chimiques entre les carbones et les protons directement liés entre eux ($^1J_{\text{H-C}}$) ; mais ne permet pas d'observer les déplacements chimiques des carbones quaternaires.

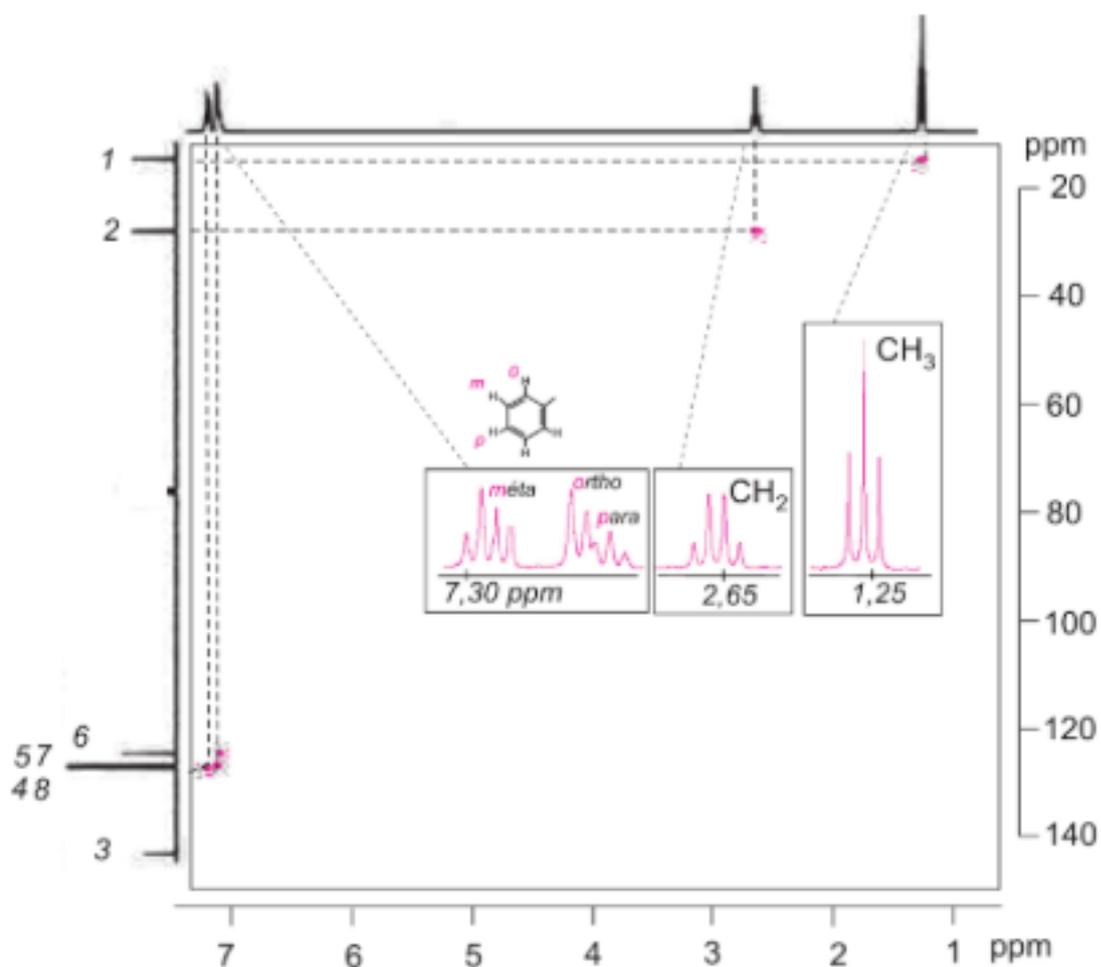


Figure 16 : Carte HSQC de l'éthylbenzène (80)

4- RMN quantitative :

Au-delà de son rôle dans le domaine de l'analyse structurale, la technique de RMN permet également d'effectuer des dosages pour quantifier un principe actif ou une impureté. Le principe est simple. Il repose sur la relation fondamentale qui montre que l'intensité d'un signal RMN est directement proportionnelle au nombre de noyaux N responsables de ce signal. On obtient donc la formule : (80) (81)

$$S_x = k_{app} \cdot N_x$$

S_x : aire du signal

k_{app} : constante du spectromètre

N_x : nombre de noyaux

Pour pouvoir doser un constituant dans un mélange, il faut tout d'abord choisir un ou des signaux RMN distinct(s). Ensuite, plusieurs modes de quantifications sont possibles en fonction de la composition du mélange et de l'attribution des signaux.

- Si tous les analytes de l'échantillon sont identifiés et tous les signaux de RMN attribués :

Soit un échantillon composé uniquement de deux composés A et B.

L'aire du signal de A (S_A) est à la fois proportionnelle au nombre de protons a et à la concentration molaire n_A . Donc : $S_A = k_A \cdot n_a$ et $n_a = C_A \cdot V_A$

$$S_A = k_A \cdot C_A \cdot V_A$$

Il en est de même pour le composé B. On obtient donc le rapport :

$$\frac{n_A}{n_B} = \frac{\frac{S_A}{a}}{\frac{S_B}{b}}$$

- S_A : aire du signal de A ; S_B : aire du signal de B
- n_A : concentration molaire de A ; n_B : concentration molaire de B
- a : nombre de protons A ; b : nombre de protons B

$$C_A = n_A \cdot M_A = \frac{S_A}{a} \cdot M_A$$

Par ailleurs :

- M_A : masse molaire (g/mol)
- C_A : concentration massique (g/L)

Il en est de même pour le composant B. Or pour accéder aux concentrations de chacun des composés dans le mélange, nous savons que la somme des deux équivaut à 100% :

$$\underline{C_A\% + C_B\% = 100}$$

$$C_A\% = 100 \cdot \frac{\frac{S_A}{a} \cdot MA}{\frac{S_A}{a} \cdot MA + \frac{S_B}{b} \cdot MB}$$

ET

$$C_B\% = 100 \cdot \frac{\frac{S_B}{b} \cdot MB}{\frac{S_A}{a} \cdot MA + \frac{S_B}{b} \cdot MB}$$

Dans le cas d'un mélange avec plusieurs composants, dont chacun a été identifié, on obtient ainsi la formule suivante, permettant d'attribuer directement à chaque composant sa concentration :

$$C_i\% = 100 \cdot \frac{\frac{S_i}{i} \cdot MI}{\frac{S_A}{a} \cdot MA + \dots + \frac{S_i}{i} \cdot MI}$$

- Si tous les analytes de l'échantillon ne sont pas identifiés et/ou tous les signaux RMN ne sont pas attribués :

Dans ce cas, il faut utiliser un étalon interne (appelé ici standard R). Celui-ci va émettre un signal servant d'indicateur, mais qui ne doit pas interférer avec le signal choisi pour le composé X à quantifier.

Il faut repérer sur le spectre RMN deux signaux distincts, l'un appartenant au composé X et l'autre au standard R.

$$\frac{CX}{CR} = \frac{nX}{nR} \cdot \frac{MX}{MR}$$

$$\text{Or } \frac{nX}{nR} = \frac{\frac{SX}{X}}{\frac{SR}{r}} \text{ et } CR = 100 \cdot \frac{Pr}{Pe+Pr}$$

Avec :

- P_e : la masse du produit de référence (en mg)
- P_r : la masse de l'échantillon (en mg)

D'où :

$$C_x = 100 \cdot \frac{P_r}{P_e + P_r} \cdot \frac{\left(\frac{S_x}{X}\right) \cdot M_x}{\left(\frac{S_r}{r}\right) \cdot M_r}$$

La RMN quantitative présente l'avantage d'être rapide et directe. Il est possible d'y avoir recours sans étape de normalisation préalable contrairement à la chromatographie. Le seul prérequis, pour la plupart des applications, est la solubilité dans un solvant deutéré afin d'analyser l'échantillon. Celui-ci n'est d'ailleurs pas détruit, et peut être récupéré à la fin de l'expérience pour subir une autre batterie de tests.

C'est une méthode de choix pour quantifier des composés instables à haute température. Elle est même capable de détecter simultanément différents composés dans un mélange ; et permet d'effectuer simultanément une analyse quantitative et qualitative. C'est pourquoi il serait intéressant de pouvoir l'utiliser dans les analyses d'huiles essentielles.

5- RMN appliquée aux huiles essentielles :

Les études portant sur l'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles révèlent que la chromatographie gazeuse est la technique la plus employée en routine, faisant de la spectroscopie RMN une méthode minoritaire et innovante dans ce domaine. Toutefois, les expérimentations employant la RMN sont certes peu nombreuses, mais elles n'en demeurent pas moins prometteuses. (83 ; 85)

Il en ressort que l'atout majeur de la spectroscopie RMN est sa capacité à déterminer avec précision, dans le même temps, la nature et la quantité des composés d'un échantillon. Elle fournit ainsi une empreinte utile pour une identification ultérieure de l'huile essentielle, dans des conditions analytiques qualifiées et standardisées. L'analyse quantitative est particulièrement précieuse quand les composés étudiés montrent au moins un signal dans la région entre 3.0 et 10.0 ppm ; le tout, sans avoir recours à des procédures de fractionnement ou d'isolation.

Dans l'étude de Cristiane Cerceau par exemple, la spectroscopie RMN-¹H a été utilisée et validée, afin de quantifier l'alpha-pinène dans un certain nombre d'huiles essentielles. Cette technique s'est finalement révélée adéquate et tout à fait légitime pour remplir cette mission. Les résultats obtenus étaient comparables à ceux obtenus avec la chromatographie gazeuse ; d'autant plus que la RMN présente l'avantage d'être simple, rapide et applicable au contrôle qualité pour un nombre important d'échantillons.

En conclusion, la spectroscopie RMN est un excellent outil d'analyse d'huiles essentielles tant sur le plan qualitatif que quantitatif. C'est une méthode sélective, fidèle et précise, qui offre de multiples avantages, comparé aux méthodes classiques de chromatographie habituellement employées. Elle peut même être applicable pour étudier les variations de composition saisonnière et/ou géographique des huiles essentielles.

II- Analyse de l'huile essentielle de lavande fine par RMN

1- Matériels et méthodes

a- Matériels

Produits chimiques : Pour notre expérimentation, nous utilisons des échantillons fournis par le laboratoire Sigma Aldrich. Le linalol est pur à 99%, et l'acétate de linalyle à 98%.

Matériel végétal : L'huile essentielle utilisée correspond à l'huile de lavande fine, (*Lavandula angustifolia* Mill.) commercialisée par le laboratoire Naturactive.

Appareils utilisés : Nous avons eu recours à une balance de précision (220 g, d=0,01mg) de marque Sartorius, afin d'effectuer les gammes étalons.

Logiciels : Nous avons utilisé 3 logiciels différents.

- TopSpin (3.5pl6) pour l'obtention des spectres RMN proton, carbone et HSQC.
- NMRProcFlow (version : 1.2.26) pour traiter les données de la RMN quantitative.
- ChemDraw (version : 15.0.0.107) pour le dessin des molécules.

b- Méthodes

Préparation des gammes de calibration :

Nous avons tout d'abord préparé une solution tampon, contenant 6,06 mg de Tris-base/mL, dilué dans un mélange de solvants (DMSO-d₆/ D₂O, 90/10 v/v). Son rôle est de contrôler la variation de déplacements chimiques en RMN.

Nous procédons ensuite à la réalisation des gammes d'étalonnage. Pour cela, nous préparons des solutions à 10 µl/ml dans la solution tampon, contenant les 12 molécules ciblées dans la littérature et la pharmacopée.

À partir de ces solutions, nous réalisons des solutions étalon numérotées de 1 à 10. Dans chacune d'elle, nous retrouvons un mélange des 12 molécules cibles à des concentrations différentes (cf. Annexe n°1). Enfin, pour les huiles essentielles, nous préparons une solution tampon à 100µl/ml avec 100µl de la solution étalon. Pour chaque échantillon, un volume de 600µl a été placé dans des tubes RMN.

Analyse RMN :

Les spectres de résonance magnétique nucléaire 1D (^1H , ^{13}C DEPT) et 2D (HSQC, HMBC et TOCSY) sont obtenus grâce à un spectromètre RMN BrukerAdvance III 600 MHz, équipé d'une sonde TXI 5mm et d'un passeur automatique de tubes.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence externe ; et la calibration interne est réalisée sur le signal du solvant.

L'acquisition des spectres est réalisée à l'aide du logiciel Topspin 3.5.

Le proton classique 1D avec un angle de basculement à 90° a été effectué. L'acquisition des spectres s'est faite en utilisant 8 scans et 4 demi-scans de 128K points de données avec une fenêtre spectrale de 8417,5 Hz.

Les spectres DEPTQ 1D ont été acquis en utilisant 8 demi-scans et 2048 scans de 128 K points de données, en utilisant des largeurs spectrales de 37 878 Hz.

Les spectres HSQC 2D ont été acquis en utilisant 4 scans pour 8192 lignes (échantillonnage non uniforme avec un taux de compression de 3,125%) qui ont été collectés en 2K points de données, en utilisant une fenêtre spectrale de 9615 Hz en F2 et 26 412 Hz en F1.

2- Résultats et discussion

Dans l'optique d'identifier et de quantifier les deux composants majoritaires du mélange complexe qu'est l'huile essentielle de lavande fine ; nous avons tout d'abord analysé les deux molécules de linalol et d'acétate de linalyle, de manière isolée. Pour cela, des séquences de RMN monodimensionnelle (1D) de proton (^1H) et de carbone (^{13}C) ont été mises en œuvre, conjointement avec des séquences de RMN bidimensionnelle (HSQC).

Les paramètres principaux pris en compte pour effectuer cette identification sont le nombre de signaux observés, leur attribution ; ainsi que la variation des déplacements chimiques des signaux par rapport à des valeurs de référence issues de la littérature scientifique.

a- Identification des molécules cibles

i- Analyse RMN de la molécule de linalol

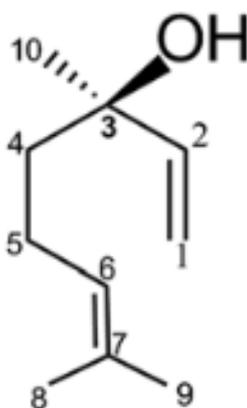


Figure 17 : molécule de linalol numérotée

Dans cette première partie, nous nous proposons d'analyser la molécule de linalol à partir d'un échantillon de cette substance purifié à 99%, et commercialisé par le laboratoire Sigma Aldrich.

En ce qui concerne la numérotation des protons et des carbones, pour des raisons pratiques, nous avons fait le choix de reprendre la numérotation retrouvée dans la littérature scientifique. Ainsi, les numéros apparaissant sur la figure n°17 sont attribués aux carbones et aux protons dans notre analyse. Par exemple, dans nos spectres annotés, les légendes (C4) et (H4) correspondent respectivement au carbone 4 de la figure n°17 et aux deux protons qui lui sont liés.(49)

Nous précisons tout de même que les carbones C3 et C7 sont des carbones quaternaires. Ils ne sont pas reliés à des protons. Il n'y a donc pas de proton H3 et H7. Et enfin, le proton de la fonction alcool est nommé H' dans notre étude.

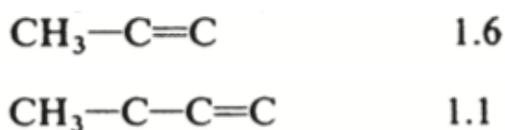
RMN du proton ^1H :

Le spectre RMN du proton obtenu pour la molécule de linalol est consultable à l'annexe 3. Pour identifier chacun des protons, nous nous sommes basés sur des tables de déplacements chimiques de RMN- ^1H (cf annexe n°2), ainsi que sur le nombre d'hydrogènes voisins et l'intensité du signal résumés grâce au triangle de Pascal.(80)

Hydrogènes voisins	multiplicité	Intensité
0	singulet	1
1	doublet	1 1
2	triplet	1 2 1
3	quadruplet	1 3 3 1
4	quintuplet	1 4 6 4 1
5	sextuplet	1 5 10 10 5 1
6	septuplet	1 6 15 20 15 6 1

Figure 18 : Triangle de Pascal et son application à la RMN pour $I = \frac{1}{2}$ (80)

Les protons H8, H9, H10 et H' ne possèdent pas de protons voisins. Ils apparaissent donc sous forme de singulets. En excluant le H₂O, le TRIS, le DMSO et le TMS, et en s'appuyant sur les données de la table RMN- ^1H , il est assez aisé d'identifier les signaux des protons H8, H9 et H10 parmi les 4 singulets. La présence de 3 protons à chaque fois, explique leur intensité élevée.



