

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



Université de Saad
DahlebBlida



Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

Formulation d'émulsions à base d'huiles
essentielles en vue d'un traitement alternatif de
l'alopécie androgénique : évaluation de l'activité
biologique sur modèle animal

Thèse d'exercice

Présentée en vue de l'obtention du diplôme
de Docteur en Pharmacie

Présentée par : FIDJEL SARA DJEBLI EZZEHOUR
MOUSSOUS HADJER

Devant le jury

Dr M.BENAMARA

Présidente

MAA en
Microbiologie

Dr S.MELIANI

Examineur

MAA en
Pharmacognosie

Pr N. AYACHI

Encadreur

Professeur en Ph.
Galénique

Session : 2020-2021

REMERCIEMENT

Le travail de cette thèse a été réalisé au sein de plusieurs laboratoires dans le cadre du vaste projet de valorisation des plantes médicinales. Il a pu voir le jour grâce à l'aide et l'encouragement de nombreuses personnes dont les mots ne suffisent pas pour les remercier.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à...

Madame la **Pr N. AYACHI** notre promotrice, qui a guidé, surveillé le déroulement et l'exécution de ce travail en nous prodiguant toute aide disponible, et en nous consacrant de son temps précieux.

Pour tous ce qu'elle nous a appris durant toutes nos années d'étude.

Madame la **Dr M. BENAMARA** Maitre-Assistante en Microbiologie d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de thèse. Nous tenons à signaler que votre présence en tant que présidente nous honore.

Madame la **Dr S. MELIANI** Maitre-Assistante en Pharmacognosie d'avoir accepté de juger ce travail et nous honoré par sa présence. Que vous trouvez ici toute notre gratitude.

Monsieur Noureddine Aidi, Propriétaire d'une entreprise artisanale d'extraction des huiles essentielles **VIEBIO**, pour l'accueil qu'il nous a réservé au sein de son entreprise, et nous a beaucoup aidé pour réaliser une partie de notre travail, qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

Nous adressons également nos sincères remerciements à Madame **Docteur NABI IKRAM** et Monsieur **Docteur SALIM DJELLOULI** Maitre-assistant en pharmacologie pour leurs aides concernant la réalisation des tests in vivo.

Nous voudrions remercier, aussi, l'ensemble du personnel de laboratoire de contrôle qualité **Venus Blida** pour leurs aides concernant la réalisation des analyses physico-chimiques des formulations étudiées.

Les personnes qui ont supporté nos humeurs durant cette décennie, qui nous ont motivés, encouragés et poussés pour terminer ce travail quand c'était nécessaire.

Nos remerciements plus particulièrement à nos familles qui nous ont donnés toujours la volonté pour continuer.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail et que nous ne l'avons pas mentionné par son nom, qu'elle trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.

Resumé

L'alopecie androgenetique (AGA) est le type de perte de cheveux le plus courant chez les hommes et les femmes, affectant environ 50% des patients avant l'age de 50 ans. Elle resulte de deux facteurs : une predisposition genetique et l'action des androgenes.

En presence d'un terrain genetique favorable, les follicules pileux du dessus du crane sont particulierement sensibles a l'action des androgenes, et en particulier d'un metabolite de la Testosterone sous l'action d'une enzyme : la 5-alphas reductase, c'est la Dihydrotestosterone (DHT), ou elle va penetrer dans le noyau du follicule pileux et diminuer la synthese protidique ce qui fragilise les cheveux.

Notre etude vise a valoriser l'efficacite des huiles essentielles dans le traitement de l'alopecie androgenetique (AGA) et a comparer ses effets avec le Minoxidil 5%. L'alopecie a ete induite chez des souris BALB/C, par l'administration de Testosterone par voie sous-cutane pendant 21 jours. Des microemulsions a base des HEs ont ete appliquees sur la surface du dos des animaux nus (0.5ml /jour/souris) et les observations ont ete faites pendant 1, 3, 6, 9, 17 et 21 jours de traitement. Les resultats de l'activite anti-androgenique de nos produits ont montre que toutes les HEs utilisees ont une efficacite vis-a-vis l'alopecie androgenique a des degres divers.

Abstract

Androgenetic alopecia (AGA) is the most common type of hair loss in men and women, affecting about 50% of patients before the age of 50. It comes from two factors: a genetic predisposition and the action of androgens.

