

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Mouloud Mammeri

جامعة مولود معمري

Faculté de Médecine

كلية الطب

Tizi-Ouzou

تيزي وزو

Département de Pharmacie

N° D'ordre :



+⊙%∧∧.⊂ξ† ∑%∶∧ ⊕ ∑∪%∑∑%Q

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Le : 04/07/2024

Sous le Thème

Développement d'une crème anti-acnéique à base d'extraits végétaux

Réalisé par :

Lamis DERBAL

Karima TLAGHI

Hind ZEREB

Encadré par :

Dr B. MOKRANI

Co-encadré par :

Dr K. DOUFENE

Membres de jury :

Dr H. N. BERALA

MAHU

Faculté de médecine, UMMTO

Présidente

Dr N. MADJOUJ

DT

EURL Cherifi BIOPLUS

Examinatrice

Dr A. ADILA

Dermatologue

EPSP Larbaâ Nath Irathen

Examineur

Dr B. MOKRANI

MAHU

Faculté de médecine, UMMTO

Encadrant

Dr K. DOUFENE

MCB

Faculté de médecine, UMMTO

Co-encadrant

ANNEE UNIVERSITAIRE 2023/2024

Résumé

L'objectif de cette étude était d'extraire des ingrédients d'origine naturelle et de formuler une crème dermo-cosmétique contre l'acné. Les extraits végétaux sélectionnés, à savoir l'huile fixe (HF) de pistachier lentisque, l'huile essentielle (HE) de marjolaine, l'HE d'arbre à thé et l'extrait hydrométhanolique (EHM) d'ortie, sont réputés pour posséder des propriétés antibactériennes, antioxydantes et anti-inflammatoires. L'HE de marjolaine a été extraite par hydrodistillation, l'HF de pistachier lentisque par pression à chaud, l'EHM d'ortie par traitement aux ultrasons tandis que l'HE de l'arbre à thé a été achetée dans le commerce. Les rendements d'extractions étaient de 1,84 %, 12,15 % et 8,77 %, respectivement pour les trois premiers extraits. La crème (phase aqueuse : eau distillée ; phase huileuse : HF de pistachier lentisque + alcool cétylique) a été préparée à l'Ultraturax par inversion de phases et les paramètres suivants ont été optimisés : proportion d'agent épaississant = 5 %, temps et vitesse de dispersion-homogénéisation = 5 min et 8000 trs/min, respectivement. Les essais de stabilité ont mis en évidence une forte sensibilité de la stabilité physique aux variations de température et une bonne stabilité microbiologique, tandis que le test de tolérance cutanée a révélé une remarquable tolérance dermatologique de la crème développée.

Mots clés : Acné, Crème dermocosmétique, Biosourcé, *Origanum majorana*, *Urtica dioica*, *Melaleuca alternifolia*, *Pistacia lentiscus*

Abstract

The objective of this study was to extract ingredients of natural origin and to formulate a dermo-cosmetic cream against acne. The plant extracts selected for this study, namely fixed oil (HF) of mastic pistachio, essential oil (EO) of marjoram, EO of tea tree and hydromethanolic extract (EHM) of nettle, are known to have antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory properties. Marjoram EO was extracted by hydrodistillation, mastic tree HF by a hot pressure method, nettle EHM by ultrasound, while the tea tree oil was purchased commercially. The extraction yields were 1.84%, 12.15% and 8.77%, respectively for the three former extracts. The cream (aqueous phase: distilled water; oily phase: mastic pistachio HF + cetyl alcohol) was prepared with the Ultraturax by phase inversion and the following parameters were optimized: proportion of thickening agent = 5 %, time and dispersion-homogenization speed = 5 min and 8000 rpm, respectively. Stability tests demonstrated high sensitivity of physical stability to temperature variations and good microbiological stability, while the patch test revealed remarkable dermatological tolerance of the developed cream.

Keywords: acne, Cosmeceutical cream, Biobased, *Origanum majorana*, *Urtica dioica*, *Melaleuca alternifolia*, *Pistacia lentiscus*

Glossaire

Terme	Définition
Huile essentielle (HE)	Extrait liquide volatil provenant des plantes aromatiques, obtenu par hydrodistillation ou autre procédé approprié
Huile fixe (HF)	Extrait liquide non volatil contenant des corps gras (notamment des glycérides et des acides gras) provenant des plantes oléagineuses
Extrait hydro-alcoolique (EHA)	Extrait obtenu par traitement d'un matériel végétal dans un mélange « eau / alcool ». On s'intéresse communément aux extraits hydro-méthanoliques (EHM) et hydro-éthanoliques (EHE).
<i>Clevenger</i>	Appareil permettant l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation en système fermé
Extraction assistée par ultrasons	Extraction des composés naturels dans une phase liquide appropriée, assistée par des ondes ultrasonores qui se propagent à travers les milieux liquides et facilitent la libération des métabolites
Ultraturrax	Appareil de dispersion et homogénéisation à haute performance (marque déposée par IKA)
HLB (balance hydrophile-lipophile)	Indice caractéristique d'un tensioactif, compris entre 0 et 20, qui renseigne sur la phase préférentielle de ce dernier : HLB bas → tensioactif lipophile HLB élevé → tensioactif hydrophile

I. Introduction

L'acné est une maladie multifactorielle caractérisée par une altération pathologique des unités pilo-sébacées, ce qui entraîne la formation de comédons et de microkystes non inflammatoires et de lésions inflammatoires telles que les papules, les pustules et les nodules [1]. La physiopathologie de l'acné comprend l'hyperséborrhée, la kératinisation folliculaire anormale ainsi que la prolifération des bactéries dans les unités pilosébacées [2]. Deux bactéries sont généralement isolées : *Propionibacterium acnes* et *Staphylococcus epidermidis* [3]. Ces bactéries font partie du microbiote normal de la peau humaine, mais en cas de dysbiose, l'infection des unités pilo-sébacées peut entraîner de l'acné [4]. Bien que le rôle du stress oxydatif soit mis en évidence dans les affections cutanées inflammatoires telles que le psoriasis, le vitiligo ou la dermatite atopique, son implication dans la pathogenèse de l'acné est moins connue. Les preuves accumulées au cours de la dernière décennie suggèrent néanmoins que dans le cas des patients acnéiques, il existe un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants cellulaires [5]. Les causes de l'acné comprennent la prédisposition génétique, des déséquilibres hormonaux, le stress et le manque de sommeil, une alimentation trop riche en sucres et/ou en graisses, le tabac, une exposition au soleil ou aux ultraviolets répétée ou prolongée, la pollution et l'utilisation de produits d'hygiène ou de maquillage inadaptés (à base de corps gras, obturateurs des pores ou comédogènes) [6].

L'acné affecte 9,4 % de la population mondiale, ce qui en fait la huitième maladie la plus répandue et la deuxième maladie de peau au monde [7]. Des études épidémiologiques ont démontré que l'acné est plus fréquente chez les adolescents post-pubères et les garçons étant les plus fréquemment touchés, en particulier dans les formes les plus graves de la maladie [8]. Cette maladie peut affecter non seulement l'apparence physique, mais aussi la confiance en soi et le bien-être émotionnel des individus, allant jusqu'à la dépression [9].

La stratégie thérapeutique conventionnelle contre l'acné est basée sur l'utilisation d'une ou de plusieurs classes thérapeutiques dont les antibiotiques oraux (tétracycline et doxycycline) et locaux (érythromycine et clindamycine), les rétinoïdes (isotrétinoïne), le peroxyde de benzoyle topique, l'hormonothérapie et les thérapies procédurales telles que les thérapies par lumière et par laser [10]. Bien que cette stratégie ait prouvé son efficacité, elle est actuellement critiquée en raison de nombreux effets indésirables des principales molécules synthétiques prescrites. L'isotrétinoïne (Curacné®) entraînerait des effets indésirables tels que la photosensibilisation, la sécheresse et l'irritation de la peau, ainsi que la tératogénicité. Le peroxyde de benzoyle ainsi que la tétracycline et la doxycycline seraient photo-sensibilisants.

L'érythromycine et la clindamycine en lotion seraient irritantes. Enfin, les traitements hormonaux engendreraient des risques thromboemboliques [11]. Il convient également de mentionner la résistance aux antibiotiques anti-acnéiques topiques qui est due à de multiples facteurs, notamment l'utilisation répétée d'un seul antibiotique, des concentrations sous-inhibitrices ou une utilisation prolongée [4].

Certains de ces effets indésirables pourraient être évités si une thérapeutique alternative plus douce est employée. Ainsi, la phyto-aromathérapie, thérapeutique naturelle combinant l'usage de la phytothérapie et de l'aromathérapie, offre une perspective intéressante car elle combine la tolérance et l'efficacité, tout en reposant sur des bases scientifiques reconnues [12]. Les plantes médicinales sont utilisées dans différentes préparations de la médecine populaire pour traiter diverses affections, y compris l'acné. Parmi ces préparations, les préparations semi-solides, notamment les crèmes qui constituent une part importante des formes galéniques utilisées dans les produits de dermopharmacie et de cosmétique. Les crèmes sont largement utilisées dans le traitement de l'acné en raison de leur texture légère et de leur capacité à être rapidement absorbées par la peau. Contrairement aux pommades, les crèmes sont moins grasses et moins épaisses [13], ce qui les rend plus appropriées pour les peaux sujettes à l'acné. Elles permettent une application uniforme et sont généralement bien tolérées, même sur les peaux sensibles, minimisant ainsi le risque de laisser des résidus gras qui pourraient aggraver l'acné [14].

L'objectif de notre présente étude est de combiner des extraits de plantes ayant des activités antibactériennes, anti-inflammatoires et antioxydantes afin de concevoir une crème dermo-cosmétique biosourcée pour traiter l'acné. Les plantes décrites dans cette étude ont été sélectionnées sur la base d'un usage traditionnel populaire via une enquête ethnobotanique et d'une justification scientifique avec des utilisations modernes ; ces plantes sont individuellement bien décrites dans la littérature pour leurs bienfaits dermo-cosmétiques potentiels.

