

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

Faculté des Sciences
Département de Chimie



Domaine : **Science de la matière**

Filière : **Chimie**

Spécialité : **Chimie pharmaceutique**

Mémoire de Master

Thème

**Développement de crèmes anti-acnéiques à base de
plantes médicinales**

Présenté par :

**OUERK Lamia
NASRI Dihia**

Soutenu publiquement, le 01 / 10 / 2022, devant le Jury composé de :

Mme BOUGHRARA Dalila	Professeur	UMMTO	Président
Mme AYATI Fadila	MCA	UMMTO	Promoteur
Mme KHELLAFI Nassima	MAA	UMMTO	Examineur
Mr HAMMI Soumer	Ingénieur en R&D	SAIDAL	Co-promoteur
Mme OUAREK Salima	Responsable	SAIDAL	Invité d'honneur
Mme BELKADI Asma	Docteur vétérinaire	SAIDAL	Invité d'honneur

Session 2021 / 2022

Remerciements

Ce modeste travail a été réalisé dans différents laboratoires à savoir, le laboratoire chimie de surface de l'UMMTO, le laboratoire galénique, microbiologique et pharmaco-toxicologique du centre de recherche et de développement (CRD) SAIDAL à Alger et le laboratoire anatomopathologie de CHU Nafissa Hamoud-ex- PARNET (Alger).

Nous voudrions en premier lieu remercier profondément, notre promotrice Mme AYATI Fadila, cheffe de département de chimie de nous avoir aidé et guidé tout au long de ce travail, pour sa compétence et sa disponibilité malgré toutes ses obligations par ces judicieux conseils qui ont permis d'accomplir à bon terme cette étude.

Nous exprimons notre considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Nous tenons également à remercier Mr HAMMI Soumer, notre co-promoteur, ingénieur en CRD SAIDAL qui a partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu et de nous avoir soutenu dans chaque étape, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils, qui ont contribué en grande partie à alimenter nos réflexions.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury, Mme BOUGHRARA Dalila, qui nous fait l'honneur de présider ce jury et Mme KHELLAFI Nassima, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs remarques et critiques.

Nous adressons aussi nos remerciements à Mme OUAREK Salima, pour sa disponibilité et pour son accompagnement au niveau du CRD SAIDAL à longueur de ce travail que nous avons effectué, ainsi qu'à Mme BELKADI Asma, auxquelles nous adressons nos sincères remerciements, pour leurs patientes et soutiens dont nous avons bénéficié lors des différentes étapes, aussi à toute l'équipe de CRD SAIDAL.^^

J'adresse aussi tous nos remerciements à Dr karaoui et Dr Chekkai, du service d'Anapath au CHU Nafissa Hamoud –ex hôpital Parnet d'Alger, de nous avoir enrichi par leurs connaissances.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire de chimie de surface, particulièrement Mme BELKADI Sabah pour sa collaboration, ainsi que Mr BENCHOUAK chef de spécialité pour son aide et son orientation, et l'ensemble de nos professeurs au sein de la faculté de chimie.



Dédicaces

Je commence par rendre grâce à Dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade et de m'avoir donné la force d'accomplir mes études. Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions.

Je dédie ce mémoire de fin d'études à :

Celui qui m'a offert tout le soutien dont j'ai besoin, celui qui m'a donné le tout depuis ma naissance et à qui je souhaite une très longue vie : A mon cher père MOULOND.

A mon modèle de sacrifice, d'amour et de générosité, la lumière de mon chemin l'étoile de ma vie : à ma très chère mère.

A mes chers et adorables frères Amine et Yanis,

Puisse dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A toutes ma famille maternelle et paternelle.

A ma chère amie et binôme Dibia, pour les bons moments que nous a avons partagé afin de donner naissance à ce projet.

A mes meilleures amies, Lila, Nacira et ouissam, ainsi qu'à tous mes amis du groupe « chimie pharmaceutique » merci pour les bons moments qu'on a partagé ensemble, je vous aime.

A tous ce qui mon aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail je vous remercie.

Lamia



Dédicaces

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m' avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Mon cher Papa RABEH

Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le vôtre. Inchallah tu trouveras ici toute mon affection et ma profonde gratitude pour toutes ces années de sacrifice pour moi.

Ma chère Maman NADIA

Nul mot ne parviendra jamais à exprimer l'amour que je te porte. Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et le témoignage de ma profonde affection.

Mon très cher frère SAID

Pour ses conseils et les orientations valeureuses, son épouse LYNDIA mais aussi, la présence à mes côtés de mes sœurs SONIA, TERKIA, LEILA et de mes neveux MASTEN et ALICIA qui m'ont comblé avec leur amour et affection.

Je saisis l'occasion de l'accomplissement de cette recherche qui couronnerait positivement mon parcours universitaire, pour remercier mes amis qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail mais surtout ma chère binôme LAMIA qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail, avec qui j'ai partagé une expérience enrichissante qui nous ouvrera, souhaitons-le, de grandes portes pour un avenir professionnel prometteur.

À vous tous merci.

Dihia

SOMMAIRE

Glossaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique

1.1 Aspect botanique et étude chimique de trois plantes médicinales 3

1.1.1 *Moringa oleifera* 3

1.1.1.1 Description botanique 3

1.1.1.2 Distribution géographique..... 4

1.1.1.3 Composition phyto-chimiques 4

1.1.1.4 Utilisation 4

1.1.2 *Lavande officinale* 5

1.1.2.1 Description botanique 5

1.1.2.2 Distribution géographique..... 5

1.1.2.3 Composition phyto-chimiques 6

1.1.2.4 Utilisation..... 6

1.1.3 *Eucalyptus globulus* 7

1.1.3.1 Description botanique 7

1.1.3.2 Distribution géographique..... 8

1.1.3.3 Composition phyto-chimiques 8

1.1.3.4 Utilisation 8

1.2 Classification des métabolites secondaires	8
1.2.1 Les polyphénols	8
1.2.1.1 Les flavonoïdes	9
1.2.1.2 Les anthocyanes	9
1.2.1.3 Les acides phénols	9
1.2.1.4 Les tanins	10
1.2.2 Les saponines	10
1.2.3 Les terpénoïdes.....	10
1.2.4 Les alcaloïdes	10
1.3 Étude biologique	11
1.3.1 Définition.....	11
1.3.2 Activité anti microbienne des HEs et des extraits de plantes.....	11
1.4 Généralités sur la peau.....	11
1.4.1 Définition	11
1.4.2 Annexes cutanées	12
1.4.3 Sébum	12
1.5 Acné.....	12
1.5.1 Définition	12
1.5.2 Physiopathologie de l'acné	12
1.6 Généralités sur les émulsions	13
1.6.1 Définition.....	13
1.6.2 Différents types d'émulsions	13
1.6.3 L'instabilité des émulsions.....	14
 CHAPITRE 2 : Matériel et méthodes expérimentales 	
2.1 Matériel et équipements	15

2.2 Matériel végétal	16
2.3 Méthodes d'étude	17
2.3.1 Étude phytochimique	17
2.3.2 Contrôles qualités des matières premières : huiles essentielles (lavande officinale et eucalyptus globulus).....	20
2.3.3 Formulation galénique	21
2.3.3.1 Composition et préparation des crèmes	21
2.3.3.2 Processus de la formulation	23
2.3.3.3 Contrôle qualité de la formulation pharmaceutique	25
2.3.4 Activités biologiques.....	25
2.3.4.1 Activité antibactérienne	25
2.3.4.2 Matériel microbiologique	26
2.3.4.3 Procédure expérimentale	26
2.3.5 Étude préclinique	27
2.3.5.1 Test d'irritation cutanée	28
2.3.5.2 Évaluation de l'activité anti-inflammatoire anti acnéique	30
2.3.6 Étude histopathologique.....	31

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

3.1 Étude phytochimique.....	34
3.2 Contrôles qualités des matières premières huiles essentielles : <i>Lavande officinale</i> et <i>Eucalyptus globulus</i>	36
3.2.1 Caractérisation organoleptique.....	36
3.2.2 Caractérisation physique	36
3.3 Formulation galénique	37

3.3.1 Formulation.....	37
3.3.2 Contrôle qualité des crèmes dermo-cosmétiques	38
3.4 Étude antibactérienne	40
3.5 Étude préclinique.....	41
3.5.1 Détermination du degré d'irritation cutanée	41
3.5.2 Évaluation de l'activité anti inflammatoire anti acnéique.....	44
3.5.2.1 Induction de l'inflammation	45
3.5.2.2 Pourcentage d'œdème	47
3.5.2.3 Pourcentage d'inhibitions de l'inflammation.....	48
3.6 Étude histopathologique.....	49
Conclusion générale et perspectives	53

Références bibliographiques.

Annexes.

Anti-tumorale : désigne ce qui a la capacité de lutter contre une tumeur, qui peut faire stagner l'évolution d'une tumeur ou détruire la tumeur elle-même.

Antispasmodique : est un produit permettant de lutter contre les spasmes musculaires.

Anti-carcinogène : est une substance qui neutralise les effets d'un cancérogène ou inhibe le développement du cancer.

Antiseptique : Substance qui tue les germes ou prévient la croissance des bactéries et des virus sur les surfaces externes du corps.

Antibiotique : est un médicament qui permet de lutter contre les infections microbiennes.

Aérobie : organisme vivant survenant ou excitant en l'absence du dioxygène.

Anaérobie : organisme vivant ou se produisant uniquement en présence de dioxygène.

Agent phlogogène : substance susceptible de provoquer une réaction inflammatoire.

Bactérie gram + : est une bactérie à paroi épaisse est colorées en violet.

Bactérie gram - : est une bactérie à paroi fine est colorés en rouge.

Coalescence : les gouttelettes dispersées fusionnent pour donner des gouttelettes de taille supérieure.

Cardiotonique : est un médicament censé soutenir le cœur n cas de défaillance ou d'insuffisance cardiaque.

Carminative : est une substance qui favorise l'expulsion des gaz intestinaux, tout en réduisant leur production.

Crémage, sédimentation : les particules peuvent se déplacer en fonction de leur densité vers le haut << crémage>> ou vers le bas <<sédimentation>>.

Comédons (ou point noirs) : ce sont des petits bouchons cornés de 1 à 3mm situés dans les orifices des follicules sébacés, ils sont faciles à exprimer par la pression de doigts ou d'un tire comédons, ils apparaissent sous forme de petits filaments gras, compacts, de couleur jaunâtre avec une extrémité noire.

Canal pilo-sébacé : composé de deux parties distinctes. La partie distale (acro- infundibulum) est identique à celle de l'épiderme et produit une couche cornée normale, et une partie

proximale (infra infundibulum) est constitué d'un épithélium malpighien kératinisant mais ne possède pas de couche granuleuse.

Collagène : protéine fibreuse du tissu conjonctif.

Diurétique : est une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire.

Expectorant : est un médicament qui augmente l'expulsion du mucus de la trachée ou des bronches par de l'expectoration ou de la toux.

Épithélium : tissu formé de cellules juxtaposées qui recouvre la surface du corps ou qui tapisse l'intérieur de tous les organes creux

EUKITT : milieu de montage à séchage rapide, sans xylène pour la microscopie.

Floculation : c'est l'agglomération de plusieurs globules qui s'assemblent pour former des agrégats.

Follicules terminaux : ils ont des poils raides, épais, et longs occupent toute la largeur de l'infundibulum. Ils sont profondément implantés dans la peau, jusqu'à l'hypoderme et sont localisés dans les cheveux, la barbe et les régions pubienne et axillaire.

Follicules lanugineux : ce sont des follicules miniatures n'élaborant que des duvets chez la femme et des poils plus épais et plus longs chez l'homme.

Follicule sébacés : ils siègent sur le visage et le haut du tronc et sont caractérisés par un infundibulum très profond, traversé par un petit poil.

Glande : Elle est formée de cellules sécrétrices appelées sébocytes qui déversent leur produit de sécrétion lipidique dans le canal pilo-sébacé (excréteur) puis dans le conduit pilosébacé. Elle est composée de plusieurs alvéoles dilatées en sac avec plusieurs couches cellulaires.

Histopathologie : diagnostic par l'étude microscopique des tissus.

Infundibulum : est une structure creuse en forme d'entonnoir.

Insecticide : qui tue, détruit les insectes.

Lipophile : qui retient les substances grasses.

Muqueuse : membrane qui tapisse les cavités de l'organisme.

Microkystes (point blanc) : ce sont des petites élevures blanches de 2 à 3mm, siègent dans les mêmes localisations préférentiellement sur les joues et le menton. Il correspond à l'accumulation dans l'entonnoir fermé d'un follicule sébacé, de sébum et de la kératine sont mélangé a des colonies bactériennes.

Murissement d'Ostwald : c'est la croissance des grandes gouttelettes aux dépend des plus petites, due au transfert de masse entre les gouttelettes.

Nodules : Ce sont des lésions inflammatoires solides d'un diamètre supérieur à 10 mm ayant souvent une évolution vers l'abcédation, la rupture et la formation de cicatrices. Si par convention terminologique générale.

Orifice : ouverture servant d'entrée ou d'issue à certains organes.

Œdème : est une accumulation anormale de liquide entre les tissus. L'œdème concerne essentiellement la peau ou les muqueuses, ou il produit un gonflement.

Procaryote : se dit d'un organisme dont le noyau cellulaire est mêlé au cytoplasme.

Papules : Ce sont des lésions inflammatoires, d'un diamètre inférieur à 7 mm, généralement issue d'un microkyste. Ce sont des élevures rouges, fermes, quelquefois douloureuse, pouvant évoluer vers la résorption ou la formation de postules.

Pustules : Ce sont habituellement des papules à contenu purulent jaune, apparaissent à leur partie apicale.

Psoriasis : est une maladie inflammatoire chronique de peau qui se manifeste par des plaques rouges présentant des squames.

Sédatif : est un apaisement de la tension nerveuse et une somnolence.

Test de Draize : est un test toxicologique invasif consiste à évaluer un produit chimique sur la peau afin d'évaluer son innocuité dermatologique.

Volatile : est un élément chimique ayant un bas point d'ébullition et qui se sublime donc facilement.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CRD : centre de recherche et développement

C. acnes : *Cutibacterium acnes*.

D : Diamètres d'inhibition de la croissance microbienne.

EG : *Eucalyptus globulus*.

E.camaldulensis : *Eucalyptus camaldulensis*.

E/H : Eau/Huile.

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines

Gélose MH : gélose Mueller Hinton.

HEs : Huiles essentielles.

H/E : Huile /Eau.

IIP : Indice d'irritation primaire.

Lam : *Lamark*.

LO : *Lavande officinale*.

L : litre

Mo : *Moringa oleifera*.

nm : nanomètre.

P.acnes : *Propionibacterium acnes*.

PA : Principe actif.

pH : Potentiel hydrogène.

P/V : Poids sur volume.

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

Tr/Min : Tour par minute.

UV B : Ultraviolet B.

µm : micromètre.

Qsp : quantité suffisante pour.

CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique

Figure 1.1 : Différentes structures de <i>Moringa oleifera</i> : a). Arbuste ; b). Feuilles ; c). Fleurs d) Graines	03
Figure 1.2 : <i>Lavandula Angustifolia Miller</i> : a) feuilles, b) fruits, c) fleurs.....	05
Figure 1.3 : a) Linalol ; b) Acétate de linalyle	06
Figure 1.4 : <i>Eucalyptus globulus</i>	07
Figure 1.5 : 1,8- Cinéole	08
Figure 1.6 : Structure de base des flavonoïdes.....	09
Figure 1.7 : Structure de base des anthocyanes.....	09
Figure 1.8 : a) Acide o-hydroxy benzoïque ; b) Acide o-hydroxy cinnamique	10
Figure 1.9 : Processus de déstabilisation d'une émulsion	14

CHAPITRE 2 : Matériel et méthodes expérimentales

Figure 2.1 : a) Poudre <i>moringa oleifera</i> ; b) l'HE de <i>lavande officinale</i> ; c) l'HE d' <i>eucalyptus globulus</i>	16
Figure 2.2 : Processus de formulation.....	24
Figure 2.3 : Test d'irritation cutanée effectué sur les flancs d'un lapin.....	29
Figure 2.4 : Biopsie cutanée.....	32
Figure 2.5 : Tubes ECBU	32
Figure 2.6 : Appareil de circulation	32

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Figure 3.1 : a) Crème 1, b) Crème 2, c) Crème 3.....	38
Figure 3.2 : Dispersion des crèmes de la phase aqueuse.....	38

Figure 3.3 : Résultats de l'examen microscopiques des trois crèmes : a) crème 1, b) crème 2, c) crème3	39
Figure 3.4 : Timbre 1 (crème 2)	43
Figure 3.5 : Timbre 2 (crème 3)	43
Figure 3.6 : Légère érythème après 24h d'application de la crème3	44
Figure 3.7 : Repousse des poils	44
Figure 3.8 : Indice d'irritation primaire des crèmes 2 et 3	44
Figure 3.9 : Les moyennes des tailles des oreilles des rats des 4 lots en fonction du temps ..	46
Figure 3.10 : Les pourcentages d'œdème obtenus dans les 4 lots en fonction du temps	47
Figure 3.11 : Les pourcentages d'inhibition de l'inflammation dans les 3 lots traités en fonction du temps	48
Figure 3.12 : Tissu de l'oreille du rat du lot E1 vu au microscope : a) inflammation (faible grossissement) ; b) congestion (flèche rouge) et œdème (flèche noir) ; c) inflammation (fort grossissement)	50
Figure 3.13 : Tissu de l'oreille du rat du lot E2 vu au microscope : a) congestion ; b) inflammation	50
Figure 3.14 : Tissu de l'oreille du rat du lot Réf vu au microscope : a) congestion vasculaire ; b) infiltrat inflammatoire polymorphe ; c) œdème	51
Figure 3.15 : Tissu de l'oreille du rat du lot T+ vu au microscope : a) œdème (Astérix noir) ponctué d'inflammation (rouge) ; b) discrète inflammation ; c) comédons et congestion	51
Figure 3.16 : Tissu de l'oreille du rat du lot T- vu au microscope : aspect normal	52

CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique

Tableau 1.1 : Principaux constituants chimiques potentiellement actifs de la <i>lavande</i>	06
Tableau 1.2 : Composition du sébum	12
Tableau 1.3 : Différents systèmes d'émulsions	13

CHAPITRE 2 : Matériel et méthodes expérimentales

Tableau 2.1 : Produits chimiques et équipements utilisés	15
Tableau 2.2 : Protocoles d'identification phyto-chimiques	18
Tableau 2.3 : Matières premières utilisées pour la formulation.....	21
Tableau 2.4 : Principales caractéristiques des souches bactériennes	26
Tableau 2.5 : Système de scores de Draize	28
Tableau 2.6 : Constitution des lots d'animaux.....	30

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Tableau 3.1 : Rendement de l'extraction	34
Tableau 3.2 : Résultats de différentes extractions de feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	34
Tableau 3.3 : Résultats de tests phytochimiques sur la plante <i>moringa oleifera</i>	35
Tableau 3.4 : Propriétés organoleptiques des HEs et normes de la pharmacopée	36
Tableau 3.5 : Propriétés physiques des HEs et normes de la pharmacopée.....	37
Tableau 3.6 : Propriétés organoleptiques des crèmes formulés	39
Tableau 3.7 : Les valeurs de pH.....	40
Tableau 3.8 : Activité antibactérienne des HEs de la <i>lavande</i> et de l' <i>eucalyptus</i> et l'extrait alcoolique de <i>moringa oleifera</i> contre les <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>epidermidis</i>	40
Tableau 3.9 : Cotation des réactions cutanées de la crème 2 (à base de l'extrait hydro-éthanolique de <i>moringa oleifera</i>)	42
Tableau 3.10 : Cotation des réactions cutanées de la crème 3 (à base des HEs : <i>lavande officinale</i> et <i>eucalyptus globulus</i>).....	43

Tableau 3.11 : Résultats obtenus durant toute l'étape de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire anti acnéique 45

L'acné est une affection cutanée de l'unité pilo-sébacée. Elle est l'un des motifs de consultation les plus fréquents en dermatologie et touche surtout les adolescents. Elle commence généralement aux approches de la puberté. Cette maladie est d'origine multifactorielle, alimentation déséquilibrée, le stress, le tabac, le soleil...etc. L'acné n'est pas une maladie mortelle mais elle peut avoir de graves conséquences psychosociales, qui entraînent une faible estime de soi, un isolement social et une dépression ^[1].