In the presence of a favorable genetic background, the hair follicles above the skull are particularly sensitive to the action of androgens, and in particular of a testosterone metabolite under the action of an enzyme: 5-alpha reductase, it is Dihydrotestosterone (DHT), where it will penetrate into the nucleus of the hair follicle and decrease protein synthesis which weakens the hair.

Our study aims to enhance the effectiveness of essential oils in the treatment of androgenetic alopecia (AGA) and to compare its effects with Minoxidil 5%. Alopecia was induced in BALB / C mice by administration of testosterone subcutaneously for 21 days. EO-based microemulsions were applied to the surface of the back of the hairless animals (0.5 ml / day / mouse) and the observations were made during 1, 3, 6, 9, 17 and 21 days of treatment. The results of the anti-androgenic activity of our products have shown that all the EOs used have an efficacy against androgenic alopecia to varying degrees.

ملخص

الصلع الوراثي هو أكثر أنواع تساقط الشعر شيوعاً لدى الرجال والنساء ، حيث يصيب حوالي 50% من المرضى قبل سن الخمسين. يظهر الصلع الوراثي بسبب عاملين: عامل الوراثي و الأندروجينات. في ظل وجود خلفية وراثية مواتية ، تكون بصيالات الشعر الموجودة فوق الجمجمة حساسة بشكل خاص لتأثير الأندروجينات ، وعلى وجه الخصوص مستقلب التستوستيرون تحت تأثير إنزيم: اختزال 5-ألفا ، وهو ثنائي هيدروتستوستيرون ، حيث تخترق نواة بصيالات الشعر وتقلل من تخليق البروتين الذي يضعف الشعر. تهدف دراستنا إلى تعزيز فعالية الزيوت العطرية في علاج الصلع الوراثي ومقارنة تأثيرها مع المينوكسيديل 5%. تم إحداث تساقط الشعر في الفئوان عن طريق حقن هرمون التستوستيرون تحت الجلد لمدة 21 يوماً. تم تطبيق المستحضرات الدقيقة المستندة إلى الزيوت الأساسية على سطح مؤخره الحيوانات الخالية من الشعر (0.5 مل / يوم / فأر) وتم إجراء الملاحظات خلال 1 و 3 و 6 و 9 و 17 و 21 يوماً من العلاج. أظهرت نتائج النشاط المضاد للأندروجين لمنتجاتنا أن جميع حالات الإصابة بمرض الذكورة المستخدمة لها فعالية ضد الصلع الوراثي بدرجات متفاوتة.

Liste des abréviations

ADN :	Acide Désoxyribo Nucléique
AAG :	Alopécie androgénique
AAGF :	Alopécie androgénique féminine
AAGM :	Alopécie androgénique masculine
AFNOR	Association Française de NORmalisation
ANSM :	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
AM :	L' Ampicilline
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
AMP cyclique :	Adénosine monophosphate cyclique
ATB :	Antibiotique
Co₂ :	Gaz carbonique
DHT :	Dihydrotestostérone
DO :	Densité optique
JC	Jésus-Christ.
HLB :	Balance hydrophile lipophile
IPA :	Institut Pasteur d'Algérie
ISO :	Organisation internationale de normalisation
GC/SM :	Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse
Gène AR :	Androgène récepteur
HE :	Huile essentielle
Les émulsions (e/h) ou H /L :	Les émulsions « eau – dans – huile »
Les émulsions (h/e) ou L/H :	Les émulsions « huile – dans – eau »
Les émulsions multiples (e/h/e) ou (h/e/h) :	Les émulsions « eau – dans – huile -dans – eau » ou les émulsions « huile – dans -eau -dans – huile »
MRSA :	Staphylocoque doré résistant à la méticilline.
MV :	matière végétale
NCS :	Natural complex substances « extraits naturels complexes »
PCA :	Plate Count Agar
ORL :	Oto-rhino-laryngologie
REACH :	Enregistrement, Evaluation et Autorisation des produits Chimiques
Recepteur RM :	Récepteur aux minéralo-corticoïdes

SC : SABOURAUD CHLORAMPHENICOL
Tr /min : Tour / minute
UFC : Unité formant colonie
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