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal

II.1.1. Choix du matériel végétal

Il s'agit d'une étape préliminaire à l'objectif principal de l'étude (formulation d'une crème anti-acnéique), visant à sélectionner les plantes qui possèdent les propriétés recherchées. Deux questionnaires préétablis ont été élaborés en janvier 2024 : le premier adressé aux

herboristes sous forme d'un entretien direct et le deuxième diffusé en ligne à la population via Google Forms. Les questions sont axées essentiellement sur les plantes anti-acnéiques : les drogues et les modalités de leur emploi (Annexe I. Fiche d'enquête ethnobotanique [herboriste] et Annexe II. Fiche d'enquête ethnobotanique [population]).

L'analyse des données recueillies chez 03 herboristes et 118 individus de la population générale a permis de répertorier de nombreuses drogues végétales utilisées contre l'acné qui sont résumées dans le tableau 1. Parmi les plus citées, quatre ont été retenues et exploitées dans la présente étude, à savoir : la marjolaine, le pistachier lentisque, la grande ortie et l'arbre à thé dont les caractéristiques sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 1. Drogues végétales citées dans l'enquête ethnobotanique

Plantes (nom vernaculaire)	Drogues végétales	Fréquence de citation (%)
Arbre à thé	Plantes entière	20,93
Aloès verra	Feuilles	11,62
	Plantes entière	2,32
	Fruits	2,32
Pistachier lentisque	Fruits	9,30
Marjolaine	Parties aériennes	6,97
Ortie	Feuilles	6,97
Menthe	Feuilles	4,65
Genévrier	Pseudo-fruits	4,65
Oliban	Résine	4,65
Lavande	Fleurs	2,32
Figuier de barbarie	Fruit	2,32
Romarin	Feuilles	2,32
Bardane	Fleurs	2,32
Chardon marie	Fruits	2,32
Géranium	Fleurs	2,32
Fenugrec	Graines	2,32
Ail	Bulbe	2,32
Lin	Graines	2,32
Nigelle	Graines	2,32
Clou de girofle	Fleurs	2,32

Tableau 2. Caractéristiques du matériel végétal exploité

Nom scientifique et famille	Noms vernaculaires*	Drogue utilisée	Extrait utilisé
<i>Origanum majorana</i> L. (Lamiaceae)	Fr. marjolaine Ar. زعتر Ka. Zaâther	Partie aérienne	Huile essentielle (HE)
<i>Pistacia lentiscus</i> L. (Anacardiaceae)	Fr. pistachier lentisque Ar. الضرو Ka. Tidekt - Imidek	Fruit (baies)	Huile fixe (HF)
<i>Urtica dioica</i> L. (Urticaceae)	Fr. Ortie Ar. حرايق - فُرَّاص Ka. Azegduf	Feuilles et racines	Extrait hydro-méthanolique (EHM)
<i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel (Myrtaceae)	Fr. Arbre à thé Ar. شجرة الشاي	-	Huile essentielle (HE)

(*) Fr. : Français, Ar. : Arabe, Ka. : Kabyle

II.1.2. Récolte et traitement du matériel végétal

La marjolaine a été récoltée en mois de juillet 2023 dans le village de Ait-Elkacem (1000 à 1100 m d'altitude), commune de Assi Youcef de la wilaya de Tizi-Ouzou. Après un séchage d'une semaine, à l'air libre et à l'abri de la lumière, elle a été grossièrement fragmentée pour obtenir la drogue prête pour l'extraction.

Des fruits murs de pistachier lentisque ont été récoltés au mois de février 2024 dans la région de Touachna commune Boudouaou de la wilaya de Boumerdes. Ils ont été débarrassés des feuilles et des rameaux, puis lavés à l'eau du robinet pour éliminer toutes les impuretés et les baies moisies qui flottent sur l'eau. Les baies de bonne qualité sont ainsi récupérées.

L'ortie a été récoltée en mars 2024 au niveau de plusieurs sites dans la wilaya de Boumerdes, nettoyée des poussières puis séchée dans des conditions convenables pendant deux semaines. Un mélange d'environ 2/3 de feuilles et 1/3 de racines a été broyé à l'aide d'un moulin électrique et tamisé donnant ainsi une poudre fine.

Quant à l'arbre à thé, et étant une espèce exotique, son HE originaire d'Australie (de la marque « Phytencia ») a été procurée au niveau d'une officine.

II.2. Préparation des extraits végétaux

II.2.1. Extraction de l'HE de *Origanum majorana* L.

L'HE de marjolaine a été extraite par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger [15]. Pour une quantité totale de 770 g de drogue séchée, plusieurs séries d'extraction ont été réalisées en introduisant une quantité de 50 g de la plante dans un ballon de 1 litre additionnée d'eau distillée (rempli à 2/3 de son volume) et quelques pierres ponce afin

de réguler l'ébullition et de prévenir le reflux de bulles. Ensuite, le ballon a été porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon pendant 2 heures et demi environ. Lors du chauffage, les vapeurs contenant l'eau et l'HE se condensent dans le tube terminal du Clevenger après leur passage dans le réfrigérant. Le condensat est recueilli dans une ampoule à décanter où la phase aqueuse (hydrolat) et la phase organique (HE) sont séparées par différence de densité.

Enfin, l'HE a été récupérée dans un flacon en verre, hermétiquement fermé, emballé en papier aluminium et conservé jusqu'à utilisation au réfrigérateur (+4 °C).

II.2.2. Extraction de l'HF de *Pistacia lentiscus* L.

L'extraction de l'HF du pistachier lentisque a été faite selon une méthode traditionnelle [16] : une quantité de 409 g de baies a été cuite à la vapeur dans un couscoussier, puis broyée à l'aide d'un moulin électrique après ajout d'un peu d'eau pour les ramollir et faciliter le malaxage. Par la suite, la matière broyée a été pressée dans un tissu propre et le liquide qui en découle a été chauffé et décanté dans des tubes en verre dans lesquels l'huile se sépare de l'eau par différence de densité. L'huile obtenue a été stockée dans un flacon en verre, hermétiquement fermé et conservé au frais et à l'abri de la lumière.

II.2.3. Préparation de l'EHM de *Urtica dioica* L.

a) Choix du solvant et de la méthode d'extraction

En plus de solubiliser les phytoconstitués polaires, le méthanol est capable d'extraire la plupart des composés phénoliques, ce qui maximise le rendement et est à l'origine de la diversité de la nature des métabolites secondaires extraits [17].

De par ses caractéristiques particulières, l'extraction assistée par ultrasons permet de contourner les inconvénients associés aux autres techniques d'extraction : augmenter les taux de transfert de masse, diminuer le temps de traitement en réduisant la durée des cycles d'extraction, abaisser la température opératoire, et réduire la consommation de solvants organiques. [18].

b) Protocole d'extraction

Des quantités de 30 g de poudre de la drogue ont été transvasées dans un erlenmeyer auquel est additionné 250 ml de solvant (méthanol/eau 70 : 30, v/v) par extraction. Cet erlenmeyer a été placé dans un bain à ultrasons (Fisherbrand® P : 140 W et F : 50/60 Hz) pendant 30 min à température de 25 °C et à l'abri de la lumière. Le mélange obtenu, a été filtré à l'aide du papier filtre pour obtenir une solution hydro-méthanolique contenant divers métabolites extraits. Par la suite, le filtrat a été débarrassé du solvant d'extraction par évaporation rotative sous vide à 60 °C dans un rota-vapeur (Stuart®). Le produit obtenu, transféré dans une capsule,

a été placé dans l'étuve à 45 °C pendant 2 jours pour avoir un extrait complètement sec. Ce dernier a été conservé dans un flacon bien fermé et emballé en papier aluminium, pour éviter toute altération, au réfrigérateur à +4 °C jusqu'à l'utilisation.

II.2.4. Calcul de rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de matière végétale utilisée. Il a été calculé (pour l'HE, l'HF et l'EHM) comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_o}{M} \times 100$$

Où : Mo = masse de l'huile ou de l'extrait (g), M = masse de la matière végétale utilisée (g)

II.3. Formulation et préparation de la crème

II.3.1. Optimisation de la formule de base

La physiopathologie de l'acné a orienté notre choix galénique vers une crème hydrophile (Huile dans l'Eau, H/E) afin d'éviter un quelconque phénomène occlusif tout en maintenant l'activité des extraits végétaux. Les crèmes hydrophiles sont par ailleurs connues pour leur fort pouvoir pénétrant sans résidus gras [14], leur pouvoir hydratant et leur étalement facile sur la peau [13].

La phase aqueuse est composée d'eau distillée dans laquelle est préalablement dissout le polysorbate 80 (Tween[®] 80, Biochem Chemopharma), tandis que la phase huileuse est composée d'un mélange d'HF de pistachier lentisque et d'alcool cétylique (agent co-émulsifiant et épaississant, Echo Chem) dans laquelle est dissout le monooléate de sorbitane (Span[®] 80, Tricom LLC). Les proportions de tensioactifs émulsionnants (c.-à-d. le polysorbate 80 et le monooléate de sorbitane) nécessaires pour stabiliser ce système dispersé ont été dictées par le HLBC de la phase huileuse utilisée (voir Annexe III. Détermination expérimentale du HLBC de la phase huileuse).

