RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat intitulée:

EXPLORATION DU POTENTIEL DE VALORISATION D'UNE NOUVELLE VARIÉTÉ DE LAVANDE

Doctorant: **MARCHIDAN Ionuț Georgică**

Coordinateur scientifique: **Prof. Univ. Dr. BĂBEANU Narcisa**

MOTS-CLÉS: *Georges 90*; espèces de lavande; composition chimique; potentiel biologique prometteur

Le genre *Lavandula*, connu pour la synthèse de composés bioactifs, a connu une augmentation notable de sa production au cours des 15 dernières années. Cette escalade souligne l'importance industrielle du genre *Lavandula* dans les secteurs pharmaceutique, parfumerie et alimentaire. Les constituants bioactifs du genre *Lavandula* trouvent des applications dans les formulations médicinales, les produits de parfumerie et les créations culinaires, affirmant ainsi son importance en tant que ressource botanique polyvalente ayant de larges implications scientifiques et commerciales.

La Roumanie est fière d'une espèce endémique de lavande, appelée George 90, répertoriée en avril 2017 au Catalogue officiel des variétés. Analysé par l'Institut national d'essais et d'enregistrement des variétés, George 90 présente des propriétés morphostructurales distinctes qui le distinguent des autres espèces de *Lavandula*. Caractérisée par une croissance extensive, une grande taille et des caractéristiques uniques, cette variété de lavande a un feuillage vert avec des tons gris subtils et aucune incision sur les bords des feuilles. La tige fleurie est longue et flexible, non pubescente, avec de nombreuses branches latérales. L'inflorescence est large et longue, de forme cylindrique avec des pointes distantes et de nombreuses fleurs, chacune ornée d'un calice pubescent verdâtre et d'une corolle violette. La reconnaissance de George 90 dans le Catalogue Officiel des Variétés souligne son caractère unique au sein du genre *Lavandula*.

La thèse de doctorat est structurée en neuf chapitres. Les **chapitres I et II** donnent un aperçu détaillé des techniques de culture des espèces de lavande, tout en abordant également l'état actuel des connaissances, y compris les informations issues de la littérature sur la composition chimique, les utilisations et les propriétés biologiquement actives des espèces de lavande connues.

Par la suite, les **chapitres III à IX** suivants apportent une contribution originale en présentant en détail la composition chimique des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et, respectivement, de l'espèce roumaine *George 90*. En outre, ces chapitres présentent pour la première fois des informations sur les propriétés biologiques des composés identifiés dans l'étude.

Le but de la thèse de doctorat était d'analyser le potentiel d'une nouvelle variété de lavande - *George 90*, par rapport aux espèces connues - *L. angustifolia* et *L. latifolia*. Pour atteindre l'objectif proposé, des cultures comparatives ont été établies et des extractions des principes actifs des espèces de lavande ont été réalisées. Tant les extraits du matériel biologique que les huiles obtenues ont été analysés et les propriétés biologiques des composés biologiquement actifs identifiés dans les espèces de lavande étudiées ont été mises en évidence. Des tests ont également été menés pour évaluer le potentiel antitumoral des composés actifs de la lavande.

Les objectifs spécifiques proposés étaient les suivants:

✚ Etablissement de cultures comparatives, évaluation phénologique des espèces étudiées et démonstration de la diversité génétique des cultivars de lavande: *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*.

✚ Extraction d'huiles essentielles d'espèces de lavande: *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, par la méthode d'extraction assistée par micro-ondes ;

✚ Réaliser l'extraction de composés polyphénoliques des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, en utilisant la méthode d'extraction assistée par micro-ondes ;

✚ Séparation et identification des composés biologiquement actifs des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, à l'aide de techniques analytiques avancées ;

✚ Évaluation de l'activité antioxydante des composés biologiquement actifs des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, au moyen de différentes méthodes microspectrophotométriques, telles que les méthodes DPPH, ABTS^{•+} et FRAP;

✚ Évaluation de l'activité antimicrobienne de composés biologiquement actifs des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, à l'aide de méthodes d'inhibition in vitro, notamment la méthode diffusimétrique, la détermination de la concentration minimale inhibitrice et la détermination de la concentration minimale bactéricide/fongicide ;

✚ Évaluation de l'activité antitumorale des composés biologiquement actifs des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, à l'aide de méthodes in vitro d'évaluation de la viabilité cellulaire, telles que le test MTT.

L'originalité de la thèse de doctorat a été démontrée par la recherche détaillée de l'espèce de lavande roumaine *George 90* et par l'analyse exhaustive réalisée sur les deux autres espèces de lavande, *L. angustifolia* et *L. latifolia*. Cette originalité est confortée par l'étude approfondie de la composition chimique de ces trois espèces de lavande, ainsi que par l'analyse du potentiel biologique des composés identifiés dans l'étude.