Symboles

V	Vitesse de migration de la goutte (m.s ⁻¹).
g	Accélération due à la pesanteur (m.s ⁻²).
$\Delta\rho$	Différence entre les masses volumiques des phases (kg.m ⁻³).
r	Rayon de la goutte (m).
η_c	Viscosité dynamique de la phase continue (Pa.s).
ml	Millilitre
g	Gramme
μm	Micromètre
KHz	L'unité dérivée de fréquence des ondes radioélectriques du système international
pH	Potentiel hydrogène
mm	Millimètre
McFarland	Référence pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes
UFC /ml	Units forming colony /ml
°C	Degré Celsius
60°	60 Degré
RPM	Revolution per minute (rotation par minute)
$\mu\text{S/cm}$	MicroSiemens unité de mesure de conductance électrique du Système international
m	Mètre
cm	Centimètre
kg	kilogramme
%	Pourcentage
mPa.s,	milliPascal.seconde unité de mesure de la viscosité
$\mu\text{S/cm}$	microSiemens/cm unité de mesure de la conductivité

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : La structure d'un cheveu et de ses annexes.....	05
Figure 02 : Cycle du cheveu	06
Figure 03 : Conversion de la Testostérone en Di-Hydro testostérone (DHT).....	08
Figure 04 : Miniaturisation du cheveu sous l'effet de la DHT	11
Figure 05 : Classification des AAG masculines.....	12
Figure 06 : Classification des AAG féminine.....	13
Figure 07: Le mode d'action du Minoxidil.....	15
Figure 08 : Mode d'action du finastéride.....	16
Figure 09 : Photo de René-Maurice Gattefossé.....	20
Figure 10 : Extraction par distillation à la vapeur.....	23
Figure 11 : Schéma d'extraction par hydrodistillation.....	24
Figure 12 : Schéma (a) et photo(b) représentant l'extraction par expression à froid.....	25
Figure 13 : Schéma d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.....	26
Figure 15 : Planche de <i>Rosmarinus officinalis</i> L feuilles et fleurs de <i>R. officinalis</i> L.....	30
Figure 16: L'huile essentielle de romarin.....	31
Figure 17: Planche de <i>Lavandula angustifolia</i> L (c) plante lavande vraie(d)	34
Figure 18 : L'huile essentielle de lavande.....	36
Figure 19 : Planche de <i>Mentha spicata</i> L.(e) feuilles de menthe verte (f)	37
Figure 20: Fleur de Menthe verte	38
Figure 21 : L'huile essentielle de Menthe.....	38
Figure 22 : Planche <i>Pistacia lentiscus</i> (j) fruit de lentisque (h)	41
Figure 23: l'huile essentielle de lentisque.....	42
Figure 24 : Emulsion : phase dispersée et phase dispersante.....	44
Figure 25: Différents types d'émulsions. (a. émulsion directe, b. émulsion inverse, c. émulsion multiple à phase continue aqueuse et d. émulsion de Janus.....	46
Figure 26 : les différents mécanismes de déstabilisation des émulsions simples.....	48
Figure 27: Procédé à membrane.....	51
Figure 28: Procédé d'émulsification.....	56
Figure 29 : Schéma récapitulatif de démarche expérimental.....	61
Figure 30 : Carte géographique indiquant le lieu de récolte.....	62
Figure 31: Extraction de l'hydrolat de l'ortie dans un Clevenger (société VieBio Blida).....	67
Figure 32: L'ensemencement.....	69
Figure 33 : Etapes de réalisation de l'aromatogramme.....	70

Figure 34 : Représentation schématique du protocole utilisé pour réaliser la méthode d'inversion de phase en micro-émulsion.....	73
Figure 35 : Représentation du protocole utilisé pour réaliser la méthode d'inversion de phase en micro-émulsion.....	74
Figure36 : Répartition des lots dans laboratoire De Pharmacologie université de Blida.....	80
Figure 37 : Injection par voie sous-cutanée des souris.....	80
Figure 38: Pulvérisateur utilisé.....	80
Figure 39: Aspect d'une micro-émulsion de Romarin.....	81
Figure 40 : Rhéomètre PHYSICA®.....	82
Figure 41 : Mesure de conductivité.....	83
Figure 42 : Mesure de pH des microémulsions.....	83
Figure 43: Mesure de la viscosité.....	84
Figure 44 : La balance et pycnomètre.....	84
Figure 45 : Schéma de préparation de la suspension.....	85
Figure 46: Schéma de réalisation du contrôle microbiologique.....	86
Figure 47 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle du Romarin.....	88
Figure 48: Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Romarin contre E coli.....	89
Figure 49 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Romarin contre Staphylococcus aureus.....	89
Figure 50 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Romarin contre Pseudomonas aeruginosa.....	89
Figure 51 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la Lavande.....	90
Figure 52 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande contre Escherichia coli.....	91
Figure 53: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande contre Staphylococcus aureus.....	91
Figure 54 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande contre Pseudomonas aeruginosa.....	91
Figure 55 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la Menthe.....	92
Figure 56 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Menthe contre Escherichia coli.....	93
Figure 57: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Menthe contre Staphylococcus aureus.....	93
Figure 58: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Menthe contre Pseudomonas aeruginosa.....	93