Beaucoup de recherches ont été faites pour combattre ce problème de peau. Un certain nombre de thérapies topiques et systématiques sont disponibles. Il y a des produits de synthèse qui sont efficaces mais entraînent des effets secondaires. Pour surmonter ces limites, il y a eu recours au développement de produits naturels anti-imperfections efficaces, sûrs et peu coûteux ^[2].

L'utilisation thérapeutique des plantes médicinales ou des préparations à base des plantes est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. L'expérience des populations qui ont pu apprécier les vertus apaisantes et analgésiques de ces plantes, leur a permis de se soigner avec les plantes qu'ils avaient à leurs dispositions contre les différentes maladies.

Actuellement, l'industrie pharmaceutique a investi dans la recherche des médicaments d'origine végétale.

Dans une logique de stratégie des études des plantes médicinales, la valorisation ne s'arrête pas uniquement au niveau des connaissances ethno pharmacologiques et biologiques des plantes, mais aussi à l'étude phytochimique qui est obligatoire pour cerner l'ensemble des informations nécessaires à cette valorisation. En effet les propriétés médicinales des plantes sont dues à une très grande variété de molécules bioactives synthétisées par les plantes elles-mêmes appelées métabolites secondaires ^[3].

Notre travail est centré sur la valorisation de 3 trois plantes médicinales très utilisées en phytothérapie, en aromathérapie qui ont été traditionnellement utilisées dans le traitement de diverses pathologies et qui se sont avérées sûres et efficaces pour le traitement de l'acné vulgaire.

- L'espèce *Moringa oleifera lam* appartenant à la famille des *Moringaceae*, d'origine de l'inde, est une plante qui a été largement étudiée pour son activité antibactérienne et anti inflammatoire. La poudre de *Moringa* est dotée d'une richesse exceptionnelle

en vitamines, minéraux et acides aminés. En cosmétique, c'est un ingrédient de choix pour revitaliser les peaux ternes, sèches, ou matures et purifier les peaux mixtes ou à imperfections ^[4].

- L'espèce *Lavande officinale* appartenant à la famille des *Lamiacées* est d'origine méditerranéenne. L'ensemble de la plante est très aromatique, elle est employée contre les problèmes dermiques, cosmétiques et thérapeutiques sous forme d'huile essentielle ou d'hydrolat. L'HE de *Lavande* a fait l'objet d'une centaine d'études scientifiques validant ses nombreuses propriétés liées à sa richesse en linalol et en acétate de linalyle ^[5].
- L'espèce *Eucalyptus globulus* de la famille des *Myrtaceae*, sont des arbres qui poussent très rapidement. C'est l'une des plantes les plus utilisées à travers le monde. Ses feuilles sont la principale source de son huile essentielle, cette dernière est très demandée pour soigner les maladies respiratoires et pour ses actions antiseptiques, cicatrisantes et ses propriétés antivirales, antifongiques, insecticides, antidouleur et antibactérienne ^[6].

Dans ce travail, nous avons examiné l'activité anti acnéique de l'extrait et des huiles essentielles de ces trois plantes et cela en évaluant leurs activités antimicrobiennes sur deux bactéries impliquées dans la maladie de l'acné (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*).

Ce mémoire est réparti en 3 chapitres :

Le premier chapitre consiste en une synthèse bibliographique portant, d'abord, sur la composition et l'utilisation des trois plantes sélectionnées, puis sur les généralités sur la peau, les causes et les conséquences de l'acné, et enfin, des généralités sur les émulsions.

Le deuxième chapitre présente l'étude expérimentale, qui concerne l'étude phytochimique de l'extrait alcoolique de *Moringa oleifera*, la caractérisation des HEs d'*Eucalyptus globulus* et la *Lavande vraie*, la formulation de 2 crèmes dermo-cosmétiques à base des extraits des plantes examinées et l'étude biologique in vitro de l'extrait et des huiles essentielles des trois plantes citées et des deux crèmes formulées ainsi que la réalisation des essais précliniques et l'étude histopathologique font l'objet de la fin de ce chapitre.

Le dernier chapitre est consacré à la présentation et discussion des résultats obtenus.

Le mémoire se termine par les principales conclusions ainsi que les perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique.

1.1 Aspect botanique et étude chimique de trois plantes médicinales

1.1.1 *Moringa oleifera lam*

Il existe environ 13 espèces de *Moringa* dans la famille des *Moringacées*. *Moringa oleifera Lam* est l'espèce la plus connue. Elle est considérée comme étant un arbre bénéfique dans le monde, et a de nombreuses propriétés intéressantes qui lui confèrent un grand intérêt scientifique, elle est décrite comme l'arbre miracle, l'arbre de vie, le don de Dieu à l'homme [7,8].

1.1.1.1 Description botanique

Nom botanique : *Moringa oleifera Lamark* [9].

Nom arabes: Shagara Al Ruwag, Habbah Ghaliah, Rawag [10, 11].

C'est un arbre pérenne, à croissance rapide, résiste à la sécheresse, se développe dans des conditions arides [9], peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur dont le tronc (20 à 40 cm de diamètre) atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier. Les feuilles, alternes sont bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches et mesurent 20 à 70 cm de long (figure 1.1).

Les fleurs mesurent 2,5 cm de large et de 10 à 25 cm de long, et sont généralement abondantes, dégagent une odeur agréable, sont de couleur blanches crème, avec des points jaunes à la base. Les fruits forment des gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long, et Chacune contient entre 12 et 35 graines rondes, avec une coque marron semi-perméable. Cet arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an. Avec un poids moyen de 0.3g par grain et la coque représente 25% de son poids [12].



Figure 1.1 : Différentes structures de *Moringa oleifera* : **a)** Arbuste ; **b)** Feuilles ; **c)** Graines ; **d)** Fleurs [13].

1.1.1.2 Distribution géographique

Le *Moringa oleifera* (*Mo*) est un arbre tropical originaire d'Asie du sud où il pousse sur les contreforts de l'Himalaya, des régions d'Agra et d'Oudh ou nord-est de l'Inde, du Pakistan et de l'Afghanistan ^[7,8]. Il est introduit en Afrique de l'Est au début du 20^{ème} siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période ^[14]. Des essais d'introduction de *MO* en Algérie ont été réalisés à titre expérimental à partir de semences en provenance de Dar Salam (Tanzanie) ^[9].

1.1.1.3 Composition phyto-chimiques

Moringa est riche en protéines, vitamines (A ou rétinol, les caroténoïdes dont la B-carotène B₆, C et E) certains minéraux (en particulier le fer), elle contient aussi les acides aminés et les acides gras essentiels. On peut l'utiliser comme complément alimentaire. Les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent aussi des alcaloïdes, flavonoïdes et des composés phénoliques entre 0,67% et 3,4 % des phénols totaux et de 0,5% à 1,4% en tanins, les tanins condensés sont absents ou sous forme de traces. Les teneurs en saponines varient entre 5 et 6,4%. Le *MO* contient également l'oxalate et phytate et il est riche en glucosinolates et isothiocyanates ^[15].

1.1.1.4 Utilisation

Le *Moringa* est un arbre à usages multiples. En effet, chacune de ses parties possède un énorme potentiel et dispose de propriétés bénéfiques pour l'humanité ^[16,17].

Mo est utilisé dans divers domaines médicaux, notamment le traitement de l'hypertension ; aussi efficace contre les infections de la peau dont l'acné, et contribue à reconstruire les os fragiles, combattre les anémies et la malnutrition ^[9]. Elle possède des effets anti inflammatoires et anti-oxydantes, anti tumorales, antidiabétiques, antispasmodiques, diurétiques et cardiotoniques ^[12,15]. Elle possède des propriétés antimicrobiennes dues à la richesse de ces feuilles en métabolites secondaires. Des recherches liées à l'activité antibactérienne des feuilles de *Moringa* ont montré que l'extrait de feuilles de *Moringa* macéré avec de l'éthanol peut inhiber la croissance des bactéries *Staphylococcus aureus*. De plus des recherches antérieures menées sur des préparations semi-solides à base d'extrait de feuilles de *Moringa* ont montré une activité antibactérienne contre *Propionibacterium acne* et *Staphylococcus epidermidis* ^[18, 19].

1.1.2 *Lavande officinale*

L'ordre des *Lamiales* est un ensemble important comprenant actuellement 17.800 espèces réparties en 21 familles, l'une des principales est celle des *Lamiacées*, anciennement appelée *Labiées*. Le genre *lavandula* fait partie de la famille des *Lamiaceae* qui comprend 258 genres et 6.900 espèces. Ce sont des sous-arbrisseaux. Les rameaux fleuris de la tige sont quadrangulaires. Les plantes sont amères et aromatiques ^[20].

1.1.2.1 Description botanique

Nom botanique : *Lavandula angustifolia miller*.

Nom arabe : El khouzama.

Nom berbère : Timerza.

Ce sont des sous arbrisseaux de 20 à 80 cm croissants en masse. Les tiges ont une longueur qui varie de 15 à 20 cm et sont longuement dépourvues de feuilles au-dessous des inflorescences. La plante se compose de hampes florales courtes et fines ne portant qu'un seul épi. Les feuilles sont étroites ou ovales, longues de 2 à 5 cm. Les bractées sont d'un brun jaunâtre, marquées de 5 à 7 nervures principales très distinctes, dont le contour est triangulaire, se détachant facilement de l'axe de l'épi. Les fleurs sont courtement pédonculées et disposées en épis de six ou dix groupes dont les plus inférieurs sont séparés des supérieurs (figure 1.2). Elles sont portées par des bractées aussi larges que longues ^[20].



Figure 1.2 : *Lavandula angustifolia miller* : a) feuilles ; b) fruits ; c) fleurs ^[21].

1.1.2.2 Distributions géographiques

Lavandula officinalis ne pousse qu'à partir de 700 mètres d'altitude et jusqu'à 1200 mètres sur les versants ensoleillés uniquement, orientés sud, sud-ouest. Elle croît sous un climat tempéré et doux sur les sols pauvres et rocheux, sableux ou graviers. Elle se développe sur les sols bien drainés pour permettre à ses racines de s'étendre et de résister aux intempéries ^[22].

1.1.2.3 Composition phytochimiques

Des études phytochimiques du genre *Lavandula* ont révélé plus d'une cinquantaine de composés chimiques qui varient qualitativement et quantitativement d'une espèce à une autre. Les principaux constituants chimiques potentiellement actifs qui existent dans le genre *Lavandula* sont détaillés dans le (tableau 1.1) [23].

Tableau 1.1 : Les principaux constituants chimiques potentiellement actifs de la *lavande* [23].

Constituents	Exemples
Monoterpènes	Camphre, limonene...
Monoterpènes alcools	Lavandula, linalol...
Monoterpènes aldéhydes	aldéhyde de cumin
Monoterpènes éthers	1,8- cinéole
Monoterpènes esters	acétate de linalyl, acétate de terpenyl
Monoterpènes cétones	carvone, coumarine...
Benzenoïdes	eugénol, carvacrol, acide hydroxy cinnamique, thymol...
Sesquiterpènes	caryophyllene, oxyde de caryophyllene...

On trouve également dans les sommités fleuries les substances, telles que : Coumarines, flavonoïdes, phénols et tanins [20]. Les principaux constituants de la *Lavande officinale* sont le linalol et l'acétate de linalyle (figure 1.3).

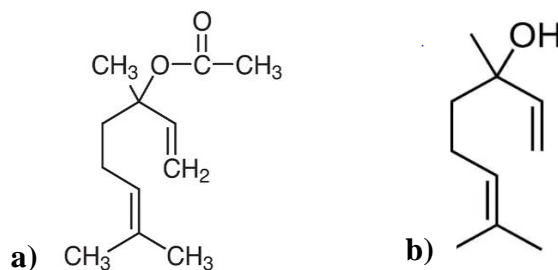


Figure 1.3 : a) acétate de linalyle ; b) linalol [20].

1.1.2.4 Utilisation

La *Lavande* a marqué l'humanité en usage médicinal suite à son emploi comme expectorant, antispasmodique, carminative, désinfection des plaies, contre les problèmes dermiques et psoriasis. Elle possède des propriétés antimicrobiennes, anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, insecticide et anti-inflammatoire [24].

Avec son action anti bactérienne les composants des huiles essentielles sont hydrophobes, ce qui leur permet de séparer les lipides des membranes cellulaires bactériennes, les rendant ainsi plus perméables. Plusieurs études ont montré que le linalol inhibe diverses bactéries présentes dans les cavités orales, la peau et le tractus respiratoire notamment *Staphylococcus aureus*, *S.*

epidermidis et *Escherichia coli* ^[25]. Son utilisation dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydant, et leur offre une odeur agréable ^[26].

1.1.3 *Eucalyptus globulus*

Les *Eucalyptus* sont majoritairement de très grands arbres qui font partie de la famille des Myrtacées. On dénombre actuellement plus de 500 espèces d'*Eucalyptus*. Ils sont répartis environ en trois mille espèces, réparties en 134 genres. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques ^[27].

1.1.3.1 Descriptions botaniques

Nom botanique : *eucalyptus globulus labill.*

Nom français : gommier bleu, arbre de fièvre.

Nom berbère : calitous.

Nom arabe : el kalitus ^[28].

Les *Eucalyptus* (figure 1.4) sont des arbres pourvus d'une croissance rapide, la hauteur va de 30 jusqu'à 60 mètres de haut, et peut atteindre 100 mètres, son tronc est lisse et la couleur varie du blanc au gris. Son écorce se détache facilement en longues bandes. Les jeunes feuilles sont cireuses, ovales, claires, opposées et sessiles, mais ce sont les feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure.

Ces feuilles peuvent atteindre 25 cm de long, elles sont falciformes, alternes, pétiolées, de couleur gris-vert. Cette plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille. Les fleurs sont visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles, le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines. Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines ^[28].



Figure 1.4 : *Eucalyptus globulus* ^[29].

1.1.3.2 Distributions géographiques

Le genre *Eucalyptus* est endémique en Australie et en Tasmanie, actuellement sa culture existe dans certaines régions subtropicales d’Afrique, d’Asie et d’Amérique du Sud ainsi qu’en Europe méridionale et aux États-Unis. Durant les années 60 à 70, un programme de reboisements à base d’*Eucalyptus* a été réalisé notamment dans les régions de l’Est (Skikda), le centre (Tizi-Ouzou) et l’Ouest (Mostaganem) dans le but de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers ^[30].

1.1.3.3 Composition phyto-chimiques

Les *Eucalyptus* sont aussi extrêmement intéressants pour leurs tanins, résines et huiles essentielles que renferment les feuilles, les tiges et même l’écorce. L’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* contient environ 70% en eucalyptol (1,8- cinéole) (figure 1.5) et ce dernier est considéré comme un composé majoritaire dans plusieurs espèces d’*Eucalyptus* ^[30].

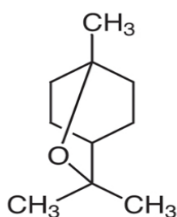


Figure 1.5 : 1,8- cinéole ^[30].

1.1.3.4 Utilisations

Grâce à sa composition chimique l’HE d’*Eucalyptus* possède des vertus considérables. Elle est très demandée pour son action antiseptique et cicatrisante, en plus elle agit comme un antibiotique naturel pour soigner certaines maladies respiratoires telles que la grippe, la

toux...etc., tandis qu'en dermatologie, elle est préconisée à traiter l'acné. Son action est efficace au niveau pulmonaire, et face aux sujets souffrants de fièvre élevée, c'est un excellent fébrifuge qui a la propriété de faire chuter rapidement la fièvre ^[30].

1.2 Classification des métabolites secondaires

1.2.1 Polyphénols

Les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Ils possèdent dans leur squelette, un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, ester, hétéroside...etc) On distingue les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines et les quinones ^[31].

1.2.1.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes (figure 1.6) représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles ^[32]. Ils sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols ^[33,34]. Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiol, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones ^[35].

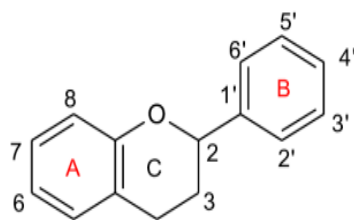


Figure 1.6 : Structure de base des flavonoïdes ^[31].

1.2.1.2 Anthocyanes

Les anthocyanes (figure 1.7) regroupent les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules, faisant partie de la famille des flavonoïdes sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange ^[31]

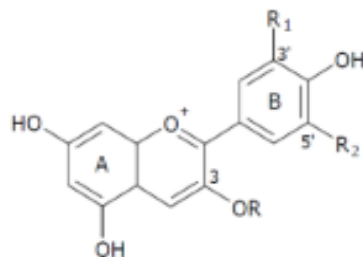


Figure 1.7 : Structure de base des anthocyanes ^[31].

1.2.1.3 Acides phénols

Les acides phénoliques sont des substances photochimiques ayant au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxy-phénolique. Ce sont les dérivés de l'acide benzoïque (acides hydroxy-benzoïques (figure 1.8 a)) et de l'acide cinnamique (acides hydroxy-cinnamiques (figure 1.8 b)). Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides ^[31].

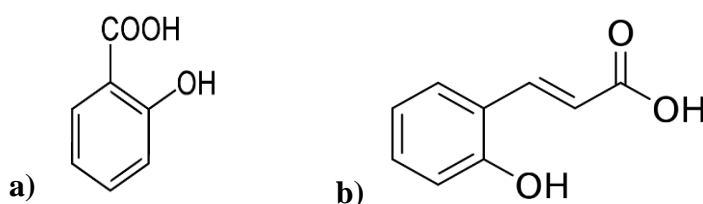


Figure 1.8 : a) acide o-hydroxy-benzoïque ; b) acide o-hydroxy cinnamique ^[31]

1.2.1.4 Tanins

Les tanins sont des substances amorphes contenues dans de nombreux végétaux. Habituellement on distingue chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins par leurs structures et par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés ^[31].

1.2.2 Saponines

Les saponosides ou saponines sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui se composent d'une partie lyophile, l'aglycone (ou génie) et d'une partie hydrophile osidique. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse ^[31].

1.2.3. Terpénoïdes

Les terpénoïdes sont des substances dont la structure de base est les terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, etc.) Les terpènes sont subdivisés, selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporés dans leurs structures, en mono terpènes (C10), sesquiterpènes (C15), di terpènes (C20), sesterterpènes (C25), triterpènes (C30) et polyterpènes^[31].

1.2.4 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés, hétérocycliques et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose. Ils présentent des réactions communes de précipitation par lesquelles ils sont détectés (capacité de se combiner avec des métaux). Selon leur biogénèse et la position de l'azote, on distingue trois classes des alcaloïdes^[31] : les alcaloïdes vrais, pseudo-alcaloïdes et les proto-alcaloïdes.

1.3 Étude biologiques

1.3.1 Définition

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes. Elles sont responsables de diverses infections dans les organismes vivants. Les chercheurs ont espéré pouvoir éradiquer certaines maladies avec la découverte des antibiotiques. Malheureusement la large utilisation de ces médicaments a généré une résistance croissante des bactéries face aux antibiotiques. Dans cette perspective, il y a eu un grand intérêt pour la recherche de nouvelles substances biologiquement actives et efficaces comme alternative à partir des ressources naturelles^[31].

1.3.2 Activité antimicrobienne des HEs et des extraits de plante

Les plantes médicinales utilisées dans les médecines traditionnelles pour traiter les maladies infectieuses semblent être une source abondante de nouveaux métabolites secondaires bioactifs^[36]. Récemment, les extraits de plantes ainsi que les huiles essentielles extraites ont été sélectionnés pour leurs utilisations potentielles comme remèdes alternatifs pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses^[37]. La demande de plantes aromatiques augmente à travers le monde pour leur teneur en composés phytochimiques pouvant soulager les maladies, antimicrobiens et antioxydants^[38]. Par conséquent, au cours des dernières années, une variété

de plantes médicinales, d'extraits et des huiles essentielles dérivées de plantes aromatiques ont été criblés pour leur activité antimicrobienne. Ils ont été signalés comme étant actives contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives ainsi que contre les levures, les champignons et les virus. Ce sont des mélanges de différentes substances lipophiles et volatiles [36].