En outre, la méthode d'émulsification par inversion de phase a été sélectionnée car elle permet d'obtenir des émulsions très fines en apportant peu d'énergie mécanique au système [19]. L'émulsification a été effectuée de la manière suivante : après pesée et mélange des ingrédients de chaque phase, les deux phases sont chauffées séparément à 70 °C. Tout en maintenant la température, la phase aqueuse est progressivement ajoutée à la phase huileuse sous dispersion-homogénéisation (T18 digital Ultra-Turrax[®], IKA). L'émulsion fluide est ensuite laissée refroidir à température ambiante jusqu'à épaississement, puis elle est conservée à l'abri de la lumière. Afin d'optimiser la qualité de la crème obtenue, trois paramètres ont été

étudiés : un paramètre lié à la composition, à savoir la proportion en agent épaississant (1, 3 et 5 %), et deux paramètres du procédé, à savoir le temps (3 et 5 min) et la vitesse (6000, 8000 et 10000 trs/min) de dispersion–homogénéisation. Deux séries de chaque configuration ont été préparées pour assurer une bonne reproductibilité.

II.3.2. Préparation de la crème à activité anti-acnéique

Une revue de la littérature des activités antibactériennes et antioxydantes des HEs et de l'EHM étudiés a permis de fixer les quantités à incorporer dans la formule comme suit : 1 % d'HE d'arbre à thé, 1 % d'HE de marjolaine, 5 % d'EHM d'ortie (voir Annexe IV. Détermination des quantités d'extraits végétaux à incorporer dans la crème anti-acnéique).

Les extraits végétaux sont dissous, le cas échéant, dans leurs phases préférentielles avant émulsification (c.-à-d. l'EHM dans la phase aqueuse, les HEs dans la phase huileuse). Le benzoate de sodium (agent conservateur, Sigma-Aldrich) est éventuellement ajouté dans la phase aqueuse à une proportion de 0,1 %.

Pour la suite des essais, quatre différentes crèmes ont été préparées dont les compositions sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 3. Composition des différentes crèmes préparées

	Crème			
	n° 1	n° 2	n° 3	n° 4
HF de pistachier lentisque + alcool cétylique	×	×	×	×
Eau distillée	×	×	×	×
HEs		×	×	×
EHM d'ortie				×
Benzoate de sodium	×		×	×

II.3.3. Essais de caractérisation *In vitro*

Les essais de caractérisation *In vitro* des émulsions constituent une étape cruciale dans le développement de formulations garantissant leur qualité et leur stabilité. Conformément au livre de bonnes pratiques de fabrication (BPF) des médicaments [20], ces essais suivent des protocoles pour évaluer divers paramètres tels que le sens des émulsions, la stabilité physique, ainsi que la taille des gouttelettes et leur homogénéité.

a) Sens de la crème

Les crèmes étant des émulsions épaisses, les essais relatifs au sens des émulsions sont donc applicables. Le sens de chaque crème préparée a été étudié à travers deux essais : la méthode par dilution consistant en la dilution homogène d'une émulsion hydrophile préférentiellement dans une phase aqueuse, et la méthode par coloration consistant en la diffusion rapide et homogène d'un colorant hydrophile (0,1 % Bleu de méthylène) dans une émulsion hydrophile.

b) Examen macroscopique

La couleur, l'odeur et la consistance de chaque crème ont été évaluées. L'aspect et l'homogénéité ont également été appréciés après étalement sur le dos de la main.

c) Examen microscopique

L'examen microscopique au grossissement 10×40 (EUROMEX BioBlue®) de dilutions 1/10 des différentes crèmes préparées a permis d'estimer la taille des globules, leur répartition, ainsi que la présence d'amas et de débris.

d) Mesure de pH

Le pH des différentes crèmes a été mesuré au papier pH et confronté aux valeurs physiologiques.

II.3.4. Essais de stabilité en temps réel

Les crèmes préparées conservées à température ambiante ont subi un examen macroscopique et microscopique comparatif, tel que décrit plus haut, à J0, J1, J4 et J8.

II.3.5. Essais de caractérisation *In vivo*

Les essais de caractérisation *In vivo*, tels que les patch tests, jouent un rôle crucial dans l'évaluation de la sécurité des émulsions destinées à un usage cutané. Ces tests consistent à appliquer une petite quantité du produit sur la peau, généralement sur le dos ou l'avant-bras des volontaires, afin d'observer les réactions cutanées potentielles. L'objectif principal est de détecter toute irritation, allergie ou sensibilisation pouvant être causée par les ingrédients de l'émulsion [21]. Les résultats obtenus permettent de garantir la tolérance dermatologique du produit avant sa mise sur le marché, assurant ainsi la protection des consommateurs et la conformité avec les réglementations en vigueur.

Un test de tolérance cutanée a été effectué sur 06 volontaires adultes sains (03 de sexe masculin et 03 de sexe féminin) dont les consentements éclairés et écrits ont été recueillis. Au total, 04 produits ont été testés : les crèmes n°1, 2 et 3 ainsi que de l'eau physiologique en tant

que témoin négatif.

Le protocole expérimental consistait en le dépôt de 50 µl de chaque produit à tester sur l'avant-bras des volontaires, recouverts ensuite avec un pansement semi-occlusif. Une lecture est effectuée après 24h par un médecin assermenté spécialiste en dermatologie pour évaluer les potentiels effets des produits sur la peau en regard de quatre critères : l'apparition de rougeurs, d'éruptions cutanées et de desquamations ainsi que les expériences subjectives décrites par le patient.

III. Résultats et discussion

III.1. Préparation des extraits végétaux

III.1.1. Caractéristiques organoleptiques des extraits

Les caractéristiques organoleptiques des extraits (HE, HF et EHM) obtenus et de l'HE d'arbre à thé sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4. Caractéristiques organoleptiques des extraits

Extrait	Aspect	Couleur	Odeur
HE de <i>O. majorana</i>	Liquide limpide	Jaune pâle	Aromatique caractéristique
HF de <i>P. lentiscus</i>	Liquide visqueux	Jaune	Caractéristique de la plante
EHM de <i>U. dioica</i>	Sec cristallisé	Vert foncé	Rappelant le thé vert
HE de <i>M. alternifolia</i>	Liquide limpide	Incolore	Aromatique

Les deux premiers extraits présentent les caractères organoleptiques attendus et marquant ces types d'extraits (les huiles essentielles : limpides, couleur habituellement jaune, odeur aromatique rappelant celle de l'organe producteur ; les huiles fixes : couleur jaune, visqueuses vu leur caractère gras). L'odeur de l'HF de *P. lentiscus*, semblable à celle des feuilles, est due au caractère aromatique de la plante renfermant, en plus, des HEs.

La couleur de l'EHM est le résultat de la présence importante de chlorophylle, tandis que son odeur est due à la dégradation des phytoconstitués. La chlorophylle n'a pas été éliminée de l'extrait pour deux raisons : confluer avec l'usage traditionnel et opter pour des procédés écoresponsables (éviter l'étape de délipidation utilisant des solvants organiques polluants qui sont, souvent, incompatibles avec une application cutanée prolongée chez l'homme).

III.1.2. Rendement des extractions

Les rendements des extractions (HE, HF et EHM) sont donnés dans le tableau 5.

Tableau 5. Rendement des extractions

	M ₀ (g)	M (g)	Rendement
HE de <i>O. majorana</i>	770	14,20	1.84 %
HF de <i>P. lentiscus</i>	409	49,69	12.15%
EHM de <i>U. dioica</i>	290	25,45	8,77 %

Le rendement d'extraction est une mesure de l'efficacité du solvant et de la méthode d'extraction.

Le résultat obtenu relatif au rendement de l'HE de marjolaine, 1,84 % est inférieur à celui obtenu par Daoudi et Timizar [22] pour la même espèce récoltée au niveau de la commune de Bouderbala wilaya de Bouira 3,33 % et il est similaire à celui obtenu dans l'étude de Hajlaoui et al. [15] qui est égal à 1,85 %, pour la même espèce récoltée à la ville de Zaghouan en Tunisie. Une différence de résultats serait due à l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité, l'altitude, la nature du sol et la période de récolte sur la teneur de la plante en HE, mais aussi à des variations des conditions d'extraction (mode, durée, chauffage, etc.).

Le rendement de l'HF du pistachier lentisque de 12,15 % est supérieur à celui obtenu par Kherroub et Cheriat [23] qui est égale à 9,8 % pour la même espèce issue de la région de Aghbal wilaya de Tipaza, par contre il est inférieur à celui obtenu par Boughara Merzoukgui [24] qui est égale à 17,45 ± 0,10 % pour l'huile originaire de la région d'El-Kala. Des variations pareilles du taux de rendement s'expliqueraient par la diversité des conditions environnementales d'une région à une autre, le stade de maturité des baies, la période de la récolte, la technique d'extraction, etc.

III.2. Optimisation de la formule de base

L'étape préliminaire à l'incorporation des extraits végétaux dans la crème est l'optimisation de la base. Les qualités d'une base optimale sont une dispersion homogène et stable de fines gouttelettes de la phase huileuse ($\leq 10 \mu\text{m}$) donnant lieu à une texture lisse et non granuleuse, avec la présence d'un agent épaississant à une proportion suffisante pour apporter la consistance adéquate à une crème hydrophile.

III.2.1. Optimisation de la consistance

La quantité d'alcool cétylique à incorporer dans la crème a été le premier paramètre étudié en vue d'une optimisation. Les caractéristiques organoleptiques et les observations microscopiques des émulsions fraîchement préparées avec différentes proportions en alcool cétylique sont présentées dans le tableau 6 et la figure 1.

Tableau 6. Caractéristiques organoleptiques des crèmes préparées à 1, 3 et 5 %. Les paramètres fixés sont le temps (5 min) et la vitesse (8000 trs/min) de dispersion-homogénéisation.