Figure 59: Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle du Lentisque.....	94
Figure 60: Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Lentisque contre E coli.....	95
Figure 61: Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Lentisque contre Staphylococcus aureus.....	95
Figure 62 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Lentisque contre Pseudomonas aeruginosa.....	95
Figure 63: Résultats des diamètres d'inhibition du mélange des huiles essentielles.....	96
Figure 64 : Activité antibactérienne du mélange des huiles essentielles contre E coli.....	97
Figure 65: Activité antibactérienne du mélange des huiles essentielles contre Staphylococcus aureus.....	97
Figure 66: Activité antibactérienne du mélange des huiles essentielles contre Pseudomonas aeruginosa.....	97
Figure 67 : Activité antibactérienne d'hydrolat d'ortie contre Staphylococcus aureus.....	98
Figure 68 : Activité antibactérienne d'hydrolat d'ortie contre Pseudomonas aeruginosa.....	98
Figure 69: Courbe d'écoulement des différentes microémulsions.....	116
Figure 70: Courbe d'écoulement des microémulsions mélange HE.....	117
Figure 71: Courbe d'écoulement de la crème sans argile.....	124
Figure 72 : Courbe d'écoulement de la crème avec l'argile.....	125

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Prévalence de l'AAG chez l'homme et chez la femme en fonction de l'âge.....	10
Tableau 02: Les critères de qualité des huiles essentielles	27
Tableau 03: Rendement d'huile essentielle obtenue à partir d'une tonne des plantes fraîches.....	28
Tableau 04 : Les grandes familles de plantes aromatiques.....	29
Tableau 05 : Classification taxonomique de Cronquist.....	30
Tableau 06 : représentant les différents chémotypes du Romarin.....	32
Tableau 07 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle du Romarin.....	33
Tableau 08 : Classification taxonomique de Cronquist.....	34
Tableau 09: Chémotype de l'huile essentielle de Lavande.....	36
Tableau 10 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle de Lavande vraie.....	36
Tableau 11 : Classification taxonomique de Cronquist.....	37
Tableau 12: les composants de HE de Menthe verte d'Algérie analysée par GC/MS.....	39
Tableau 13: Composition chimique d'huile essentielle de Menthe verte de Turin et de Michigan.....	40
Tableau 14 : Les chémotypes de l'huile essentielle de la Menthe verte.....	40
Tableau 15 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle de la Menthe verte.....	41
Tableau 16 : Classification taxonomique de Cronquist.....	41
Tableau 17: Certain composants chimiques de l'huile essentielle de Lentisque d'Algérie analysée par GC/MS.....	43
Tableau 18 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle de Lentisque.....	43
Tableau 19: Les avantages et les inconvénients des émulsions.....	47
Tableau 20: Exemples d'ingrédients de la phase huileuse.....	52
Tableau 21: Caractérisation des huiles essentielles.....	63
Tableau 22: Description des différentes souches microbiennes testées.....	64
Tableau 23 : Les équipements utilisés au niveau de laboratoire.....	65
Tableau 24: Produits chimiques utilisés au niveau de laboratoire.....	66
Tableau 25: Les formules types.....	77
Tableau 26: Répartition des lots des animaux selon le traitement.....	79
Tableau 27 : Les quantités et les rendements obtenus à partir d'ortie.....	87
Tableau 28 : Les zones d'inhibitions de la croissance bactérienne et la sensibilité des germes.....	87
Tableau 29: Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle du Romarin.....	88
Tableau 30: Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de la Lavande.....	90