Le dernier singulet qui sort à 4,6 ppm est donc, par élimination celui de la fonction alcool, H'.(85)

En ce qui concerne les protons H1a et H1b, ils sont non équivalents entre eux, mais tous deux couplés avec le proton H2. Les signaux à identifier pour ces protons sont donc des doublets de doublets, qui apparaissent entre 4,5 et 6,0 ppm. Dans cette même zone, parmi les signaux

enchevêtrés on observe un multiplet de faible intensité. La table RMN et l'HSQC nous permettent de l'identifier comme le proton H6.



Enfin, les protons H4 et H5 sont représentés par les deux derniers multiplets. Les tables RMN n'étant pas assez précises, l'hypothèse que le signal de H4 soit celui à 1,39 ppm est confirmé par HSQC.



Le dernier signal obtenu à 1,91 ppm correspond donc à celui du proton H5.

L'attribution des différents signaux est synthétisée dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Attribution des signaux RMN-¹H du linalol

Proton	Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage (Hz)
H1a	4,95	1H	Doublet de doublet	1,86 10,7
H1b	5,14	1H	Doublet de doublet	1,86 17,4
H2	5,88	1H	Doublet de doublet	10,7 17,4
H'	4,6	1H	Singulet	
H4	1,39	2H	Multiplet (2 ³)	
H5	1,91	2H	Multiplet (2 ⁴)	
H6	5,07	1H	Triplet de multiplet	1,3 7,2
H8	1,62	3H	Singulet	
H9	1,54	3H	Singulet	
H10	1,14	3H	Singulet	

Nous obtenons ce spectre ainsi annoté :

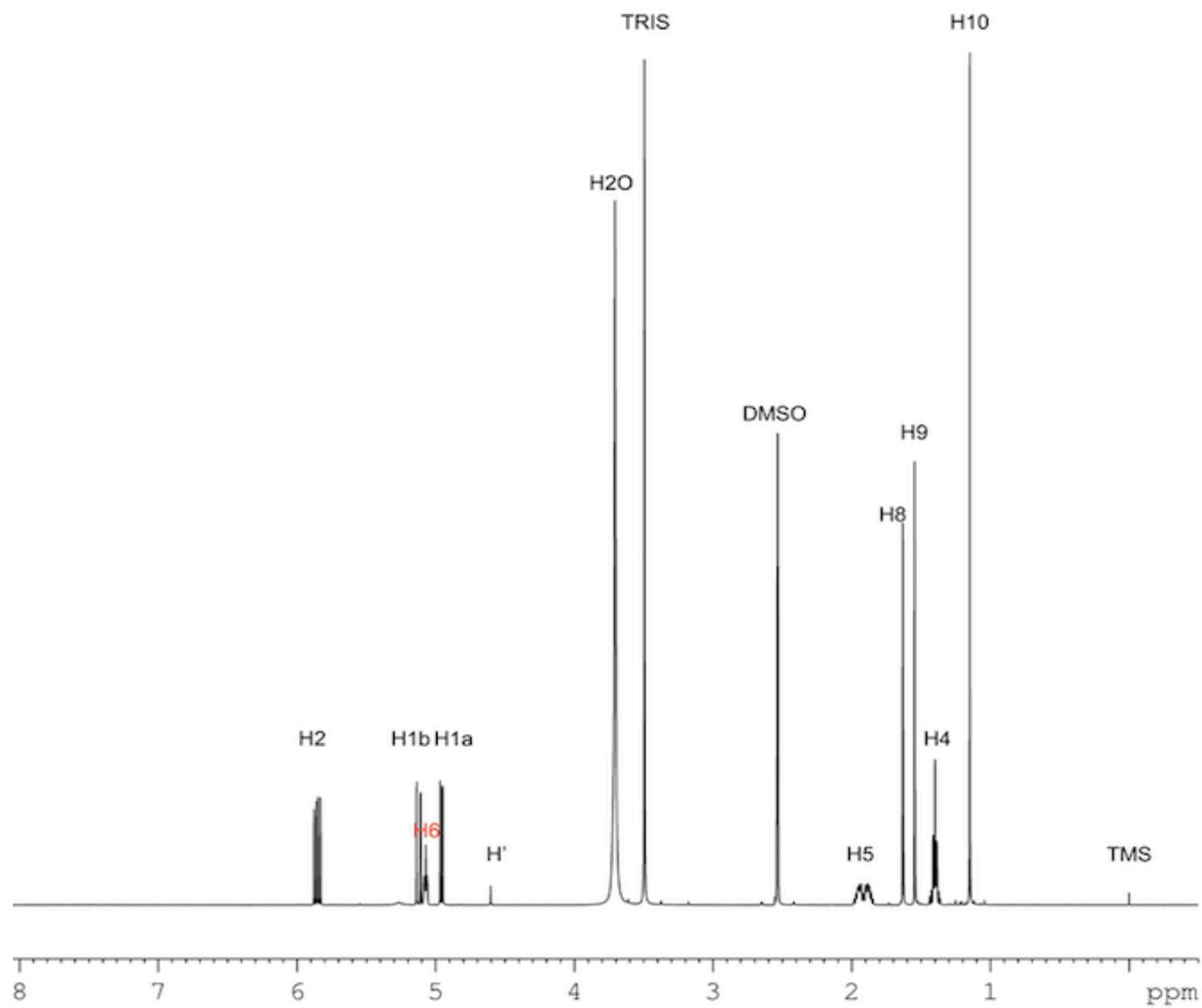


Figure 19 : Spectre RMN- ^1H du linalol entre 0 et 8 ppm

Afin de distinguer avec plus de précision la totalité des signaux, nous avons effectué un zoom sur la zone située entre 4,8 et 6 ppm. Nous obtenons alors le spectre suivant.

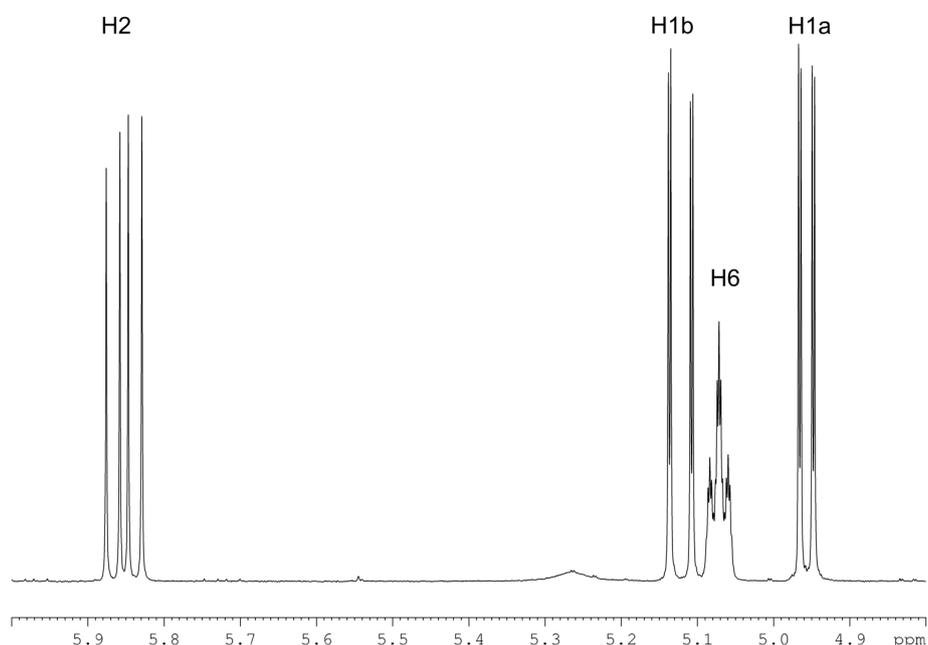


Figure 20 : Spectre RMN-1H du linalol entre 4,8 et 6 ppm

Nous comparons ensuite notre analyse de spectres avec des données issues de la littérature scientifique, dans l'objectif de confirmer la bonne attribution des signaux.(84,86)

Les valeurs issues de chacune des expérimentations sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹H du linalol avec la littérature

H	Déplacement chimique dans la littérature (ppm) : Article 1	% de différence 1	Déplacement chimique dans la littérature (ppm) : Article 2	% de différence 2
H1a	5,03	1,6	5,06	2,2
H1b	5,25	2,1	5,21	1,4
H2	5,93	0,9	5,91	0,5
H'	3,47	24,6	2,19	52,4
H4	1,52	9,4	1,57	12,9
H5	2,03	6,3	2,0	4,7
H6	5,14	1,4	5,13	1,1
H8	1,52	6,2	1,6	1,2
H9	1,60	3,9	1,7	10,4
H10	1,27	11,4	1,28	12,3

Pour interpréter nos résultats, nous choisissons de manière arbitraire, une valeur seuil de 10% d'écart entre le déplacement chimique théorique et le déplacement chimique expérimental.

Notre attribution est en adéquation avec les interprétations des deux articles. On observe toutefois un léger décalage des déplacements chimiques, principalement pour le proton de la fonction alcool. Ce phénomène peut s'expliquer par l'échange du proton avec le deutérium.

RMN du carbone ^{13}C :

Pour acquérir plus d'informations sur la molécule de linalol, nous effectuons une analyse complémentaire à la RMN du proton, en soumettant le même extrait à la technique de RMN du carbone. Nous obtenons alors le spectre consultable en annexe 4.

Soumis à une séquence DEPT 135, le spectre RMN représente les carbones primaires et tertiaires CH et CH₃ au-dessus de la ligne de base, et les carbones secondaires et quaternaires CH₂ et C-R en-dessous. Dans notre étude, on utilise une DEPT-q afin de voir les carbones quaternaires. On observera donc les carbones C₂, C₆, C₈, C₉ et C₁₀ au-dessus ; et les carbones C₁, C₃, C₄, C₅ et C₇ en-dessous.

La gamme des déplacements chimiques est plus large pour le ^{13}C que pour le ^1H . Elle permet de situer le déplacement chimique dans un intervalle plus étendu.

- Les carbones primaires C₈, C₉ et C₁₀ apparaissent entre 10 et 30 ppm.
- Les carbones secondaires C₄ et C₅ apparaissent entre 20 et 50 ppm.
- Le carbone quaternaire C₃ apparaît entre 60 et 90 ppm
- Avec sa double liaison, C₁ apparaît entre 100 et 120 ppm
- Les carbones C₂ et C₆ apparaissent entre 110 et 150 ppm
- Le carbone C₇ apparaît entre 130 et 150 ppm

Ces informations combinées à une séquence HSQC nous permettent d'attribuer les spectres de ^{13}C .

Tableau 13 : Déplacement des signaux RMN-¹³C du linalol

Carbone	Déplacement chimique (ppm)
C1	110,9
C2	145,7
C3	71,5
C4	42,02
C5	22,28
C6	124,6
C7	130,6
C8	25,35
C9	17,39
C10	27,28

Nous obtenons ainsi ce spectre annoté :

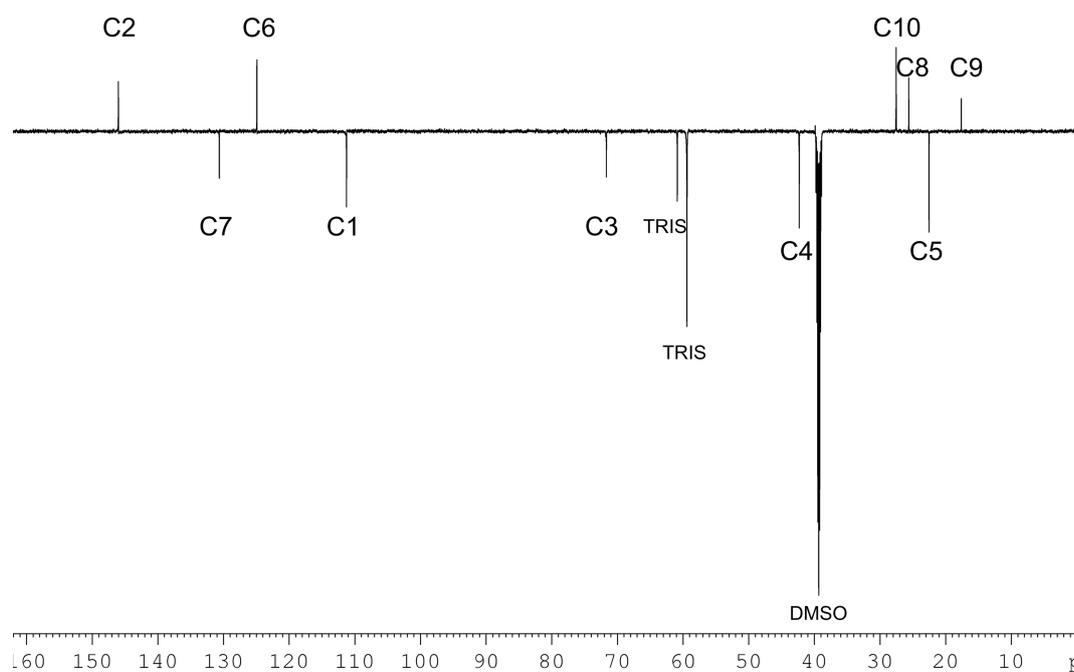


Figure 21 : DEPT 135-q RMN-¹³C du linalol entre 0 et 160 ppm

Comme précédemment, nous établissons des comparaisons avec la littérature scientifique, en prenant pour valeur seuil de différence 10%.⁽⁸⁶⁾

Tableau 14 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹³C du linalol avec la littérature

Carbone	Déplacement chimique dans la littérature (ppm)	% de différence
C1	111,7	0,7
C2	145,0	0,5
C3	73,5	2,8
C4	42,0	0,05
C5	22,8	2,3
C6	124,3	0,2
C7	132,0	1,1
C8	25,7	1,4
C9	17,7	1,8
C10	27,9	2,3

Encore une fois les déplacements chimiques recueillis sont proches des valeurs obtenues à l'issue de notre expérimentation, ce qui nous conforte dans notre hypothèse initiale quant à l'attribution des signaux.

Enfin, une fois toutes ces informations recueillies, elles sont réunies dans un spectre bidimensionnel de type HSQC. Ce dernier nous permet d'observer les couplages hétéronucléaires entre les carbones et les protons directement liés entre eux, et ainsi de relever d'éventuelles incohérences dans notre réflexion.

De toute évidence, il est impossible de relever des interactions de ce type pour les carbones quaternaires, qui ne sont liés à aucun proton de manière directe.