Proportion en alcool cétylique	Aspect	Couleur	Odeur	Consistance
1 %	Opagues Lisses	Laitesuses	HF de	Fluide
3 %			pistachier	± consistante
5 %			lentisque	Consistante

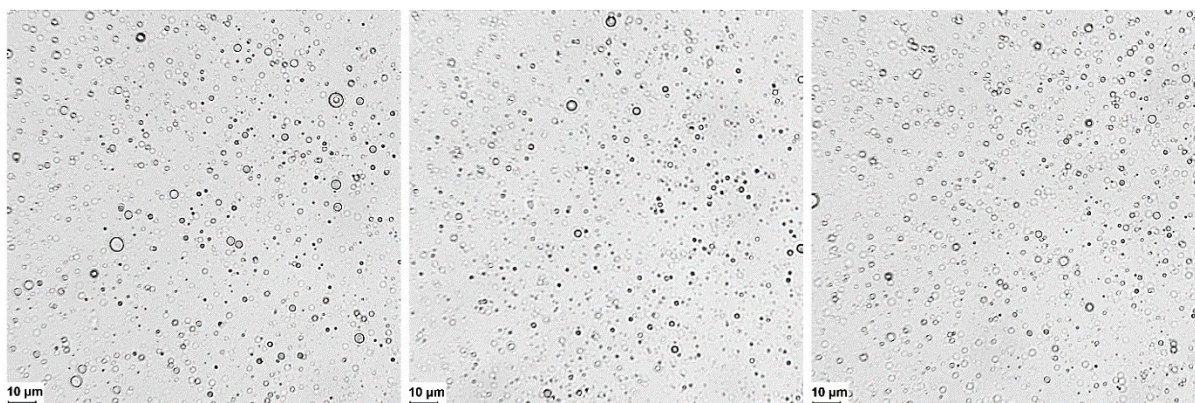


Figure 1. Observation microscopique au G10×40 des crèmes préparées à 1, 3 et 5 % d'alcool cétylique, de gauche à droite respectivement. Les paramètres fixés sont le temps (5 min) et la vitesse (8000 trs/min) de dispersion-homogénéisation.

Les trois émulsions préparées étaient hydrophiles et leur pH avoisinait 6. À l'échelle microscopique, aucune différence n'a été observée ; la dispersion des gouttelettes de phase huileuse était plutôt homogène, de taille inférieure à 10 µm. À l'échelle macroscopique par contre, une différence notable de consistance a été enregistrée : à 1 % d'alcool cétylique, l'émulsion était fluide avec une viscosité relativement faible ; à 3 %, l'émulsion commençait à avoir une consistance plus notable sans pour autant atteindre le seuil nécessaire pour une crème cutanée ; et à 5 %, l'émulsion était nettement consistante, avec une texture épaisse. Cette valeur est retrouvée dans la littérature comme optimale pour la confection de crèmes cutanées.

En outre, il est décrit dans de précédents travaux que l'alcool cétylique joue pleinement son rôle de co-émulsifiant à une proportion avoisinant 5 % dans la formulation finale [25], et aide ainsi à stabiliser l'interface entre la phase huileuse et la phase aqueuse [26].

En conséquence, la proportion de 5 % d'alcool cétylique a été retenue pour la suite du développement galénique. La composition de la phase huileuse étant fixée (10 % HF de lentisque + 5 % alcool cétylique), le HLB critique de cette phase peut être ainsi calculé et les concentrations des tensioactifs déterminées (voir Annexe III. Détermination de HLB critique de la phase huileuse). La composition finale de la base de crème est présentée dans le tableau 7.

Tableau 7. Formule de base optimisée de la crème.

Ingrédient	Proportion (% m/m)	
HF de pistachier lentisque	10	
Alcool cétylique	5	
Polysorbate 80	4,455	5
Monooléate de sorbitane	0,545	
Eau distillée	Qsp. 100	

III.2.2. Optimisation du temps de dispersion-homogénéisation

Les caractéristiques organoleptiques et les observations microscopiques des émulsions fraîchement préparées à différents temps de dispersion-homogénéisation sont présentées dans le tableau 8 et la figure 2.

Tableau 8. Caractéristiques organoleptiques des crèmes préparées durant 3 et 5 minutes. Les paramètres fixés sont la proportion en alcool cétylique (5 %) et la vitesse de dispersion-homogénéisation (8000 trs/min).

Temps	Aspect	Couleur	Odeur	Consistance
3 minutes	Opaque ± lisse	Laitieuses	HF de pistachier	Consistantes
5 minutes	Opaque Lisse		lentisque	

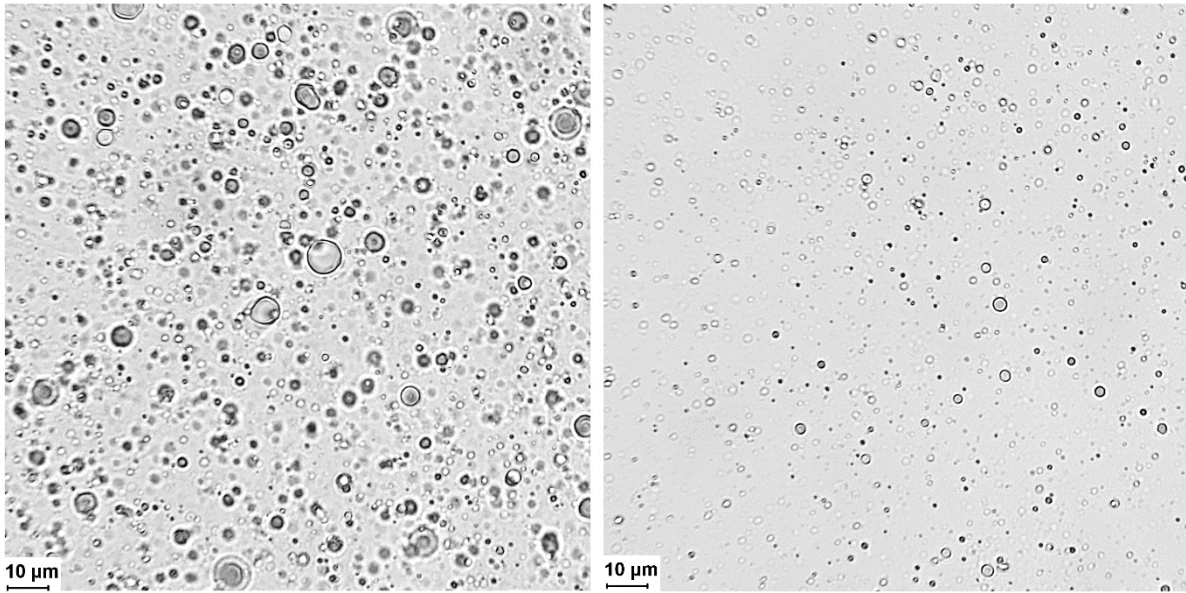


Figure 2. Observations microscopiques au G10×40 des crèmes préparées durant 3 min (à gauche) et 5 min (à droite) de temps de dispersion-homogénéisation. Les paramètres fixés sont la proportion en alcool cétylique (5 %) et la vitesse de dispersion-homogénéisation (8000 trs/min).

Les deux émulsions préparées étaient hydrophiles et leur pH avoisinait 6. Les gouttelettes de l'émulsion préparée durant 3 min de dispersion-homogénéisation étaient de taille relativement grande et peu homogènes, indiquant que le temps de mélange est insuffisant pour bien disperser les phases et créer une distribution uniforme. Cette hétérogénéité est d'ailleurs bien connue pour accélérer l'instabilité physique de tels systèmes dispersés dans la littérature [27].

En revanche, les gouttelettes de l'émulsion préparée durant 5 min de dispersion-homogénéisation étaient de petite taille et relativement homogènes, ce qui se répercute non seulement sur la stabilité physique de l'émulsion mais également sur ses propriétés organoleptiques, notamment l'aspect lisse et le toucher onctueux. Ainsi, le temps de dispersion-homogénéisation optimal est fixé à 5 min.

III.2.3. Optimisation de la vitesse de dispersion-homogénéisation

Les caractéristiques organoleptiques et les observations microscopiques des émulsions fraîchement préparées à différentes vitesses de dispersion-homogénéisation sont présentées dans le tableau 9 et la figure 3.

Tableau 9. Caractéristiques organoleptiques des crèmes préparées à 6000, 8000 et 10000 trs/min de vitesse de dispersion-homogénéisation. Les paramètres fixés sont la proportion en alcool cétylique (5 %) et le temps de dispersion-homogénéisation (5 min).

Vitesse	Aspect	Couleur	Odeur	Consistance
6000 trs/min	Opaque ± lisse			± Consistante
8000 trs/min	Opaques Lisses	Laitesuses	HF de pistachier lenticule	Consistante
10000 trs/min				Non consistante

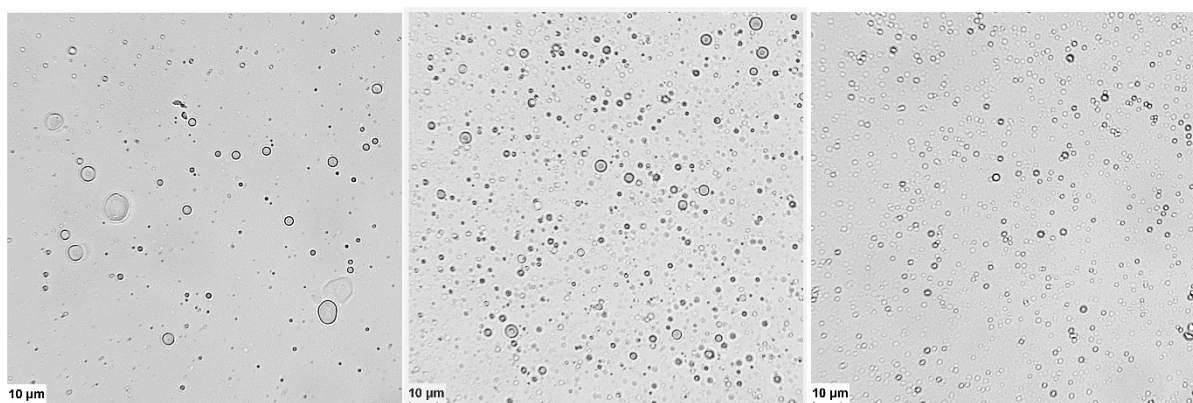


Figure 3. Observations microscopiques au G10×40 des crèmes préparées à 6000, 8000 et 10000 trs/min de vitesse de dispersion-homogénéisation. Les paramètres fixés sont la proportion en alcool cétylique (5 %) et le temps de dispersion-homogénéisation (5 min).