Tableau 31 : Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de la Menthe.....	92
Tableau 32 : Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle du Lentisque.....	94
Tableau 33: Les résultats des zones d'inhibitions du mélange des huiles essentielles.....	96
Tableau 34: Les résultats des zones d'inhibitions d'hydrolat d'ortie.....	98
Tableau 35: L'effet du spray à base d'huile essentielle du Romarin sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	100
Tableau 36: L'effet du spray à base d'huile essentielle du Lavande sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	101
Tableau 37: L'effet du spray à base d'huile essentielle de la Menthe sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	102
Tableau 38: L'effet du spray à base d'huile essentielle du Lentisque sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	103
Tableau 39 : L'effet du spray à base de mélange des huiles essentielles sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	104
Tableau 40: L'effet du Minoxidil sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	105
Tableau 41 : L'effet placebo sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	106
Tableau 42: L'effet placebo sur la pousse des poils pendant 21 jours.....	107
Tableau 43: Les propriétés organoleptiques des microémulsions.....	108
Tableau 44: L'aspect des microémulsions le premier jour.....	109
Tableau 45 : L'aspect du spray des différentes HEs pendant un mois.....	110
Tableau 46 : L'aspect du spray des HEs pendant un mois.....	111
Tableau 47: L'aspect du spray du mélange des huiles essentielles pendant un mois.....	112
Tableau 48: Résultats de l'observation au microscope optique au grossissement x 40.....	114
Tableau 49: Résultats du pH des microémulsions à une température ambiante.....	115
Tableau 50: Résultats de la densité des microémulsions à une température ambiante.....	115
Tableau 51: le contrôle microbien des sprays.....	118
Tableau 52: le contrôle fongique des sprays.....	119
Tableau 53: Les propriétés organoleptiques des microémulsions.....	120
Tableau 54 : L'aspect des crèmes le premier jour.....	120
Tableau 55: L'aspect des crèmes après la centrifugation.....	121
Tableau 56: Résultats de l'observation au microscope optique au grossissement x 10.....	122
Tableau 57: Résultats du pH des crèmes à une température ambiante avant et après ajustement...	123
Tableau 58 : Résultats de la conductivité des crèmes à une température ambiante.....	123
Tableau 59 : Résultats de viscosité des crèmes à une température ambiante.....	123
Tableau 60 : Le contrôle bactériologique des crèmes.....	125
Tableau 61: Le contrôle fongique des crèmes.....	126

SOMMAIRE

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

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.Rappels physiopathologiques de l'alopecie androgenique:	3
I.1.Anatomie du cheveu :	3
I.1.1.La racine ou follicule pileux :	3
I.1.2 La tige capillaire :.....	4
I.1.3 Les annexes du cheveu :	4
I. 2. Les différentes phases du cycle :	5
I.3. Facteurs influençant la croissance des cheveux :	7
I.3.1. Les facteurs hormonaux	7
I.3.2. L'alimentation :	8
I.3.3. Les changements de saison :	9
I.4. La chute de cheveux :	9
I.5. physiopathologie de l'alopecie androgenique :	9
I.5.1.L'AAG masculine (AAGM) :.....	10
I.5.2.L'AAG féminine (AAGF) :	12
I.6.Traitements médicamenteux utilisés dans l'AAG :	14
I.6.1. Le Minoxidil :	14
I.6.2.Le finastéride	16
I.6.3. La spironolactone	18
II .l'aromathérapie et le traitement d'alopecie androgenique	19
II .1 Introduction :	19
II.2 Historique :	20
II.3 Définition de l'aromathérapie :	21
II.4 Définitions de huile essentielle	21
II.4.1 Selon ANSM :	21
II.4.2 Selon la Pharmacopée Européenne VIe édition :	21
II.4.3 Définition de l'huile essentielle selon la norme AFNOR NT 75-006 (fév 2006) :	22
II.5 Choix de la méthode d'extraction :	22
II.6 Techniques conventionnelles d'extraction des huiles essentielles :	22