Le **chapitre III** intitulé «*Lavandula sp. établissement comparatif des cultures, analyse phénologique et diversité génétique*» présente l'établissement, le développement et la démonstration de la diversité génétique de la culture de la lavande. Concernant la hauteur des plants de lavande, on peut observer qu'après 5 ans après la plantation, l'espèce roumaine *George 90* a atteint une hauteur de 129 cm, une valeur insignifiante inférieure à l'espèce *L. latifolia* (131 cm), mais à un niveau élevé. différence par rapport à l'espèce *L. angustifolia* (75 cm). Par rapport à la valeur moyenne, l'espèce *L. angustifolia* a une taille plus courte de 37 cm. La longueur des inflorescences la première année de culture (2017) est comprise entre 10 cm (*L. angustifolia*) et 13 cm (*L. latifolia*).

Les années suivantes, les différences sont insignifiantes. L'espèce roumaine *George 90* a une longueur moyenne d'inflorescences de 12 cm. La tige florale avait une longueur moyenne de 70,6 cm chez l'espèce roumaine *George 90*, une longueur de 70 cm chez l'espèce *L. latifolia* et une longueur de 43 cm chez l'espèce *L. angustifolia*. Le nombre de verticilles sur l'épi floral varie selon l'année et la variété. Pour l'espèce *George 90*, elle varie entre 86 (2020) et 92 (2018), pour l'espèce *L. angustifolia*, elle varie entre 70 (2018, 2020, 2021) et 72 (2017 et 2019), et pour l'espèce *L. latifolia* entre 78 (2017) et 84 (2019 et 2021). L'espèce *George 90*, en valeur moyenne du nombre de sommets par épi, surpasse les autres variétés avec 4,4 espèces de *L. latifolia* et 12,4 espèces de *L. angustifolia*.

La production d'inflorescences diffère selon l'année et la variété. Les productions d'inflorescences les plus faibles ont été enregistrées au cours de l'année 1 (2017). Celles-ci variaient entre 1 716 kg/ha (*L. angustifolia*) et 3 218 kg/ha (*George 90*). Les productions les plus élevées ont été enregistrées en année 5 (2021), l'ordre des variétés étant le même (6435 kg/ha – *L. angustifolia* et 18590 kg/ha – *George 90*). Les productions moyennes classent les variantes expérimentales comme suit: *George 90* – 11283 kg/ha, *L. latifolia* – 7004 kg/ha et *L. angustifolia* – 4403 kg/ha.

Les écarts par rapport à la moyenne des variants (13583 kg/ha) sont très significativement positifs pour les espèces *George 90* et *L. latifolia* et significativement négatifs pour l'espèce *L. angustifolia* (DL5% = 465,14 kg/ha, DL 1% = 618,68 kg/ha, DL 0,01% = 801,71 kg/ha). La même tendance peut être observée dans le cas de la quantité d'huile essentielle obtenue par unité de surface. L'analyse du dendrogramme met en évidence le fait que les échantillons sont divisés en deux sous-groupes distincts, les espèces *L. latifolia*, *George 90* et lavande marché – un groupe et *L. angustifolia* et *L. angustifolia* Blue fragrance LV-BS – le deuxième groupe.

Les marqueurs RAPD ont permis de mettre en évidence les relations génétiques entre les échantillons testés. Ils se sont également révélés utiles pour établir des marqueurs spécifiques pour les espèces de lavande.

Les résultats ont montré un polymorphisme de 86,75% entre les cinq échantillons testés, le degré élevé de variabilité étant également dû au fait que les espèces de lavande sont majoritairement cultivées en extérieur.

Le **chapitre IV** intitulé «**Extraction des composés biologiquement actifs présents dans les espèces de lavande étudiées**» prévoit le prélèvement et la préparation du matériel végétal, l'extraction de l'huile essentielle et l'extraction des composés polyphénoliques. Le matériel végétal de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et, respectivement, *George 90* a été collecté dans deux pépinières. Le matériel végétal de *L. angustifolia* a été prélevé dans la pépinière de la ville de Buftea, comté d'Ilfov, et le matériel végétal de *L. latifolia* et *George 90*, respectivement, a été prélevé dans la pépinière de la commune de Horodnic de Sus, comté de Suceava.