1.4 Généralités sur la peau

1.4.1 Définition

La peau est un organe complexe qui enveloppe la surface du corps et se continue au niveau des orifices naturels par une muqueuse. Dans certaines régions, elle contient des structures accessoires : des glandes sudoripares et sébacées, des poils et des ongles [39]. Elle comporte :

- L'épiderme : La jonction dermo-épidermique qui par sa complexité et son importance fonctionnelle forme une zone à part entière,
- Le derme,
- L'hypoderme tissu sous conjonctif qui relie la peau aux organes sous-jacents [40].

1.4.2 Annexes cutanées

- **Follicule pileux** : On distingue trois types de follicules : Les follicules terminaux, les follicules lanugineux et les follicules sébacés.
Les follicules sébacés sont localisés au niveau du visage et le haut du tronc et sont caractérisés par un infundibulum très profond [41].
- **Glande sébacée** : Elles sont localisées dans le derme et ont pour rôle principal la sécrétion de sébum (liquide huileux à la surface de la peau) [41].

1.4.3 Sébum

Le sébum est formé de cellules sébacées matures éclatées. Il contient principalement des lipides dont la composition est détaillée dans le (tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Composition du sébum [42].

Composant	Concentration
Triglycérides	57,5 %
Cires	26%
Squalène	12%
Cholestérol estérifié	3%
Cholestérol libre	1,5%

1.5 Acné

1.5.1 Définition

L'acné vulgaire est une dermatose inflammatoire chronique courante qui affecte les unités pilo-sébacées de la peau et qui peut entraîner des lésions non inflammatoires comédons ouverts et comédons fermés ou des lésions inflammatoires telles que des nodules, des pustules et des Papules [43,44].

1.5.2 Physiopathologie de l'acné

La physiologie de l'acné fait intervenir trois facteurs :

- **Hypersécrétion sébacée** : C'est l'hyperproduction de sébum par les glandes sébacées, elle entraîne une modification de l'aspect de la peau acnéique qui apparaît luisante. La sécrétion de sébum est déclenchée par des facteurs hormonaux ou d'autres facteurs exogènes non hormonaux (médicaments) [45,46].
- **Troubles de la kératinisation du follicule pilo-sébacée** : C'est l'obstruction des pores pilosébacés par l'hyperprolifération des kératinocytes de l'épiderme ou par des produits comédogènes. L'excrétion des graisses de la peau (sébum) est donc empêchée et des pustules ou des points noirs se forment [47].
- **Colonisation bactérienne et inflammation** : Il s'agit d'une colonisation des follicules pilosébacés par des bactéries résidentes tels que *Cutibacterium acnes* (ex-*Propionibacterium acnes*), *staphylococcus epidermidis* et peu de *staphylococcus aureus* [48]. *C.acnes* est une bactérie anaérobie à gram positive, elle participe activement au développement de la réaction inflammatoire topique [49].

1.6 Généralités sur les émulsions

1.6.1 Définition

Les émulsions sont des systèmes complexes très fréquemment rencontrés en cosmétologie, la compréhension des mécanismes de leur formation est essentielle pour assurer la maîtrise de leur fabrication ou de leur traitement. Plus de 90% des formules de soins ont pour base l'émulsion. Le grand avantage des émulsions est qu'elles sont bien tolérées par la peau car leur composition est très proche de celle du film hydrolipidique de l'épiderme [50].

1.6.2 Différents types d'émulsions

On distingue trois grandes catégories d'émulsions selon la dimension des gouttelettes présentes dans la phase dispersée qui sont classées dans le (tableau 1.3).

Tableau 1.3 : Différents systèmes d'émulsions ^[51].

Systèmes	Caractéristiques
Les macros-émulsions	Ce sont des systèmes dispersés hors équilibre constitués de deux phases liquides non miscibles, le diamètre moyen de ces émulsions est supérieur ou égale à un micromètre
Les nanos-émulsions	Ce sont des systèmes bisphasiques dont la taille des gouttelettes est comprise entre 20 et 200 nm. Elles sont translucides bleuté à l'œil, stables à la sédimentation ou au crémage.
Les microémulsions	Ce sont des systèmes monophasiques obtenus grâce à un émulsifiant permettant la coexistence des molécules de la phase aqueuse et de la phase huileuse. Elles sont thermodynamiquement stables.

1.6.3 Instabilité des émulsions

La stabilité d'une formulation revêt plusieurs aspects : physiques, chimiques et microbiologiques. Pour être stable physiquement, l'émulsion ne doit pas montrer de démixtion, qui peut être provoquée soit par de la coalescence, soit par un phénomène de crémage/sédimentation (figure 1.9). La stabilité physique inclut aussi une invariance du comportement rhéologique et de la granulométrie.

La stabilité chimique repose sur le fait qu'aucun des composants de l'émulsion ne doit participer à une réaction chimique pouvant soit modifier de manière grave la stabilité physique, soit perturber les propriétés applicatives (aspect, couleur, odeur, efficacité). Enfin, la formulation, pour être stable microbiologiquement, ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures, et germes bactériens. Différents mécanismes de rupture existent, ils peuvent être réversibles ou irréversibles ^[52].

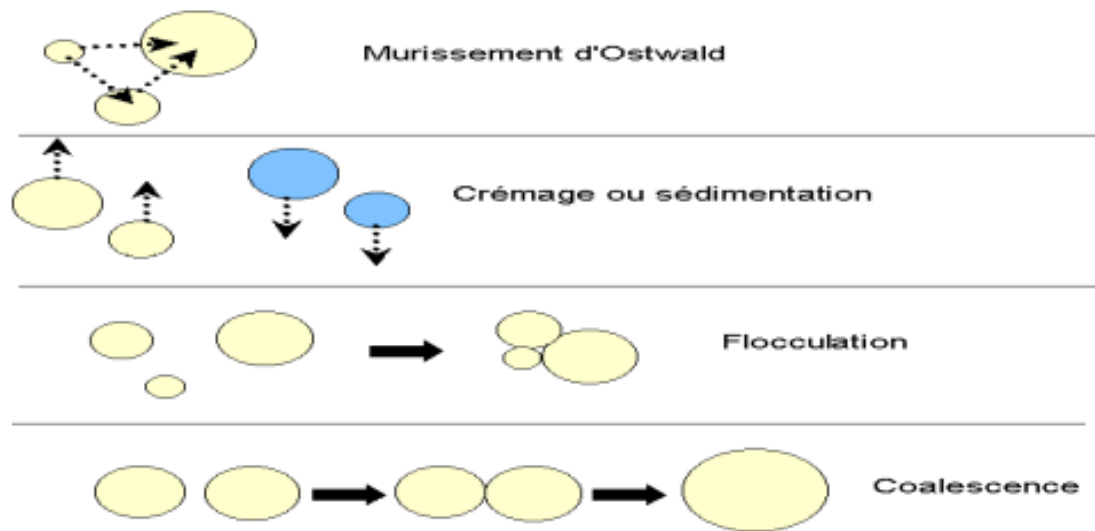


Figure 1.9 : Processus de déstabilisation d'une émulsion ^[53].

Ce chapitre est présenté afin de mettre en évidence l'expérimentation effectuée dans cette étude. Il comporte le matériel et les méthodes utilisées. Il englobe trois sous partie, la première qui porte sur l'étude de pré formulations, la deuxième sur la formulation proprement dite des crèmes et les tests de contrôles qualités, en finale une étude microbiologique et pharmacologique sur les différentes crèmes complétées par une étude histopathologique.

2.1 Matériel

L'ensemble du matériel, équipements et des produits utilisés sont regroupés dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Produits chimiques, matières premières et équipements utilisés.

Étapes	Équipements et matériel	Verrerie	Produits et matières premières
Extraction	<ul style="list-style-type: none"> - Balance analytique - Spatule - Rota-vapeur (HEIDOLF LABOROTA 4001) -Büchner -Pompe à vide. -Papier Wattman. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ballon 3 L. -Erlenmeyer. -Becher -éprouvette 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Moringa oleifera</i> - Éthanol analytique (96°). - Eau distillée
Screening phytochimique	<ul style="list-style-type: none"> - Plaque chauffante. - Balance analytique. -Lampe UV. -Bain de sable. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cristalliseur - Fiole jaugée - Pipette graduée - Tubes à essaie -béchers 	<ul style="list-style-type: none"> -FeCl₃ - HCl - H₂SO₄ - Copeaux Mg - NH₄OH -Anhydre acétique -CHCl₃ -eau distillée -réactif Mayer -alcool chloridrique -alcool iso-amylique
Formulation	<ul style="list-style-type: none"> - Plaque chauffante -Spatule -Balance analytique. -Thermomètre. -Barreau magnétique. -pH mètre. -Microscope photonique. -Homogénéisateur. -Mélangeur. -Centrifugeuse. 	<ul style="list-style-type: none"> -béchers -éprouvette 	<ul style="list-style-type: none"> -Extrait hydro-éthanolique de la <i>moringa oleifera</i>. -HE de <i>lavande officinal</i>. -HE de <i>Eucalyptus globulus</i>.

Étude Antibactérienne	-Pipette pasteur. -Écouvillon -bec bunsen -Étuve -Gaz butane	Boite de pétrie.	-Eau physiologique -Gélose MH
Étude préclinique	-Seringues médicales -Balance technique Marqueur -Rats Waster -Lapins albinos -Tondeuse -Loupe, -Compresses stérile -Sparadrap hypoallergénique. -Pied à coulisse numérique -Gants		-Kétamile -Xylazine -Crème à base d'extrait de <i>moringa oleifera</i> -Crème à base des HES D' <i>eucalyptus globulus</i> et de <i>lavande officinale</i> -Cutacnyl* -solution bactérienne <i>S.epidermidis</i>
Étude d'anatomopathologie	-Microtome (Sigma 57RD) -Cassette -Bistouri -Plaquette -Barres de Leuckhart -Étuve à lit fluidisé -Microscope photonique -Lame en verre -Lamelle		-Éthanol à différent degré. -Paraffine -Hématoxyline -Éosine -Coloration pour trichrome de Masson -Xylène

2.2 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de poudre des feuilles broyées de *Moringa oleifera* et des huiles essentielles de *Lavande officinale* et d'*Eucalyptus globulus* (figure 2.1). Ces produits ont été achetés chez le fournisseur **Dzair matière première de Bordj el Kifan (Alger)**.

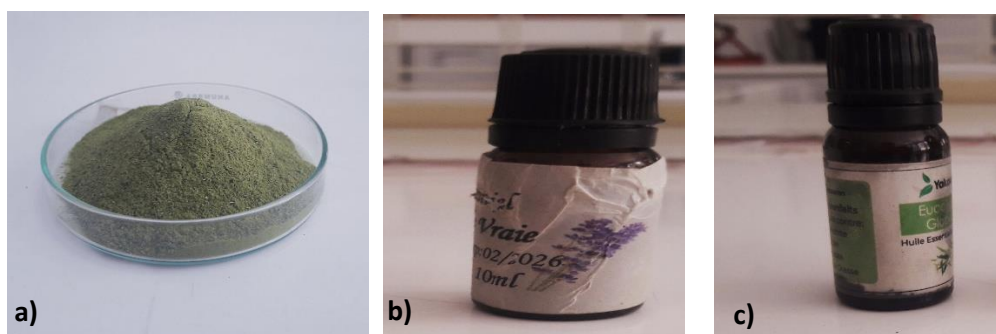


Figure 2.1 : a) Poudre de *moringa oleifera* ; b) HE de *lavande officinale* ; c) HE d'*eucalyptus globulus*.

2.3 Méthodes

2.3 Méthodes

2.3.1 Étude phytochimiques

❖ Extrait éthanolique de *moringa oleifera*

L'extrait de la plante est préparé à partir de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* L suivant la méthode dite : macération à froid.

❖ **Extraction par macération :** La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste à laisser séjourner la matière végétale séchée et broyée dans un solvant pour extraire les principes actifs (composés majoritaires hydrophile).

❖ Protocole :

À température ambiante, dans un ballon, 200g de matériel végétal (poudre de *Moringa*) a été additionnée à 1200 ml du solvant hydro-éthanolique à 70% en alcool dans un rapport de 1/6 (P/V) de telle façon que le solvant couvre totalement le matériel végétal, agiter puis laisser se reposer 24h. le macérât a été récupéré par filtration.

Ce procédé a été répété pour la poudre récupérée jusqu'à épuisement 3 fois.

Le filtrat a été évaporé à sec sous pression réduit à 65°C à l'aide d'un rota-vapeur.

L'extrait récupéré est pesé et conservé dans un flacon ombré hermétique à basse température et à l'abri de la lumière pour éviter toute dégradation^[19].

❖ Rendement d'extraction

L'évaluation du rendement de l'extrait a été évaluée selon l'équation (2.1).

$$R(\%) = \frac{M_e}{M_s} \times 100 \dots\dots\dots (2.1)$$

R (%) : Rendement de l'extrait (%).

M_e : Masse de l'extrait brut (g).

M_s : Masse du matériel végétal sec.

❖ Screening phytochimiques

Ces tests ont été réalisés au niveau du laboratoire pédagogique de chimie de surface de la faculté des Sciences de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Il s'agit de caractériser les différents groupes chimiques qualitativement. Le principe est basé soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation, soit sur la formation de

complexes colorés en utilisant des réactions de coloration (conjugaison ou instauration dans une molécule) ^[54].

Les protocoles d'identification phyto-chimiques des principales familles des métabolites secondaires sont résumés dans le tableau 2.2 ^[55].

Tableau 2.2 : Protocoles d'identification phyto-chimiques.

Identification	Protocole
Polyphénols	Mettre 2 mL d'extrait hydro-éthanolique dans un tube à essai puis ajouter une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée.
Flavonoïdes	À 1 mL d'extrait hydro-éthanolique, ajouter 1 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl), puis quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est indiquée par une coloration rouge, orange ou rose.
Tanins	La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 mL de l'extrait hydro-éthanolique, 1mL d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de $Fe Cl_3$ diluée a 1%. L'apparition d'une coloration bleu-vert indique la présence des tanins galliques.
Glycosides cardiaques	2 mL de chloroforme sont ajoutés à 1 mL de l'extrait hydro-éthanolique, l'apparition d'une coloration brun rougeâtre après l'ajout de H_2SO_4 indique la présence des glycosides cardiaques.
Anthocyanes	Leur détection consiste à traiter 0.5 mL de l'extrait hydro-éthanolique avec 2mL de chloroforme et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. En cas de réaction positive, il se forme un anneau rouge-brunâtre à la zone de contact des deux liquides.
Terpènoïdes	Leur détection consiste à traiter 0.5 mL de l'extrait (hydro-méthanoïque et hydro-éthanolique) avec 2 mL de chloroforme et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. En cas de réaction positive, il se forme un anneau rouge-brunâtre à la zone de contact des deux liquides.

Saponines	Préparer une infusion de la plante dans l'eau chaude. Mettre 3 mL d'extrait dans un tube à essai. Ajouter une petite quantité d'eau distillée, puis agiter fortement pendant 30 secondes et laisser reposer 15 secondes. Si la mousse persiste pendant cette période cela signifie qu'il y a des saponosides.
Quinone libre	1 mL d'acide sulfurique concentré est ajouté à 1 mL d'extrait hydro-éthanolique. Un test positif est révélé par la formation de la couleur rouge.
Dérivées anthracéniques libres	Les anthracéniques libres sont détectées par l'ajout de 1mL d'extrait chloroformique et 1 mL de NH_4OH dilué dans un tube à essai. Après agitation, une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres. Extrait chloroformique : 500mg de poudre +5mL de $CHCl_3$ chauffée 3 min au bain marie. Solution est à chaud.
Alcaloïdes	Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Mayer. Introduire 10g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle on ajoute 50mL de H_2SO_4 dilué au 1/10, macéré 24h en suite, filtré et lavé pour compléter à 50mL. Dans un 1mL du filtrat, 5 gouttes de réactif sont ajoutées après 15min. l'apparition d'un précipité blanc-jaune ou jaune claire, révèle la présence d'alcaloïdes.
Leucoanthocyane	Pour 1mL de l'échantillon hydro-éthanolique, on y ajoute 1 mL d'alcool chlorhydrique et 200 μ L d'alcool iso-amylque puis chauffé 15 min. la coloration rouge cerise confirme la présence des leuco anthocyane (flavonols, flavonolols).
Coumarines	Dans un tube à essai, 5mL d'extrait hydro-éthanolique sont évaporé, puis 2mL d'eau chaude sont ajoutés au résidu. La solution est partagée entre 2 tubes à essais. Au contenu de l'un des tubes, 0.5 mL est ajouté de NH_4OH à 25%. La fluorescence intense dans le tube ou il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines.

2.3.2 Contrôles qualités des matières premières : huiles essentielles (*Lavande officinale* et *Eucalyptus globulus*)

Dans ce travail, les HES (*Lavande officinale* et *Eucalyptus globulus*) ont été achetées chez un fournisseur extérieur, et par voie de conséquence, un contrôle qualités des matières premières a été réalisée telle que c'est préconisé dans les BPF et BPL.

❖ Caractérisation organoleptiques

L'évaluation de propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle. Dans le présent travail, trois critères sont considérés pour évaluer les qualités organoleptiques : l'odeur, la couleur et l'aspect.

❖ Caractérisation physique

Les HES sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité, pouvoir rotatoire, indice de réfraction ...), ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, d'ester, d'iode et de carbonyle) permettant d'évaluer la nature des composés organiques (acide, ester, alcène, carbonyle) présents dans l'essence [56]

❖ Densité relative

La densité relative (d) à 20°C d'une HE est le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à 20°C à la masse d'un même volume d'eau distillée à 20° C. elle est donnée par la formule (2.2). À l'aide d'un Eppendorf, nous avons pesé successivement des volumes égaux d'huile et de l'eau à l'aide d'une balance analytique, à la température de laboratoire 29° [57].

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} + 0.0012 \dots \dots \dots (2.2)$$

M_0 : Masse de l'Eppendorf vide en gramme (g).

M_1 : Masse de l'Eppendorf remplie de l'eau.

M_2 : Masse de l'Eppendorf remplie de l'huile.

❖ L'indice de réfraction

L'indice de réfraction (n_D) de l'HE a été mesuré avec le réfractomètre d'Abbe classique (annexe 2.1). L'indice est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. La valeur de l'indice est indiquée directement par l'échelle de lecture sur le réfractomètre, à la température de laboratoire 29°C [57].

2.3.3 Formulation galéniques

La formulation galénique et les tests de contrôles qualité ont été réalisés au laboratoire galénique de **CRD Sidal**. Le protocole suivi est interne au **CRD Sidal**.




La formulation choisie est la préparation d'une crème dermocosmétique anti-acnéique. Dans notre étude, trois formules distinctes sont préparées :






- **Crème 1** : Formule placebo (sans principe actif).
- **Crème 2** : Formule à base de l'extrait de *moringa oleifera* à 5%.
- **Crème 3** : Formule à base HEs à 2 % de *lavande officinale* et 2% d'*eucalyptus globulus*.




2.3.3.1 Composition et préparation des crèmes




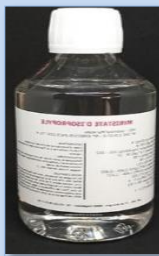


Les proportions des matières premières utilisées dans les formules galéniques et leur rôle sont résumées dans le tableau 2.3.

Tableau 2.3 : Matières premières utilisées pour la formulation.