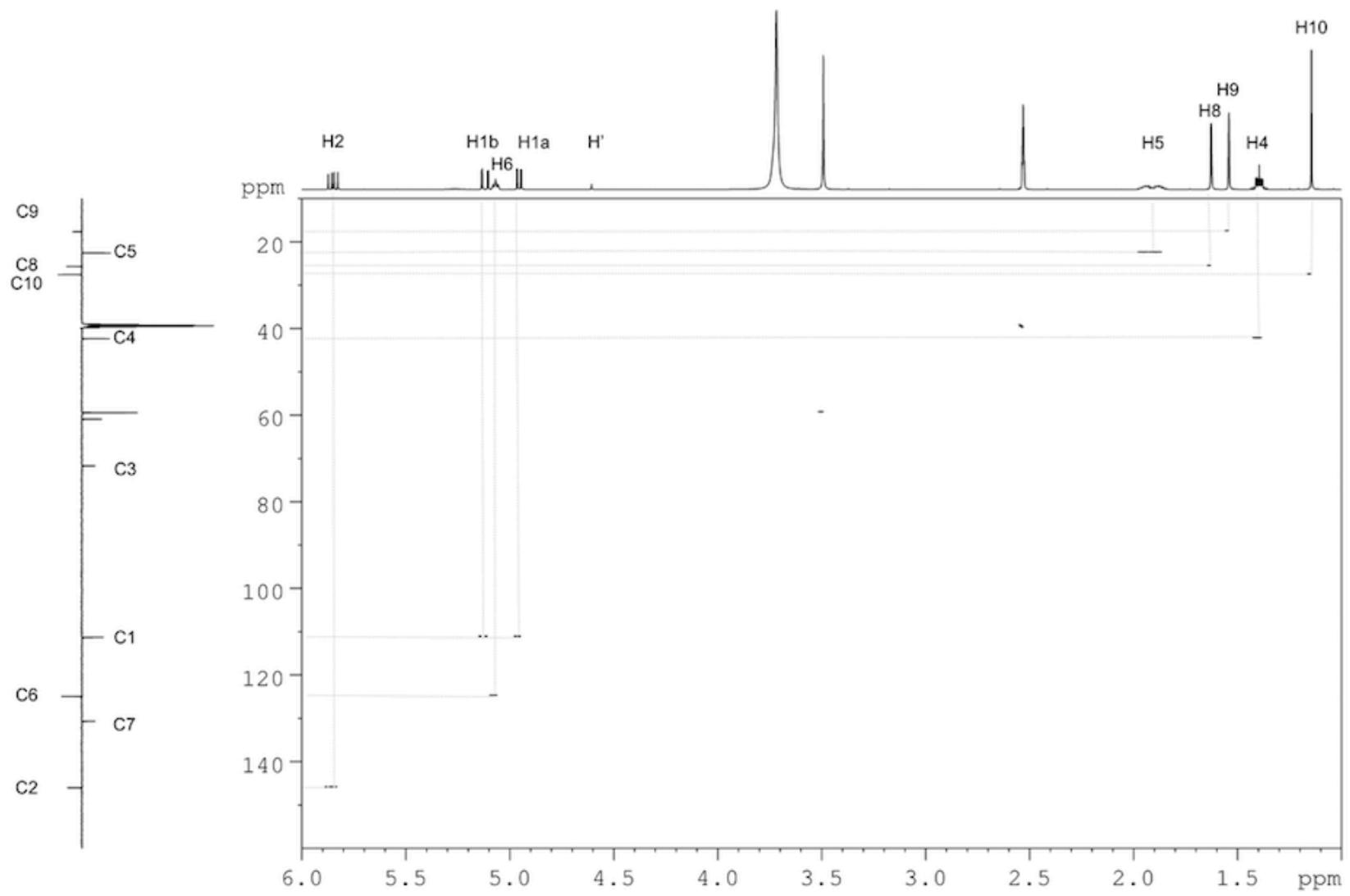


Figure 22 : Carte HSQC du linalol

ii- Analyse RMN de la molécule d'acétate de linalyle :

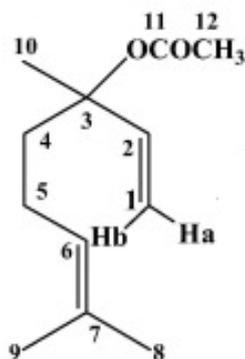


Figure 23 : molécule d'acétate de linalyle numérotée

Nous procédons de la même manière pour l'autre composé majoritaire de l'huile essentielle de lavande fine qu'est l'acétate de linalyle.

RMN du proton ^1H :

Grâce à la RMN du proton nous obtenons le spectre RMN consultable dans l'annexe 5.

Les attributions des protons sont similaires à ceux du linalol, mis à part les protons H12 dont le signal est un singulet sortant à 1,96 ppm.



Notre travail d'identification est résumé dans le tableau qui suit, toujours selon la numérotation retrouvée dans la littérature scientifique (87) :

Tableau 15 : Attribution des signaux RMN-¹H de l'acétate de linalyle

Proton	Déplacement chimique (ppm)	Intégration	Multiplicité	Constante de couplage
H1a	5,13	1H	Doublet de doublet	1,02 ; 17,5
H1b	5,09	1H	Doublet de doublet	1,02 ; 11,01
H2	5,95	1H	Doublet de doublet	11,02 ; 17,5
H4	1,76	2H	Multiplet	
H5	1,91	1H	Multiplet	
H6	5,07	2H	Multiplet	
H8	1,55	3H	Singulet	
H9	1,64	3H	Singulet	
H10	1,46	3H	Singulet	
H12	1,96	3H	Singulet	

Nous obtenons ce spectre ainsi annoté :

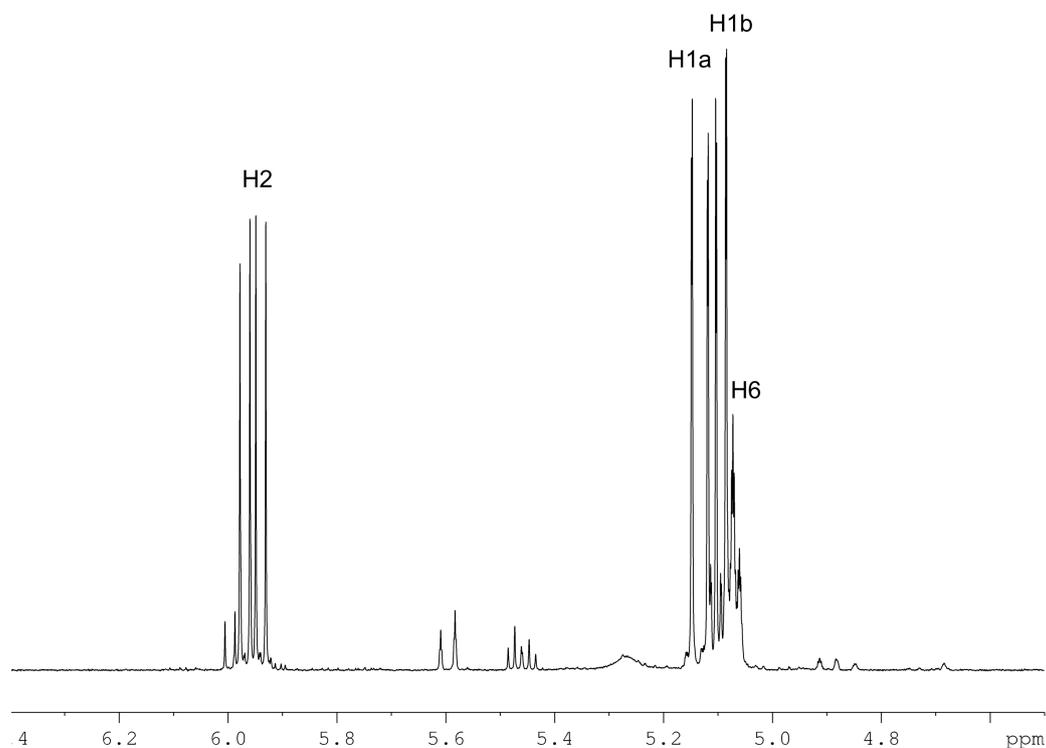


Figure 24 : Spectre RMN-¹H de l'acétate de linalyle entre 4,6 ppm et 6,4 ppm

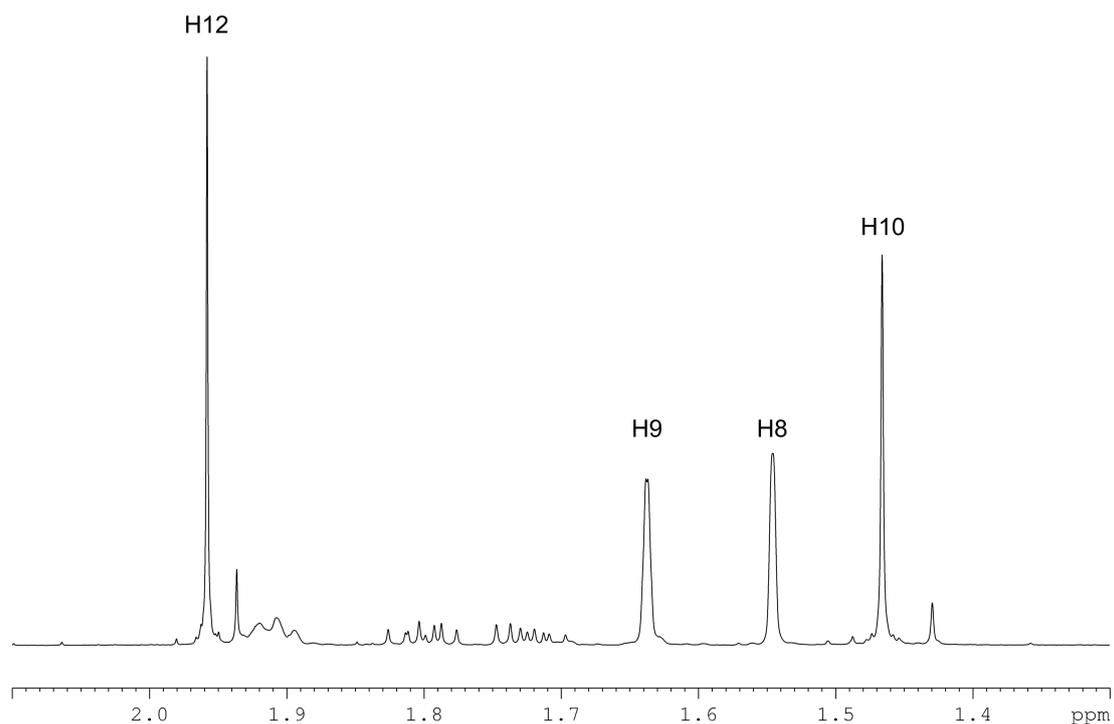


Figure 25 : Spectre RMN-¹H de l'acétate de linalyle entre 1,3 ppm et 2,1 ppm

Nous procédons ensuite à une comparaison avec la littérature (87) :

Tableau 16 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹H de l'acétate de linalyle avec la littérature

Proton	Déplacement chimique dans la littérature (ppm)	% de différence
H1a	4,95	3,5
H1b	4,97	2,4
H2	5,79	2,7
H4	1,62	7,9
H5	1,79	6,3
H6	4,92	2,9
H8	1,48	4,5
H9	1,40	14,6
H10	1,35	7,5
H12	1,94	1,0

Nous observons qu'une seule valeur dépasse le seuil d'erreur fixé à 10%. Cela s'explique par un problème de numérotation. Les carbones que l'on a nommés arbitrairement C8 et C9, sont inversés dans l'étude. Ainsi, les protons H8 de l'étude correspondent à nos protons H9 et inversement. En prenant en compte cette erreur, on obtient un pourcentage d'erreur inférieur au seuil de 10 %, avec 9,67% d'erreur pour le proton H8, et 9,76% pour le proton H9 (selon notre numérotation). L'attribution des autres signaux nous paraît cohérente.

RMN du ¹³C :

Les attributions des carbones C1 à C10 sont similaires à celles citées précédemment pour le linalol. En ce qui concerne les deux carbones supplémentaires présents dans la molécule d'acétate de linalyle, le carbone C12 est un carbone primaire. Il produit un signal entre 0 et 20 ppm, apparaissant au-dessus de la ligne de base.

Le carbone C11 quant à lui, possède un signal se situant entre 170 et 180 ppm, en dessous de la ligne de base, du fait de sa double liaison avec un oxygène.

Ces informations combinées à une séquence HSQC nous permettent d'attribuer les spectres de ¹³C.

Tableau 17 : Attribution des signaux RMN-¹³C de l'acétate de linalyle

Carbone	Déplacement chimique
C1	113,3
C2	142,2
C3	82,5
C4	38,9
C5	21,9
C6	123,9
C7	131,9
C8	25,6
C9	17,4
C10	23,7
C11	169
C12	21,9

Grâce à ces informations, nous obtenons le spectre suivant ainsi annoté :

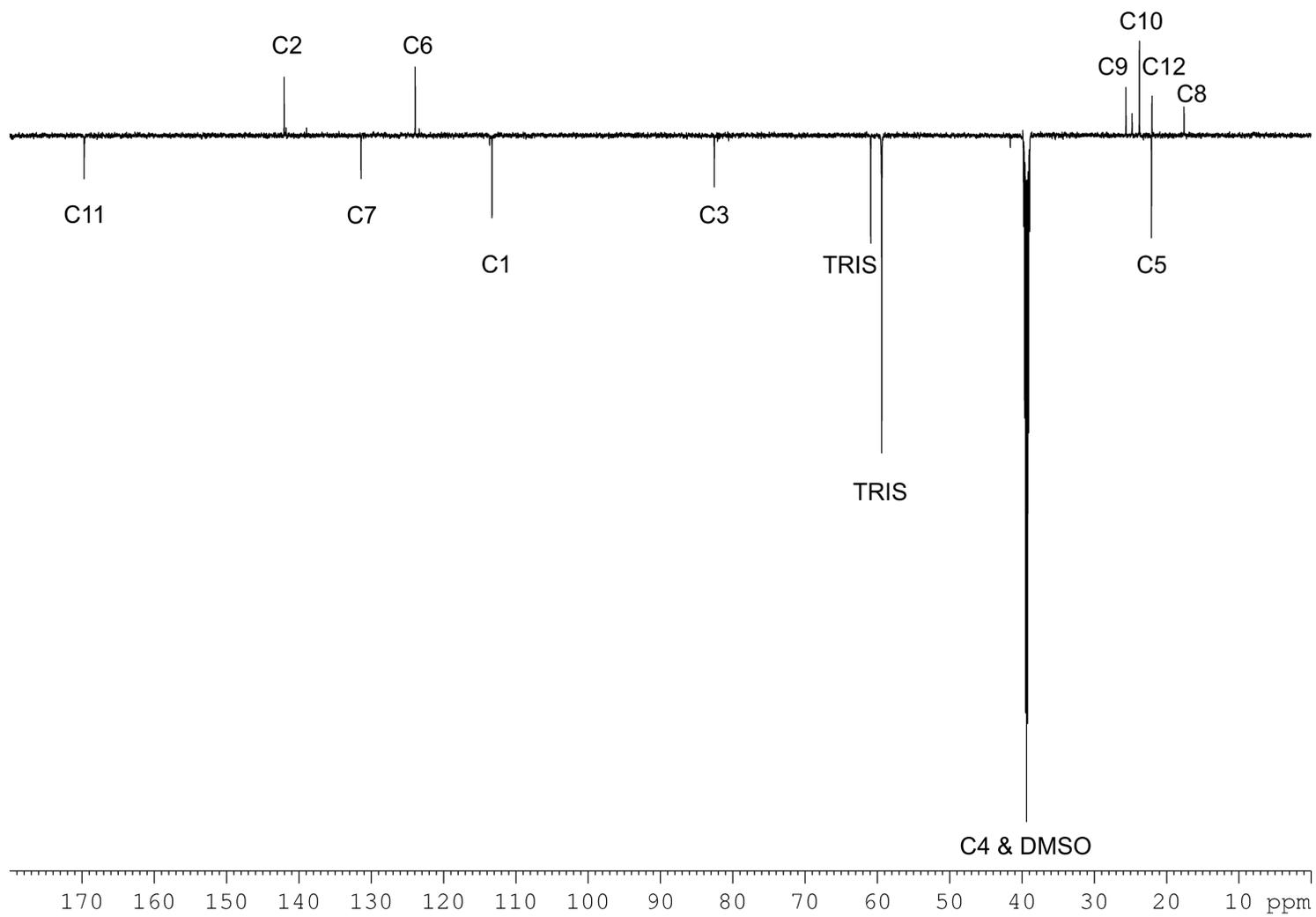


Figure 26 : DEPT 135-q RMN- ^{13}C de l'acétate de linalyle entre 0 et 180 ppm

En comparant avec la littérature, on obtient le tableau suivant (87) :

Tableau 18 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹³C de l'acétate de linalyle avec la littérature

Carbone	Déplacement chimique dans la littérature (ppm)	% de différence
C1	111,2	1,9
C2	141,1	0,8
C3	81,8	0,9
C4	39,9	2,6
C5	21,3	2,7
C6	122,3	1,9
C7	133,2	1,5
C8	25,1	1,9
C9	21,9	25,9
C10	23,1	2,6
C11	169,5	0,3
C12	17,1	21,9

Les déplacements chimiques attribués aux carbones C9 et C12 dépassent amplement le seuil de différence choisi. Nos interprétations diffèrent de celle de l'article, qui choisit d'invertir les signaux qu'on a décidé d'attribuer à ces deux carbones. Nous ne pouvons expliquer leur démarche ; d'autant plus que notre réflexion s'appuie sur une séquence HSQC supplémentaire.