II.6.1 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :	22
II.6.2 Hydrodistillation :	23
II.6.3 Expression à froid :	24
II.6.4 Extraction sans solvant assistée par micro-ondes :	25
II.7 Critères de qualité :	26
II.8 Notion de chémotype :	26
II.9 Les plantes aromatiques:	28
II.9 .1 Les grandes familles des plantes aromatiques :	29
II.9 .2 Les plantes étudiées:	30
II.9.2.1 Rosmarinus officinalis L:	30
II.9.2.2 Lavandula angustifolia (Lavande vraie)	34
II.9.2.3 Menthe spicata L (menthe verte) :	37
II.9.2.4 Pistacia lentisque (Arbre au mastic):	41
III. Généralité sur les émulsions :	44
III .1. Les émulsions :	44
III. 1.1. Définitions:	44
III .1.2. Différents types d'émulsions	45
III .2-les avantages et les inconvénients des différents types d'émulsions	47
III .3. Phénomène d'instabilité des émulsions	48
III .3.1. Phénomènes réversibles	48
III .3.2. Phénomènes irréversibles	49
III.4. Formulation des émulsions	50
III .4.1. Techniques d'émulsification	51
III .4.2. Fabrication des émulsions :	52
III .5. Contrôles des émulsions	56
III .5.1. Détermination du sens de l'émulsion :	56
III .5.2 Taille des gouttes :	57
III .5.3.Détermination du pH	57
III .5.4.Viscosité des émulsions	57
III .5.5 .Essais microbiologique	58
III .5.6. Evaluation de la stabilité	58

III .6. Indications en cosmétologie et en pharmacie	59
III.6.1 Indications en Pharmacie	59
III.6.2 Indications en cosmétologie	60

PARTIE EXPERIMENTALE

IV .Matériel et méthodes	61
IV 1. Matériel :	62
IV 1.1. Matériel végétal	62
IV 1.2.Matériel biologique :	63
IV.1.3.Matériel de laboratoire	65
IV 1.4. Excipients	66
IV.2 Méthodes :	66
IV.2.1.Extraction d'hydrolat d'ortie	66
IV.2.2. Etude des activités microbiologiques	67
IV .2.3.Formulation galénique :	71
IV .2.3.1.Etude de formulation	71
IV .2.3.2.Choix de type de l'émulsion	72
IV .2.3.3 Préparation de la Micro-émulsion	72
IV .2.3.4.Préparation de la crème (masque capillaire) :	74
IV .2.4. Evaluation de L'activité anti androgénique	78
IV .2.4.2.Protocole expérimentale :	79
IV .2.5.Evaluation des émulsions :	81
IV .2.5.1.Propriétés organoleptiques :	81
IV .2.5.2.Caractérisation rhéologique :	82
IV .2.5.3.Détermination du sens de l'émulsion :.....	82
IV .2.5.4.Essai à la centrifugation :	83
IV .2.5.5.Mesure du pH :	83
IV.2.5.6.Mesure de la viscosité :.....	84
IV .2.5.8.L' examen microscopique:	85
IV .2.5.9.Contrôle de la qualité microbiologique des émulsions:	85

V .Résultats et discussion	87
Discussion générale	127
VI Conclusion	129



INTRODUCTION

Art de vivre, coutumes et rituels, symbole de force et de virilité chez l'homme, de féminité chez la femme. Tout a été tenté depuis les temps les plus anciens pour maintenir la beauté de la peau, raviver l'éclat des cheveux et s'entourer d'effluves parfumés.

La chevelure est depuis l'antiquité un grand sujet de préoccupation. Dans le temps, la calvitie était synonyme de punition et de soumission. Aujourd'hui encore, la majorité des gens atteints de calvitie cherchent à la masquer. Ceci peut être lié à notre société où l'apparence physique n'a jamais été aussi importante.[1]

L'alopécie est le terme médical désignant la perte de cheveux ou la calvitie. Il s'agit d'un problème de santé dans lequel les cheveux sont perdus de certaines ou de toutes les zones du corps, généralement du cuir chevelu. Sur la base du modèle et des causes de la perte de cheveux, l'alopécie est classée en plusieurs catégories. . Les deux formes principales, à savoir l'alopécie areata et l'alopécie androgénétique, sont la principale préoccupation. L'alopécie androgénique (AGA) est la cause la plus fréquente de perte de cheveux chez les hommes et affecte jusqu'à 70% des hommes plus tard dans la vie et surtout ceux âgés de plus de 50 ans. Elle touche même les patients de plus en plus jeunes. En effet, à 20 ans environ 20% des jeunes sont déjà touchés. Des facteurs génétiques et les androgènes sous-tendent principalement la pathogenèse de l'AGA. À l'heure actuelle, un certain nombre de remèdes synthétiques comme les corticostéroïdes, le zinc, la cortisone systématique, les irritants, les médicaments immunosuppresseurs, le Finastéride et le Minoxidil. [2], [3], [4]