L'échantillonnage, étape importante dans la réalisation des objectifs proposés, a été réalisé en 2022, en juin, lorsque les espèces de lavande ont atteint leur maturité et que les composés biologiquement actifs ont atteint leur concentration maximale. L'étape d'échantillonnage a été suivie de l'étape de préparation du matériel végétal et respectivement de son analyse.

L'extraction avancée de MAE a été utilisée pour obtenir de l'huile essentielle de lavande, riche en composés biologiquement actifs, et l'extraction conventionnelle de HD a été réalisée comme méthode comparative. L'huile essentielle de lavande a été obtenue à partir des inflorescences de trois espèces différentes, telles que respectivement *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*. Au total, six huiles essentielles ont été obtenues: l'huile essentielle MAE de *L. angustifolia* (LA-MAE), l'huile essentielle MAE de *L. latifolia* (LL-MAE), l'huile essentielle MAE de *George 90* (G90-MAE), l'huile essentielle HD de *L. angustifolia* (LA-HD), l'huile essentielle HD de *L. latifolia* (LL-HD) et respectivement, l'huile essentielle HD de *George 90* (G90-HD).

Il a été observé qu'une quantité considérablement plus élevée d'huile essentielle était extraite par la méthode d'extraction MAE par rapport à la méthode d'extraction HD. Le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu pour l'huile essentielle extraite de l'espèce de lavande *George 90*, à la fois par les méthodes d'extraction MAE et HD.

La méthode d'extraction assistée par micro-ondes (MAE) a été utilisée pour obtenir des extraits riches en composés polyphénoliques de parties aériennes de lavande (*L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*), en utilisant des solvants polaires, de l'éthanol (EtOH) et du méthanol (MeOH), afin d'obtenir un rendement d'extraction plus élevé. La plage de température (70 °C) a été choisie en tenant compte des points d'ébullition des deux solvants (éthanol et méthanol). La présence d'eau ainsi que du solvant (EtOH ou MeOH) contribue à rendre le chauffage à l'intérieur de la cuve plus efficace et facilite l'extraction. Plus le solvant utilisé est polaire, plus le chauffage est efficace. Ainsi, les solvants d'extraction suivants ont été utilisés: EtOH 50%, EtOH 70% et MeOH 50%.

Afin de connaître l'impact du rapport matière végétale/solvant sur l'extraction des composés polyphénoliques, le rapport matière végétale/solvant a été fixé à 1:20 (m/v) et respectivement, 1:40 (m/v). Deux tailles de matériel végétal ont été utilisées, du matériel végétal de taille grossière, noté G1, et du matériel végétal de taille très fine, noté G2. Au total, 12 extraits pour chaque espèce de lavande (*L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*) ont été obtenus par extraction MAE. Il a été observé qu'une quantité considérablement plus élevée de composés polyphénoliques était extraite avec 50% de MeOH qu'avec 50% d'EtOH. Semblable à l'extraction MAE et à l'extraction HD des huiles essentielles, la plus grande quantité de composés polyphénoliques a été extraite des espèces de lavande *George 90*.

Le **chapitre V** intitulé «**Analyse des huiles essentielles obtenues à partir des inflorescences des espèces de lavande étudiées**» présente l'analyse GC-MS/MS des huiles essentielles extraites des inflorescences des espèces de lavande étudiées (*L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*), obtenues par deux méthodes d'extraction différentes: la méthode d'extraction MAE et la méthode d'extraction HD.

Au total, 41 composés biologiques actifs ont été identifiés, composés qui font partie de la classe des hydrocarbures et dérivés d'hydrocarbures. Dans les huiles essentielles *George 90*, les principaux composés biologiquement actifs (eucalyptol, α -linalol, camphre, terpinène-4-ol, acétate de linyle, acétate de bornyle, acétate de géranyle, caryophyllène et oxyde de caryophyllène) ont été identifiés avec la plus grande abondance (%). Là encore, la méthode d'extraction MAE s'est avérée plus efficace que la méthode d'extraction HD, car les

huiles essentielles de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* obtenues par extraction MAE se sont révélées plus riches en composés biologiques actifs en termes de concentration.

Le terpénoïde de camphre, qui présente des propriétés anti-inflammatoires, a été identifié dans les huiles essentielles *George 90* obtenues par les deux méthodes d'extraction: l'extraction MAE et l'extraction HD, similaires aux huiles essentielles de *L. angustifolia*. Comme les huiles essentielles de *L. latifolia*, le sesquiterpénoïde caryophyllène a été identifié dans des pourcentages plus élevés dans l'huile essentielle G90-HD que dans l'huile essentielle G90-MAE, tandis que son dérivé, l'oxyde de caryophyllène, a été identifié dans des pourcentages plus élevés dans l'huile essentielle G90-MAE, que dans l'huile essentielle G90-HD.