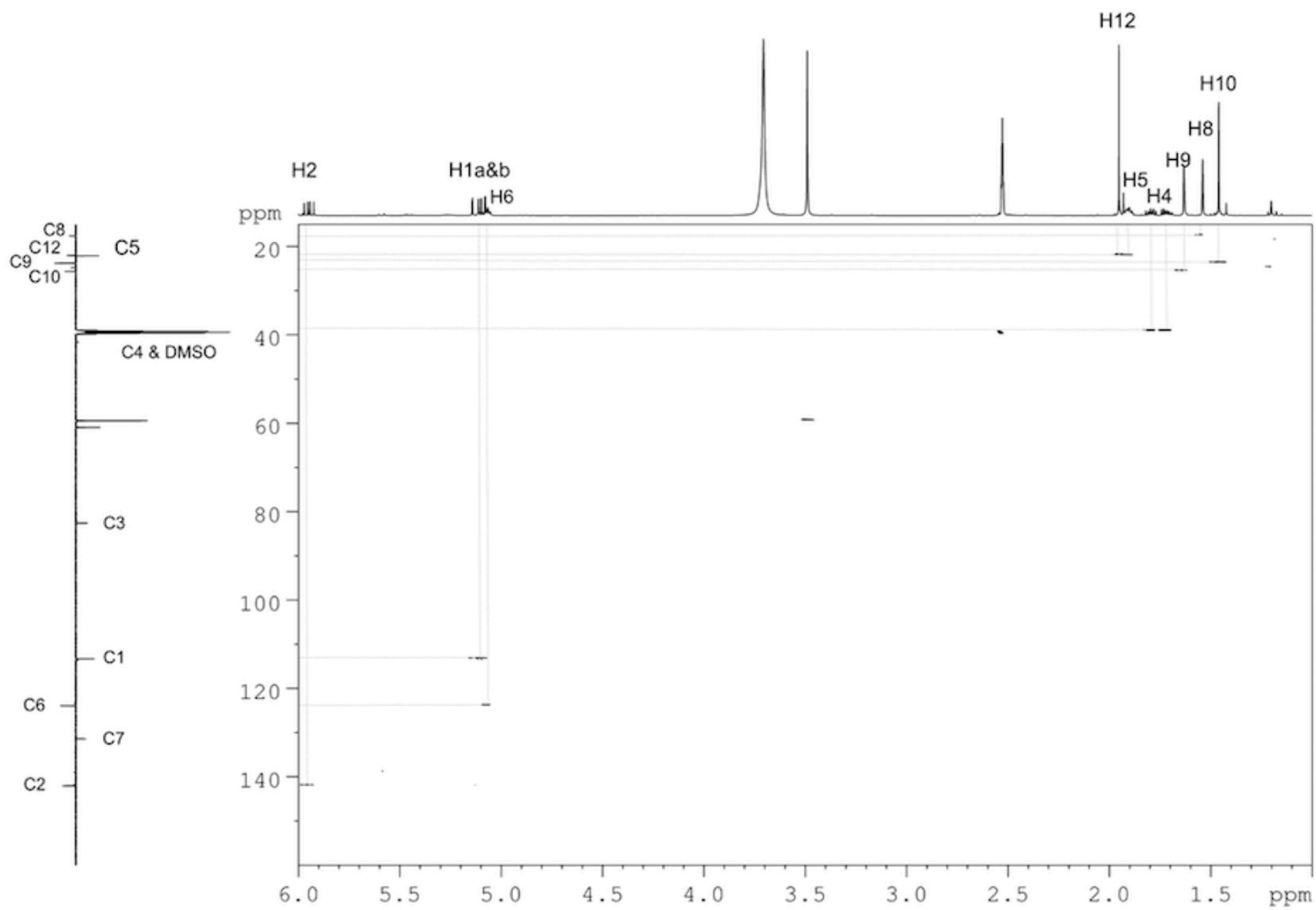


Figure 27 : Carte HSQC de l'acétate de linalyle

b- Analyse de l'huile essentielle commerciale

Identification des composés :

Une fois toutes ces données recueillies, nous cherchons à identifier sur le spectre RMN d'une huile essentielle de lavande fine (*Lavandula officinalis*) commerciale, les signaux RMN relatifs aux protons des molécules de linalol et d'acétate de linalyle. Le spectre est affiché dans sa totalité au niveau de l'annexe 6. Nous choisissons de nous concentrer sur des zooms de ce spectre pour plus de facilité.

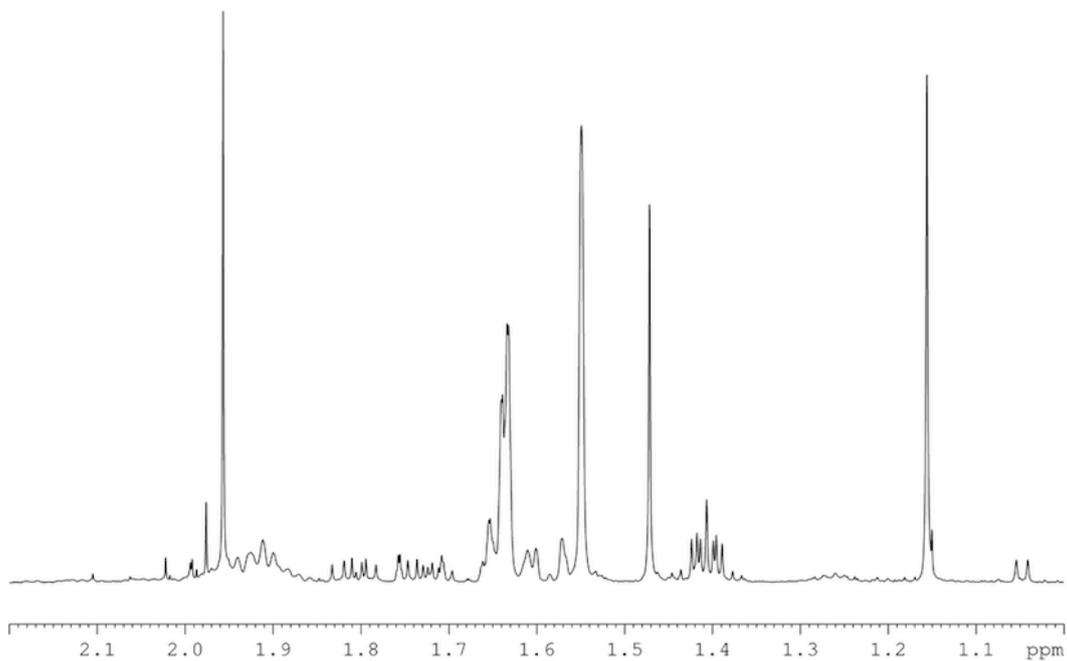


Figure 28 : Spectre RMN de l'huile essentielle de lavande commerciale entre 1,0 et 2,2 ppm

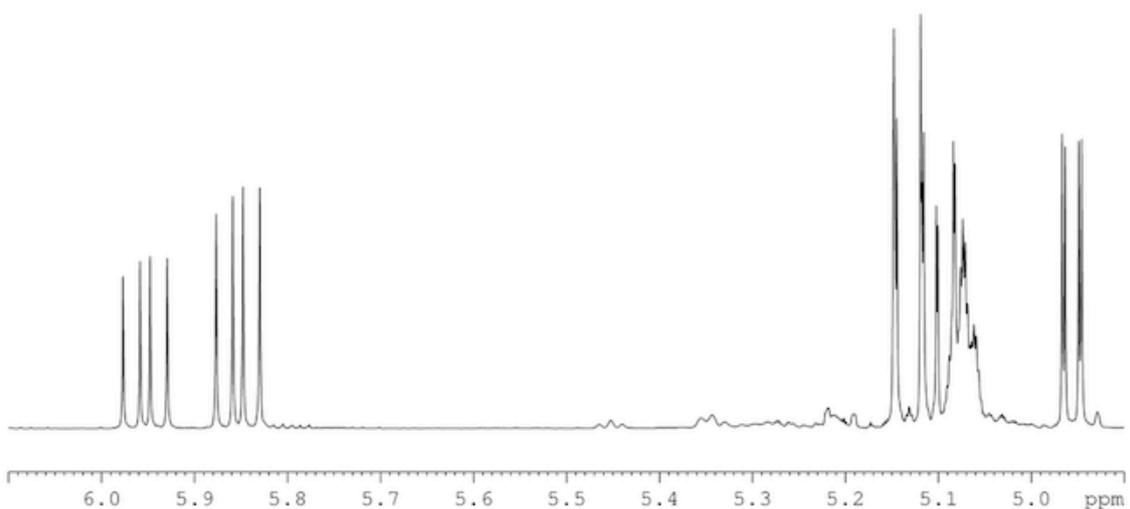


Figure 29 : Spectre RMN de l'huile essentielle de lavande commerciale entre 4,9 et 6,1 ppm

À l'aide des informations récoltées sur le linalol précédemment, nous parvenons à identifier les protons correspondants dans ce spectre, et à définir leur déplacement chimique.

Tableau 19 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹ H du linalol de l'huile essentielle commerciale avec le standard

Protons	Déplacement chimique – HE commerciale	Déplacement chimique – standard linalol	Multiplicité du signal
H1a	4,95	4,95	Doublet de doublet
H1b	5,13	5,1	Doublet de doublet
H2	5,85	5,88	Doublet de doublet
H'	4,59	4,6	Singulet
H4	1,40	1,39	Multiplet
H5	1,92	1,91	Multiplet
H6	5,07	5,07	Multiplet
H8	1,63	1,62	Singulet
H9	1,55	1,54	Singulet
H10	1,15	1,14	Singulet

Nous procédons de manière similaire pour l'acétate de linalyle :

Tableau 20 : Comparaison des attributions des signaux RMN-¹ H de l'acétate de linalyle de l'huile essentielle commerciale avec le standard

Protons	Déplacement chimique – HE commerciale	Déplacement chimique – standard acétate de linalyle	Multiplicité du signal
H1a	5,13	5,13	Doublet de doublet
H1b	5,09	5,09	Doublet de doublet
H2	5,95	5,95	Doublet de doublet
H4	1,76	1,76	Multiplet
H5	1,92	1,91	Multiplet
H6	5,07	5,07	Multiplet
H8	1,55	1,55	Singulet
H9	1,63	1,64	Singulet
H10	1,15	1,46	Singulet
H12	1,95	1,96	Singulet

Nous obtenons ce spectre ainsi annoté :

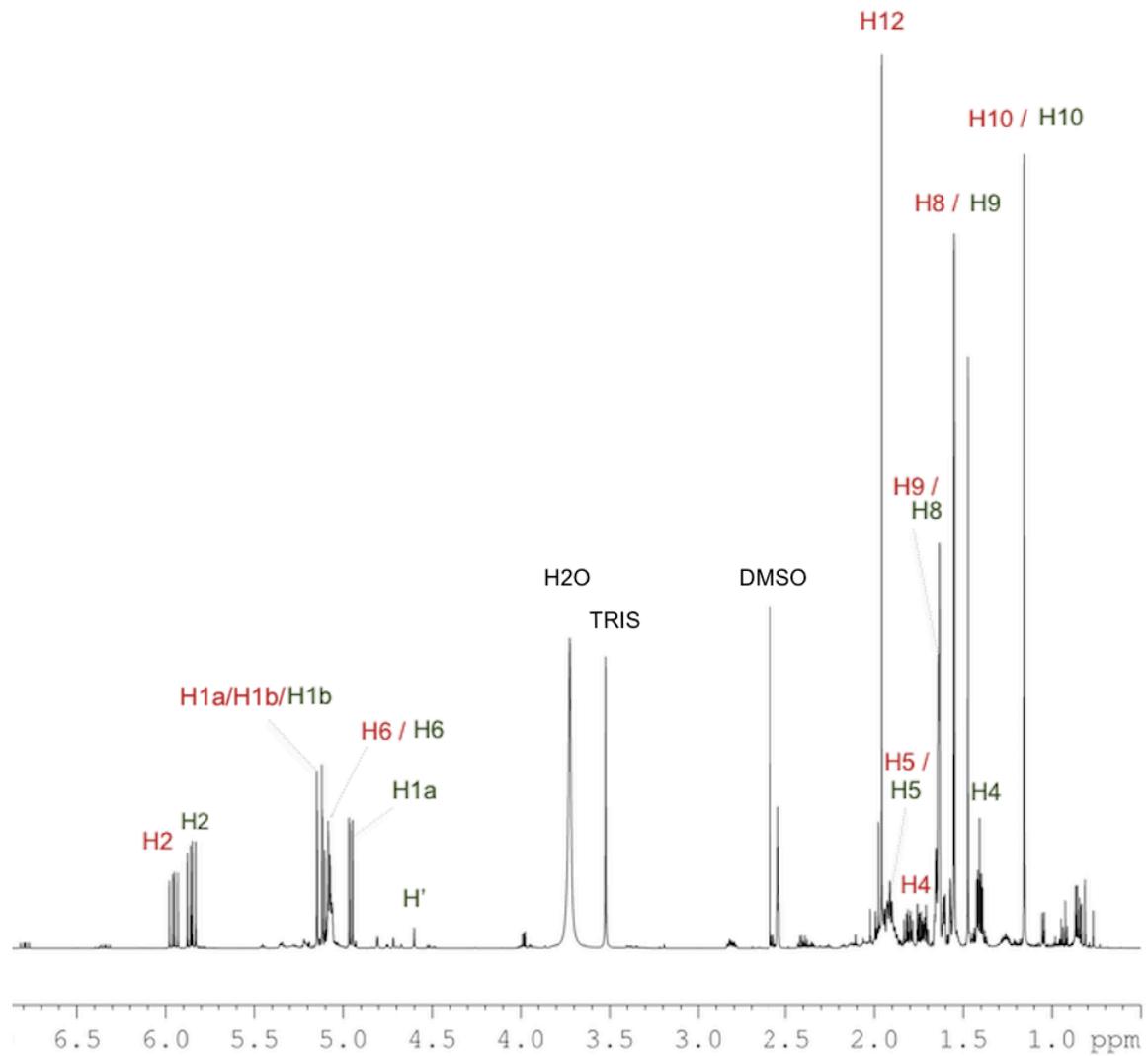


Figure 30 : Spectre RMN-¹H de l'huile essentielle commerciale entre 0 et 6,8 ppm

L'analyse de ce spectre nous permet de repérer certains signaux caractéristiques de l'huile essentielle de lavande. Bien distincts, leur présence permet de confirmer de manière rapide et irréfutable, la présence de linalol et d'acétate de linalyle dans le mélange. C'est le cas notamment des deux doublets de doublets représentant les protons H2, des deux multiplets des protons H4 et enfin de l'unique singulet des protons H10.

Les autres signaux peuvent également être exploités, mais nous considérons qu'ils ne sont pas assez nets, ni caractéristiques pour rechercher la présence du linalol et de l'acétate de linalyle. C'est le cas par exemple du proton H' dont la faible intensité peut conduire à une éventuelle confusion, surtout en présence d'impuretés. C'est également le cas des signaux H1, H6 et H12 qui se distinguent certes grâce à leur intensité, mais dont la base est emmêlée avec celle d'autres signaux. Leur exploitation est donc possible, mais elle nécessite un travail d'analyse et de réflexion au préalable.