En outre, un certain nombre d'effets secondaires sont associés à l'utilisation de ces composés synthétiques, notamment l'érythème, la desquamation, le prurit, la dermatite, les démangeaisons. [2]

En raison de ces effets indésirables, les patients semblent être attirés à des traitements alternatifs avec moins d'effets secondaires. Dans ce contexte, de nombreux produits naturels ont été testés comme potentiels thérapies alternatives pour la perte de cheveux. Le soutien nutritionnel, les bloqueurs de DHT et les bloqueurs de la 5- α -réductase, l'aromathérapie et l'amélioration de la circulation sanguine du cuir chevelu sont les mécanismes d'action proposés pour ces remèdes à base des plantes. Étant des médicaments naturels, leur utilisation présente de nombreux avantages, tels que l'observance du patient, moins d'effets secondaires, une disponibilité facile, un faible coût et plus d'un mode d'action pour le traitement de l'alopécie. [2], [3]

L'objectif de notre travail est de démontrer l'intérêt de l'aromathérapie comme une approche alternative au traitement de l'alopecie androgénique. Pour notre contribution nous avons procédé à la réalisation des formulations galéniques à l'exemple des microémulsions et des crèmes pour un usage capillaire (masque capillaire).

C'est dans cette optique que nous avons orienté notre travail expérimental afin de faire face au problème de la perte de cheveux, et de préparer des sprays et des masques capillaires à base d'huiles essentielles connues pour leur effet antichute de cheveux, préparés sous forme de systèmes émulsionnés, ayant une certaine consistance qui leur confère une bonne acceptabilité, une meilleure absorption et une utilisation confortable. Tout en basant sur des études qui trouvent qu'un certain nombre d'herbes ayant fait leurs preuves pour le traitement d'alopecie androgénique.

Ces émulsions sont à base : des huiles essentielles (le Romarin, la Lavande, Lentisque, la Menthe verte, la Menthe poivrée et leur mélange) et des huiles végétales (le Ricin et la Nigelle) et l'hydrolat d'ortie, ainsi que l'argile qui est un excellent soin pour cheveux, permettant non seulement de purifier, de nourrir, d'assainir, d'hydrater et de réguler le cuir chevelu mais aussi d'absorber l'excès de sébum.

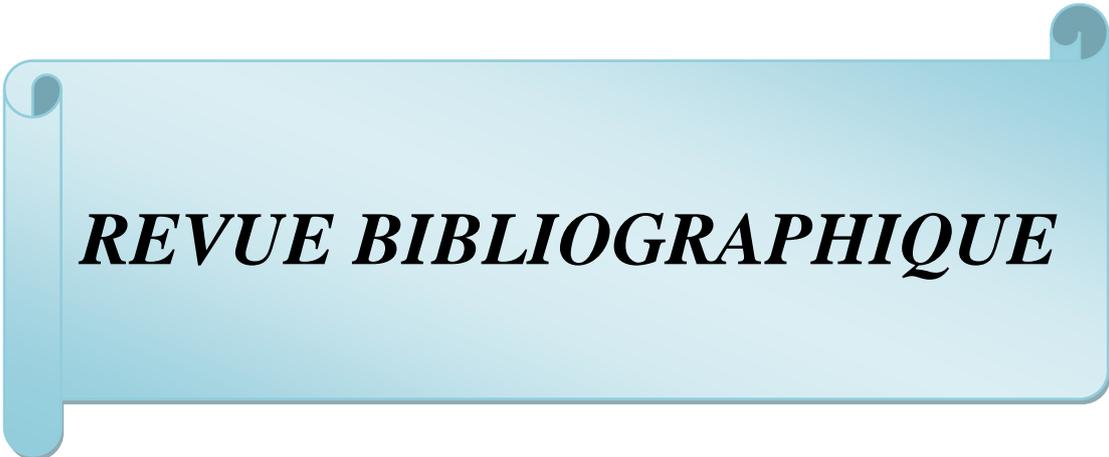
La question que nous avons posée est : nos produits traitent-ils vraiment l'alopecie androgénétique ?