Le **chapitre VI** intitulé «**Analyse des composés polyphénoliques présents dans les espèces de lavande**» présente la séparation, l'identification et la quantification des composés polyphénoliques issus des extraits hydroalcooliques de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, dans lequel ont été séparés, identifiés et quantifiés un pourcentage de 95% des composés de référence dans les extraits hydroalcooliques de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*. Les paramètres d'extraction les plus efficaces utilisés dans l'extraction MAE des composés biologiquement actifs de la classe de polyphénols des espèces de lavande étudiées (*L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*) étaient: EtOH 70%, granulométrie de matière végétale G2 et rapport de matière solvant 1:40 > MeOH 50%, granulométrie de matière végétale et rapport de matière solvant 1:40 > EtOH 50%, taille de particule de matière végétale G2 et rapport de matière solvant 1:40.

Tous les composés de référence (acide tannique, acide gallique, acide protocatéchique, catéchine, acide caféique, acide chlorogénique, acide syringique, acide p-coumarique, acide férulique, acide o-coumarique, acide ellagique, isoquercétine, rutine, acide rosmarinique, hyperoside, naringine, quercétine, lutéoline, naringénine et kaempférol) utilisés dans l'analyse HPLC-DAD des extraits de lavande (*L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*) ont été trouvés en plus grande quantité dans les extraits hydroalcooliques de *George 90*. Au lieu de cela, les acides hydroxybenzoïques (acide tannique, acide gallique, acide protocatéchique), mais aussi des dérivés d'acides hydroxybenzoïques (acide syringique) ont été identifiés en plus grande quantité dans les extraits hydroalcooliques de *L. angustifolia*.

Parallèlement, des acides hydroxycinnamiques (acide caféique, acide p-coumarique, acide o-coumarique, acide férulique), mais aussi des dérivés d'acides hydroxycinnamiques (acide chlorogénique, acide rosmarinique) ont été identifiés en plus grande quantité dans les extraits hydroalcooliques de *L. latifolia*. L'acide ellagique et les flavonoïdes naringine et naringénine ont été identifiés en plus grande quantité dans les extraits hydroalcooliques de *L. latifolia*, et les flavonoïdes isoquercétine, rutine, hyperoside, quercétine et lutéoline naringénine ont été identifiés en plus grande quantité dans les extraits hydroalcooliques de *L. angustifolia*.

Le **chapitre VII** intitulé «**Le potentiel antioxydant des composés biologiquement actifs présents dans les espèces de lavande étudiées**» présente l'évaluation du potentiel antioxydant des composés biologiquement actifs présents dans les espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*. Activité antioxydante des Les extraits de lavande de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* sont liés aux principaux composés polyphénoliques tels que l'acide protocatéchique, l'acide syringique, l'acide ellagique, l'acide rosmarinique, l'isoquercétine, la rutine, l'hyperoside et la naringine.

Concernant l'extraction avec des solvants, dans le cas de l'évaluation du potentiel antioxydant par les méthodes DPPH, ABTS^{••} et FRAP, les extraits hydroalcooliques de lavande extraits avec EtOH 70%, rapport 1:40 (m/v) ont montré un potentiel antioxydant plus élevé, suivi des extraits hydroalcooliques de lavande extraits avec MeOH 50%, ratio 1:40 (m/v) et des extraits hydroalcooliques de lavande extraits avec EtOH 50%, ratio 1:40 (m/v).

Les résultats obtenus pour l'évaluation du potentiel antioxydant des échantillons de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* (huiles essentielles et extraits hydroalcooliques), par les méthodes DPPH, ABTS^{••} et FRAP, sont comparables aux données de la littérature spécialisée, mais leur potentiel antioxydant est cependant relativement plus faible par rapport aux standards de référence tels que le trolox et l'acide ascorbique. Il a été prouvé que parmi toutes les méthodes utilisées pour évaluer le potentiel antioxydant

(DPPH, ABTS⁺ et FRAP), tant pour les huiles essentielles que pour les extraits hydroalcooliques, l'espèce roumaine de lavande *George 90* a l'activité antioxydante la plus élevée, suivie par la lavande. l'espèce *L. angustifolia* et, respectivement, l'espèce *L. latifolia*.

Le **chapitre VIII** intitulé «**Le potentiel antimicrobien des composés biologiquement actifs présents dans les espèces de lavande étudiées**» présente l'évaluation du potentiel antibactérien et antifongique des composés biologiquement actifs présents dans les espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*. Lavande les huiles essentielles *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, obtenues par les méthodes d'extraction MAE et HD, ont montré une activité antibactérienne notable contre les bactéries *Gram-positives* testées, *B. cereus* et *B. subtilis*, avec des valeurs de CMI allant de 2,5 à 10,0%.