Les trois émulsions préparées étaient hydrophiles et leur pH avoisinait 6. L'émulsion préparée à 6000 trs/min a présenté des gouttelettes de grande taille et non homogènes, ce qui indique que la contrainte mécanique apportée au système est insuffisante comme décrit dans la littérature [28]. De plus, cette émulsion a présenté un défaut de consistance imputable au manque de cohésion créé par la taille variable des gouttelettes d'huile.

Concernant l'émulsion préparée à 8000 trs/min, elle a présenté des gouttelettes de petite taille et relativement homogènes ainsi qu'une bonne consistance après refroidissement, ce qui signifie que les gouttelettes étaient bien dispersées dans la phase continue. De plus, cette dispersion optimale a tendance à réduire le phénomène de coalescence, ce qui retarde la séparation des phases [27].

L'émulsion préparée à 10000 tr/min, bien que présentant des gouttelettes très fines et assez homogènes, était non consistante. Ce résultat suggère qu'une énergie de cisaillement trop

élevée peut parfois provoquer une rupture excessive des gouttelettes, rendant l'émulsion fluide et instable.

III.3. Préparation de la crème à activité anti-acnéique

Après optimisation de la base, un ensemble de crèmes contenant les extraits végétaux réputés pour leurs activités antioxydantes et antibactériennes est préparé. Le tableau 10 récapitule les caractéristiques organoleptiques des crèmes fraîchement préparées.

Tableau 10. Caractéristiques organoleptiques des crèmes contenant les extraits végétaux.

N° crème	Aspect	Couleur	Odeur	Consistance
1		Blanche	HF de pistachier lentisque	
2	Opaques	Beige	HEs	Consistantes
3	Lisses	Beige	HEs	
4		Vert olive	HEs + EHM d'ortie	

Les quatre crèmes étaient hydrophiles et avaient un pH avoisinant 6. Elles ont présenté une sensation agréable au toucher, un étalement optimal et une pénétration rapide (en moins de 10 secondes) après application sur la main.

L'observation microscopique des quatre crèmes a révélé des gouttelettes de petite taille relativement homogènes. Bien que les crèmes soient préparées dans des conditions de temps et de vitesse identiques, la présence d'HEs à des concentrations unitaires de 1 % ne semble influencer ni la taille ni l'homogénéité des gouttelettes. Concernant la crème n°4 contenant l'EHM d'ortie, la taille des gouttelettes est légèrement augmentée. Cela peut s'expliquer par la proportion élevée en EHM d'ortie (5 %), nécessaire pour assurer son activité antioxydante et antibactérienne (voir Annexe IV. Détermination des quantités d'extraits végétaux à incorporer dans la crème anti-acnéique).

III.4. Essais de stabilité en temps réel

L'évolution des caractéristiques microscopiques et macroscopiques des crèmes n°1 à 4 au cours du temps sont présentées dans le tableau 11.

Tableau 11. Évolution des caractéristiques des crèmes au cours du temps.

N° Crème	J1	J4	J8
1			Légère augmentation de la taille microscopique des gouttelettes.
2	Aucune évolution significative.	Aucune évolution significative.	Perte de consistance de la crème, sans altération des autres caractéristiques organoleptiques.
3			
4	Aucune évolution significative.	Augmentation significative de la taille microscopique des gouttelettes. Perte de consistance de la crème, sans altération des autres caractéristiques organoleptiques.	Augmentation significative de la taille microscopique des gouttelettes. Perte de consistance de la crème, sans altération des autres caractéristiques organoleptiques.

Toutes les crèmes préparées étaient hydrophiles et présentaient un pH avoisinant 6. Ce pH légèrement acide est d'ailleurs réputé pour neutraliser le pH basique des peaux acnéiques et peut contribuer au maintien de l'homéostasie cutanée, ce qui favorise le traitement [29].

À J1, aucune des crèmes ne présentait un changement à l'échelle macroscopique ou microscopique, ce qui signifie qu'elles étaient stables jusqu'à 24H.

À J4, les crèmes n°1 à 3 ne présentaient aucun changement à l'échelle macroscopique et microscopique, tandis que la crème n°4 contenant l'EHM d'ortie a perdu sa consistance et est devenue fluide. Cela peut s'expliquer par la présence des saponines [30] qui sont considérées comme des agents tensioactifs capables de modifier les caractéristiques des émulsions et des crèmes [31], et corrobore l'augmentation de la taille des gouttelettes dans la crème fraîchement préparée. Cette donnée, qui élimine la crème n°4 de la suite du développement, ouvre néanmoins une perspective de développer un savon à base d'EHM d'ortie ayant les mêmes vertus que la crème développée dans notre étude.

À J8, les crèmes n°1 à 3 ont conservé leurs couleurs et leurs odeurs initiales, par contre elles ont commencé à perdre leur consistance avec apparition d'un phénomène de crémage réversible. La perte de la consistance des crèmes peut s'expliquer par la variation de la température au sein du laboratoire (essais effectués en mois de Juin 2024, avec des écarts de température diurnes-nocturnes importants). Une autre étude a également observé des résultats similaires, indiquant que l'augmentation de la température peut affecter la stabilité des

émulsions et des crèmes, ce qui peut entraîner une diminution de la consistance [32]. Ces deux résultats convergent vers la conclusion que la température est un facteur critique influençant la stabilité et la texture des crèmes, et qu'il y a lieu de le maîtriser en mettant en place un contrôle strict de la température ambiante.

Par ailleurs, la crème n°2 qui ne contient pas de conservateur synthétique n'a montré aucune croissance microbienne durant la période d'étude. Ce résultat suggère que l'utilisation des HEs pourrait être une alternative viable aux conservateurs traditionnels dans certaines formulations dermo-cosmétiques. Cependant, une évaluation complète des concentrations optimales, de la stabilité à long terme et de l'efficacité contre divers micro-organismes est nécessaire afin d'étayer ce résultat.

III.4.1. Essai de caractérisation *In vivo*

La lecture des résultats de tolérance cutanée après 24 heures a permis de constater une absence remarquable d'érythèmes (score = 0/3), d'éruptions cutanées (score = 0/3) et de desquamations (score = 0/3) chez 05 volontaires, quand bien même un de ces volontaires a exprimé de légères démangeaisons aux sites d'application des crèmes n°2 et 3 (c.-à-d. contenant les HEs). Le dernier volontaire a développé un léger érythème (score = 1/3) aux sites d'application des crèmes n°2 et 3, probablement dû à une légère réaction aux huiles essentielles. En effet, et bien qu'elles soient d'origine naturelle, les huiles essentielles restent des composés hautement actifs dont l'utilisation peut provoquer certaines réactions secondaires bien répertoriées dans la littérature [33]. Il est ainsi recommandé d'appliquer de telles préparations sur la main ou l'avant-bras avant toute application prévue sur le visage.

En somme, ces résultats démontrent clairement la bonne tolérance cutanée des crèmes préparées.

IV. Conclusion

Notre étude visait à valoriser, au sein d'une préparation pharmaceutique cutanée, des ingrédients naturels bien connus de la médecine traditionnelle, à savoir : l'HF de pistachier lentisque, l'HE de marjolaine, l'HE d'arbre à thé et l'EHM d'ortie. Le but de cette association est de générer un effet synergique des activités antibactériennes, antioxydantes et anti-inflammatoires contre l'acné. Ces quatre extraits végétaux ont été proposés par la population et les herboristes suite à une enquête ethnobotanique.

Dans le présent travail, nous avons extrait l'HF de pistachier lentisque par une méthode traditionnelle avec un rendement de 12,15 %, l'HE de marjolaine par hydrodistillation avec un

rendement de 1,84 %, l'EHM d'ortie par traitement au bain à ultrasons avec un rendement de 8,77 %. À cela nous avons ajouté l'HE commerciale d'arbre à thé. Des crèmes hydrophiles contenant ces quatre extraits végétaux ont été préparées par une technique d'émulsification par inversion de phases, et leur développement a impliqué une optimisation de différents paramètres (proportion d'agent épaississant = 5 %, temps et vitesse de dispersion-homogénéisation = 5 min et 8000 trs/min, respectivement) ainsi que des essais de stabilité afin de formuler une crème stable ayant une texture agréable et homogène, qui s'étale facilement et qui soit rapidement absorbée par la peau. Suite aux essais, la crème contenant les HE de marjolaine et d'arbre à thé a été retenue. Ceci dit, les conditions de température ambiante ont raccourci la stabilité physique de notre formulation finale, bien qu'une stabilité à long terme puisse être envisagée en maîtrisant ce paramètre. Par ailleurs, aucune croissance microbienne n'a été constatée même en l'absence de conservateurs. Enfin, le test cutané de la crème développée a révélé une très bonne tolérance.

En somme, ce projet a permis de développer un produit innovant et naturel répondant à une problématique dermatologique courante. Les résultats obtenus ouvrent la voie à de nouvelles perspectives de recherche et de développement dans le domaine des dermocosmétiques naturels. Ce travail constitue une étape préliminaire qui pourrait servir de point de départ pour des recherches ultérieures visant à améliorer la formulation avant d'envisager une éventuelle commercialisation, ainsi que pour des études cliniques approfondies visant à vérifier l'efficacité et la sécurité de la crème à plus grande échelle.