Dans notre démarche initiale, les informations obtenues par RMN-¹H devaient être complétées par des spectres RMN-¹³C et HSQC comme pour les standards de linalol et d'acétate de linalyle. Or, pour des raisons techniques, nous n'avons pas pu réaliser de RMN-¹³C directement sur l'huile essentielle. Nous avons toutefois pu étayer ces informations à l'aide d'une séquence HSQC.

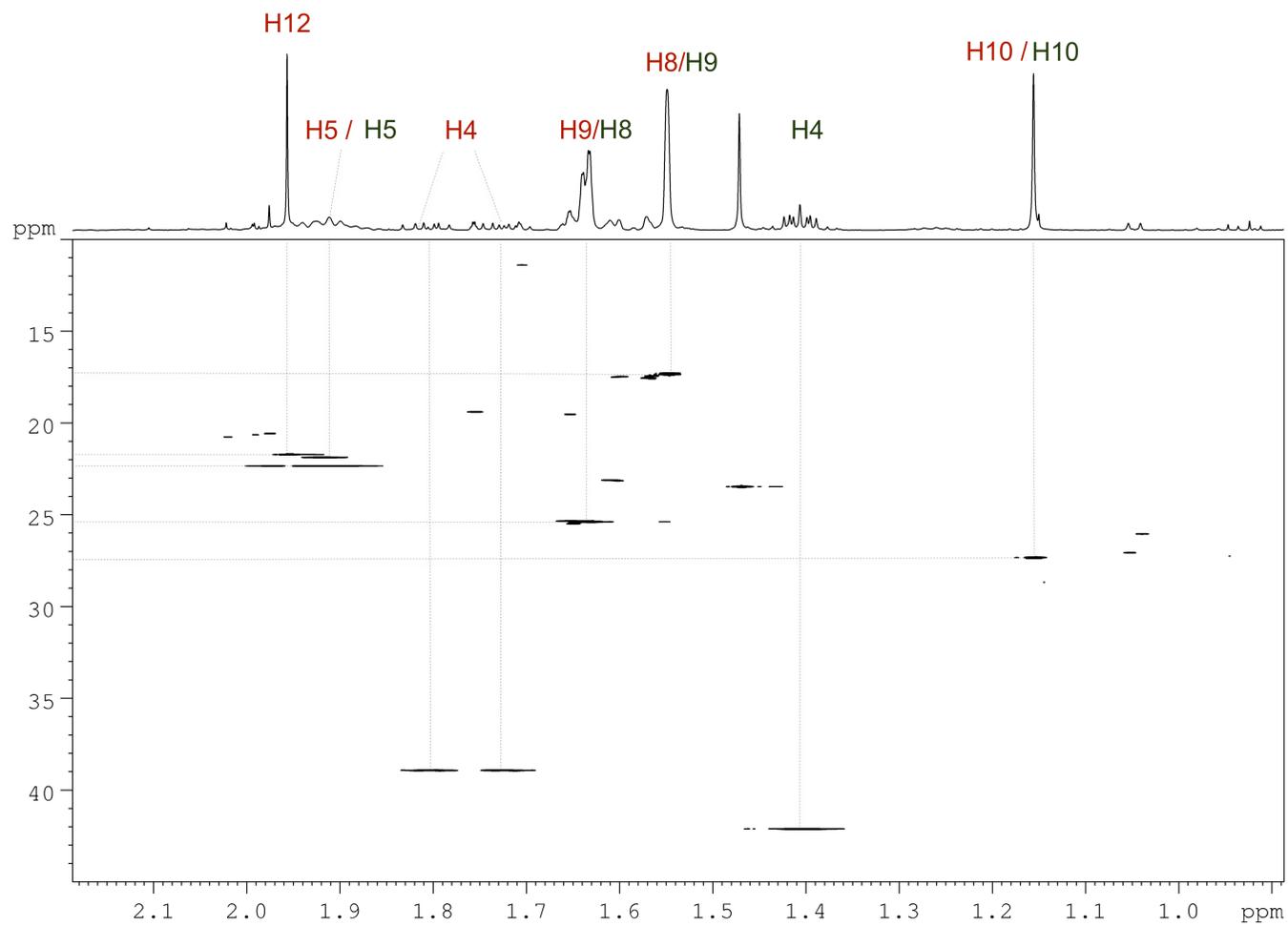


Figure 31 : Carte HSQC de l'huile essentielle commerciale (zoom 1)

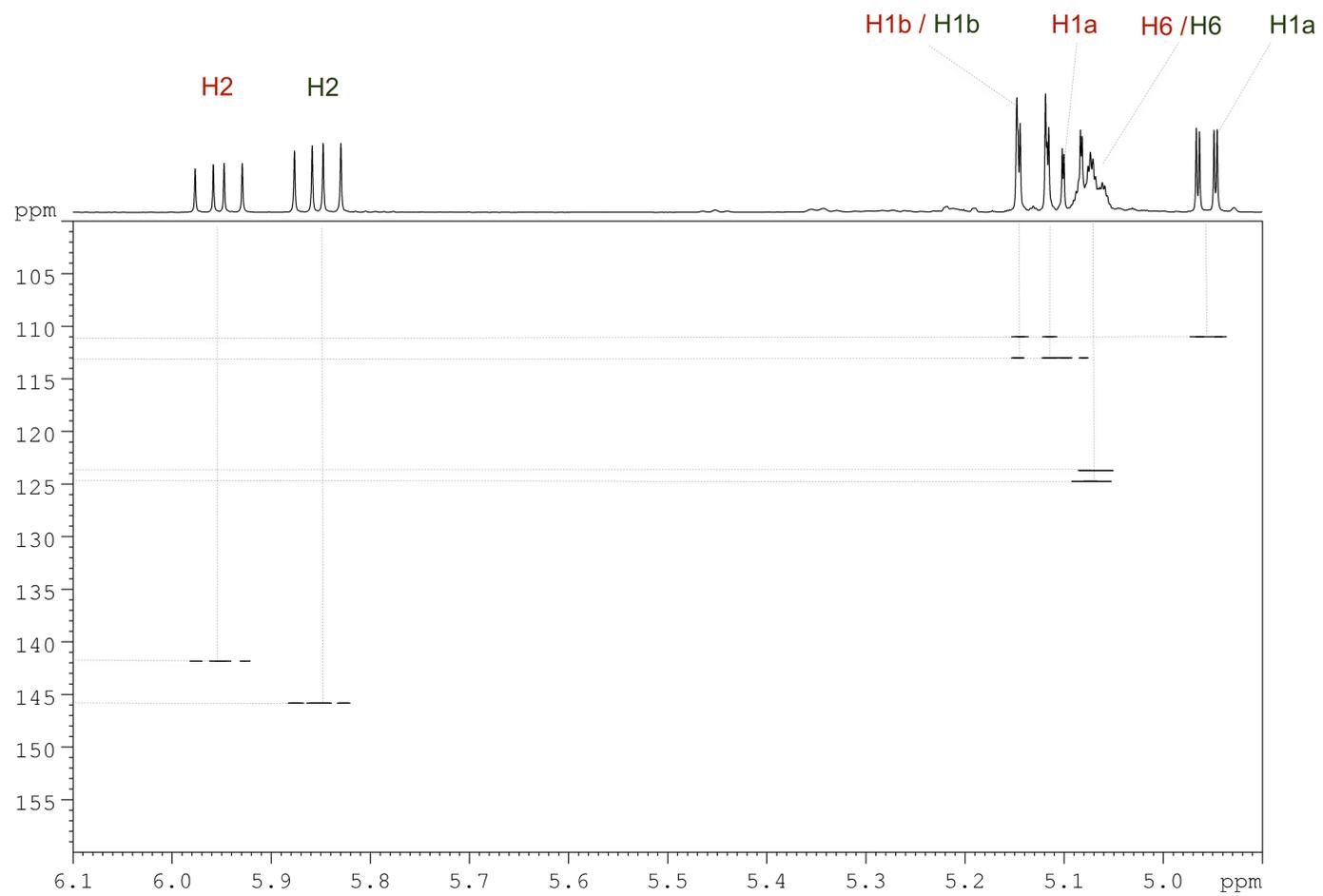


Figure 32 : Carte HSQC de l'huile essentielle commerciale (Zoom 2)

Dosage des composés :

Après avoir désigné les signaux caractéristiques attestant de la présence du linalol et de l'acétate de linalyle, nous avons recours à la RMN quantitative dans le but de les doser dans le mélange. Pour ce faire, nous avons choisi d'exploiter les deux doublets de doublets relatifs aux protons H2 des deux molécules.

Nous utilisons une gamme d'étalonnage avec 10 solutions étalons, ainsi que deux solutions (S11 et S12) contenant chacune de l'huile essentielle de lavande fine commerciale issue d'un même laboratoire, mais de deux lots différents.

Par ailleurs, nous avons à notre disposition l'aire sous la courbe des signaux choisis (doublets de doublets de H2), pour chacune des solutions.

L'objectif de notre démarche est de doser le linalol et l'acétate de linalyle dans les solutions S11 et S12, grâce à ces données.

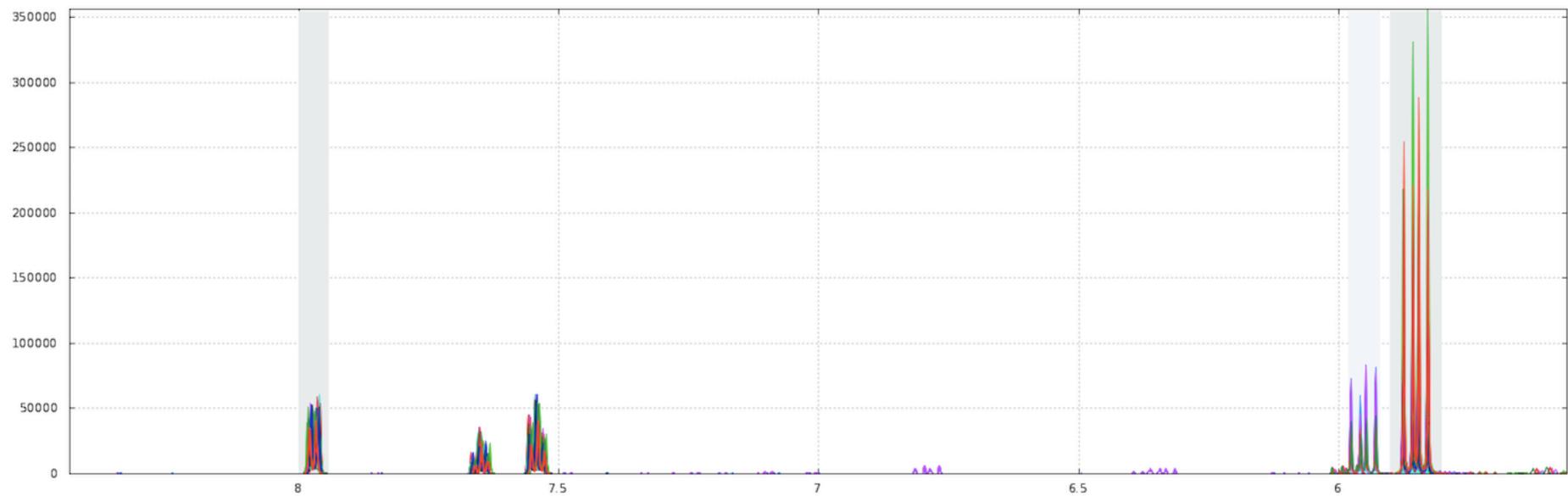


Figure 33 : Signaux RMN-¹H des solutions de la gamme étalon superposés

Concernant le linalol, nous obtenons les informations réunies dans le tableau suivant :

Tableau 21 : Corrélation entre la concentration en linalol et l'aire sous la courbe (AUC) du signal de H2

Solution	Concentration en linalol (mg/ml)	AUC du H2
1	0	32 787,1362
2	0,85	790 127,965
3	4,19	3 353 934,34
4	8,07	6 101 091,35
5	12,24	9 166 512,24
6	16,86	12 938 884,6
7	26,12	19 291 256,4
8	42,64	32 312 769
9	64,65	48 698 243,3
10	87,15	64 527 747,1
11	25,0048021	18 775 265,1
12	24,6899092	18 541 095,9

Pour S11, dans 88,42 mg de solution, on dose 25,0 mg de linalol ; et pour S12, dans 86,7 mg de solution, on retrouve 24,69 mg de linalol. Soit une teneur de 28 % en linalol dans les deux solutions.

On rappelle que les deux huiles essentielles utilisées sont disponibles en vente libres. Elles sont commercialisées par le même laboratoire, mais sont tout de même issues de deux lots différents, ce qui explique la légère variation de concentration en linalol.

Les deux huiles employées répondent bien aux critères de la pharmacopée européenne qui exige une teneur en linalol variant entre 20 et 45 %.

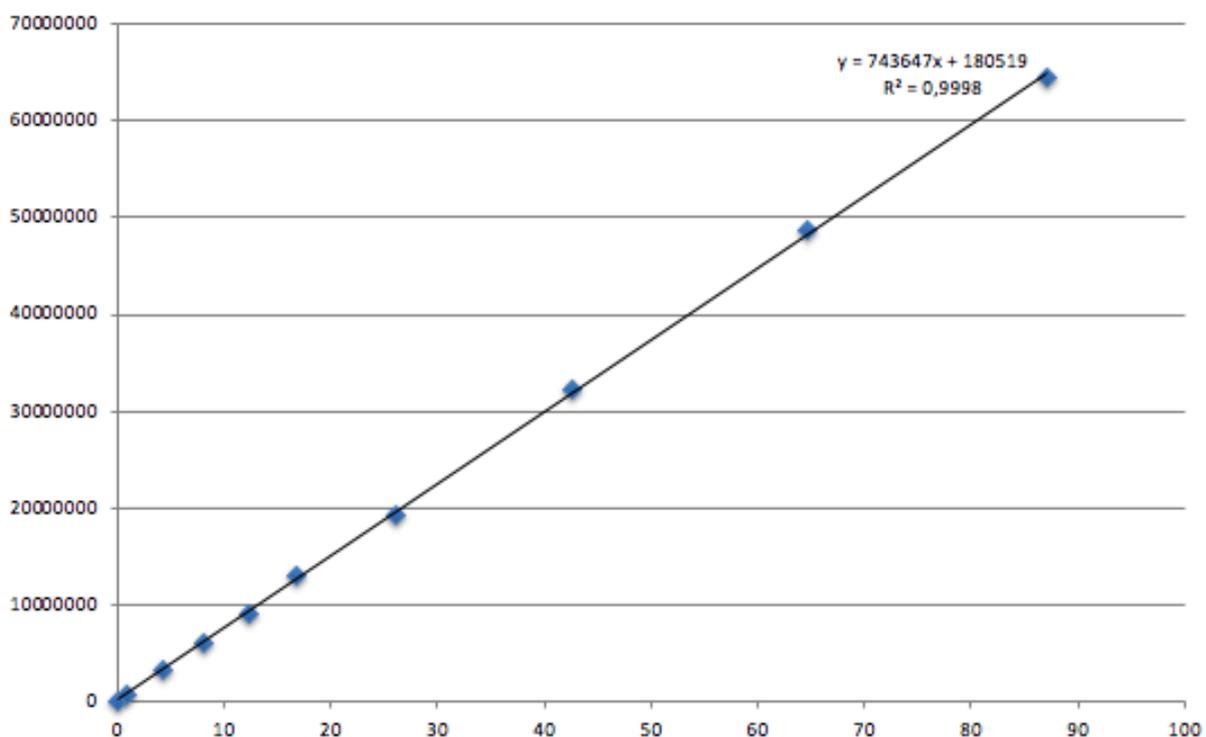


Figure 34 : Gamme d'étalonnage pour le dosage du linalol dans l'huile essentielle commerciale

Notre démarche est identique pour le dosage de la molécule d'acétate de linalyle. On obtient alors les informations réunies dans le tableau suivant :

Tableau 22 : Corrélation entre la concentration en acétate de linalyle et l'aire sous la courbe (AUC) du signal de H2

Solution	Concentration en acétate de linalyle (en mg/mL)	AUC du H2
1	0	19 094,1874
2	4,37	2 247 159,4351
4	8,93	4 347 362,5515
6	13,37	6 602 269,4402
8	16,8	8 352 797,9914
11	26,67	211 517,1221
12	23,99	313 253,7478

La teneur en acétate de linalyle est de 30 % dans la solution S11 ; et de 27 % seulement dans la solution S12. La variation de concentration entre les deux huiles essentielles est plus importante, comparé au linalol. Cependant, toutes deux répondent aux exigences de la pharmacopée européenne qui établit un seuil minimal à 25%, et un seuil maximal à 47%.