Nature de la phase	Matières premières	Origine	Propriété organoleptique et physique	Rôle et proportions
Phase aqueuse	 Polyphénols (extrait hydro-éthanolique)	Végétale	Aspect très visqueux de couleur vert brunâtre	Principe actif pour la crème 2 (5%)
	 Eau distillée	/	Limpide et inodore	Véhicule hydrophile (Qsp 100g)
	 Acide citrique	Acide végétale organique naturelle	Cristaux blancs faiblement déliquescence. Soluble dans l'eau	Régulateur d'acidité (quelques gouttes)

	Glycérine	Synthétique	Liquide visqueux, incolore, inodore de saveur douceâtre, miscible à l'eau et à l'alcool.	Humectant (6%)
	Gomme xanthane	Polyoside naturelle	Poudre de couleur blanc à crème, soluble dans l'eau	Gélifiant de la phase aqueuse (0.3%)
 A) Sorbate de K	 B) Benzoate de Na	Synthétique	Sels sous forme de poudre cristalline blanche.	Agents Antibactériens A) 0.1% B) 0.4%
	Propylène glycol	Synthétique	Liquide incolore, inodore légèrement visqueux/ miscible à l'eau.	Agent solubilisant/ Dispersant (9%)

Phase huileuse		HE de la lavande officinale	Végétale	Liquide limpide de couleur jaune pâle	Principes actifs pour la crème 3 (2%)
		HE de l'eucalyptus globulus	Végétale	Liquide mobile, limpide, incolore	Principes actifs pour la crème 3 (2%)
		Cetareth-20 (éther polyoxyéthylène de l'acide cetarique)	Synthétique	Granulés blancs, sans odeur, soluble dans l'eau, il peut être mélangé avec des graisses et des huiles végétales et minérales	Tension actif hydrophile (H/E) (3.5%)

	Monostéarate de glycérol	Végétale	Solide à l'apparence de cire ou de flocons blancs, inodore insoluble dans l'eau.	Tension actif Lipophile (E/H) (2.5%)
	Alcool cétylique ou palmitique	Végétale	Solide blanc cireux, insoluble dans l'eau et soluble de l'huile.	Epaississants, co-émulsifiant et agent de consistance pour stabiliser les émulsions et moduler la texture (6%)
	Caprylic /capric triglycéride	Synthétique	Liquide huileux incolore, inodore, insoluble dans l'eau.	Véhicule lipophile (6%)
	Isopropyl myristate	Végétale	Liquide incolore et huileux	Agent émollient/ agent solubilisant des HEs/ accélérateur de perméabilité cutané (6%)
	Cire d'abeille	Animale	Aspect solide de couleur Jaune pale	Modificateur de rhéologie / agent occlusifs (0.5)
	Vitamine E	Végétale	Liquide très visqueuse, soluble dans les graisses et les huiles	Antioxydant (0.5)

2.3.3.2. Processus de la formulation

Le processus de la formulation est représenté dans le schéma (figure 2.2).

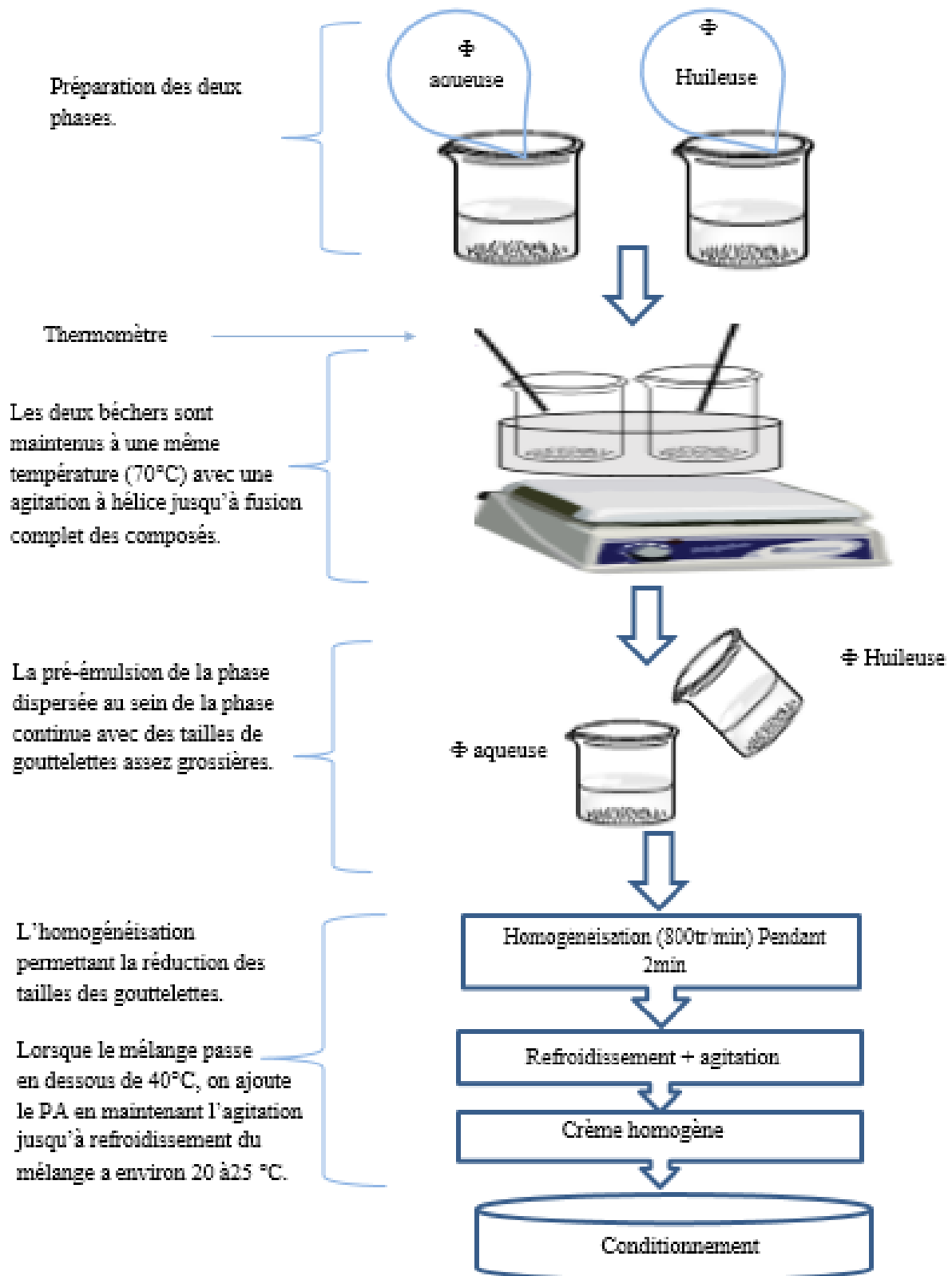


Figure 2.2 : processus de formulation

2.3.3.3 Contrôle qualité de la formulation pharmaceutique

❖ Examen physique

Test de la goutte : Ajout d'une petite quantité de chaque crème formulée dans de l'huile (l'huile de vaseline) ou l'eau, pour observer si elle se disperse. Les émulsions de type huile dans l'eau (H/E) se dispersent facilement dans l'eau à l'inverse des émulsions de type eau dans l'huile (E/H).

Le critère de qualité est de vérifier le sens de l'émulsion et la bonne dispersion du principe actif.

Test de centrifugation : La stabilité des crèmes formulées est vérifiée en utilisant une centrifugeuse de marque (Hettich EBA20). Nous avons mis une quantité de chaque crème préparée dans trois tubes en plastique. La centrifugeuse est réglée à 6000 tours par minute pendant 30 minutes.

- ❖ **Examen macroscopique :** Cet examen consiste à apprécier les caractères organoleptiques tels que l'aspect, la couleur, l'odeur, l'absorption, et l'homogénéité ainsi que la réalisation d'un test d'étalement (absence d'agrégats visible à l'œil nu, et une bonne diffusion à travers la peau).
- ❖ **Examen microscopique :** L'homogénéité de la crème a été vérifiée en utilisant un microscope photonique de marque WF 10X-18MM.
- ❖ **Mesure du pH :** La mesure du pH est déterminée par un potentiomètre à l'aide d'un pH-mètre. Une dilution de la préparation peut être réalisée avant que la mesure soit effectuée, ou directement sur la préparation telle qu'elle est.

La crème a été conservée à l'abri de la lumière et de la chaleur dans des pots en verre brun afin d'éviter l'oxydation de la substance.

2.3.4 Activité biologique

2.3.4.1 Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été faite au laboratoire de microbiologie du **CRD SAIDAL**. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques ou des extraits.

L'aromatogramme ou méthode de diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disque est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des micro-organismes vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HEs ou des extraits à l'intérieure des boîtes de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton) [25].

2.3.4.2 Matériel microbiologique

Les souches bactériennes testées sont les bactéries responsables de l'infection acnéique notamment *Cutibacterium acnes* (*P. acnes*), *S. epidermis* et *S. aureus*. En plus de la contrainte de temps (l'isolement de cette bactérie nécessite beaucoup de temps), l'isolement du *P. acnes* a besoin d'un milieu sélectif très cher. Face à ces différentes contraintes, seul le *S. epidermidis* et le *S. aureus* ont été utilisés. Ces souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de **CRD Sidal**.

Les caractéristiques des souches bactériennes testées, sont détaillées dans le tableau 2.4.

Tableau 2.4 : Principales caractéristiques des souches bactériennes

Famille/ Genre et espèce	Caractères biologiques	Habitat	Pouvoir pathogène
<i>Micro-coccaceae</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> à <i>Gram</i> +	Aérobie-Anaérobie facultatif Catalyse + Oxydase – Coagulase –	Flore résidente de la peau (lésions acnéiques).	Pouvoir pathogène dans l'acné vulgaire. Infections cutanées, nasales et urinaires.
<i>Micro-coccaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> à <i>Gram</i> +	Aérobie facultatif Catalyse + Oxydase – Coagulase +	Commensale Peau, muqueuses et fosses nasales.	Infections cutanée et les Infections pyogènes graves.

2.3.4.3 Procédures expérimentales

❖ Réactivation des souches bactériennes

Pour préparer des suspensions bactériennes selon les normes du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), les souches bactériennes sont réactivées par repiquage à partir du milieu de conservation sur milieu de culture solide, (gélose nutritive) préalablement fondu, coulé dans des boîtes de pétri sur 4 mm d'épaisseur (les boîtes doivent être refroidies et séchées avant d'êtreensemencées). Après 24 h d'incubation à l'étuve (37°C), les boîtes sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes ^[25].

❖ Préparation des suspensions bactériennes

La méthode de préparation de l'inoculation est celle préconisée par la CLSI qui consiste à préparer, à partir d'une culture de 18 à 24h de la bactérie étudiée sur le milieu gélosé, une

suspension en solution saline (0.9%NaCl) équivalente au standard McFarland 0.5 (10^6 CFU/mL). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (DO) allant de 0.08 à 0.1 lue à 625nm ^[25].

❖ **Inoculation**

Les milieux de culture, gélose de Mueller-Hinton ont été coulés pour toute les souches bactériennes choisies dans les boites de pétri à une épaisseur de 4mm à proximité du bec benzène, laissés se solidifier. Les boites séchées ont été ensemencées à partir des suspensions bactériennes à l'aide des écouvillons stériles. L'écouvillon a été imbibé de la suspension bactérienne, essorée contre la paroi interne du tube à essai, il doit passer sur la périphérie de la gélose. L'ensemencement est fait par des stries serrées, de haut en bas.

L'opération est répétée deux à trois fois, en tournant la boite 60 ° à chaque fois ^[25].

❖ **Incubation et lecture**

Les boites de pétries sont ensuite fermées et incubées à 37°C pendant 24h. La lecture est faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la prolifération bactérienne à l'aide d'un pied à coulisse ^[58]. L'échelle d'estimation de l'activité est classée par les diamètres d'inhibition de la croissance microbienne en cinq classes :

- Très forte inhibition : $D \geq 30 \text{ mm}$.
- Forte inhibition : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29 \text{ mm}$.
- Moyenne inhibition : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20 \text{ mm}$.
- Légère inhibition : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16 \text{ mm}$.
- Pas d'inhibition : $D \leq 7 \text{ mm}$ ^[25].

2.3.5 Étude préclinique

Cette étude a été réalisée au laboratoire de pharmacotoxicologie du **Centre de Recherche et Développement du groupe Sidal (CRD)** d'Alger sous la direction du Dr BELKADHI Asma. Le protocole suivi est interne au **CRD Sidal**.

2.3.5.1 Test d'irritation cutanée

L'irritation cutanée est le résultat d'une série complexe de réactions chimiques et physiologiques. Dans ce test, l'irritation cutanée causée par une substance est étudiée en observant les changements allant de l'érythème et de l'œdème à l'ulcération produits sur la peau des lapins lorsque des produits mis à l'essai sont appliqués. Ces réactions cutanées sont produites par divers mécanismes physiologiques, et sont facilement observables ^[58].

L'étude expérimentale a été réalisée selon la méthode décrite par la ligne directrice de (OCDE, 2015) et un système de scores de Draize a été utilisé tableau 2.5.

Tableau 2.5 : Système de scores de Draize.

Réaction d'irritation	0	1	2	3	4
Érythème et formation d'escarre (A)	Pas d'érythème	Érythème très léger	Érythème bien défini	Érythème modéré à sévère	Érythème sévère à formation d'escarre
Formation d'œdème (B)	Pas d'œdème	Œdème très léger	Œdème modéré	Œdème modéré à sévère	Œdème sévère

❖ Animaux et conditions d'hébergement

Deux lapins albinos (mâles) pesant 2 kg, fournis par l'institut pasteur d'Algérie (IPA), ont été utilisés pour l'étude. Les lapins ont été maintenus dans des cages individuelles, dans des conditions d'hébergement standard de température ($20\pm 3^{\circ}\text{C}$), d'humidité relative ($55\pm 10\%$) et de 12h/12h de cycle lumière/ obscurité, et nourris avec un régime alimentaire standard en granulés et de l'eau ad libitum.

❖ Méthode expérimentale

Partie initiale : Le test a été effectué sur les flancs de deux lapins. Pour se faire, les flancs droit et gauche de chaque lapin ont été rasés (environ six centimètres carrés) 24h avant l'expérience. Le jour de l'expérience, l'application de la crème 2 à base de l'extrait hydro-éthanolique de *moringa oleifera* a été faite sur le flanc droit du premier lapin et l'application de la crème 3 à base des HEs (lavande *officinale* et *l'eucalyptus globulus*) a été faite sur le flanc droit du deuxième lapin. Les flancs gauches des lapins restent sans aucune application pour servir de témoins. Trois timbres (figure 2.3) successifs à temps bien précis sont appliqués et examinés immédiatement après l'enlèvement du timbre (3min, 60min, 4h) qui correspondent respectivement au (1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} timbre) ces derniers ont reçu la même dose des crèmes formulées (0,5 g) puis l'ensemble a été ensuite recouvert à l'aide de compresses stériles.

Essai confirmatoire : Dans le cas d'observation d'une irritation l'expérimentation s'achève immédiatement sans passer à l'application du second timbre. L'observation s'est faite après 24, 48 et 72 heures après l'enlèvement du timbre, l'évaluation de la réaction cutanée est obtenue par la détermination de scores selon l'échelle de Draize.

Le résultat est donné par la valeur de l'indice d'irritabilité primaire (IIP) selon le système de score de Draize en appliquant la formule suivante :

$$\text{IIP} = \text{valeur moyenne (œdèmes + érythèmes)}$$

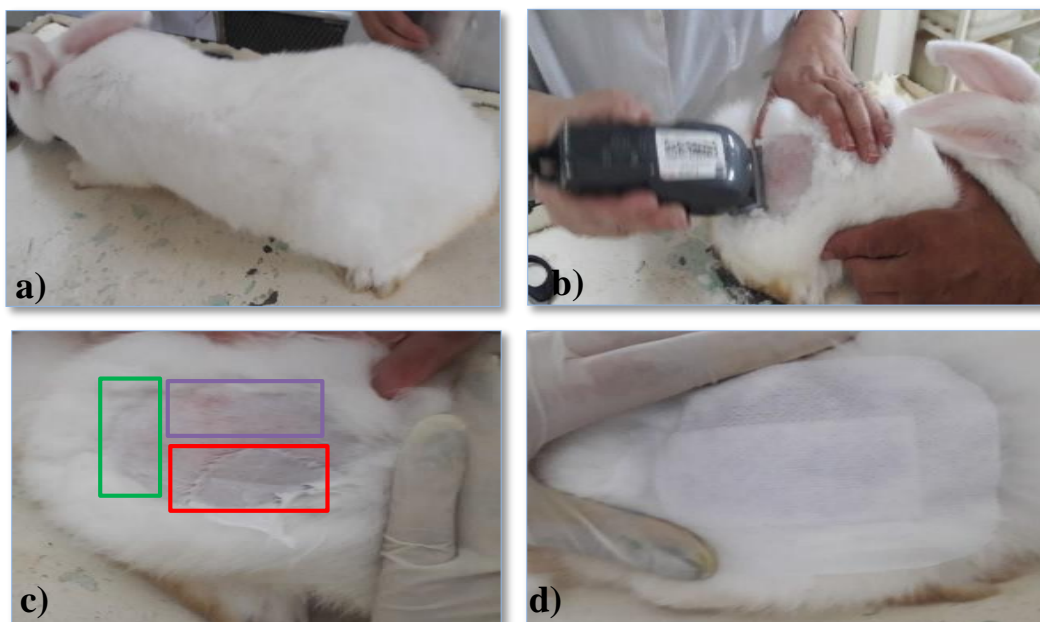


Figure 2.3 : Test d'irritation cutanée effectué sur les flancs d'un lapin.

- a) Pesée d'un lapin 2kg.
- b) Rasage des flancs du lapin (6 cm^2).
- c) Application de la crème sur les flancs d'un lapin (**rouge** : timbre 1 ; **violet** : timbre 2 ; **vert** : timbre 3).
- d) Pose de compresse stérile.

2.3.5.2 Évaluation de l'activité anti-inflammatoire anti acnéique :

❖ Animaux et conditions d'hébergement :

25 rats WASTER (males) fournis par l'institut pasteur d'Algérie (IPA), de poids moyens $272\text{g} \pm 30$ ont été utilisés. Les rats ont été maintenus dans des cages séparées, dans des conditions d'hébergement standard de température ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), d'humidité relative ($60 \pm 10\%$) et de 12-14h de clarté/ 10-12h de noirceur, et nourris avec un régime alimentaire standard en granulés et de l'eau ad libitum.

1^{ère} étape : la veille d'expérimentation

Les rats ont été constitués en lot de 5 (Tableau 2.6), mis à jeun pendant 12h à 16h.

Tableau 2.6 : Constitution des lots d'animaux.

Lots	Lot témoin positif	Lot référence	Lot E1	Lot E2	Lot témoin négative
Nombres de rats	5 rats	5 rats	5 rats	5 rats	5 rats
Produits Injectés et traitements effectués	Injection intradermique (solution bactérienne)	Solution bactérienne + Cutacnyl* (peroxyde de benzoyle)	Solution bactérienne + Crème à base des huiles essentielles	Solution bactérienne + Préparation à base de la poudre moringa oleifera	Aucune injection/ Aucun traitement

Chaque rat des différents lots, a été identifié, étiqueté et pesé (annexe 2.2).

2^{ème} étape : méthode expérimentale

- Les rats ont été anesthésiés avec 0,1mL de Kétamile et 0,2 mL de Xylazine.
 - Le diamètre de l'oreille droite de chaque animale a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse à l'état initial t_0 .
 - Une injection intradermique a été faite au niveau de l'oreille droite en face interne de 50 μ L de la solution inductrice bactérienne *Staphylococcus Epidermidis* pour les lots T+, Ref, E1 et E2.
 - Le diamètre de l'oreille droite a été remesuré après 2h.
 - Les onguents (crèmes) formulés ont été appliqués pendant 7 jours avec mesure du diamètre de l'oreille chaque 24h d'application.
 - Les rats ont été anesthésiés en fin de l'expérimentation.
 - Dislocation cervicale (mise à mort de l'animal) a été effectuée.
 - Une biopsie a été faite et Cinq oreilles droites des rats de chaque lot (E1, E2, Ref, T+ et T-) ont été pris pour une éventuelle étude histopathologique.
- L'ensemble de ces étapes sont représentées dans l'annexe 2.3.

❖ Évaluation œdémateuse

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire locale se fait en calculant des pourcentages d'œdème et d'inhibition d'inflammation selon les formules mentionnées ci-dessous :

Le pourcentage d'œdème selon l'équation 2.3.

$$\%_{\text{oedème}} = \frac{t_{2h} - t_0}{t_0} \times 100 \dots \dots \dots 2.3.$$

Avec

t_{2h} : la moyenne des mesures à t_{2h} .

t_0 : la moyenne des mesures à t_0 .