Références bibliographiques

1. Williams HC, Dellavalle RP, Garner S. Acne vulgaris. *The Lancet*. janv 2012;379(9813):361-72.
2. Dréno B. What is new in the pathophysiology of acne, an overview. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. sept 2017;31 Suppl 5:8-12.
3. Nishijima S, Kurokawa I, Katoh N, Watanabe K. The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions. *J Dermatol*. mai 2000;27(5):318-23.
4. Patel M, Bowe WP, Heughebaert C, Shalita AR. The development of antimicrobial resistance due to the antibiotic treatment of acne vulgaris: a review. *J Drugs Dermatol*. juin 2010;9(6):655-64.
5. Popa GL, Mitran CI, Mitran MI, Tampa M, Matei C, Popa MI, et al. Markers of Oxidative Stress in Patients with Acne: A Literature Review. *Life*. 23 juin 2023;13(7):1433.
6. Malbos D. Une acné juvénile. *Actualités Pharmaceutiques*. mars 2021;60(604):S27-9.
7. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. déc 2012;380(9859):2163-96.
8. Tan JKL, Bhate K. A global perspective on the epidemiology of acne. *Br J Dermatol*. juill 2015;172 Suppl 1:3-12.
9. Hull PR, D'Arcy C. Acne, depression, and suicide. *Dermatol Clin*. oct 2005;23(4):665-74.
10. Tripathi SV, Gustafson CJ, Huang KE, Feldman SR. Side effects of common acne treatments. *Expert Opin Drug Saf*. janv 2013;12(1):39-51.
11. Traitement de l'acné par voie locale et générale. société française en dermatologie. 10 juin 2015;
12. Marion N. Traitement de l'acné par la phytothérapie et l'aromathérapie. [Bordeaux]: U.F.R des sciences pharmaceutiques; 2016.
13. Mayba JN, Gooderham MJ. A Guide to Topical Vehicle Formulations. *J Cutan Med Surg*. mars 2018;22(2):207-12.
14. Harlay A, Huard A, Ridoux L. Guide du préparateur en pharmacie. 2e éd. [i.e 3e éd.]. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2008.
15. Hajlaoui H, Mighri H, Aouni M, Gharsallah N, Kadri A. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microb Pathog*. juin 2016;95:86-94.
16. Bensaci M, Hadj Mokhnache M. Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus*. [Constantine]: Université des Frères Mentouri; 2015.
17. . SV, . SChaturvedi. Isolation of Natural Products. *J CPR*. 15 mai 2012;2(3):584-99.
18. Hu Y, Wang T, Mingxiao Wang, Han S, Wan P, Fan M. Extraction of isoflavonoids from *Pueraria* by combining ultrasound with microwave vacuum. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. nov 2008;47(12):2256-61.

19. Nadine N. Préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation. Université Henri Poincaré, NANCY 1 Faculté de pharmacie; 2010.
20. Le Hir AC Jean Claude; Brossard, Denis. Pharmacie galénique (9ème édition). Elsevier Masson; 2009.
21. Smahane B. Vers d'innovants conservateurs naturels pour la cosmétique : Applications du challenge test et évaluation de leurs activités biologiques. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah; 2017.
22. Daoudi I, Timizar A. khar [Internet] [Thesis]. M'hamed Bougara faculté des sciences; 2020 [cité 20 juin 2024]. Disponible sur: <http://192.168.100.2:8080/handle/123456789/7951>
23. Kherroub I, Cheriet F. Evaluation de quelques activités biologiques de l'huile végétale et des extraits des feuilles de Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). [Blida 1]: Université Saad Dahlab; 2015.
24. Bougherara Merzougui I. Caractérisation Physicochimique Et Biochimique D'un Extrait De *Pistacia Lentiscus* Et Détermination De Ses Effets Sur Certains Paramètres Biologiques. [Annaba]: Université Badji Mokhtar; 2015.
25. Rowe RC, éditeur. Handbook of pharmaceutical excipients. 6. ed. London: APhA, (PhP) Pharmaceutical Press; 2009. 888 p.
26. Cetyl Alcohol | 1-Hexadecanol | INCI Guide [Internet]. [cité 26 juin 2024]. Disponible sur: <https://inci.guide/organic-compounds/cetyl-alcohol>
27. Seba N, Gaoua SY. Etude expérimentale de la stabilité d'une émulsion H/E diluée. École Nationale Polytechnique Département Génie Chimique; 2021.
28. Cabrera-Trujillo MA, Filomena-Ambrosio A, Quintanilla-Carvajal MX, Sotelo-Díaz LI. Stability of low-fat oil in water emulsions obtained by ultra turrax, rotor-stator and ultrasound homogenization methods. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. oct 2018;13:58-64.
29. Prakash C, Bhargava P, Tiwari S, Majumdar B, Bhargava RK. Skin Surface pH in Acne Vulgaris: Insights from an Observational Study and Review of the Literature. *J Clin Aesthet Dermatol*. juill 2017;10(7):33-9.
30. Rathaur H, Juyal D, Mukhopadhyay S, Pokhriyal A. Extraction and Phytochemical evaluation of *Urtica Dioica*. *Tuijin Jishu/Journal of Propulsion Technology*. 12 janv 2023;44:1001-4055.
31. Vincken JP, Heng L, de Groot A, Gruppen H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*. févr 2007;68(3):275-97.
32. Georgieva S, Karsheva M, Alexandrova S. Etude des émulsions cosmétiques aux extraits naturels par des méthodes rhéologiques (effet de la température). 1 janv 2010; *Revue de génie industriel* 2010, 5, 133-142.
33. Sindle A, Martin K. Art of Prevention: Essential Oils - Natural Products Not Necessarily Safe. *International Journal of Women's Dermatology*. juin 2021;7(3):304-8.

Annexe I

Fiche d'enquête ethnobotanique [herboriste]

FICHE D'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE (HERBORISTE)	PHYTOTHERAPIE & ACNE
<p>1. Age: 2. Niveau académique : 3. Années d'exercice :</p> <p>4. Vendez-vous des plantes contre le problème de l'acné ? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</p> <p>5. Quel est la tranche d'âge qui les demande le plus ? <input type="checkbox"/> <18 <input type="checkbox"/> [18-30[<input type="checkbox"/> [30-40[<input type="checkbox"/> [40-50[<input type="checkbox"/> [50-60[<input type="checkbox"/> > 60</p>	
<p>Plante N°.....</p> <p>1. Nom vernaculaire ? (français, kabyle ou arabe) :</p> <p>2. D'où l'obtenez-vous? <input type="checkbox"/> Cueillette personnelle (nature, culture...) <input type="checkbox"/> Achetée (mais pousse en Algérie) <input type="checkbox"/> Importée/exotique (ne pousse en Algérie)</p> <p>3. Quelle est la partie de la plante utilisée (drogue) ? <input type="checkbox"/> Feuilles <input type="checkbox"/> Tige <input type="checkbox"/> Partie souterraine (racine, bulbe, tubercule) <input type="checkbox"/> Fleurs <input type="checkbox"/> Fruits <input type="checkbox"/> Graines <input type="checkbox"/> Partie aérienne <input type="checkbox"/> Pte entière <input type="checkbox"/> Ecorce (de tige ou de racine) <input type="checkbox"/> Autres (huile grasse, résine, huiles essentielles, latex...) précisez :</p> <p>4. Comment doit-on préparer cette plante ? (*) <input type="checkbox"/> Infusion <input type="checkbox"/> Décoction <input type="checkbox"/> Macération <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Expression (suc ou jus) <input type="checkbox"/> Broyage (suc + plantes écrasée) <input type="checkbox"/> Onguent ou crème (préparation pâteuse) <input type="checkbox"/> Autres (précisez):</p> <p>5. Comment doit-on administrer la préparation ? (*) <input type="checkbox"/> Orale <input type="checkbox"/> Locale, précisez : <input type="checkbox"/> Rinçage <input type="checkbox"/> Masque <input type="checkbox"/> Badigeonnage/lotion (enduire les boutons par exemple) <input type="checkbox"/> Bain <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>6. Association de la plante avec médicaments de l'acné ? <input type="checkbox"/> Non, à éviter <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en parallèle (même période de prise) <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en dehors de la période des médicaments</p> <p>7. Recommandez-vous cette plante pour traiter une autre maladie de la peau (en dehors de l'acné) ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez) :</p> <p>8. Peut-on associer la plante à d'autres produits ? <input type="checkbox"/> Non (plante seule) <input type="checkbox"/> Associée avec une autre plante (nom) : <input type="checkbox"/> Associée avec un autre produit (miel, huile, alun, etc.) ; préciser :</p> <p>9. Posologie et durée du traitement Quantité : Fréquence (..... fois/jr) Moment de prise (matin, midi, soir...) : Durée du traitement : <input type="checkbox"/> jours <input type="checkbox"/> n jours (imprécise) <input type="checkbox"/> jusqu'à guérison</p> <p>10. Précautions particulières ou contre-indications ? </p> <p>(*) S'il y a une recette ou un mode de préparation ou d'emploi particuliers, les décrire ici :</p>	<p>Plante N°.....</p> <p>1. Nom vernaculaire ? (français, kabyle ou arabe) :</p> <p>2. D'où l'obtenez-vous? <input type="checkbox"/> Cueillette personnelle (nature, culture...) <input type="checkbox"/> Achetée (mais pousse en Algérie) <input type="checkbox"/> Importée/exotique (ne pousse en Algérie)</p> <p>3. Quelle est la partie de la plante utilisée (drogue) ? <input type="checkbox"/> Feuilles <input type="checkbox"/> Tige <input type="checkbox"/> Partie souterraine (racine, bulbe, tubercule) <input type="checkbox"/> Fleurs <input type="checkbox"/> Fruits <input type="checkbox"/> Graines <input type="checkbox"/> Partie aérienne <input type="checkbox"/> Pte entière <input type="checkbox"/> Ecorce (de tige ou de racine) <input type="checkbox"/> Autres (huile grasse, résine, huiles essentielles, latex...) précisez :</p> <p>4. Comment doit-on préparer cette plante ? (*) <input type="checkbox"/> Infusion <input type="checkbox"/> Décoction <input type="checkbox"/> Macération <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Expression (suc ou jus) <input type="checkbox"/> Broyage (suc + plantes écrasée) <input type="checkbox"/> Onguent ou crème (préparation pâteuse) <input type="checkbox"/> Autres (précisez):</p> <p>5. Comment doit-on administrer la préparation ? (*) <input type="checkbox"/> Orale <input type="checkbox"/> Locale, précisez : <input type="checkbox"/> Rinçage <input type="checkbox"/> Masque <input type="checkbox"/> Badigeonnage/lotion (enduire les boutons par exemple) <input type="checkbox"/> Bain <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>6. Association de la plante avec médicaments de l'acné ? <input type="checkbox"/> Non, à éviter <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en parallèle (même période de prise) <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en dehors de la période des médicaments</p> <p>7. Recommandez-vous cette plante pour traiter une autre maladie de la peau (en dehors de l'acné) ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez) :</p> <p>8. Peut-on associer la plante à d'autres produits ? <input type="checkbox"/> Non (plante seule) <input type="checkbox"/> Associée avec une autre plante (nom) : <input type="checkbox"/> Associée avec un autre produit (miel, huile, alun, etc.) ; préciser :</p> <p>9. Posologie et durée du traitement Quantité : Fréquence (..... fois/jr) Moment de prise (matin, midi, soir...) : Durée du traitement : <input type="checkbox"/> jours <input type="checkbox"/> n jours (imprécise) <input type="checkbox"/> jusqu'à guérison</p> <p>10. Précautions particulières ou contre-indications ? </p> <p>(*) S'il y a une recette ou un mode de préparation ou d'emploi particuliers, les décrire ici :</p>