La solution S12 est dans les valeurs normales basses concernant l'acétate de linalyle. Une teneur plus élevée aurait été appréciable pour garantir une meilleure qualité, et une efficacité plus probable quant aux activités pharmacologiques attendues.

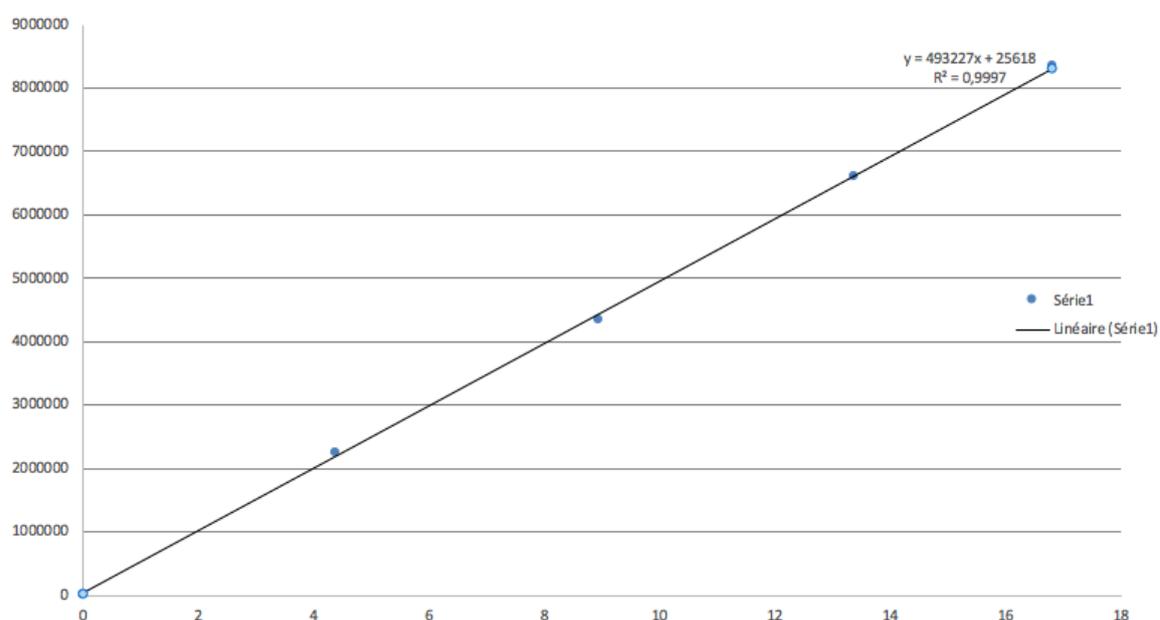


Figure 35 : Gamme d'étalonnage pour le dosage de l'acétate de linalyle dans l'huile essentielle commerciale

Le principal objectif de cette expérience est de pouvoir vérifier la faisabilité de la technique de RMN dans le dosage des composants d'une huile essentielle. Cependant, les résultats obtenus ne nous permettent pas d'attester de la répétabilité de l'expérience. Il serait plus judicieux de réitérer l'expérimentation avec une gamme d'étalonnage plus fournie, afin d'obtenir plus de précision.

Pour conclure, grâce à la technique de RMN nous avons pu identifier et quantifier les deux composés majoritaires de l'huile essentielle de lavande fine avec succès. Toutefois le mélange ne se résume pas à ces deux composés seulement. Pour avoir une vision plus complète, il faudrait réitérer cette expérience pour chacune des molécules ciblées par la pharmacopée,

d'abord en identifiant les signaux caractéristiques de chaque composé sur les spectres RMN-¹H, RMN-¹³C et HSQC puis en les dosant grâce à la RMN quantitative.

Par ailleurs, cette dernière s'est révélée être une technique efficace pour doser les composants ; mais pour l'exploiter de manière optimale il faudrait une gamme d'étalonnage plus fournie. En effet, 10 solutions ne suffisent pas pour doser avec précision les composés d'un mélange aussi complexe. Il serait également intéressant d'utiliser un étalon interne, et de comparer les données fournies par les deux démarches.

À l'issue de cette étude, on observe que la RMN permet d'identifier les composés présents dans un mélange complexe comme les huiles essentielles ; mais elle ne permet pas de relier directement chaque signal au composé correspondant. Il faut d'abord identifier ces signaux individuellement avant de pouvoir les attribuer à une molécule.

Une fois ce travail d'identification effectué, les spectres RMN-¹H et RMN-¹³C permettent de modéliser une sorte « d'empreinte digitale » pour chaque molécule. Afin d'exploiter ces données de manière optimale, il faudrait standardiser les conditions d'enregistrement des spectres RMN, et vérifier la reproductibilité de cette technique. Si ces conditions sont validées, il serait intéressant, de réaliser par la suite une multitude de spectres RMN sur plusieurs huiles essentielles, à grande échelle, afin d'obtenir une base de données fournie, à considérer comme référence par la suite.

Toutefois, dans un mélange aussi complexe que l'huile essentielle, la RMN monodimensionnelle peut se révéler insuffisante pour identifier des composés en particulier. C'est là qu'intervient la RMN bi-dimensionnelle qui permet de réduire le recouvrement spectral (overlap), et de séparer donc les informations provenant des différentes molécules.

Conclusion générale

Actuellement, les huiles essentielles font l'objet d'un engouement de la part du public. Souvent utilisées de manière empirique, leur potentielle toxicité impose un encadrement notamment via des critères qualité imposés. Dans cette étude, nous traitons d'une huile en particulier : l'huile essentielle de lavande fine (*Lavandula angustifolia*). Cette plante appartient à la grande famille des lamiacées. Elle se présente sous forme d'arbrisseau se développant principalement dans les zones montagneuses du bassin méditerranéen.

Son huile essentielle est extraite des sommités fleuries par hydro-distillation. Elle se démarque clairement des autres espèces par sa teneur élevée en linalol et en acétate de linalyle, qui lui confèrent ses principales actions pharmacologiques. Le potentiel anti-inflammatoire et sédatif du linalol justifient l'utilisation de l'huile essentielle de lavande fine en situation de stress intense, ou pour traiter des plaies superficielles. L'acétate de linalyle, quant à lui, contribue à son action spasmolytique.

Pour identifier une huile essentielle de lavande fine de qualité, il est nécessaire de garantir, entre autres, la présence de ces deux composés dans les normes définies par la pharmacopée européenne. Grâce à la technique de résonance magnétique nucléaire, nous avons pu identifier et doser ces deux molécules avec succès. La RMN-¹H, la RMN-¹³C ainsi que la RMN bi-dimensionnelle nous ont permis de repérer les signaux caractéristiques du linalol et d'acétate de linalyle dans le mélange. Le dosage quant à lui s'est fait à l'aide d'une gamme d'étalonnage.

Ainsi, il ressort de cette étude que la résonance magnétique nucléaire est une technique efficace pour identifier et quantifier les composés d'un mélange aussi complexe que l'huile essentielle de lavande fine.

Bibliographie

1. afssaps. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. :18.
2. 14:00-17:00. ISO 9235:2013 [Internet]. ISO. [cité 7 janv 2019].
3. Bulletin qualité Huile essentielle de Citron vert - Aroma-Zone [Internet]. [cité 21 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/huile-essentielle-citron-vert-bio-aroma-zone>
4. Code de la consommation - Article L111-1. Code de la consommation.
5. Code de la consommation - Article L213-1. Code de la consommation.
6. Règlement REACH > Titre II | REACH INFO [Internet]. [cité 7 janv 2019]. Disponible sur: https://reach-info.ineris.fr/consultation_section/28654/28665
7. Code de la santé publique - Article L4211-1. Code de la santé publique.
8. Décret n°2007-1221 du 3 août 2007 modifiant l'article D. 4211-13 du code de la santé publique relatif à la liste des huiles essentielles dont la vente au public est réservée aux pharmaciens. 2007-1221 août 3, 2007.
9. Code de la santé publique - Article L4223-1. Code de la santé publique.
10. Millet F. Le grand guide des huiles essentielles. Paris: Marabout; 2015. 254 p.
11. Cinnamomum camphora {Lauraceae} Camphor Tree [Internet]. [cité 21 janv 2019]. Disponible sur: <http://florawww.eeb.uconn.edu/198501480.html>
12. Le ravensare aromatique [Internet]. [cité 21 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.naturemania.com/produits/ravensara.html>
13. 14:00-17:00. ISO 4720:2018 [Internet]. ISO. [cité 7 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.iso.org/cms/render/live/fr/sites/isoorg/contents/data/standard/06/96/69688.html>
14. Bruneton J. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 4e édition. Paris: Tec & Doc Lavoisier; 2009.
15. Festy D. Mon abécédaire illustré des huiles essentielles : De A à Y, les meilleures huiles essentielles. Paris: LEDUC.S; 2015. 240 p.
16. Cinnamon Bark Essential Oil cinnamomum zylanicum [Internet]. Escentials Of Australia. [cité 21 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.escentialsaustralia.com/products/productid374>
17. admin A. DISTILLATION OF ESSENTIAL OIL [Internet]. Hoang Giang Agarwood Ltd. 2015 [cité 21 janv 2019]. Disponible sur: <https://hgagarwood.com/news/distillation-of-essential-oil>
18. Kaloustian J, Hadji-Minaglou F, Vanelle P. La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Paris: Springer Verlag France; 2012. 210 p.

19. Berzelius JJ. *Traité de Chimie, Vol. 3: Ire Partie; Chimie Minérale*. Forgotten Books; 2018. 518 p.
20. Fontanel D. *Huiles végétales : teneurs en matières insaponifiables*. Paris: Tec & Doc Lavoisier; 2011. 533 p.
21. Garnero J. *Huiles Essentielles*.
22. TABLEAU DE RENDEMENT DES HUILES ESSENTIELLES [Internet]. [cité 7 janv 2019]. Disponible sur: <http://alambic-inox.com/informations/rendements.html>
23. Plantes thérapeutiques WICHTL Max, ANTON Robert [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 7 janv 2019].
24. 14:00-17:00. ISO 280:1998 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
25. 14:00-17:00. ISO 592:1998 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
26. 14:00-17:00. ISO 279:1998 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
27. 14:00-17:00. ISO 1041:1973 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
28. 14:00-17:00. ISO 875:1999 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
29. 14:00-17:00. ISO 4715:1978 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
30. 14:00-17:00. ISO 1242:1999 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
31. 14:00-17:00. ISO 709:2001 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
32. 14:00-17:00. ISO 1241:1996 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
33. 14:00-17:00. ISO 18321:2015 [Internet]. ISO. [cité 17 janv 2019].
34. Sakiou S. *Caractérisation, traçabilité et contrôle qualité des huiles essentielles de lavandes et de lavandins: Apports des signatures chromatographiques et spectroscopiques* [Thèse de doctorat]. [France]: Aix-Marseille Université; 2015.
35. Botineau M, Pelt JM. *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Paris: ed. Tec & Doc; 2010.
36. Dutruge G. *La reproduction des plantes à fleurs (Angiospermes) : de multiples stratégies pour coloniser l'environnement*.
37. Lamiaceae: Mint Family (Labiatae). Identify plants and flowers. [Internet]. [cité 22 janv 2019]. Disponible sur: https://www.wildflowers-and-weeds.com/Plant_Families/Lamiaceae.htm
38. La Lavande en Provence [Internet]. [cité 29 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.marinellebaladesphotos.fr/la-lavande-en-provence-1/>
39. Riotte B. *Mon guide Huiles essentielles*. Place of publication not identified: Lulu; 2017. 186 p.
40. Rameau J-C, Mansion D, Dumé G. *Flore forestière française: guide écologique illustré*. Paris: Institut pour le développement forestier : Ministère de l'agriculture et de la forêt,

Direction de l'espace rural et de la forêt : Ecole nationale du génie rural, des eaux et des forêts; 1989. 1 p.

41. Fiche produit Huile essentielle de lavande de Haute-Provence [Internet]. [cité 23 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.inao.gouv.fr/produit/3321>
42. Frély R. Les secrets de la lavande. Paris: Larousse; 2013.
43. Zhiri A, Baudoux D, Breda ML. Huiles Essentielles Chémotypées et leurs synergies. 88 p.
44. Verbois S. Plantes et herbes aromatiques: saveurs et vertus. Paris: F. Lanore; 2002.
45. Les huiles essentielles: Vertus et applications.
46. LM des. Huile essentielle de lavandin super - Le Moniteur des Pharmacies n° 3072 du 21/03/2015 - Revues - Le Moniteur des pharmacies.fr
47. Association française de normalisation. Huiles essentielles. Tome 2, Monographies relatives aux huiles essentielles. Paris La Défense, France: AFNOR; 2000. 663+xlvi.
48. Hassiotis CN. Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology*. août 2010;38(4):493-501.
49. Aprotosoia AC, Hăncianu M, Costache I-I, Miron A. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties: Linalool: a key odorant molecule. *Flavour and Fragrance Journal*. juill 2014;29(4):193-219.
50. Api AM, Belsito D, Bhatia S, Bruze M, Calow P, Dagli ML, et al. RIFM fragrance ingredient safety assessment, Linalool, CAS registry number 78-70-6. *Food and Chemical Toxicology*. août 2015;82:S29-38.
51. Pubchem. Linalool [Internet]. [cité 24 janv 2019]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6549>
52. Duarte A, Luís Â, Oleastro M, Domingues FC. Antioxidant properties of coriander essential oil and linalool and their potential to control *Campylobacter* spp. *Food Control*. 1 mars 2016;61:115-22.
53. Huo M, Cui X, Xue J, Chi G, Gao R, Deng X, et al. Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. *Journal of Surgical Research*. 1 mars 2013;180(1):e47-54.
54. Ma J, Xu H, Wu J, Qu C, Sun F, Xu S. Linalool inhibits cigarette smoke-induced lung inflammation by inhibiting NF- κ B activation. *International Immunopharmacology*. 1 déc 2015;29(2):708-13.
55. Guzmán-Gutiérrez SL, Bonilla-Jaime H, Gómez-Cansino R, Reyes-Chilpa R. Linalool and β -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. *Life*

Sciences. 1 mai 2015;128:24-9.