Le pourcentage d'inhibition d'inflammation selon l'équation 2.4.

$$\%_{\text{inhibition}} = \frac{\%O_T - \%O_X}{\%O_T} \times 100 \dots \dots \dots 2.4.$$

Avec

$\%O_T$: % œdème de l'oreille droite du témoin,

$\%O_X$: % œdème de l'oreille droite de l'essai X (X : essai 1 (E1), essai 2 (E2), essai réf (Référence))

2.3.6 Étude histopathologique

2.3.6.1 Expérimentation

L'examen histopathologique est effectué au laboratoire anatomo-pathologie de l'hôpital Nafissa Hamoud –ex hôpital Parnet d'Alger.

❖ Biopsie cutanée

Pour l'examen microscopique de l'inflammation cutanée, des biopsies des oreilles des animaux témoins (T+, T-), traités (Référence, E1 et E2) ont été prélevées à l'aide des ciseaux Chirurgicaux (figure 2.4) à la fin de l'expérience. Les échantillons ont été mis dans du formaldéhyde à 10% puis conservés dans des tubes ECBU identifiés et étiquetés (figure 2.5).



Figure 2.4 : biopsie cutanée

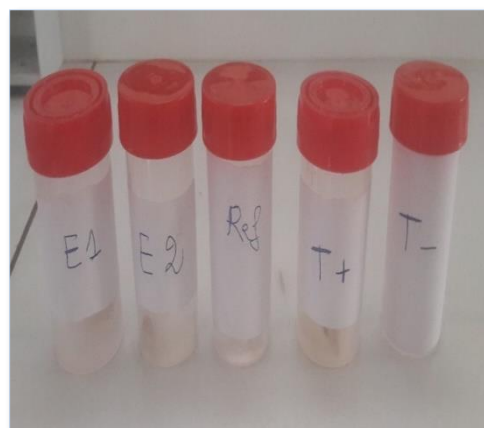


Figure 2.5 : tubes ECBU

❖ Déshydratation / éclaircissement/ imprégnation :

Les trois étapes sont effectuées dans un appareil de circulation (figure 2.6) durant 12 heures. Les échantillons sont déshydratés par émergence successive dans différents bains d'éthanol à degrés croissant (70°-96°-100°), puis éclaircies dans deux bains de xylène. Puis les échantillons sont imprégnés dans deux bains de paraffine à 60°C ^[59].

Test MOH			
2			
Start : 15-08-2022 15:28			
End : 16-08-2022 03:25			
00:38:56			
No	Bath	Time	Us/P
1	3 Alcohol 70%	00:40	No
2	4 Alcohol 96%	00:40	No
3	5 Alcohol 96%	00:40	No
4	6 Alcohol 100%	01:00	No
5	7 Alcohol 100%	01:00	No
6	8 Alcohol 100%	01:00	No
7	9 Xylene	01:00	No
8	10 Xylene	01:00	No
9	11 Xylene	01:00	No
10	12 Paraffin 60°	01:00	No
11	13 Paraffin 60°	01:00	No
12	15 Paraffin 60°	01:30	No



Figure 2.6 : Appareille de circulation

❖ Enrobage ou Inclusion

Consiste à préparer un bloc de paraffine dans lequel on introduit une pièce de tissu (une oreille) qui a subi les étapes de circulation. L'enrobage permet de fournir au tissu un support externe pour la coupe au microtome ^[59].

❖ Microtomie

Après refroidissement et démoulage des blocs de paraffine, on leurs effectuent des coupes de 4 à 5 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome. Ces coupes s'attachent les unes aux autres pour former un ruban. Quelques coupes du ruban sont étalées sur des lames à l'aide d'eau

albuminée, puis séchés dans une étuve pour augmenter l'adhérence des coupes sur les lames [59].

❖ Coloration

Deux colorations sont faites ; une coloration à l'hématoxyline-éosine (topographique) et une coloration au trichrome de Masson (coloration spéciale). Après la coloration, les lamelles sont fixées sur les lames avec une résine (EUKITT) puis l'ensemble est laissé sécher à la température du laboratoire pour une durée de 24h [59].

Le diagnostic histopathologique est fait au laboratoire d'Anatomo-pathologie de l'hôpital Nafissa Hamoud –ex hôpital Parnet d'Alger par Dr Chekkai.

Dans cette partie, nous exposons les résultats obtenus de :

- L'étude phytochimique ;
- Contrôles qualités des matières premières : *lavande officinale* et *Eucalyptus globulus*.
- La formulation galénique et contrôle qualité ;
- L'évaluation de l'activité antibactérienne ;
- L'étude préclinique ;
- L'étude histopathologique.

3.1 Étude phytochimiques

□ Rendement de l'extrait

La poudre des feuilles de *moringa oleifera* a été macérée à l'aide d'un solvant polaire pour extraire les molécules polaires. L'extrait éthanolique des feuilles étaient vert brunâtre, d'une odeur douce et caractéristique de la plante et une consistance très visqueuse. Le résultat du rendement est illustré dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Rendement de l'extraction

Solvant d'extraction	Masse utilisé : 200g	
	Masse (g)	Rendement
Éthanol-eau (70 :30)	45.32 g	22,66%

Les images présentant les résultats obtenus sont données en annexe 3.

Dans le tableau 3.2 nous avons regroupé certains résultats des travaux antérieurs réalisés sur la même plante.

Tableau 3.2 : Résultats de différentes extractions de feuilles de *Moringa oleifera*.

Auteurs	Récolte		Rendement
	Solvant d'extraction	Lieu	Feuille
Benarima (2021) ^[60]	Éthanol	Hassi Ben Abdallah(Ouargla)	24.64%
BOUSSOUFFA(2018) ^[61]	Acétate d'éthyle	Ghardaïa	9%
Alioune (2018) ^[62]	Butanol	Dakar (Sénégal)	14.14%

Le choix du solvant « éthanol » pour l'extraction par macération des feuilles de *Moringa oleifera* est fait pour sa capacité à extraire les composés chimiques polaire (l'éthanol est un solvant polaire) tels que les polyphénols. Selon Benarima (2021) ^[60], le méthanol et l'éthanol sont les meilleurs solvants pour extraire les composés chimiques des feuilles de *moringa oleifera*.

D'après les résultats cités dans la littérature on a remarqué que le rendement d'extraction varie selon le solvant et le rapport d'extraction utilisés. Ces résultats montrent que l'extrait obtenu par l'éthanol a le rendement le plus important (24.64%) comparé aux rendements de l'extrait obtenu par le butanol (14.14%) et l'acétate d'éthyle (9%).

□ Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été réalisé en considérant l'ensemble des phénomènes physicochimiques (précipitation et coloration) résultants de l'interaction entre les réactifs utilisés et les différents métabolites de la plante à savoir : les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les alcaloïdes, les stérols, et les triterpènes.

Les résultats de la caractérisation chimique (tableau 3.3) sont classés en fonction des différents critères d'observation que nous avons noté ainsi : +++ : **Réaction très positive** ; ++ : **Réaction positive** ; + : **Réaction moyennement positive** ; - : **Test négatif**.

Les images présentant les résultats des tests effectués sont données en annexe 3.1.

Tableau 3.3 : Résultats de tests phytochimiques sur la plante *moringa oleifera*.

Métabolites secondaires	Coloration	Réaction Positive/négative
Polyphénols	Vert foncé	+++
Flavonoïde	Marron orange	+
Tanins	Bleu vert	++
Glycoside cardiaque	Brun rougeâtre	++
Anthocyanes	Bleu violacée	+
Terpénoïdes	Anneau rouge-brunâtre	++
Saponines	Une mousse persiste	+
Quinone libre	Absence de la couleur rouge	-
Dérivés anthracéniques libre	Absence de la couleur plus au moins rouge	-
Alcaloïde	Précipité jaune claire	+++
Leucoanthocyane	Absence de la couleur rouge cerise	-
Coumarine	Pas de fluorescence a 360nm	.

L'extrait hydro-éthanolique est riche en polyphénols, flavonoïdes, tanins, glycoside cardiaque, anthocyanes, terpénoïdes et saponines ainsi qu'en alcaloïdes. Par contre il ne renferme pas de quinone libre, dérivés anthracéniques libre, leucoanthocyane et coumarine.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que *moringa oleifera* présente une diversité moléculaire en métabolite secondaire.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Roopalatha et Mala (2013)^[63]. En effet ces auteurs signalent la présence des phénols, flavonoïdes, saponosides, terpénoïdes, hydroxy-antraquinone, glycosides cardiaque et des tanins. Il a été décrit aussi que les feuilles renferment aussi des vitamines A, C et E. Ces résultats concordent également avec ceux obtenus par Shahriar et al. (2012)^[64] qui ont signalé la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, glycosides et terpénoïdes.

3.2. Contrôles qualités des matières premières : huiles essentielles (*lavande officinale* et *eucalyptus globulus*)

3.2.1. Caractérisation organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Les paramètres organoleptiques de nos HEs sont présentés dans le tableau 3.4 et sont comparés aux normes de la pharmacopée européenne 6^{ème} édition 2008.

Tableau 3.4 : Propriétés organoleptiques des HEs et normes de la pharmacopée.

Caractéristique	Aspect	Couleur	Odeur
HE de <i>lavandula officinalis</i>	Liquide limpide	Jaune pâle	Caractéristique fraîche
Pharmacopée européenne	Liquide limpide	Incolore à jaune pâle	Une odeur caractéristique
HE de <i>eucalyptus globulus</i>	Liquide mobile limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche et camphrée
Pharmacopée européenne	Liquide mobile Limpide	Incolore ou jaune pâle	Aromatique et camphrée, saveur brulante et camphrée

3.2.2. Caractérisation physique

Les différentes caractéristiques physiques des HEs de *lavande officinale* et *eucalyptus globulus* sont notées est présentées dans le tableau 3.5.

Tableau 3.5 : Propriétés physiques des HEs et normes de la pharmacopée.

Caractéristiques	Densité relative à 20°C	Indice de réfraction
HE de <i>lavandula officinalis</i>	0.8890	1.4580
Pharmacopée européenne	0.878 à 0.892	1.455 à 1.466
HE de <i>l'eucalyptus globulus</i>	0.9250	1.4660
Pharmacopée européenne	0.906 à 0.927	1.458 à 1.470

Les données du tableau 3.5 ont montré que nos résultats sont en accord avec la pharmacopée européenne.

L'indice de réfraction est un critère de pureté de l'huile essentielle, un faible indice de réfraction indique la faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser l'utilisation de l'huile essentielle dans les produits cosmétiques [65].

3.3. Formulation galénique (dermo-cosmétiques)

3.3.1. Formulation

Nous avons préparé trois crèmes dermo-cosmétiques (figure3.1) :

- **Crème 1** : Formule placebo (sans principe actif).
- **Crème 2** : Formule à base de l'extrait de *moringa oleifera* à 5%.
- **Crème 3** : Formule à base HEs à 2 % de *lavande officinale* et 2% d'*eucalyptus globulus*.

L'analyse macroscopique et microscopique, le test de stabilité par centrifugation en fonction du temps, le test de la goutte ainsi que la mesure du pH ont servi comme élément de contrôle pour nos formulations.

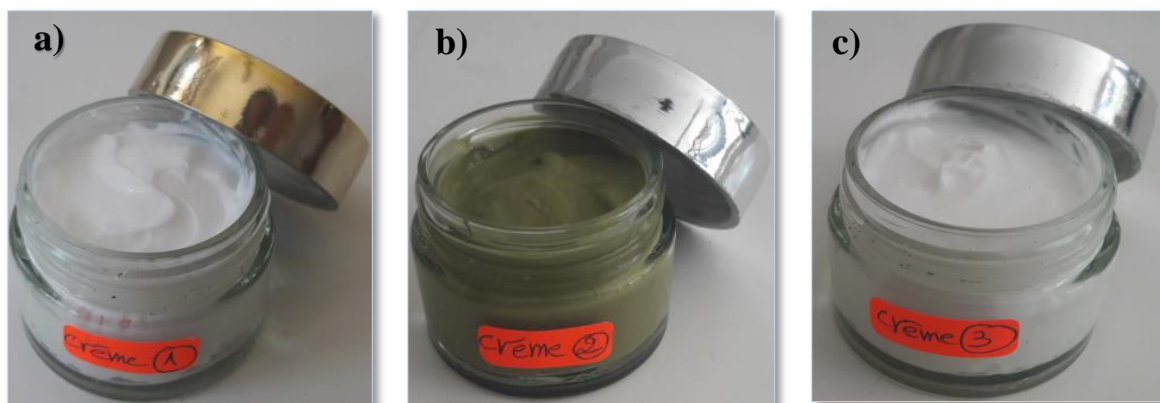


Figure 3.1 : a) crème 1 ; b) crème 2 ; c) crème3

3.3.2 Contrôle qualité des crèmes dermo-cosmétiques

✚ Examen physique

- **Test de la goutte** : les échantillons des trois crèmes : **crème 1** (placebo) ; **crème 2** (à base de l'extrait de *moringa oleifera* à 5%.) ; **crème 3** (à base HEs à 2 % de *lavande officinale* et 2% d'*eucalyptus globulus*) sont bien dispersés dans la phase aqueuse (aspect homogène), tandis qu'ils forment une séparation de phase avec la phase huileuse (aspect non homogène) (figure 3.2).

On conclut que le sens de l'émulsion des trois crèmes est l'huile dans l'eau (H/E).

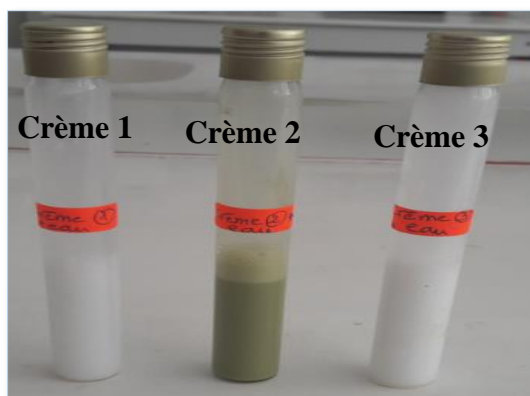


Figure 3.2 : dispersion des crèmes dans la phase aqueuse

- **Test de centrifugation** : les crèmes ont été soumises au test de la résistance à la centrifugation à une vitesse de 6000 tours/ min pendant 30 min à température ambiante. Les résultats montrent que les crèmes résistent à la centrifugation et ne présentent pas de phénomènes de séparation de phase.

✚ Examen macroscopique

Les propriétés organoleptiques des crèmes élaborées sont regroupées dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Propriétés organoleptiques des crèmes formulés.

Échantillon	Aspect	Apparence	Couleur	Odeur	Toucher	étalement	Texture
Crème 1 (test)	Lisse	Homogène	Blanche	Pas d'odeur	Pas collante	Bonne diffusion à travers la peau	Légèrement épaisse
Crème 2 (à base de l'extrait hydro-éthanolique)	Lisse	Homogène (absence d'agrégats et de grumeaux)	Vert (la couleur de l'extrait)	L'odeur de l'extrait	Très peu collante	Très bon étalement, et pénétration après application à la main	Légèrement épaisse
Crème 3 (à base des HEs)	Lisse	Homogène (absence d'agrégats et de grumeaux)	blanche	Odeur aromatique des HEs	Très fraîche au touché, pas collante	Très bon étalement et pénétration après application à la main	Légèrement épaisse

✚ Examen microscopique

À l'aide d'un microscope optique, l'examen microscopique des crèmes préparées confirme la répartition homogène des gouttelettes dispersée (figure 3.3).



Figure 3.3 : Résultat de l'examen microscopique des 3 crèmes : a) crème 1 ; b) crème 2 ; c) crème 3

✚ Mesure de pH

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre type HI2209-01 à température ambiante, Les valeurs obtenues sont regroupés dans le tableau 3.7.

Tableau 3.7 : Les valeurs de pH.

Crème 1	Crème 2	Crème 3
5.8±0.5	5.7±0.5	5.9±0.5

Les valeurs obtenues pour nos crèmes sont dans l'intervalle recommandé pour les crèmes dermo-cosmétiques (4,5 – 7) par conséquent, aucun risque d'irritation cutanée [66].

3.4 Étude d'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été étudiée à l'aide d'une méthode de diffusion par disque sur le milieu gélosé MH. C'est une technique qualitative basée sur la détermination du diamètre des zones d'inhibition apparentées autour des disques chargés par l'extrait, les huiles essentielles et les crèmes formulées après une incubation de 24h à 37°C.

Les résultats des effets antibactériens des huiles essentielles de *Lavande officinale* et d'*eucalyptus globulus* et de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Moringa oleifera*, ainsi que les deux crèmes formulés contre les souches de *Staphylococcus* (annexe 3.2 et annexe 3.3), sont positifs et les zones d'inhibition obtenues sont mentionnées dans le tableau 3.8.

Tableau 3.8 : Activité antibactérienne des HEs de la *lavande* et de l'*eucalyptus* et l'extrait alcoolique de *moringa oleifera* contre les *Staphylococcus aureus* et *epidermidis*.

Souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				
	HE <i>Lavande</i>	HE <i>Eucalyptus</i>	Extrait de <i>Moringa</i>	Crème à base des HEs	Crème à base d'extrait
<i>S. aureus</i>	40	13	15	11	12
<i>S.epidermidis</i>	12	12	12	12	11

Les résultats des effets antibactériens des huiles essentielles de la *lavande* et de l'*eucalyptus* et de l'extrait alcoolique de la poudre des feuilles de *Moringa* contre les deux souches sont positifs et les zones d'inhibition de la souche *S. aureus* sont de 40mm pour l'HE de la *lavande*, 13mm pour l'HE d'*eucalyptus* et 15mm pour l'extrait, et de 12mm pour l'HE de *lavande*, 12mm pour l'HE d'*eucalyptus* ainsi que 12mm pour l'extrait alcoolique vis-à-vis la souche *S. epidermidis*. Tandis que les diamètres d'inhibition pour les crèmes des HEs ainsi que l'extrait

sont respectivement de 11mm et 12mm contre la *S. aureus* et de 12mm et 11mm contre la *S. epidermidis*.

D'après ces résultats nous remarquons que la souche *S. aureus* est plus sensible à l'HE de la lavande (+++), légèrement sensible à l'HE d'*eucalyptus* (+) et l'extrait de *moringa* (+). La souche *S. epidermidis* est légèrement inhibée par l'HE de Lavande, d'*Eucalyptus* et de l'extrait de *Moringa* (+). Tandis que la crème à base des huiles essentielles et celle formulée à base de l'extrait ont peu inhibé la croissance de la souche bactérienne *S. aureus* (+) et celle de la souche bactérienne *S. epidermidis* (+),

Cette légère différence d'inhibition entre les échantillons (les HEs et l'extrait) et les crèmes correspondantes est liée à la composition des crèmes et la synergie entre les deux huiles pour la crème 3.

Une étude sur l'activité antibactérienne de l'extrait de feuilles de *moringa oleifera* a montré que l'extrait a affecté moyennement l'inhibition de *Staphylococcus epidermidis* [19]. Une autre étude a confirmé son efficacité vis-à-vis *S. aureus* due à sa richesse en composés polyphénoliques [67]. Plusieurs études ont montré que le linalol contenu dans l'HE de la lavande inhibe diverses bactéries notamment les deux souches testées [20].

Grâce à la présence de 1,8-cinéole, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* montre un effet antibactérien considérable contre *S. aureus* et *S. epidermidis* [30].

Les résultats obtenus sont similaires aux résultats de ces études ce qui confirme l'efficacité de nos échantillons vis-à-vis des bactéries testées.

3.5 Étude préclinique

3.5.1 Détermination du degré d'irritation cutanée :

Pour le degré d'irritation cutanée des crèmes formulées, le test consiste à la recherche d'une éventuelle réaction d'irritation cutanée due aux crèmes par la détermination de l'indice d'irritation primaire (IIP). Suite à des observations, la détermination des résultats est exprimée selon l'échelle de Draize. Ces derniers sont représentés respectivement dans les tableaux 3.9 et 3.10.

Tableau (3.9) : Cotation des réactions cutanées de la crème 2 (à base de l'extrait hydro-éthanolique de *Moringa oleifera*).

Temps Timbre	Étape initiale			Étape confirmatoire		
	3min	1h	4h	24h	48h	72h
Timbre 1	A3 b4	/	/	0	0	0
Timbre 2	/	0	/			
Timbre 3	/	/	0			

Formation d'érythème (rougissement de la peau ou de la muqueuse) selon ISO 10993-10 : 2021 (A)

0 : Pas érythème.