Annexe II

Fiche d'enquête ethnobotanique [population]

FICHE D'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE (POPULATION)	PHYTOTHERAPIE & ACNE
<p>1. Sexe: <input type="checkbox"/> Masculin <input type="checkbox"/> Féminin 2. Age: <input type="checkbox"/> [18-30[<input type="checkbox"/> [30-40[<input type="checkbox"/> [40-50[<input type="checkbox"/> [50-60[<input type="checkbox"/> > 60</p> <p>3. Avez-vous déjà eu le problème de l'acné (vous-même ou l'un de vos proches) ? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non Si oui, chez qui : <input type="checkbox"/> Moi-même <input type="checkbox"/> Un proche (précisez : enfant, frère, ami...) :</p> <p>4. Avez-vous déjà eu recours aux plantes médicinales pour traiter l'acné ? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</p>	
<p>Plante N°.....</p> <p>1. Quel est le nom de la plante que vous avez utilisée ? (français, kabyle ou arabe) :</p> <p>2. D'où l'obtenez-vous ? <input type="checkbox"/> Herboriste/tradipraticien <input type="checkbox"/> Pharmacie <input type="checkbox"/> Cueillette personnelle (nature, culture) <input type="checkbox"/> Famille/amis/entourage <input type="checkbox"/> En ligne (internet) <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>3. Quelle partie de la plante utilisez-vous ? <input type="checkbox"/> Feuilles <input type="checkbox"/> Tige <input type="checkbox"/> Partie souterraine (racine, bulbe, tubercule) <input type="checkbox"/> Fleurs <input type="checkbox"/> Fruits <input type="checkbox"/> Graines <input type="checkbox"/> Partie aérienne <input type="checkbox"/> Plte entière <input type="checkbox"/> Ecorce (de tige ou de racine) <input type="checkbox"/> Autres (huile grasse, résine, huiles essentielles, latex...) précisez :</p> <p>4. Comment préparez-vous cette plante ? (*) <input type="checkbox"/> Infusion <input type="checkbox"/> Décoction <input type="checkbox"/> Macération <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Expression (suc ou jus) <input type="checkbox"/> Broyage (suc + plantes écrasée) <input type="checkbox"/> Onguent ou crème (préparation pâteuse) <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>5. Comment administrez (utilisez)-vous votre préparation ? (*) <input type="checkbox"/> Orale <input type="checkbox"/> Locale, précisez : <input type="checkbox"/> Rinçage <input type="checkbox"/> Masque <input type="checkbox"/> Badigeonnage/lotion (enduire les boutons par exemple) <input type="checkbox"/> Bain <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>6. Associez-vous la plante avec médicaments de l'acné ? <input type="checkbox"/> Non, je n'ai pas pris de médicaments contre l'acné <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en parallèle (même période de prise) <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en dehors de la période des médicaments</p> <p>7. Utilisez-vous cette plante pour traiter une autre maladie de la peau (en dehors de l'acné) ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez) :</p> <p>8. Associez-vous la plante à d'autres produits ? <input type="checkbox"/> Non (plante seule) <input type="checkbox"/> Associée avec une autre plante (nom) :</p> <p><input type="checkbox"/> Associée avec un autre produit (miel, huile, alun, etc.) ; préciser :</p> <p>9. Posologie et durée du traitement Quantité : Fréquence (..... fois/jr) Moment de prise (matin, midi, soir...) : Durée du traitement : <input type="checkbox"/> jours <input type="checkbox"/> n jours (imprécise) <input type="checkbox"/> jusqu'à guérison</p> <p>10. Résultats après utilisation : <input type="checkbox"/> Guérison <input type="checkbox"/> Amélioration <input type="checkbox"/> Stabilisation <input type="checkbox"/> Inefficacité</p> <p>(*) S'il y a une recette ou un mode de préparation ou d'emploi particuliers, les décrire ici :</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p>	<p>Plante N°.....</p> <p>1. Quel est le nom de la plante que vous avez utilisée ? (français, kabyle ou arabe) :</p> <p>2. D'où l'obtenez-vous ? <input type="checkbox"/> Herboriste/tradipraticien <input type="checkbox"/> Pharmacie <input type="checkbox"/> Cueillette personnelle (nature, culture) <input type="checkbox"/> Famille/amis/entourage <input type="checkbox"/> En ligne (internet) <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>3. Quelle partie de la plante utilisez-vous ? <input type="checkbox"/> Feuilles <input type="checkbox"/> Tige <input type="checkbox"/> Partie souterraine (racine, bulbe, tubercule) <input type="checkbox"/> Fleurs <input type="checkbox"/> Fruits <input type="checkbox"/> Graines <input type="checkbox"/> Partie aérienne <input type="checkbox"/> Plte entière <input type="checkbox"/> Ecorce (de tige ou de racine) <input type="checkbox"/> Autres (huile grasse, résine, huiles essentielles, latex...) précisez :</p> <p>4. Comment préparez-vous cette plante ? (*) <input type="checkbox"/> Infusion <input type="checkbox"/> Décoction <input type="checkbox"/> Macération <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Expression (suc ou jus) <input type="checkbox"/> Broyage (suc + plantes écrasée) <input type="checkbox"/> Onguent ou crème (préparation pâteuse) <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>5. Comment administrez (utilisez)-vous votre préparation ? (*) <input type="checkbox"/> Orale <input type="checkbox"/> Locale, précisez : <input type="checkbox"/> Rinçage <input type="checkbox"/> Masque <input type="checkbox"/> Badigeonnage/lotion (enduire les boutons par exemple) <input type="checkbox"/> Bain <input type="checkbox"/> Fumigation <input type="checkbox"/> Autres (précisez) :</p> <p>6. Associez-vous la plante avec médicaments de l'acné ? <input type="checkbox"/> Non, je n'ai pas pris de médicaments contre l'acné <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en parallèle (même période de prise) <input type="checkbox"/> Oui, plante prise en dehors de la période des médicaments</p> <p>7. Utilisez-vous cette plante pour traiter une autre maladie de la peau (en dehors de l'acné) ? <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (précisez) :</p> <p>8. Associez-vous la plante à d'autres produits ? <input type="checkbox"/> Non (plante seule) <input type="checkbox"/> Associée avec une autre plante (nom) :</p> <p><input type="checkbox"/> Associée avec un autre produit (miel, huile, alun, etc.) ; préciser :</p> <p>9. Posologie et durée du traitement Quantité : Fréquence (..... fois/jr) Moment de prise (matin, midi, soir...) : Durée du traitement : <input type="checkbox"/> jours <input type="checkbox"/> n jours (imprécise) <input type="checkbox"/> jusqu'à guérison</p> <p>10. Résultats après utilisation : <input type="checkbox"/> Guérison <input type="checkbox"/> Amélioration <input type="checkbox"/> Stabilisation <input type="checkbox"/> Inefficacité</p> <p>(*) S'il y a une recette ou un mode de préparation ou d'emploi particuliers, les décrire ici :</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p>

Annexe III

Détermination expérimentale du HLB critique de la phase huileuse

Alors que le HLB (balance hydrophile-lipophile) caractérise les tensioactifs, la notion de HLBC (HLB critique) est caractéristique de la phase huileuse d'une émulsion H/E stable. Dans notre étude, la phase huileuse est composée d'un mélange d'huile fixe (HF) de pistachier lentisque et d'alcool cétylique. La proportion de HF de pistachier lentisque est fixée à 10 % de la masse totale de l'émulsion, tandis que la proportion d'alcool cétylique est optimisée au cours de l'étude.