56. dos Santos ÉRQ, Maia CSF, Fontes Junior EA, Melo AS, Pinheiro BG, Maia JGS. Linalool-rich essential oils from the Amazon display antidepressant-type effect in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 15 févr 2018;212:43-9.
57. LM des. Huiles essentielles à monoterpénols - Le Moniteur des Pharmacies n° 3126 du 30/04/2016 - Revues - Le Moniteur des pharmacies.fr
58. Pubchem. Linalyl acetate [Internet]. [cité 24 janv 2019]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8294>
59. LM des. Huiles essentielles à esters - Le Moniteur des Pharmacies n° 3142 du 10/09/2016 - Revues - Le Moniteur des pharmacies.fr.
60. Peana AT, D'Aquila PS, Panin F, Serra G, Pippia P, Moretti MDL. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*. janv 2002;9(8):721-6.
61. Koto R, Imamura M, Watanabe C, Obayashi S, Shiraishi M, Sasaki Y, et al. Linalyl Acetate as a Major Ingredient of Lavender Essential Oil Relaxes the Rabbit Vascular Smooth Muscle through Dephosphorylation of Myosin Light Chain. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. juill 2006;48(1):850.
62. Letizia CS, Cocchiara J, Lalko J, Api AM. Fragrance material review on linalyl acetate. *Food Chem Toxicol*. juill 2003;41(7):965-76.
63. Chioca LR, Antunes VDC, Ferro MM, Losso EM, Andreatini R. Anosmia does not impair the anxiolytic-like effect of lavender essential oil inhalation in mice. *Life Sci*. 30 mai 2013;92(20-21):971-5.
64. Kasper S, Volz H-P, Dienel A, Schläfke S. Efficacy of Silexan in mixed anxiety-depression--A randomized, placebo-controlled trial. *Eur Neuropsychopharmacol*. févr 2016;26(2):331-40.
65. Ou M-C, Hsu T-F, Lai AC, Lin Y-T, Lin C-C. Pain relief assessment by aromatic essential oil massage on outpatients with primary dysmenorrhea: a randomized, double-blind clinical trial. *J Obstet Gynaecol Res*. mai 2012;38(5):817-22.
66. Nikjou R, Kazemzadeh R, Rostamnegad M, Moshfegi S, Karimollahi M, Salehi H. The Effect of Lavender Aromatherapy on the Pain Severity of Primary Dysmenorrhea: A Triple-blind Randomized Clinical Trial. *Ann Med Health Sci Res*. août 2016;6(4):211-5.
67. Mori H-M, Kawanami H, Kawahata H, Aoki M. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- β in a rat model. *BMC Complement Altern Med*. 26 mai 2016;16:144.
68. CFR - Code of Federal Regulations Title 21 [Internet]. [cité 24 janv 2019]. Disponible

sur: <https://www.accessdata.fda.gov/>

69. Stora D. Pharmacologie et thérapeutique 2e édition - Editions Lamarre. Initiatives Sante; 2013. 563 p.
70. Jenner PM, Hagan EC, Taylor JM, Cook EL, Fitzhugh OG. Food flavourings and compounds of related structure I. Acute oral toxicity. Food and Cosmetics Toxicology. 1 janv 1964;2:327-43.
71. Landelle C, Francony G, Sam-Laï NF, Gaillard Y, Vincent F, Wroblewski I, et al. Poisoning by lavandin extract in a 18-month-old boy. Clin Toxicol (Phila). avr 2008;46(4):279-81.
72. L'HE de lavande officinale - Le Moniteur des Pharmacies n° 2880 du 30/04/2011 - Revues - Le Moniteur des pharmacies.fr.
73. Balzamo E. Guide de santé pour les enfants de 0 à 14 ans: premiers soins - quand consulter - 150 fiches pratiques - réflexes en cas d'urgence. Paris: Flammarion; 2010.
74. Festy D. Je ne sais pas utiliser les huiles essentielle spécial enfants. Paris: Quotidien matin éditions; 2013.
75. Moro-Buronzo A, Schnebelen J-C. Huiles essentielles [Internet]. Paris: First; 2012.
76. Sommerard J-C, Faucon M, Mary R. Je gère stress et émotions avec les huiles essentielles.
77. Couic Marinier F. Se soigner avec les huiles essentielles. Paris: Editions Solar; 2016.
78. Bec L. Mes huiles essentielles. 2013.
79. Keeler J, Miéville P. Comprendre la RMN. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes; 2015.
80. Rouessac F, Rouessac A, Cruché D, Duverger-Arfulso C, Martel A. Analyse chimique: méthodes et techniques instrumentales. Paris: Dunod; 2016.
81. Cerceau CI, Barbosa LCA, Filomeno CA, Alvarenga ES, Demuner AJ, Fidencio PH. An optimized and validated ¹H NMR method for the quantification of α -pinene in essential oils. Talanta. avr 2016;150:97-103.
82. Plé G, éditeur. Résonance magnétique nucléaire: appliquée à l'analyse structurale de composés organiques. Mont Saint Aignan: Université de Rouen; 1999. 254 p. (Publications de l'Université de Rouen).
83. Marouf A, Tremblin G. Mémento technique à l'usage des biologistes et biochimistes. Les Ulis: EDP Sciences; 2014.
84. Hanneguelle S, Thibault JN, Naulet N, Martin GJ. Authentication of essential oils containing linalool and linalyl acetate by isotopic methods. J Agric Food Chem. 1 janv 1992;40(1):81-7.

85. Williams DH, Fleming I. Spectroscopic methods in organic chemistry. London [etc.: McGraw-Hill; 2008.
86. Elgendy EM, Semeih MY. Phyto – Monoterpene linalool as precursor to synthesis epoxides and hydroperoxides as anti carcinogenic agents via thermal and photo chemical oxidation reactions. Arabian Journal of Chemistry. oct 2018
87. Thermal, photo-oxidation and antimicrobial studies of linalyl acetate as a major ingredient of lavender essential oil. Arabian Journal of Chemistry. Dec 2017

ANNEXES

Annexe 1 : Préparation des gammes d'étalonnages

Annexe 2 : Tables de déplacements chimiques de RMN-¹H

Annexe 3 : Spectre RMN-¹H du linalol

Annexe 4 : Spectre RMN-¹³C du linalol

Annexe 5 : Spectre RMN-¹H d'acétate de linalyl

Annexe 6 : Spectre RMN-¹H de l'huile essentielle commerciale

Annexe 1 : Préparation des gammes d'étalonnages

Noms des composés	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Limonène	0	0,69	1,56	3,48	3,83	4,85	5,95	6,73	8,22	9,21
1,8 cinéole	0	0,83	1,6	2,85	3,69	4,78	5,81	7,7	7,51	9,35
3-Octanone	0	0,71	1,46	2,53	3,68	4,54	5,56	6,47	7,46	8,64
Camphre	0	0,94	2,1	3,14	3,97	5,16	6,3	7,23	8,19	9,47
Linalol	0	0,85	4,19	8,07	12,24	16,86	26,12	42,64	64,65	87,15
Acétate de linalyle	0	4,37		8,93		13,37		16,8		
Terpén-4-ol (+)	0	1,09	1,75	2,43	3,82	4,56	6,28	7,38	8,49	8,95
Terpén-4-ol (+)	0	0,89		1,64		2,58		3,4		4,88
A-terpeneol	0	0,73		2,09		2,9		3,67		5,31
S (-) A-terpeneol	0	1,59		2,2		2,8		3,94		4,9
Lavandulol	0	1,66		1,62		2,36		3,21		
borneol	0	1,02	2,73	3,08	4,12	6,11	6,6	6,94	8,56	9,17

Annexe 2 : Tables de déplacements chimiques de RMN-¹H

Table 3.17 ¹H Chemical shifts in methyl, methylene, and methine groups

	<i>Methyl protons</i>	δ_H	<i>Methylene protons</i>	δ_H	<i>Methine protons</i>	δ_H	
C	CH ₃ -R	0.9	R-CH ₂ -R	1.4	>CH-R	1.5	
	CH ₃ -C=C	1.1	R-CH ₂ -C=C	1.7			
	CH ₃ -C-O	1.3	R-CH ₂ -C-O	1.9	>CH-C-O	2.0	
	CH ₃ -C-N	1.1	R-CH ₂ -C-N	1.4			
	CH ₃ -C-NO ₂	1.6	R-CH ₂ -C-NO ₂	2.1			
	CH ₃ -C=C	1.6	R-CH ₂ -C=C	2.3			
	CH ₃ -Ar	2.3	R-CH ₂ -Ar	2.7	>CH-Ar	3.0	
	CH ₃ -C=CC=O	2.0	R-CH ₂ -C=CC=O	2.4			
	C=C(CH ₃)-C=O	1.8	C=C(CH ₂ -R)-C=O	2.4			
	CH ₃ -C≡C	1.8	R-CH ₂ -C≡C	2.2	>CH-C≡C	2.6	
	CH ₃ -CO-R	2.2	R-CH ₂ -CO-R	2.4	>CH-CO-R	2.7	
	CH ₃ -CO-Ar	2.6	R-CH ₂ -CO-Ar	2.9	>CH-CO-Ar	3.3	
	CH ₃ -CO-OR	2.0	R-CH ₂ -CO-OR	2.2	>CH-CO-OR	2.5	
	CH ₃ -CO-OAr	2.4					
	CH ₃ -CO-N	2.0	R-CH ₂ -CO-N	2.2	>CH-CO-N	2.4	
			R-CH ₂ -C≡N	2.3	>CH-C≡N	2.7	
	N	CH ₃ -N	2.3	R-CH ₂ -N	2.5	>CH-N	2.8
		CH ₃ -N-Ar	3.0				
CH ₃ -N-CO-R		2.9	R-CH ₂ -N-CO-R	3.2	>CH-N-CO-R	4.0	
CH ₃ -N ⁺		3.3	R-CH ₂ -N ⁺	3.3			
O			R-CH ₂ -NO ₂	4.4	>CH-NO ₂	4.7	
			R-CH ₂ -OH	3.6	>CH-OH	3.9	
	CH ₃ -OR	3.3	R-CH ₂ -OR	3.4	>CH-OR	3.7	
	CH ₃ -O-C=C	3.8	R-CH ₂ -O-C=C	3.7			
	CH ₃ -OAr	3.8	R-CH ₂ -OAr	4.3	>CH-OAr	4.5	
	CH ₃ -O-CO-R	3.7	R-CH ₂ -O-CO-R	4.1	>CH-O-CO-R	4.8	
			RO-CH ₂ -OR	4.8			
			R-CH ₂ -F	4.4			
Hal			R-CH ₂ -Cl	3.6	>CH-Cl	4.2	
			R-CH ₂ -Br	3.5	>CH-Br	4.3	
			R-CH ₂ -I	3.2	>CH-I	4.3	
Other	CH ₃ -Si	0.0	R-CH ₂ -Si	0.5	>CH-Si	1.2	
	CH ₃ -S	2.1	R-CH ₂ -S	2.4	>CH-S	3.2	
	CH ₃ -S(O)R	2.5					
	CH ₃ -S(O ₂)R	2.8	R-CH ₂ -S(O ₂)R	2.9			
		RS-CH ₂ -SR	4.2				

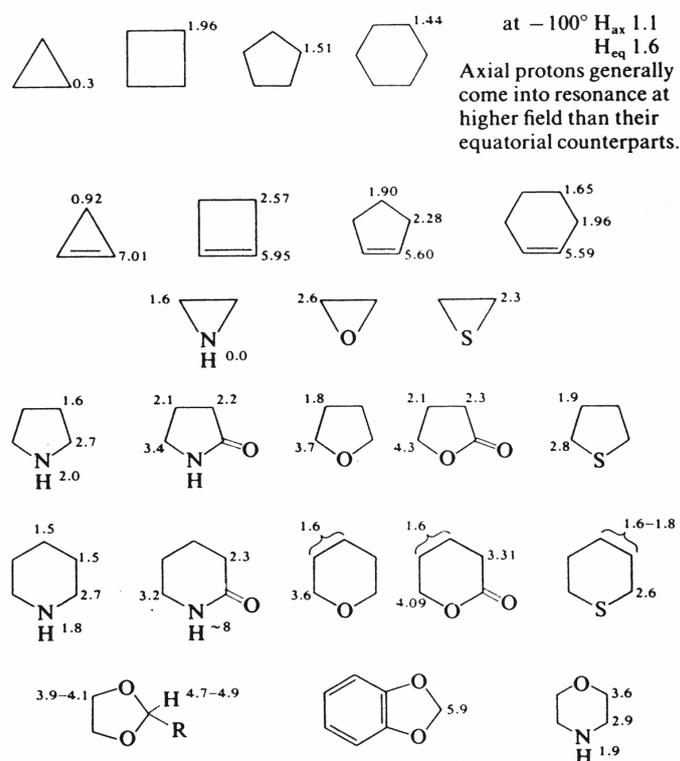
R = alkyl group. These values will usually be within ± 0.2 p.p.m. unless electronic or anisotropic effects from other groups are strong. An obsolete scale used τ values; these are related to δ values by the simple equation $\tau = 10 - \delta$.

Estimation of ^1H chemical shifts in substituted alkanes

$$\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{CH} \quad \delta_{\text{H}} = 1.50 + \sum z_i \quad (3.19)$$

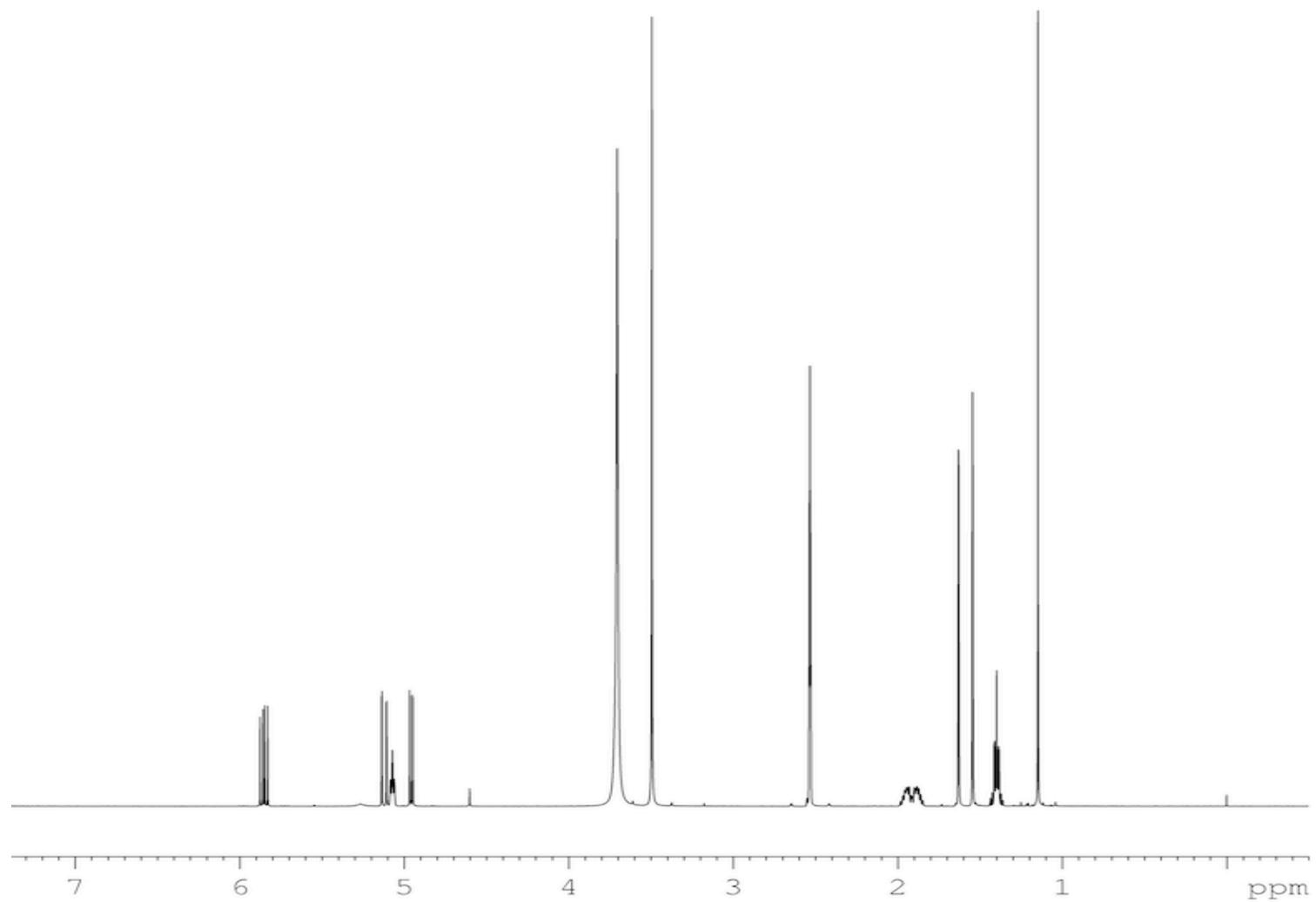
 Table 3.18 Substituent constants z for Eq. 3.19