1 : Érythème très léger (à peine perceptible).

2 : Érythème bien défini.

3 : Érythème modéré à grave.

4 : Érythème grave (rouge violacé) formation d'escarre.

/ : Pas examiné.

Formation d'œdème (gonflement dû à l'infiltration de fluide dans les tissus) selon ISO 10993-10 : 2021 (B)

0 : Pas d'œdème

1 : Œdème très léger (à peine perceptible).

2 : Œdème léger.

3 : Œdème modéré (enflure d'environ 1mm).

4 : Œdème grave (enflure plus 1mm).

/ : Pas examiné.

L'observation après l'enlèvement du timbre 1 (3min) nous a permis de visualiser un érythème modéré et un œdème sévère (tuméfaction sévère) comme le montre la figure 3.4.



Figure 3.4 : timbre 1 (crème 2).

Tableau (3.10) : Cotation des réactions cutanées de la crème 3 (à base des HEs : *lavande officinale* et *eucalyptus globulus*).

Temps Timbre	Partie initiale			Essai confirmatoire		
	3min	1h	4h	24h	48h	72h
Timbre 1	0	/	/	A1	0	0
Timbre 2	/	A1	/			
Timbre 3	/	/	0			

L'observation après 1h (timbre 2) de temps nous a permis de visualiser un très léger érythème (figure 3.5).

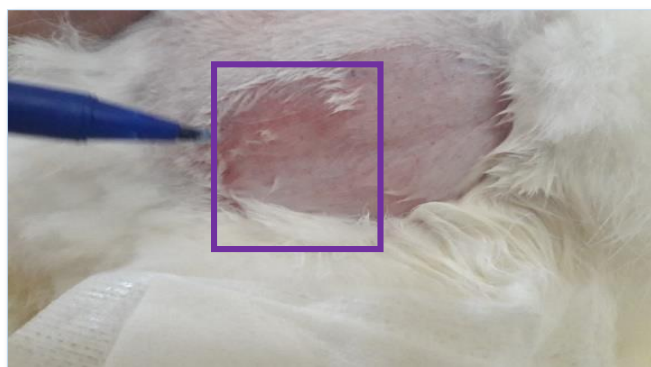


Figure 3.5 : Timbre 2 (crème 3)

Une autre observation sur le flanc droit du lapin après 24h nous a permis de visualiser un très léger érythème (figure 3.6). Une repousse des poils a été remarquée sur le lapin sur lequel on a appliqué la crème 3 (à base des HEs) lors du 3^{ème} jour du test (figure 3.7).

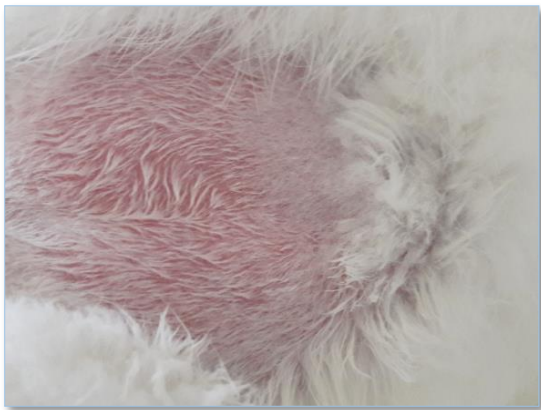


Figure 3.6 : léger érythème après 24h d'application de la crème 3.



Figure 3.7 : repousse des poils

Selon l'échelle de Draize, l'indice d'irritation cutanée primaire (IIP) (figure 3.8) obtenu permet de considérer la crème 2 formulée à base d'extrait hydro-éthanolique de *Moringa oleifera* comme un produit irritant pour la peau par conséquent, on ne pourra pas évaluer son activité anti inflammatoire anti acnéique et la crème 3 formulée à base des huiles essentielles *Lavande officinale* et *Eucalyptus globulus* comme un produit à action non irritante pour la peau.

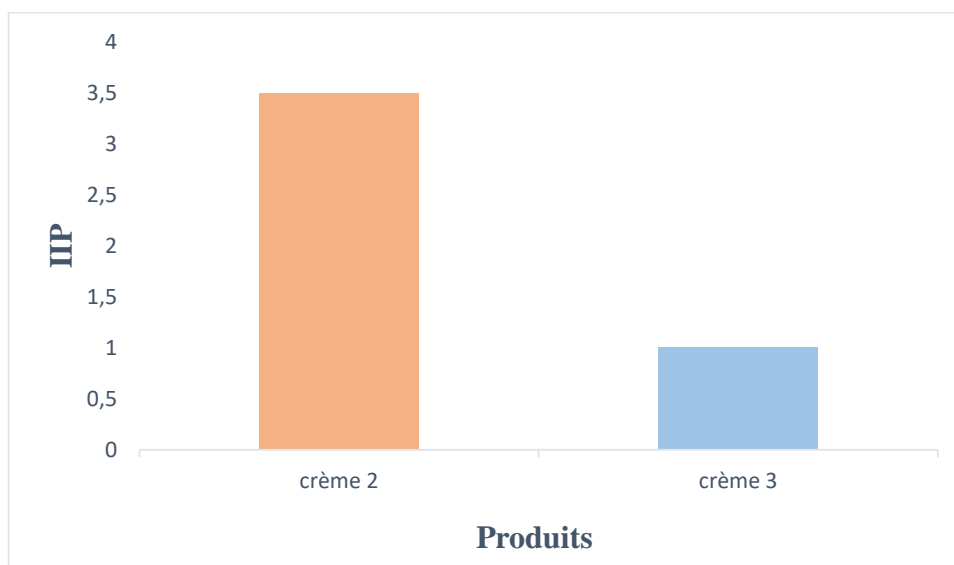


Figure 3.8 : Indice d'irritation primaire des crèmes 2 et 3.

3.5.2 Évaluation de l'activité anti inflammatoire anti acnéique

L'activité anti-inflammatoire anti acné topique des deux onguents : E1 (crème à base des HEs) et E2 (préparation à base de poudre de *moringa oleifera* et le propylène glycol seulement) a été évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition induit par la solution bactérienne *Staphylococcus Epidermidis* chez les rats. La réaction a été évaluée en mesurant l'épaisseur de

l'oreille de chaque rat en fonction du temps : t_0 , t_{2h} , J2, J3, J4 et J7. Après 7 jours, 5 rats ont été euthanasiés.

3.5.2.1 Induction de l'inflammation

Les oreilles des rats contiennent nombreuses glandes sébacées, dans cette activité nous les avons infectées par des injections intradermiques d'une solution bactérienne *S. epidermidis* afin d'élargir leurs cavités folliculaires et d'induire une micro acné. Étant donné que la sécrétion excessive des glandes sébacées contribue de manière significative à la formation de l'acné et que la principale caractéristique de l'acné est l'expansion des follicules, le modèle développé était cohérent avec les symptômes de l'acné.

La mesure de la taille des oreilles droites des rats a été prise 6 fois, avant l'injection de la solution bactérienne correspondant à t_0 (annexe 3.4) ainsi qu'à t_{2h} , J2, J3, J4 et J7, après l'application d'un anti acné de référence (cutacnyl*) pour le lot référence et les deux onguents E1 pour le lot E1 et E2 pour le lot E2 (annexe 3.5). Les moyennes des diamètres des oreilles obtenues des différents lots (E1, E2, Ref et T+) sont illustrées dans le tableau 3.11.

Les diamètres obtenus sont détaillés dans l'annexe 3.6.

Les résultats obtenus dans les différents lots sont illustrés dans les annexes 3.7 et 3.8.

Temps	lots	t_0	t_{2h}	J2	J3	J4	J7
Valeurs							
Moyenne de la taille en (mm)	E1	0.37	0.41	0.64	0.67	0.56	0.57
	Ref	0.37	0.46	0.73	0.68	0.56	0.51
	T (+)	0.36	0.46	0.73	0.76	0.70	0.61
	E2	0.32	0.43	0.80	0.79	0.75	0.72
Pourcentage d'œdème (%)	E1		10.81	72.97	81.08	51.35	44.05
	Ref		24.32	97.29	83.78	51.35	37.83
	T (+)		27.78	100	100	94.44	79.44
	E2		34.37	100	100	93.75	75
Pourcentage d'inhibition (%)	E1			27.03	18.92	45.62	44.54
	Ref			2.73	16.22	45.62	52.38
	E2			0	0	0.73	5.58

Tableau 3.11 : Résultats obtenus durant toute l'étape de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire anti acnéique

Observation clinique

Les principaux indicateurs de l'acné observés dans cette étude comprennent le gonflement (une augmentation remarquable de la taille des oreilles), l'apparition d'érythèmes importants,

des œdèmes ainsi que des comédons (microkyste) et des hématomes dans les lots (E1, E2, Réf et T+).

Une diminution remarquable des symptômes cliniques de l'inflammation est remarquée pour les lots traités E1 (les rats traités avec la crème à base des huiles essentielles) et Réf (les rats traités avec le traitement anti acnéique Cutacnyl). Un début d'une légère diminution des symptômes de l'inflammation a été remarquée pour le lot E2 (les rats traités avec l'onguent à base de la poudre de *moringa oleifera*).

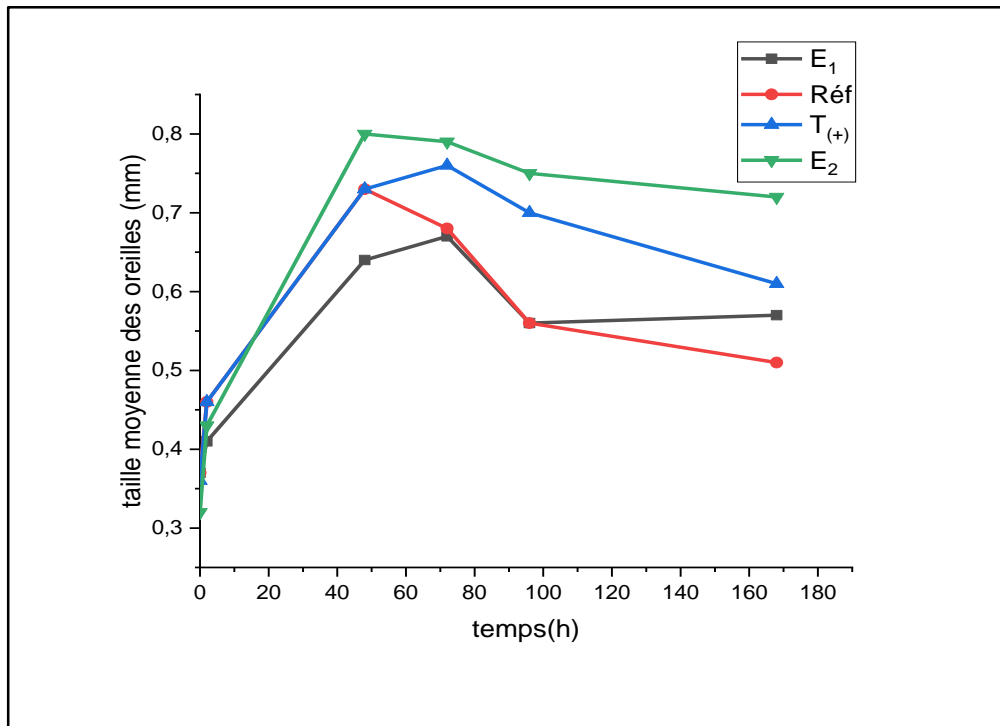


Figure 3.9 : Les moyennes des tailles des oreilles des rats des 4 lots en fonction du temps

D'après la figure 3.9 on remarque dans le :

Lot E1 : une légère augmentation de la taille des oreilles dans le lot traité avec la crème à base des HEs d'*EG* et de *LO* entre t_0 et t_{2h} , entre t_{2h} et le 2^{ème} jour puis une toute légère augmentation le 2^{ème} et le 3^{ème} jour de l'expérimentation due à l'effet de la bactérie, l'application de l'agent phlogogène a provoqué l'apparition d'œdème au niveau des oreilles, cela indique qu'un temps de 02 heures est suffisant pour remarquer la formation d'un œdème. À partir du 3^{ème} jour on remarque le début de la réduction des tailles des oreilles, qui se poursuit jusqu'au dernier jour de notre expérience au fur et à mesure de l'application de la crème, ce qui signifie que notre crème à traiter le gonflement et les signes d'inflammation des oreilles.

Lot Ref : on remarque presque les mêmes résultats que le lot E1 traité avec la crème à base des HEs, une légère augmentation de t_0 à t_{2h} et de t_{2h} au 2^{ème} jour qui est toujours due à l'inflammation provoquée par la solution bactérienne, ainsi qu'une diminution des tailles à partir du 2^{ème} jour jusqu'au dernier jour de l'expérience après chaque application de la référence. Le traitement (cutacnyl*) utilisé est un antiacnéique local qui réduit la production du sébum et qui contient du peroxyde de benzoyle qui est une substance très utilisée dans les préparations anti acné. Ce qui explique les résultats obtenus.

On note que les résultats obtenus pour la crème E1 et celles de la référence sont presque similaires, ceci nous permet de conclure l'efficacité de la crème E1 formulée à base des HEs de *Lavande officinale* et d'*Eucalyptus globulus*.

Lot E2 : la solution bactérienne de *Staphylococcus epidermidis* a provoqué une inflammation traduite par l'augmentation de la taille des oreilles de t_0 à t_{2h} puis de t_{2h} jusqu'au 2^{ème} jour, une légère diminution à partir du 2^{ème} jour jusqu'au dernier jour de l'application de l'expérimentation. La solution de la poudre de *Moringa* dans du propylène glycol a donné un léger effet. L'application de cette solution a montré la possession d'un pouvoir anti inflammatoire de la plante d'une façon légère.

Lot T+ : l'application de l'agent phlogogène seul a entraîné une augmentation de la taille des oreilles de t_0 à t_{2h} , de t_{2h} jusqu'au 2^{ème} jour puis du 2^{ème} jour au 3^{ème}. Une très légère diminution est détectée à partir du 3^{ème} jour ce qui est probablement due au système de défense de l'organisme du rat pour lutter contre le corps étranger qui est la bactérie *S. epidermidis*.

3.5.2.1 Pourcentage d'œdème

L'évolution des pourcentages d'œdème est illustrée dans la (figure 3.10)

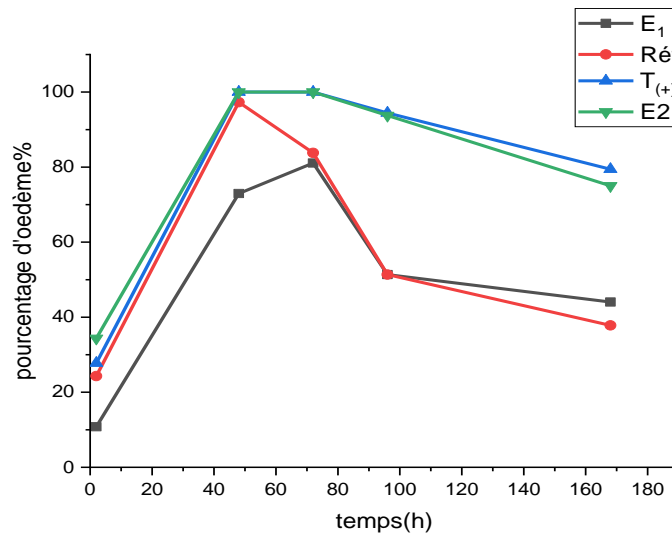


Figure 3.10 : Les pourcentages d'œdème obtenus dans les 4 lots en fonction du temps

Lot E1 : on note d'après la (figure 3.10) un faible pourcentage à t_{2h} début d'apparition du gonflement, qui revient au début de l'inflammation, il augmente avec l'augmentation de la taille des oreilles puis diminue petit à petit depuis le 3^{ème} après chaque application de la crème.

Lot Réf : un faible pourcentage à t_{2h} signe du début d'inflammation, le pourcentage augmente avec l'augmentation de l'apparition des œdème au niveau des oreilles. À partir du 2^{ème} jour le pourcentage diminue petit à petit après application du traitement.

Lot E2 : on note un faible pourcentage à t_{2h} , il augmente avec l'augmentation de la taille, atteignant 100% le 2^{ème} et le 3^{ème} jour puis diminue petit à petit au fur et à mesure de l'application de la crème E1 formulée à base de l'extrait de *MO*.

Lot T+ : un faible pourcentage à t_{2h} , ce pourcentage augmente atteignant 100% puis diminue petit à petit d'une façon moins faible que le lot traité avec la crème E2.

3.5.2.2 Pourcentage d'inhibition de l'inflammation

L'évolution des pourcentages d'inhibition est illustrée dans la (figure 3.11)

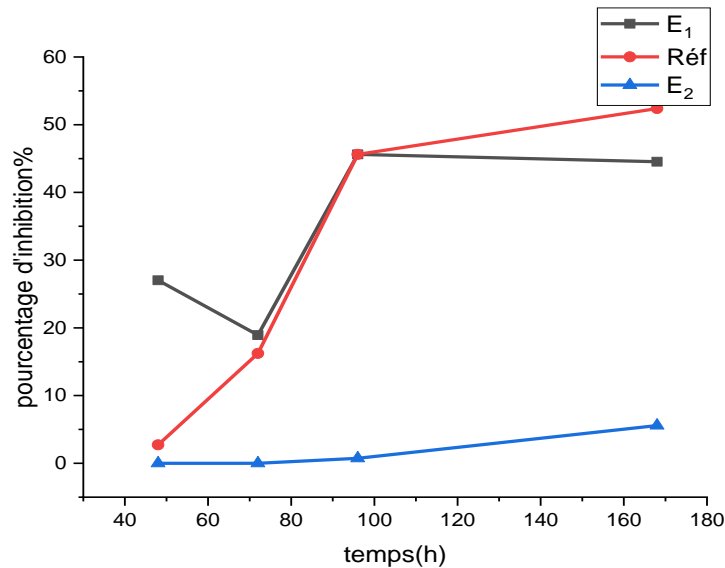


Figure 3.11 : les pourcentages d'inhibition de l'inflammation dans les 3 lots traités en fonction du temps

La diminution de l'inflammation est obtenue à partir du 2^{ème} jour pour tous les lots, c'est pour cela que les pourcentages d'inhibition sont calculés à partir du 2^{ème} jour.

Lot E1 : on remarque selon la (figure 3.11) un certain pourcentage d'inhibition le 2^{ème} jour, l'effet de la crème a commencé à apparaître, le pourcentage diminue d'une façon faible le 3^{ème} jour cela est peut-être dû à une certaine résistance de la bactérie puis augmente une autre fois le 4^{ème} et le dernier jour d'une façon importante. Ceci conclue une autre fois la forte capacité de la crème à base des HEs à inhiber l'inflammation de l'acné causé par la bactérie *S. epidermidis*. L'un des premiers facteurs qui a accéléré la réduction de l'inflammation est étroitement lié à la synergie de l'effet antibactérienne des deux HEs.

Lot Ref : un très faible pourcentage d'inhibition est obtenu le 2^{ème} jour qui augmente d'une façon faible et moins importante que le lot E1 le 3^{ème} jour. Ce même pourcentage augmente, cette fois-ci, d'une façon importante le 4^{ème} et le dernier jour. La différence entre le lot de référence et le lot E1 est insignifiante, ceci revient à la remarque donnée précédemment, les résultats du lot E1 et le lot Ref obtenus sont presque similaires. Par conséquent, l'effet de la crème 1 sur l'inflammation est similaire au traitement de référence commercialisé (Cutacnyl*).

Lot E2 : le pourcentage d'inhibition du lot E2 est apparu à partir du 4^{ème} jour mais d'une façon faible et cela malgré les résultats positifs obtenus dans l'étude anti bactérienne prouvant l'activité de l'extrait de feuilles de *Moringa oleifera* et la crème à base de cet extrait sur la

bactérie *S. epidermidis*. Ce résultat est, probablement, dû à une mauvaise dissolution de la poudre de *Moringa* dans le propylène glycol ou au propylène glycol lui-même.