Les huiles essentielles G90-MAE et G90-HD ont montré un fort potentiel antimicrobien sur la souche *B. subtilis* et un potentiel antimicrobien modéré sur la souche *B. cereus*. L'huile essentielle de lavande LL-MAE a montré le potentiel antibactérien le plus fort contre la souche *B. subtilis*, suivie par l'huile essentielle G90-MAE. Dans le même temps, l'huile essentielle LA-MAE a montré le plus fort potentiel antibactérien contre la souche *B. cereus*, suivie par l'huile essentielle LL-MAE. Toutes les huiles essentielles de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* ont montré une activité antibactérienne significative contre les souches bactériennes *Gram-positives* testées.

Les huiles essentielles de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, obtenues par extraction MAE et HD, ont montré un potentiel antifongique. Le potentiel antifongique le plus fort a été obtenu sur la souche *A. brasiliensis*, suivi d'un potentiel antifongique modéré sur les souches *F. oxysporum* et *P. expansum*, respectivement. Lorsque la quantité de 20 µL d'huile essentielle de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* a été utilisée, une forte activité inhibitrice contre la souche *F. oxysporum* a été observée, par contre les huiles essentielles de lavande obtenues par extraction MAE présentent plus d'effets antifongiques. activité forte par rapport aux huiles essentielles de lavande obtenues par extraction HD.

Les huiles essentielles de lavande *L. angustifolia* et *George 90* ont montré un fort potentiel antifongique contre la souche *A. brasiliensis*, avec un degré d'inhibition de $100 \pm 0,0$ % pour toutes les quantités d'huile essentielle testées (20 - 45 µL). Lorsque les quantités utilisées étaient de 20 µL et 25 µL, le degré d'inhibition variait entre $76,7 \pm 12,0$ et $97,24 \pm 2,8$ %, tandis qu'en cas d'utilisation de quantités plus importantes, le degré d'inhibition était de $100 \pm 0,0$ %.

Dans le cas de la souche *P. expansum*, on observe que le degré d'inhibition est de $100 \pm 0,0$ % lorsque la quantité de 45 µL a été testée pour toutes les huiles essentielles de lavande testées (*L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*), obtenu par extraction MAE et HD, ce qui dénote une résistance naturelle plus élevée de la souche *P. expansum*. En revanche, l'huile essentielle G90-MAE a montré un degré d'inhibition de $100 \pm 0,0$ %, même lorsque des quantités plus faibles d'huile essentielle (25 à 40 µL) étaient utilisées. Lorsque des quantités comprises entre 25 µL et 40 µL ont été testées, les huiles essentielles de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* (G90-HD) ont montré des valeurs comparables, avec un degré d'inhibition allant de $76,5 \pm 0,0$ à $97,7 \pm 2,4$ %.

Le **chapitre IX** intitulé «**Potentiel antitumoral des composés biologiquement actifs présents chez les espèces de lavande**» présente le potentiel antitumoral des huiles essentielles de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, évalué sur la lignée cellulaire tumorale HeLa, à l'aide du test MTT. Cette étude a indiqué un fort potentiel antitumoral à de faibles concentrations (1 %), ce qui signifie que les huiles essentielles de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* contiennent différents composés biologiquement actifs et que chaque composé améliore ou modifie le potentiel antitumoral.

Sur la base de la littérature spécialisée et des résultats obtenus dans l'étude, nous pouvons déduire que le potentiel antitumoral des huiles essentielles de *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90* est étroitement lié au métabolisme des composés biologiquement actifs présents et à leur effet synergique. Il a été rapporté que les huiles essentielles de lavande ont un potentiel antitumoral sur plusieurs lignées de cellules tumorales (Calu-3, U-373, PC3, MCF-7).

Les **éléments nouveaux** de la thèse de doctorat étaient :

1. Analyse comparative des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, du point de vue de la productivité biologique et démonstration de la diversité génétique de l'espèce *George 90*;

2. Caractérisation de la composition chimique des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, par des techniques analytiques avancées telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS/MS) et la chromatographie liquide de haute performance couplée à détecteur à barrette de diodes (HPLC-DAD);

3. Évaluation des potentiels biologiques des espèces de lavande *L. angustifolia*, *L. latifolia* et *George 90*, tels que le potentiel antioxydant, le potentiel antibactérien, le potentiel antifongique et le potentiel antitumoral, par des méthodes d'inhibition *in vitro*.