R^i	z	R^i	z	R^i	z
H—	-0.3	$\text{HC}\equiv\text{C}$ —	0.9	MeO—	1.5
alkyl—	0.0	OHC—	1.2	PhO—	2.3
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$ —	0.2	MeCO—	1.2	AcO	2.7
MeCOCH ₂ —	0.2	RO ₂ C—	0.8	Cl—	2.0
HOCH ₂ —	0.3	NC—	1.2	Br—	1.9
ClCH ₂ —	0.5	H ₂ N—	1.0	I—	1.4
$\text{CH}_2=\text{CH}$ —	0.8	O ₂ N—	3.0	MeS—	1.0
Ph—	1.3	HO—	1.7	Me ₃ Si—	-0.7

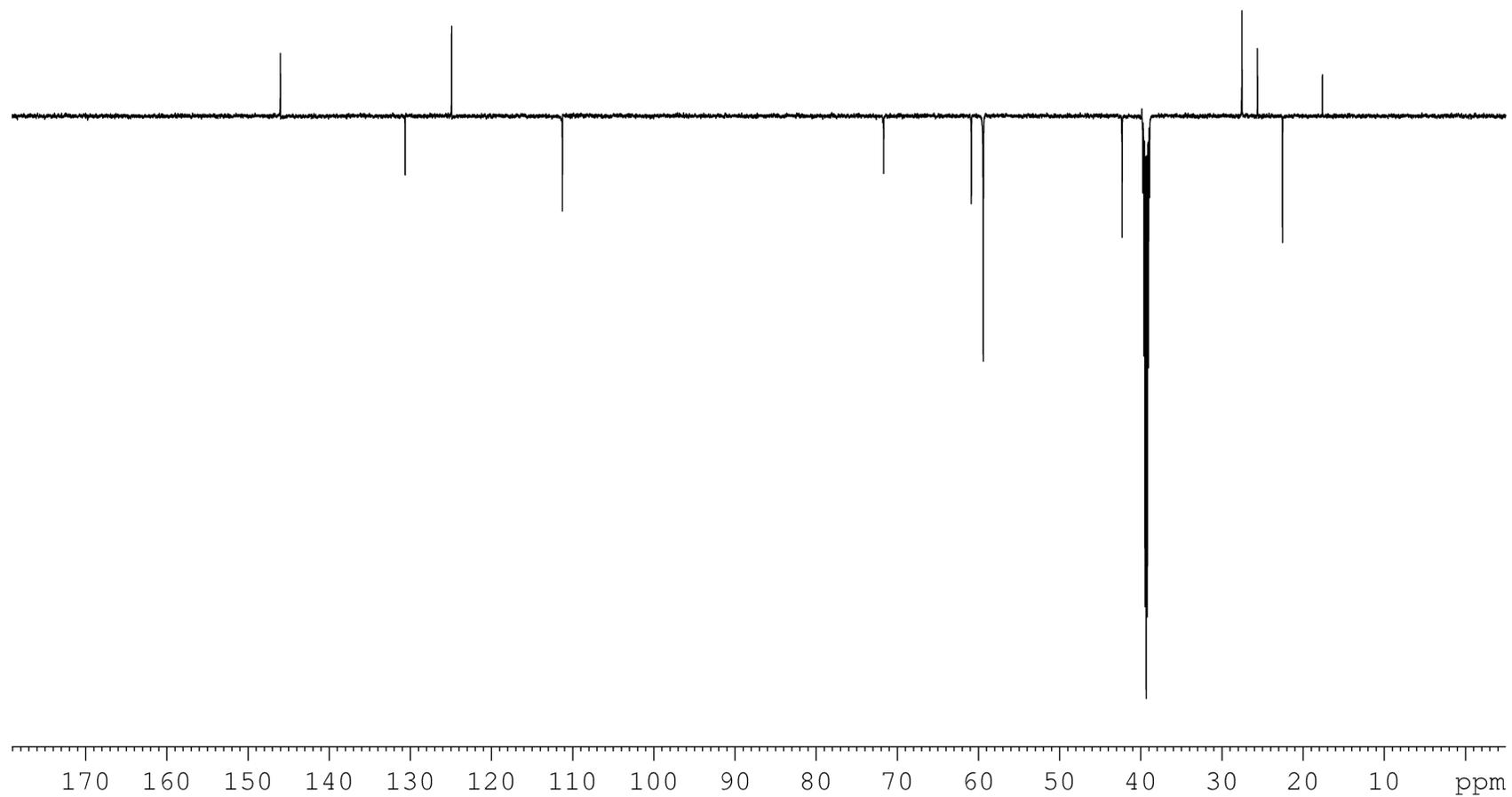
 Table 3.19 ^1H Chemical shifts of methylene groups in some cyclic compounds

 Table 3.20 ^1H Chemical shifts of protons attached to multiple bonds

Structure	δ_{H}	Structure	δ_{H}
RCHO	9.4-10.0	$\text{>C}=\text{CH}$ —	4.5-6.0
ArCHO	9.7-10.5	$\text{>C}=\text{CHCO}$ —	5.8-6.7
—OCHO	8.0-8.2	$\text{—HC}=\text{CCO}$ —	6.5-8.0
>NCHO	8.0-8.2	$\text{—HC}=\text{C—O}$ —	4.0-5.0
$\text{—C}\equiv\text{CH}$	1.8-3.1	$\text{>C}=\text{CH—O}$ —	6.0-8.1
$\text{>C}=\text{C}=\text{CH}$ —	4.0-5.0	$\text{—HC}=\text{C—N}$ —	3.7-5.0
ArH	6.0-9.0	$\text{>C}=\text{CH—N}$ —	5.7-8.0

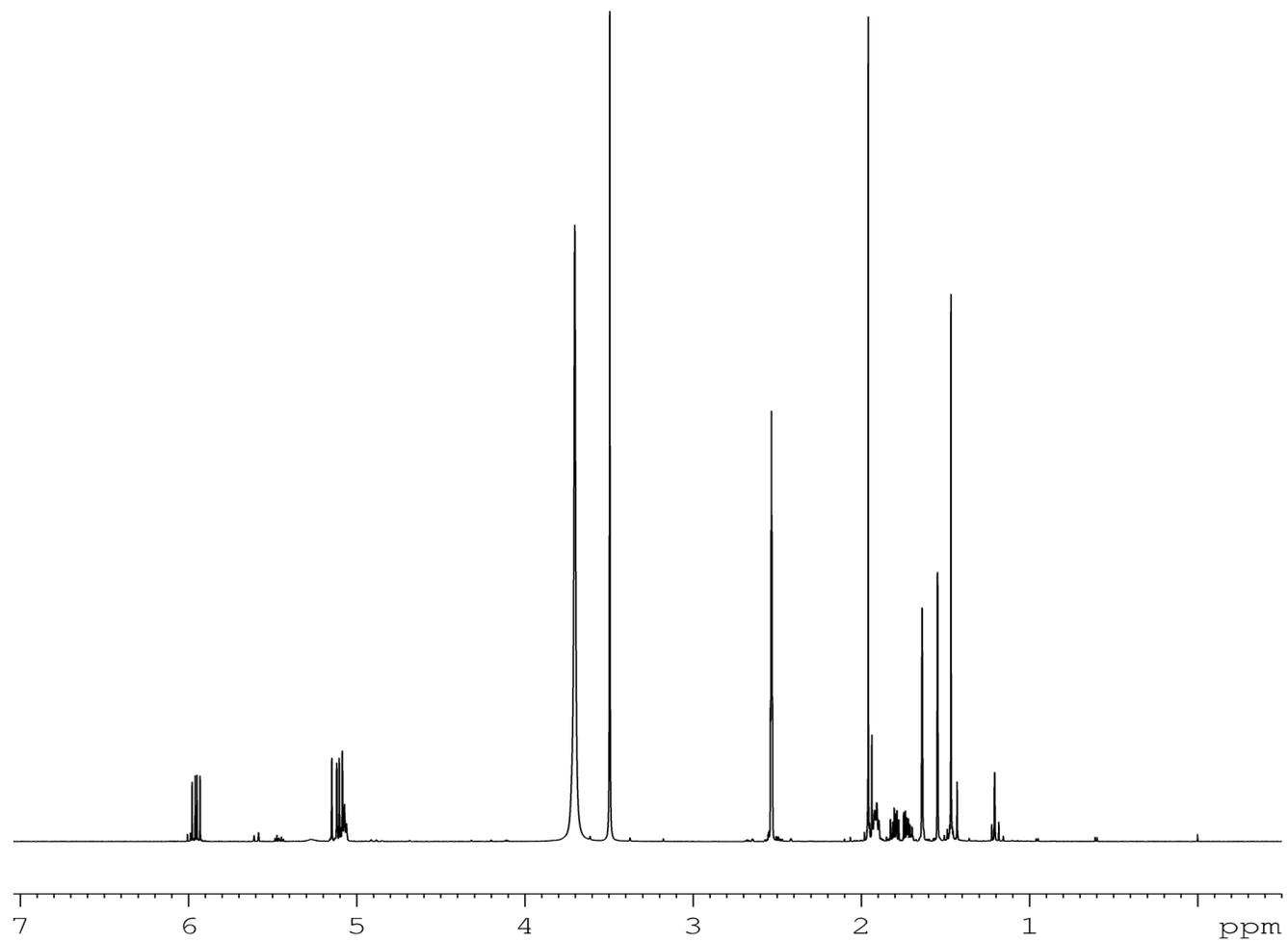
Annexe 3 : Spectre RMN-¹H du linalol



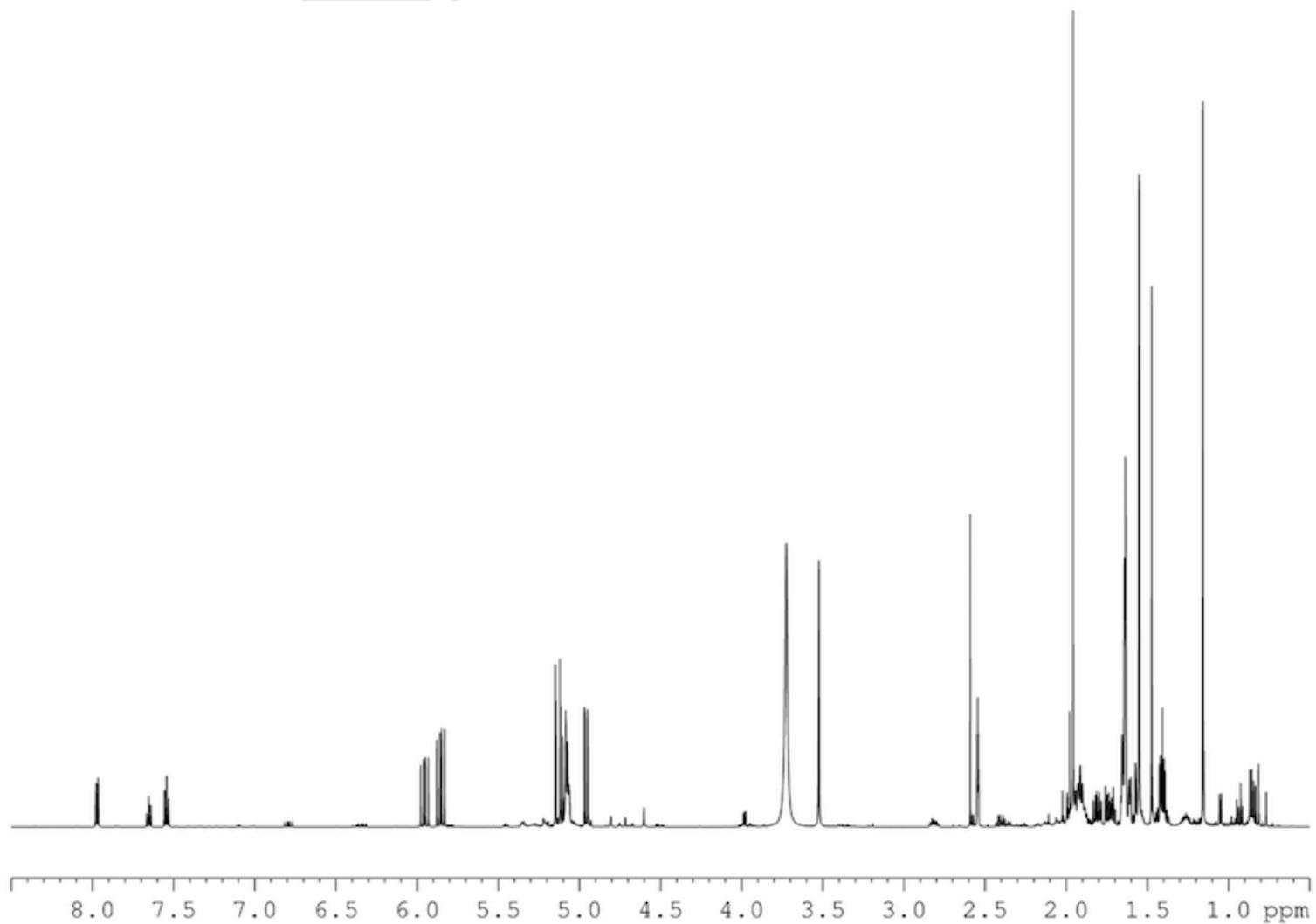
Annexe 4 : Spectre RMN-¹³C du linalol



Annexe 5 : Spectre RMN-¹H d'acétate de linalyl



Annexe 6 : Spectre RMN-¹H de l'huile essentielle commerciale



SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté et de mes Condisciples :
D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et
de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur
enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé Publique, ma profession avec
conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur,
mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du
désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le
malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser
mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser
des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes
promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes
confrères si j'y manque.

BELKASSEH Khansaâ

**L'INTÉRÊT DE LA RMN DANS L'ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE
DE L'HUILE ESSENTIELLE DE LAVANDE FINE (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA*)**

**Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie
Université de Picardie Jules Verne
Année 2019**

Mots clés : huiles essentielles, lavande fine, résonance magnétique nucléaire, chémotype, identification, dosage, linalol, acétate de linalyle

Résumé :

L'aromathérapie est en plein essor actuellement. Considérée comme une alternative thérapeutique plus douce et moins nocive comparé aux médicaments allopathiques, elle doit être encadrée afin de garantir l'authenticité des huiles essentielles et leur absence de toxicité. Parmi les plus connues et les plus fréquemment employées, l'huile essentielle de lavande se distingue nettement par ses vertus cicatrisantes et apaisantes. Le linalol lui confère ses propriétés calmantes et sédatives, tandis que l'acétate de linalyle est responsable de son action myorelaxante. Cependant, il n'existe pas une, mais bien plusieurs types de lavandes produisant des huiles essentielles différentes. Afin de les distinguer, il est nécessaire d'avoir recours à une technique d'analyse permettant de définir leur composition chimique. En général, la chromatographie en phase gazeuse est la méthode la plus utilisée en routine, mais il existe d'autres alternatives. Dans cette étude, la résonance magnétique nucléaire RMN-¹H et RMN-¹³C a été testée et validée pour l'identification et le dosage des deux composés majoritaires de l'huile essentielle de lavande fine, que sont le linalol et l'acétate de linalyle.

Abstract :

Aromatherapy has become increasingly popular in recent times. Considered to be a milder and less harmful form of therapy in comparison to allopathic medicine, the essential oils used for the purposes of aromatherapy have to be appropriately regulated in order to guarantee their effectiveness and prevent any toxicity. Lavender-based essential oils are one of the best-known and most commonly-used of all, most notable for their acute soothing and healing properties in particular. The presence of linalool explains its sedative effects, while linalyl acetate is responsible of the myorelaxant effect. There is not, however, just one variant of lavender in existence but in fact a whole range which are used to produce their own distinctive essential oils. Analysis has to be undertaken on the lavender so as to determine its chemical composition, and therefore, its point of difference. Generally-speaking, gas chromatography is the most popular of such analytical procedures but there are many others. In this study, nuclear magnetic resonance NMR-¹H and NMR-¹³C has been used to test for the presence, and the specific dosage, of the two main compounds within fine lavender-based essential oils, which are linalool and linalyl acetate.

Président du jury

Pascal SONNET, Professeur et Docteur en Pharmacie

Membres du jury

Jean-François ARTHAUD, Docteur en Pharmacie

Roland MOLINIE, Maître de Conférence