3.6 Étude histopathologique

L'interprétation histopathologique est faite par Dr Chekkai, au sein de laboratoire Anatomie-pathologie à l'hôpital Nafissa Hamoud –ex hôpital Parnet d'Alger. Les coupes histologiques des oreilles des rats des différents lots traités, témoins et référence colorées à l'hématoxyline éosine et au trichrome de Masson ont été observées par examen microscopique dans le but de mettre en évidence l'état d'avancement du processus de l'inflammation cutanée.

Lot E1 : L'observation microscopique de l'oreille du rat du lot E1 (figure 3.12) a montré une congestion vasculaire faible (\pm), un léger œdème (\pm), présence d'un filtre inflammatoire (+), des lymphocytes (+) et des plasmocytes (+)

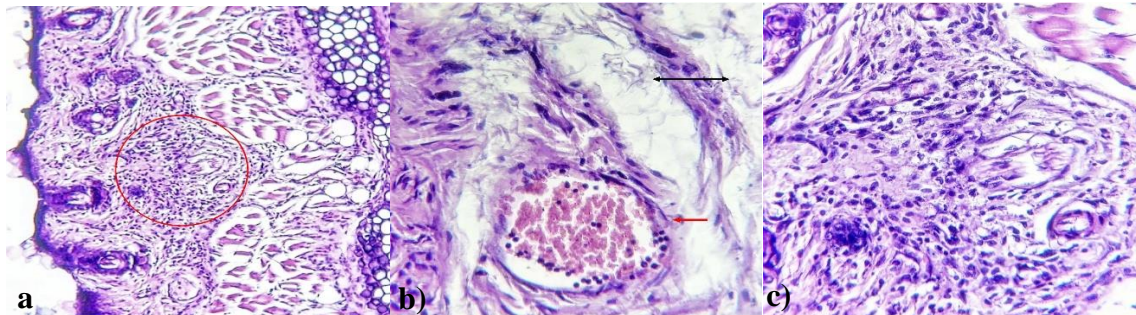


Figure 3.12 : Tissu de l'oreille du rat du lot E1 vu au microscope : a) inflammation (faible grossissement) ; b) congestion (flèche rouge) et œdème (flèche noir) ; c) inflammation (fort grossissement).

Lot E2 : L'analyse microscopique de l'oreille du rat (figure 3.13) a révélé une légère inflammation (+). Une congestion vasculaire (+), présence de lymphocytes (+) ainsi que des polynucléaires (+). Formation d'œdème (+) et de fibrose (+). Aucune ulcération n'est observée.

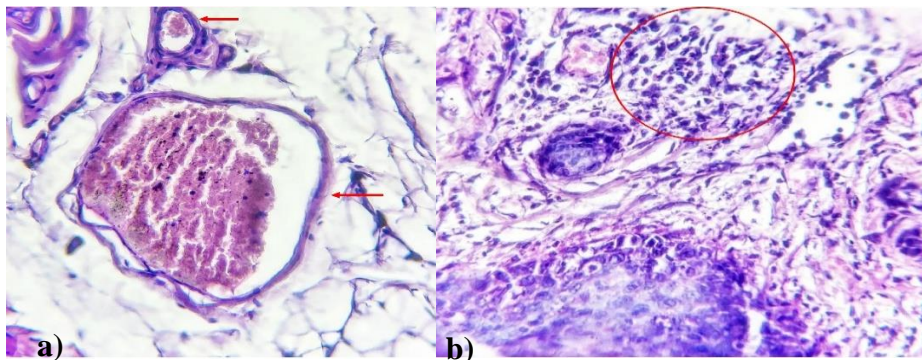


Figure 3.13 : Tissu de l'oreille du rat du lot E2 vu au microscope : a) congestion ; b) inflammation.

Lot Ref : L'observation microscopique de l'oreille du rat du lot Ref (figure 3.14) a révélé une inflammation chronique (+), Présence des lymphocytes et plasmocytes (+), fibroblaste du tissu conjonctif (+) et une congestion vasculaire (+), formation d'œdème (+). Absence de fibrose et d'ulcération. Ces résultats ont révélé l'efficacité du traitement référence utilisé.

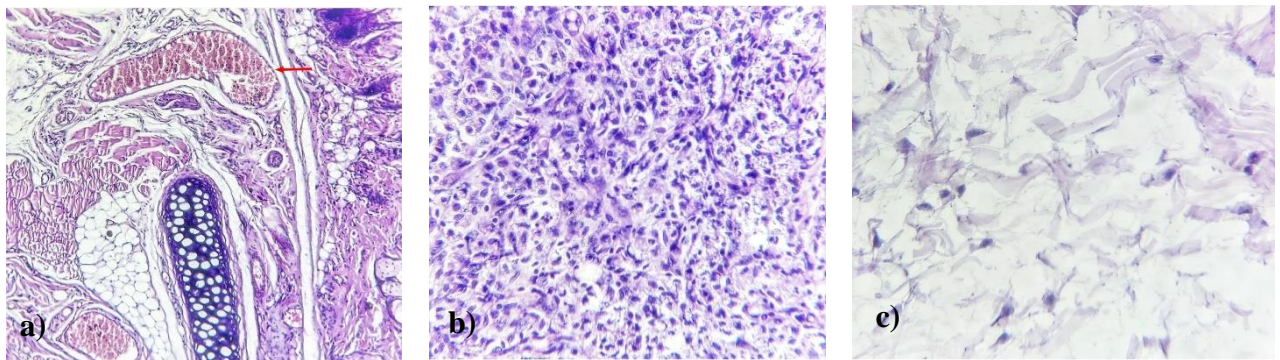


Figure 3.14 : Tissu de l'oreille du rat du lot Réf vu au microscope : a) congestion vasculaire ; b) infiltrat inflammatoire polymorphe ; c) œdème.

Lot T+ : L'examen microscopique de l'oreille du rat du lot T+ (figure 3.15) a révélé une importante inflammation (++) dont la formation de comédons, des microkystes et d'œdème. Forte congestion vasculaire et une absence de fibrose et d'ulcération.

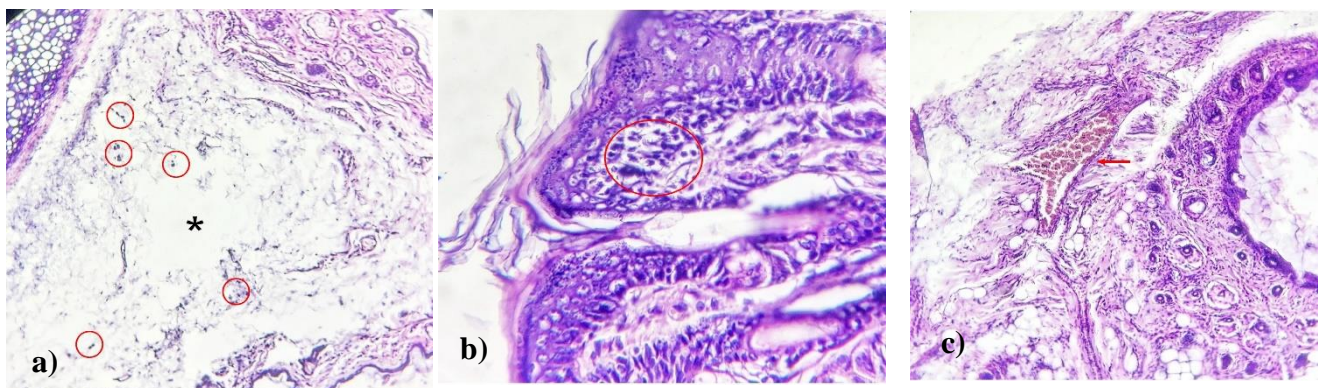


Figure 3.15 : Tissu de l'oreille du rat du lot T+ vu au microscope : a) œdème (Astérix noir) ponctué d'inflammation (rouge) ; b) discrète inflammation ; c) comédons et congestion.

Lot T- : L'examen microscopique de l'oreille du rat de lot T- (figure 3.16) a montré un revêtement cutané régulier et une absence des signes de l'inflammation acnéique.

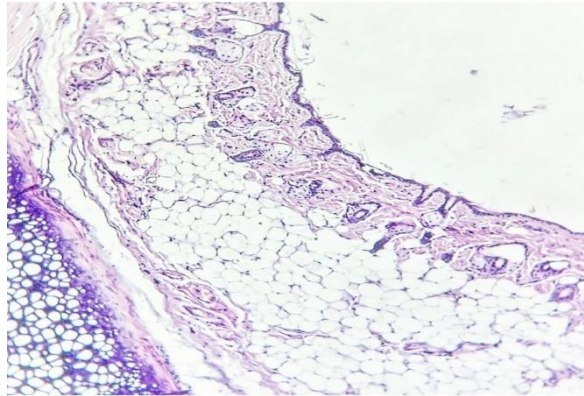


Figure 3.16 : Tissu de l'oreille du rat du lot T- vu au microscope : aspect normal.

Pour conclure, l'étude histopathologique nous a révélé une diminution remarquable de l'inflammation cutanée dans les lots E1 et Réf ce qui confirme l'efficacité de la crème formulée à base des HEs (*lavande officinale* et *Eucalyptus globulus*). Comparé au traitement de référence utilisé vis-à-vis de l'inflammation acnéique, l'ordre d'efficacité est le suivant : $E2 < E1 < Ref$.

La forte apparition des signes dans le lot T+ est dû au fait que le lot a reçu l'injection bactérienne et aucun traitement n'est effectué par la suite. L'absence totale des signes dans le lot T-, est dû au fait que le lot n'a reçu aucune injection inductrice ni traitement.

Les plantes médicinales représentent une source fiable et inépuisable de métabolites secondaires. Ces dernières sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques et suscitent actuellement beaucoup d'intérêt dans le domaine pharmaceutique.

Notre étude a pour principale objectif de valoriser l'utilisation de trois plantes médicinales, *Moringa oleifera*, *Lavande vraie* et *Eucalyptus globulus* dans les produits dermo-cosmétiques pour les peaux à imperfection. Les propriétés les plus communes de ces plantes sont les propriétés anti-inflammatoire et antibactérienne. Ce qui pourrait justifier leur utilisation dans la prise en charge de l'acné.

L'extraction solide-liquide de la poudre de feuilles de *M. oleifera* nous a permis d'obtenir un rendement de 22.66 %. Le screening phytochimiques a mis en évidence la richesse de l'extrait en polyphénols, flavonoïdes, tanins, glycoside cardiaque, anthocyanes, terpénoïdes et saponines ainsi qu'en alcaloïdes. L'étude des caractéristiques physiques et organoleptiques des HEs (*L. Vraie* et *E. globulus*) sont en accord avec les normes de la pharmacopée européenne.

Les tests de contrôle qualités effectués sur les crèmes formulées (crème placebo, crème à base de l'extrait de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* et crème à base des HEs *Lavande vraie* et *Eucalyptus globulus*) montrent qu'elles sont homogènes et stables. De plus elles présentent un pH dans l'intervalle de celui recommandé par la pharmacopée pour les crèmes dermocosmétiques.

Les résultats de l'activité microbiologique vis-à-vis de deux souches bactériennes responsables de l'acné, à savoir *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* ont démontré l'effet inhibiteur de l'extrait et des HEs vis-à-vis de *S. epidermidis* avec un diamètre d'inhibition 12mm pour l'extrait et les HEs et vis-à-vis de *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition qui sont respectivement 40mm, 13mm et 15 mm pour l'HE de *Lavande*, l'HE d'*Eucalyptus* et l'extrait de *Moringa*.

Le test d'irritation des crèmes formulés, chez le lapin a révélé un résultat positif, avec l'absence d'irritation cutanée pour la crème à base des HEs et négatif, avec présence d'irritation pour la crème à base de l'extrait de *Moringa oleifera*.

L'activité anti inflammatoire anti acnéique des onguents à base des HEs et de la poudre de *Moringa* sur des rats WASTER, complétée par une étude histopathologique, a révélé une diminution remarquable de l'inflammation cutanée dans le lot E1 (rats traités par la crème formulée a base des HEs) et le lot Réf (rats traités par le traitement de référence) et une

similarité entre les résultats obtenus dans le lot traité avec la crème à base des HEs et ceux obtenus dans le lot traité par le traitement de référence (Cutacnyl*). Ce résultat confirme l'efficacité de la crème formulée à base des HEs (*Lavande officinale* et *Eucalyptus globulus*).

La légère diminution de l'inflammation observée dans le lot E2 (rats traités par la poudre) implique que la poudre des feuilles de *M. oleifera* a un certain effet anti inflammatoire anti acnéique ce qui concorde avec les résultats donnés par la littérature.

En perspective, plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés, il est souhaitable :

- D'améliorer la méthode d'élimination du solvant d'extraction en utilisant un lyophilisateur au lieu d'un rota vapeur.
- D'étudier la stabilité à différents temps et sous différentes conditions de températures pour estimer la durée de stabilité de nos crèmes.
- De réaliser des essais sensoriels et rhéologiques afin de mieux évaluer leur acceptabilité.
- De faire le test d'activité antibactérienne sur les trois bactéries responsables de l'acné (*Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*) en cherchant également la concentration minimale inhibitrice de l'extrait pour chaque bactérie.
- L'identification des principes actifs responsables de l'activités biologiques, et l'activité antiinflammatoire anti acnéique, avec la détermination des conditions optimales pour l'extraction de ces principes actifs.

- [1] V. Mazzarello, MG. Donadu, M. Ferrari, G. Piga, D. Usai, S. Zanetti and MA. Sotgiu; treatment of acne with a combination of propolis, *tea tree* oil and *Aloe Vera* compared to erythromycin cream: two double-blind investigations, Italy, 2022.
- [2] A. Kumar, S. Baboota, S. Agarwali, J. Ali and A. Ahuja ; treatment of acne with special emphasis on herbal remedies, expert review of dermatology, 2008, pp 111-122.
- [3] W. Ghnimi ; étude phytochimique des extraits de deux *Euphorbiacées* : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*, évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétyle cholinestérase, thèse de doctorat, Université de Lorraine, 2015.
- [4] F. Nadeem, MA. Hanif, IA. Bhatti and SM. Ahmed Basra; *Moringa* medicinal plants of south asia, 2020, pp 509-523.
- [5] Christos HASSIOTIS, Konstantinos VLACHONASIOS et Diamanto LAZARI; The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula Angustifolia mill*, Fresenius environmental bulletin, 2010, 19: 1491-8
- [6] A. Lobsteina, F. Couic-Marinierb et N. Koziolc; fiche aromathérapie, huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus*, 2017.
- [7] OS. Ijarotimi, OA. Adeoti and O. Ariy; comparative study on nutrient composition, phytochemical and functional characteristics of raw, germinated and fermented *Moringa oleifera* seed flour, Food science and nutrition, 2013, vol.1.No (6), pp. 452– 463.
- [8] R. Haldar and S. Kosankar; *Moringa oleifera*: the miracle tree, Inde, international journal of advance research, ideas and innovations in technology, 2017, V 3, I 6, pp.966- 970.
- [9] SA. Haiti ; Analyse des Potentialités de l'Exploitation du *Moringa* en Haïti, Agroconsult, ministère de l'agriculture, des ressources naturelles et du développement rural, banque de la république d'Haïti (BRH), port-au prince, 2016.
- [10] KA. Yongabi; A sustainable Low-Cost phyto disinfectants and filter alternative for water purification, thèse de doctorat, université d'Adelaide, Australie,2012, p 207.
- [11] MM. Yusoff; Aqueous enzymatic extraction of *Moringa oleifera* oil with high pressure processing pre-treatment, thèse de doctorat, the university of Reading, Angleterre, 2016, p214.

- [12] Obafèmi Arnauld Fernand LALEYE, Hyacinthe AHISSOU, Abiodoun Pascal OLOUNLADE, Erick Virgile Bertrand AZANDO et Anatole LALEYE; Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordicacharantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae), 2015.
- [13] F. Ahakmani, S. Kumar, A. Okindra, and A. Khan ; Estimation of total phenolic content, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicin, 2013, 3(8), 623-627.
- [14] N. Foidl, H. Makkar et K. Becker ; Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits de *Moringa*. Dar es- Salaam, Tanzanie, 2001.
- [15] Upasana SINGH, Chandraprakash DWIVEDI, Ume KULSUM, Nikita VERMA, Swarulata SARAF AND Dusmanta Kumar PRADHAN; phytochemistry and medical use of *moringa oleifera*: an overview, Journal of drug delivery and therapeutics, 2017.
- [16] AV. Giridhari, D. Malathi and K. Geetha; Antidiabetic property of drumstick (*Moringa oleifera*) leaf tablets. International Journal of Health and Nutrition. 2011,2 (1): 1-5.
- [17] F. Anwar, S. Latif, M. Ashraf, and AH. Gilani; "*Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses." Phytotherapy research, 2007, 21(1), 17-25.
- [18] Afra CHAIRUNNISA, Eni MASRURIATI et milf ARIYAANTI ; Efficacité du gel extrait éthanol 70% de feuille de *moringa (moringa oleifera)* contre *propionibacterium acnes*, pharmaceutical and traditional medicine, 2017.
- [19] Cahyarani Intan RAMADHANI et Dian Eka ERMAWATI ; Formulation du Gel Anti-Acné de *Moringa oleifera*, L. Extrait éthanolique et test bactériostatique sur *Staphylococcus epidermidis*, 2020.
- [20] Maud BELMONT ; *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula x intermedia* E. : études botaniques, chimiques ET thérapeutiques, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, 2013.
- [21] A. Djerroumi et al ; 100 Plantes médicinales d'Algérie. Edition Houma, 2004

- [22] F. Harnist ; L'huile essentielle de lavande officinale : état des connaissances sur ses potentialités thérapeutiques, thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 2013.
- [23] CJ. Chu et KJ. Kemper; *Lavender (Lavandula spp.)*. Longwood Herbal Task Force. Boston, 2001, p 32.
- [24] Z. Mohammedi, F. ATIK ; Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas L*, Laboratoire des Produits Naturels, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, 2012, P : 34-39.
- [25] Y. Zu, H. Yu, L. Liang and al; Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells, *Molecules*. 2010, 15 : 3200-10.
- [26] P. Schauenberg et F. Paris ; Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, 2010.
- [27] N. Meksem ; Étude de l'effet Biopesticide Des Extraits Naturels de deux plante de la famille des *Myrtacees* : *Eucalyptus globulus*. *Eucalyptus camaldulensis*, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2018 pp 18.
- [28] P. Goetz, K. Ghedira ; Phytothérapie anti-infectieuse. Ed. France, springer verlag, 2012, pp382.
- [29] Erau Pauline ; l'*eucalyptus* : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine, thèse doctorat, Université de Marseille, 2019.
- [30] M. Bouras ; Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques, thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2019.
- [31] Asma FETTAH, Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium L.* sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra, thèse doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra, 2019.
- [32] K. Ghedira ; Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005, Vol 3(4); pp 162-169.

- [33] GR. Beecher; Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake, American Society for Nutritional Sciences, 2003, 133 (10), 3248S-3254S.
- [34] Christine A. Williams and Renée J. Grayer; Anthocyanins and other flavonoids, the University of reading, UK, 2004.
- [35] M. Boudjouref ; Étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L*, thèse Magister, Université Ferhat Abbes, Sétif, 2011.
- [36] Jürgen REICHLING, Paul SCHNITZLER, Ulrike SUSCHKE and Reinhard SALLER ; Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview, Germany, 2009.
- [37] Huang GUANGRONG, Jiang JIAXIN, Dai DEHUI ; Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala S. Moore*, China, 2008.
- [38] I. Aouam, Y. El Atk, A. Taroq, F. El Kamari and A. Abdellaoui ; chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activities of two moroccan thymus essential oils, University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Morocco, 2019.
- [39] J. Boutonnat ; histologie-étude des tissus : la peau, faculté de médecine de Grenoble, 2007.
- [40] Chantal KOHLER, les annexes cutanées ,2012.
- [41] Elsevier MASSON ; Structure des annexes cutanées, Annales Dermatologie Vénérologie, 2005 ;132 :8S5-48.
- [42] A. Méliopoulos, C. levacher ; La peau : structure et physiologie, 2^e édition, 2001.
- [43] CH. Williams, RP. Dellavalle, S. Garner; Acne vulgaris. The Lancet. 2012; 379 (9813): 361- 72.
- [44] Lizelle Fox, Candice Csongradi, Marique Aucamp, Jeanetta du Plessis and Minja Gerber ; Treatment Modalities for Acne, South Africa, Molecules 2016, 21, 1063.
- [45] A. Pappas, JC. Liu and M. Eisinger ; Sebum analyses of unaffected and acne-affected individuals, USA, 2009, 60 (3), AB12.