A. Détermination du HLBC de l'HF de pistachier lentisque

En vue de la détermination expérimentale du HLBC de l'HF de pistachier lentisque, les deux tensioactifs émulsionnants utilisés durant l'étude ont été repris, à savoir le monooléate de sorbitane (HLB = 4,3) et le polysorbate 80 (HLB = 15). La proportion de tensioactifs est fixée à 5 % de la masse totale de l'émulsion, et une série d'émulsions à différentes proportions unitaires de chaque tensioactif est préparée. La composition de base des émulsions préparées est récapitulée dans le tableau suivant :

Tableau 1. Composition de base des émulsions préparées

Ingrédient	Proportion (%)
HF de pistachier lentisque	10
Polysorbate 80	x
Monooléate de sorbitane	y
Eau distillée	qsp. 100

La quantité de chacun des émulsifiants est calculée en appliquant la règle d'additivité de GRIFFIN :

$$HLB_m = \frac{p_1 \cdot HLB_1 + p_2 \cdot HLB_2}{p_1 + p_2}$$

- Où :
- HLB_m : HLB du mélange de tensioactifs
 - HLB_1 : HLB du tensioactif hydrophile (polysorbate 80)
 - HLB_2 : HLB du tensioactif lipophile (monooléate de sorbitane)
 - p_1 : proportion du tensioactif hydrophile (polysorbate 80)
 - p_2 : proportion du tensioactif lipophile (monooléate de sorbitane)

Les proportions des émulsifiants et les *HLB_m* de chaque mélange correspondant sont données dans le tableau suivant :

Tableau 2. Proportions unitaires des tensioactifs et valeurs de *HLB_m* correspondantes

Émulsions	Proportion de monooléate de sorbitane (%)	Proportion de polysorbate 80 (%)	Valeur de HLB_m
n°1	4,65	0,35	5
n°2	3,7	1,3	7
n°3	2,8	2,2	9
n°4	1,85	3,15	11
n°5	0,9	4,1	13
n°6	0	1	15

Les caractéristiques organoleptiques et les observations microscopiques des émulsions fraîchement préparées avec différentes *HLB_m* sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 3. Caractéristiques organoleptiques des émulsions préparées à différents *HLB_m*.

Émulsions	Aspect	Couleur	Odeur
n°1	Opakes	Laitesuses	Typiques de monooléate de sorbitane
n°2			
n°3			Monooléate de sorbitane avec l'HF de pistachier lentisque
n°4			
n°5			Typiques de polysorbate 80
n°6			

Toutes les émulsions préparées étaient hydrophiles. L'observation microscopique des différentes émulsions a montré des gouttelettes de petite taille relativement homogènes, à l'exception de celles de l'émulsion n°6 qui étaient légèrement plus grandes.

Une centrifugation à 1000 trs/min pendant 5 min a été réalisée afin d'étudier la stabilité des différentes émulsions. Les résultats sont présentés dans la figure 1 et étaient les suivants :

- Les émulsions n°1, 2, 3 et 4 présentaient une séparation importante des deux phases ;
- L'émulsion n°5 présentait une séparation très faible des deux phases ;
- L'émulsion n°6 présentait une séparation faible des deux phases.



Figure 1. Test de stabilité à la centrifugation des émulsions à différent HLBm.

Au vu de ces résultats, nous avons sélectionné l'émulsion n°5 (HLBm = 13) comme représentative du HLBc de l'HF du pistachier lentisque.

B. Détermination du HLBc de la phase huileuse

Le HLBc de l'alcool cétylique étant rapporté dans la littérature [1], et après détermination du HLBc de l'HF de pistachier lentisque, le HLBc de l'ensemble de la phase huileuse peut être aisément calculé suivant la règle d'additivité de GRIFFIN :

$$HLBm = \frac{x \cdot HLB_{HFL} + y \cdot HLB_{AC}}{x + y}$$

- Où
- x : proportion de l'HF de pistachier lentisque = 10 %
 - y : proportion de l'alcool cétylique (à optimiser durant l'étude)
 - HLB_{HFL} : HLB de l'HF de pistachier lentisque = 13
 - HLB_{AC} : HLB de l'alcool cétylique = 15,5

Références bibliographiques

1. Doumeix O. Opérations unitaires en génie biologique. Bordeaux: SCÉREN-CNDP-CRDP [Aquitaine]; 2011. (Collection biologie technique).

Annexe IV

Détermination des quantités d'extraits végétaux à incorporer dans la crème anti-acnéique

Les activités biologiques des extraits végétaux rapportées dans la littérature sont présentées dans le tableau suivant :

		Activité antibactérienne		Activité antioxydante CE ₅₀ (mg/ml)	Dose cutanée irritante	Réf.
		Bactéries	CMI (mg/ml)			
Huile fixe de pistachier lentisque	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		4	13,233	–	[1]
						[2]
Huile essentielle de marjolaine	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		0,39	5,7258	> 6 %	[3]
						[4]
						[5]
Huile essentielle d'arbre à thé	<i>Propionibacterium acnes</i>		1,28	0,0483	5 %	[6]
						[7]
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		1,27			[8]
Extrait hydro-méthanolique d'ortie	<i>Staphylococcus epidermidis</i>		10	66,25	–	[9]
						[10]

La quantité de **l'huile fixe de lentisque** a été inspirée par deux précédentes études sur des crèmes préparées à base de la même huile. La première a mis en évidence que l'émulsion contenant **10 %** est plus stable dans le temps [11], tandis que l'autre a révélé que la crème contenant la même proportion a un effet cicatrisant significatif [12], ce qui la rend intéressante pour les formulations de soins de la peau. De plus, cette proportion dans la crème finale permet d'assurer une activité antibactérienne et antioxydante, comme détaillé dans le précédent tableau.

De même pour la quantité de **l'extrait hydrométhanolique d'ortie** qui a été fixée en fonction d'un gel et d'une pommade contenant **5 %** de cet extrait [13]. Cette étude a démontré *in vivo* que cette quantité ne provoquait aucune irritation de la peau, et elle corrobore les activités antibactérienne et antioxydante rapportées dans le précédent tableau.

D'autre part, les quantités d'huiles essentielles à ajouter ont été calculées en fonction de l'activité la plus faible de chacune d'elles ; lorsque l'activité antioxydante est plus faible que

l'activité antibactérienne sur les germes spécifiés (et donc sa valeur de CE₅₀ est plus élevée que sa valeur de CMI), l'activité globale (antioxydante et antibactérienne) est donc assurée lorsque la CE₅₀ est atteinte, et vice versa.

Suivant ce raisonnement, la proportion minimale **d'huile essentielle d'arbre à thé** à ajouter dans la crème pour assurer une activité globale est donc alignée sur sa CMI de *Propionibacterium acnes*, à savoir : 1,28 mg/ml = 0,12 %. Nous avons choisi de travailler avec une concentration de **1 %** (8 fois le seuil minimal d'activité globale), qui reste tolérable par voie cutanée (seuil de tolérance = 5 %) et offre une large marge pour assurer l'activité. Concernant la proportion minimale **d'huile essentielle de marjolaine**, elle est dépendante de la CE₅₀ de son activité antioxydante, à savoir : 5,72 mg/ml = 0,57 %. Nous avons choisi de travailler avec une concentration de **1 %** (2 fois le seuil minimal d'activité globale), qui reste tolérable par voie cutanée (seuil de tolérance = 6 %) et offre une marge assez suffisante pour assurer l'activité.

Références bibliographiques

1. Bensaci M, Hadj Mokhnache M. Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus*. [Constantine]: Université des Frères Mentouri; 2015.
2. Abdellaoui L, Bouharis D. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Pistacia lentiscus*. Université A. MIRA-Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie physico-chimique; 2023.
3. Hajlaoui H, Mighri H, Aouni M, Gharsallah N, Kadri A. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microbial Pathogenesis*. juin 2016;95:86-94.
4. Paudel PN, Satyal P, Satyal R, Setzer WN, Gyawali R. Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum majorana* L. Essential Oil from Nepal. *Molecules*. 19 sept 2022;27(18):6136.
5. Mongreville A. Aromathérapie : Législation et toxicologie en France et en Europe, appliquées à la pédiatrie. Université de Rouen; 2017.
6. Taleb M, Abdeltawab N, Shamma R, Abdelgayed S, Mohamed S, Farag M, et al. *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Anti-Acne Topical Nanoemulsion—In Vitro and In Vivo Study. *Molecules*. 28 août 2018;23(9):2164.
7. Zhang X, Guo Y, Guo L, Jiang H, Ji Q. *In Vitro* Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Melaleuca alternifolia* Essential Oil. *BioMed Research International*. 2018;2018:1-8.

8. Christoph F, Kaulfers PM, Stahl-Biskup E. A comparative study of the in vitro antimicrobial activity of tea tree oils s.l. with special reference to the activity of beta-triketones. *Planta Med.* août 2000;66(6):556-60.
9. Motamedi H, Seyyednejad SM, Bakhtiari A, Vafaei M. Introducing *Urtica dioica*, A Native Plant of Khuzestan, As an Antibacterial Medicinal Plant. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* [Internet]. 11 oct 2014 [cité 26 juin 2024];9(4). Disponible sur: <https://brieflands.com/articles/jjnpp-18355.html>
10. Razika L, Thanina AC, Nadjiba CM, Narimen B, Mahdi DM, Karim A. Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. *Pak J Pharm Sci.* mai 2017;30(3(Suppl.)):1023-9.
11. Samir Chadli, Mourad Lounis. Effect of Oil-Phase Volume Fraction on Rheological Properties of Pistacia Lenticus Fruit Oil-in-Water Emulsion Intended for Healing Wounds. *Colloid J.* janv 2021;83(1):151-9.
12. Djeribia M, Sahtali M. Formulation d'une crème dermique à base d'huile végétale et leur effet cicatrisant sur les brûlures expérimentales chez les rats. [Bouira]: Université akli mohand oulhadj; 2023.
13. Mahdi H. Formulation of an anti-inflammatory gel and ointment based on *Urtica Dioica* leaf extract. University Mhamed Bougara of Boumerdes; 2022.