- [46] FJ. Ebling; hormonal control and methods of measuring sebaceous gland activity. Br J Dermatol, USA, 1974; 82: 146–151.
- [47] Donald P. Looking bill, MD. Richard Horton; Tissue production of androgens in women with acne, USA, 1985; vol 12, number 3, 481-486.
- [48] Y. Charde, PH. Sharma, N. Choudhary & J. Avari; Development and evaluation of herbal formulation for the treatment of acne. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2013, pp. 2250-2260.
- [49] P. Agache; Current Status in Sebum Knowledge, International Journal of Dermatology 1982, Volume 21, Issue 6: p 304–315.
- [50] L. Felton. Remington Essentials of pharmaceuticals Philadelphia Pharmaceutical press, USA, 2013. p.448- 449.
- [51] J. Dupont ; Procédés micro fluidiques d'émulsification : Potentiel pour la pharmacie. Thèse de Doctorat : Pharmacie, Université de Lille 2, 2017.
- [52] P. Brochette ; Emulsification : Élaboration et étude des émulsions. Techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés. 1999, J2150 : 1-18.
- [53] MI. Derras et M. Bechlaghem ; Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge. Thèse de Doctorat : Pharmacie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.2017.

- [54] A. Dahmoune-Akkouche ; recherche de composés bioactifs à partir de plantes médicinales issues de la biodiversité algérienne, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, 2021.
- [55] GE. Evans and WC. Charles ; Antioxidant Activity of the Natural Flavonoid 7-Hydroxy-5,6,4'-trimethoxy flavone Isolated from the Leaves of *Lippia rugosa* A. Chev, 13e éd, London, 1989, vol. 13 p. 546.
- [56] N. Ouis ; étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat : chimie organique, université d'Oran, 2015.
- [57] Pharmacopée européenne 6^{ème} Edition, version française, 2008.
- [58] Shayne C. Gad; In Vitro toxicology, 2^{ème} edition. CRC press, 2000.
- [59] Denis BOUCHARD ; Guide d'anatomopathologie, Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec, 2014.
- [60] A. Benarima ; Optimisation des conditions ultrasoniques d'extraction des composés phénoliques de *Moringa Oleifera* et leur activité antioxydante, thèse de doctorat : Génie des procédés, Procédés et énergie, Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued, 2021.
- [61] N. Boussoufa ; Effet des extraits de *Moringa oleifera* sur les isolats des *staphylocoques* à coagulase négative, mémoire de Master en microbiologie appliqué, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 2018.
- [62] Awa NDIAYE, Alioune DIORFALL, Khadim NDIAYE, Rokhaya Sylla GUEYE, Emmanuel BASSENE, Amadou Moctar DIEYE, Guata YORO SY et Mamadou NDIAYE ; Évaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *moringa oleifera lam (moringaceae)* du Sénégal, 2018, 12(4) : 1816-1823.
- [63] : UC. Roopalatha and V. Mala Nair ; Phytochemical analysis of successive re-extracts of the leaves of *Moringa oleifera Lam*, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2013, 5(3) : 629-634.

- [64]: M. Shahriar, MD. Hossain I, ANM. Bahar, S. Akhter, MD. Haque A, MA. Bhuiyan MA; Preliminary phytochemical screening, in-vitro antioxidant and cytotoxic activity of five different extracts of *Moringa oleifera* leaf, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2012, 2(05): 65-68.
- [65] : MN. Boukhatem, Y. Hakim, MS. Hamaidi et F. Saidi ; Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens L*) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie), « Nature et Technologie », Blida, N° 03/Juin 2010. Pages 37 à 45.
- [66] : FZ. Sadou, N. Hemoudi, N. Rabhi, F. Kecili ; Formulation d'une crème anti brûlure à base de plante *carthamus caeruleus l*. Thèse de doctorat : pharmacie, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, 2020.
- [67] H. Millogo-Koné, BF. Kini, Z. Yougbaré, MB. Yaro, M. Sawadogo ; Études de la phytochimie et de l'activité antimicrobienne in vitro des feuilles de *Moringa oleifera (Moringaceae)*, Burkina Faso, 2012, Vol. 16.

Matériels et méthodes

Annexe 2.1: Refractomètre Abbe.



Annexe 2.2 : Identification, étiquetage et pesé des rats.



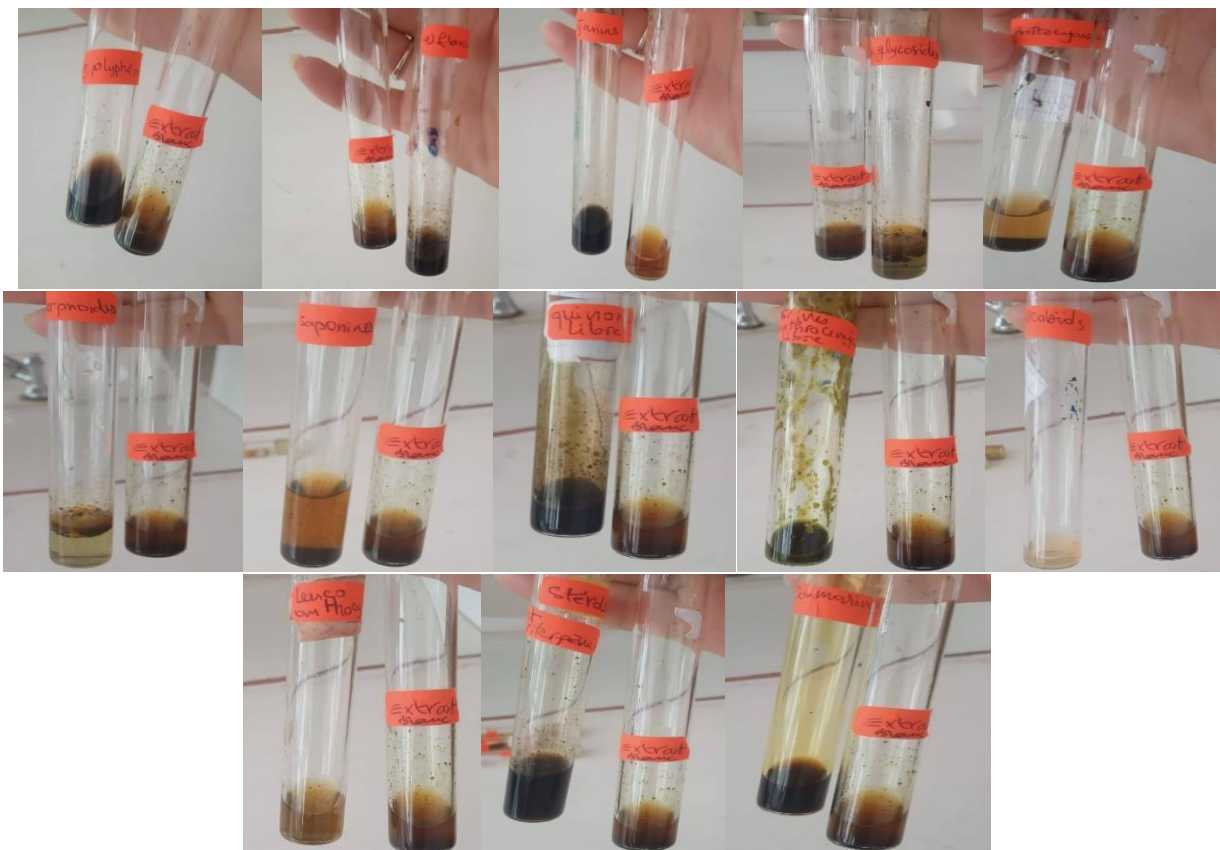
Annexe 2.3 : Les étapes de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire anti acnéique.



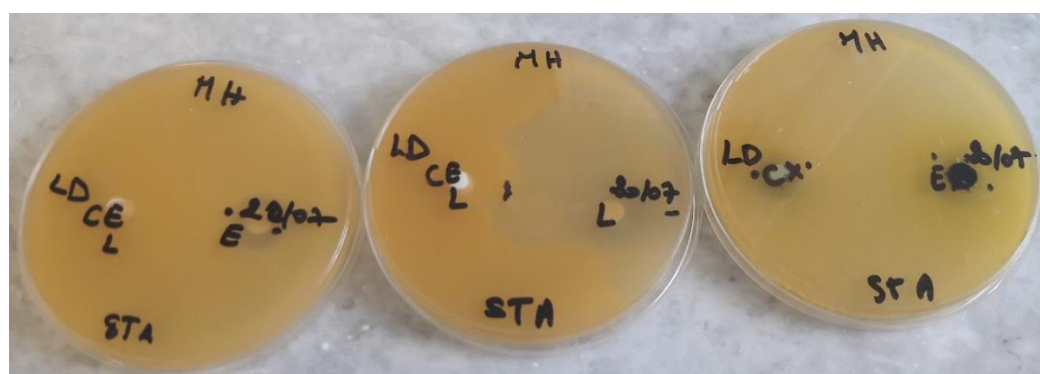
a) Kétamile et Xylazine, **b)** Anesthésier les rats, **c)** les rats sont bien endormis après l'anesthésie, **d)** Mesurer le diamètre de l'oreille droite de chaque animale, **e)** Faire une injection intradermique au niveau de l'oreille droite en face interne de la solution inductrice bactérienne, **f)** appliqué onguent à base de la poudre de moringa, **g)** appliqué onguents a base des HEs, **h)** cutacnyl.

Résultats et discussion

Annexe 3.1 : résultats du screening phytochimique.

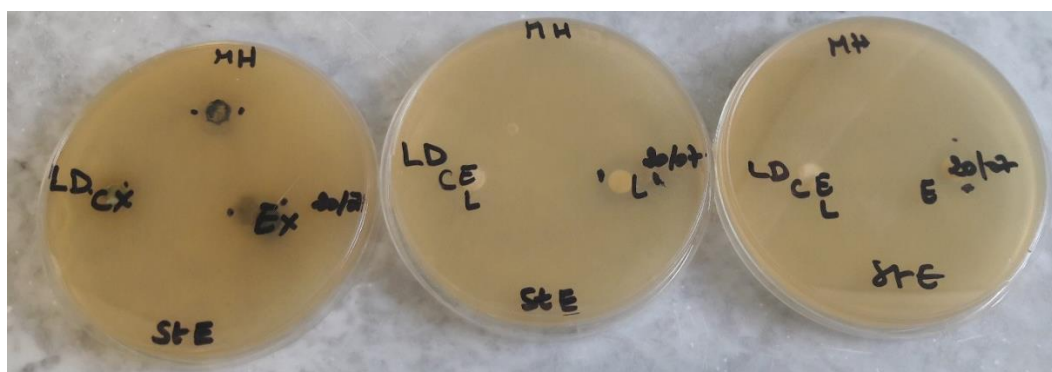


Annexe 3.2 : les zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus*.



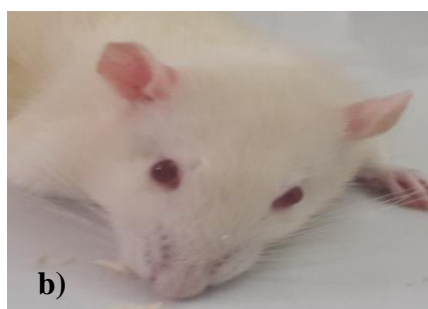
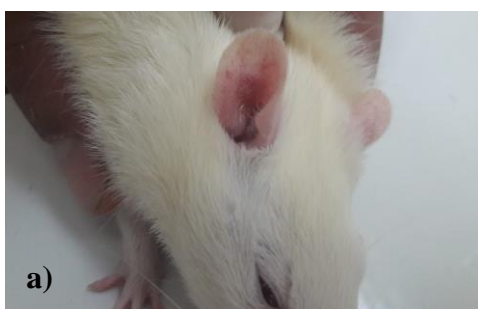
MH : Mueller Hinton ; **C(EL)** : crème a base des HEs *EG* et *LO* ; **E** : *Eucalyptus glouulus* ; **L** : *Lavande officinale* ; **C(X)** : crème à base de l'extrait de *MO* ; **Ex** : extrait de *Moringa oleifera* ; **STA** : *Staphylococcus aureus*.

Annexe 3.3 : les zones d'inhibition *Staphylococcus epidermidis*.

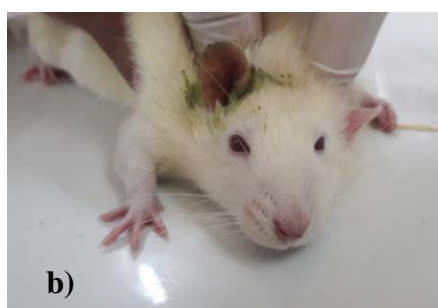
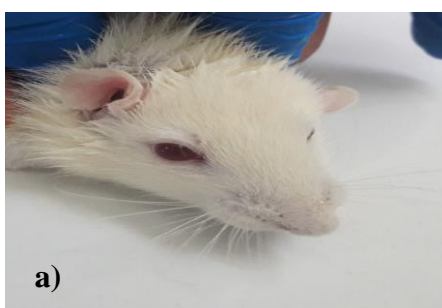


STE : *Staphylococcus epidermidis*.

Annexe 3.4 : a) Début d'inflammation après injection de la bactérie et avant traitement ;
Oreille saine à t_0



Annexe 3.5 : Application des deux crèmes : a) crème 3 ; b) crème 2



Annexe 3.6 : les diamètres mesurés des oreilles des rats des différents lots.

LOT E1

N° rat	Temps					
	T ₀	T _{2h}	J ₂	J ₃	J ₄	J ₇
R1	0.36	0.40	0.69	0.78	0.64	0.59
R2	0.33	0.35	0.76	0.64	0.56	0.56
R3	0.37	0.40	0.65	0.78	0.57	0.58
R4	0.36	0.45	0.57	0.57	0.49	0.60
R5	0.42	0.46	0.52	0.59	0.56	0.51

LOT T+

n° rat	Temps					
	T ₀	T _{2h}	J ₂	J ₃	J ₄	J ₇
R1	0.38	0.48	0.88	0.97	0.72	0.72
R2	0.40	0.49	0.62	0.69	0.70	0.70
R3	0.35	0.39	0.68	0.81	0.64	0.64
R4	0.34	0.48	0.71	0.61	0.70	0.70
R5	0.35	0.47	0.77	0.74	0.77	0.77

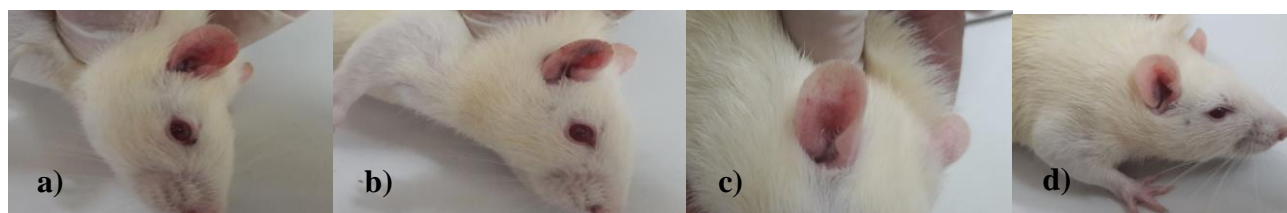
LOT REF

N° rat	Temps					
	T ₀	T _{2h}	J ₂	J ₃	J ₄	J ₇
R1	0.37	0.42	0.74	0.66	0.52	0.51
R2	0.40	0.48	0.50	0.60	0.47	0.49
R3	0.37	0.42	0.69	0.71	0.66	0.51
R4	0.32	0.48	0.88	0.59	0.53	0.46
R5	0.39	0.49	0.83	0.86	0.65	0.58

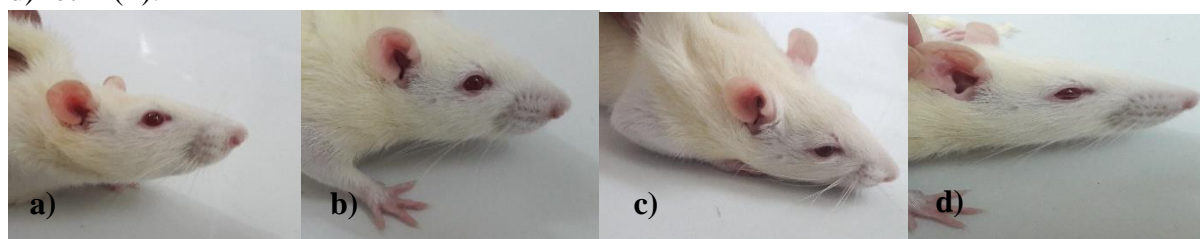
LOT E2

N° Rats	Temps					
	T ₀	T _{2h}	J ₂	J ₃	J ₄	J ₇
R1	0.34	0.44	0.92	0.90	0.62	0.68
R2	0.34	0.43	0.80	0.74	0.51	0.52
R3	0.32	0.40	0.66	0.99	0.74	0.58
R4	0.30	0.43	0.72	0.73	0.58	0.46
R5	0.33	0.45	0.90	0.60	0.64	0.56

Annexe 3.7 : oreilles de différents lots après 48h (J2) : a) lot E1 ; b) lot E2 ; c) lot Ref ; d) lot T (+).



Annexe 3.8 : Les oreilles des différents lots après 96h (J4) : a) lot E1 ; b) lot E2 ; c) lot Ref ; d) lot T (+).



Résumé

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité anti acnéique des plantes *Moringa oleifera*, *Lavandula angustifolia* et l'*Eucalyptus globulus*.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Moringa oleifera* obtenu par macération est très riche en polyphénols, flavonoïdes et alcaloïdes. L'évaluation du pouvoir antibactérien, par la méthode de diffusion sur disque, de l'extrait de *Moringa oleifera*, des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et d'*Eucalyptus globulus* et des deux crèmes dermo-cosmétique formulées à base du même extrait et des deux huiles essentielles étudiées a révélé des capacités antibactériennes variables des échantillons testés vis-à-vis des bactéries impliquées dans l'acné (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*). Tandis que l'évaluation de l'activité anti inflammatoire antiacnéique de la poudre de *Moringa oleifera* et de la crème formulée à base des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et d'*Eucalyptus globulus* réalisée par des tests précliniques sur des oreilles des rats a montré l'efficacité de la crème formulée à base des deux huiles. Une équivalence des effets entre le traitement anti acnéique de référence et la crème formulée à base des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* et d'*Eucalyptus globulus* a été révélée. Un résultat positif, à faible pourcentage, a été obtenu également avec la poudre de *Moringa oleifera*. Ces résultats ont été confirmés par une observation histologique au microscope optique des tissus des oreilles des rats.

Mots clé : *Moringa oleifera*, *Lavandula angustifolia*, *Eucalyptus globulus*, pouvoir antibactérien, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, activité anti inflammatoire anti acnéique, huiles essentielles, extrait, tests précliniques, histologique.

Abstract

The objective of this work is to evaluate the anti-acne activity of *Moringa oleifera*, *Lavandula angustifolia* and *Eucalyptus globulus* plants.

The results obtained showed that the hydro-alcoholic extract of *Moringa oleifera* leaves obtained by maceration is very rich in polyphenols, flavonoids and alkaloids. The evaluation of the antibacterial power by the disc diffusion method of *Moringa oleifera* extract, essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Eucalyptus globulus* and the two dermo-cosmetic creams formulated with the same extract and two essential oils studies revealed variable antibacterial capacities of the samples tested against the bacteria involved in acne (*Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*). While the evaluation of the anti-inflammatory anti-acne activity of *Moringa oleifera* powder and the cream formulated with the essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Eucalyptus globulus* carried out by preclinical tests on rat ears showed the effectiveness cream formulated with the two oils. An equivalence of the effects between the reference anti-acne treatment and the cream formulated with the essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Eucalyptus globulus* has been revealed. A positive result with a low percentage was also obtained for *Moringa oleifera* powder. These results were confirmed by histological observation under an optical microscope of the tissues of the ears of the rats.

Key words: *Moringa oleifera*, *Lavandula angustifolia*, *Eucalyptus globulus*, antibacterial power, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, anti-inflammatory anti-acne activity, essential oils, extract, preclinical tests, histology.