Pour répondre à cette question, ce mémoire est subdivisé en deux grandes parties :

Une partie bibliographique : présentée en trois chapitres : le premier chapitre, est un rappel sur la physiopathologie d'alopecie androgénique. Dans le deuxième : une introduction sur les aromathérapie et les plantes étudiées qui ont une activité anti androgénique. Le troisième est consacré aux émulsions.

Dans la partie expérimentale, nous l'avons partagée en deux volets, le premier traite les matériels et méthodes dans laquelle nous présentons les moyens matériels ainsi que les méthodes expérimentales employés. Dans le deuxième volet nous exposerons les résultats obtenus des différentes formulations réalisées ainsi que les résultats des activités biologiques.

Nous terminerons par une interprétation et une discussion de tous les résultats obtenus. Et enfin, nous clôturons par une conclusion générale.



REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Rappels physiopathologiques

I Rappels physiopathologiques de l'alopecie androgenique

I.1 Anatomie du cheveu :

Le cheveu, les ongles et les poils appartiennent à un groupe d'éléments anatomiques appelés phanères. Ce sont des annexes du tégument qui comprend la peau, les glandes sudoripares, et les glandes sébacées .[3]

De la période prénatale à la fin de la vie, les cheveux poussent, meurent puis repoussent selon des cycles plus ou moins longs [4].

Un être humain possède en moyenne entre 80 000 et 150 000 cheveux [5] , Chacun d'eux est composé de trois parties: une visible et biologiquement morte appelée: tige pileuse. C'est grâce à elle que nous pouvons élaborer nos diverses coiffures au quotidien. L'autre, invisible, est le siège de l'élaboration du cheveu et porte le nom de follicule pileux. Cette partie communément nommée « racine du cheveu », on a aussi les annexes. **(Figure 01)**

I.1.1 La racine ou follicule pileux [6] :

La racine du cheveu est une structure complexe, constituée d'une papille dermique, d'un bulbe pileux, d'une gaine épithéliale interne et d'une gaine épithéliale externe.

I. 1.1.2 La papille dermique :

Il s'agit d'un tissu conjonctif permettant la régulation de la croissance du cheveu et sa nutrition.

Elle est constituée d'une matrice extracellulaire richement irriguée. Elle reçoit la vascularisation et l'innervation.

I.1.1.3 Le bulbe pileux :

Il s'agit de la zone de prolifération du follicule pileux, permettant l'élaboration du cheveu et de la gaine épithéliale interne. Sa partie inférieure est constituée de la matrice pileuse se découpant en 3 zones :

- La zone germinative : profonde riche en cellules indifférenciées qui se multiplient intensément et rapidement.
- La zone pigmentée : riche en mélanocytes, déterminant la couleur naturelle du cheveu.
- La zone de kératogénèse : superficielle, riche en cellules matricielles différenciées en kératinocytes donnant naissance aux cellules qui constitueront le cheveu.

I.1.1.4 La gaine épithéliale interne :

Elle est située entre le poil, qu'elle entoure et la gaine épithéliale externe. Elle est issue de la matrice située dans le bulbe pileux. Le rôle de cette gaine est de nourrir le cheveu en développement.

I.1.1.5 La gaine épithéliale externe :

Elle est la continuité de l'épiderme superficiel. Elle enveloppe la gaine épithéliale interne et constitue le puit de développement du cheveu.

I.1.2 La tige capillaire :

Elle est la partie visible du cheveu qui se trouve hors du follicule pileux. Elle est considérée comme biologiquement morte car dépourvue de vaisseaux sanguins et de nerfs. Elle prend la forme d'un cylindre constitué de 3 couches nommées de l'extérieur vers l'intérieur : la cuticule, la corticale et la médullaire.

I.1.2.1 La cuticule :

Cette couche unique de cellules en contact direct avec l'environnement a pour objectif de protéger les cheveux des agressions extérieures (soleil, eau de mer, colorations, ...) de leur donner la brillance, douceur et souplesse. Elle est formée de plusieurs couches de cellules kératinocytaires non pigmentées à l'origine d'une forte cohésion.

I.1.2.2 La corticale :

Il s'agit de la partie essentielle du cheveu, représentant 90 % de son poids. Elle donne la couleur, la solidité et la résistance au cheveu grâce à la présence de cellules épithéliales riches en kératine et en pigment.

I.1.2.3 La médullaire :

Elle est constituée de cellules anuclées et constitue une moelle centrale.

I.1.3 Les annexes du cheveu :

I.1.3.1 La glande sébacée :

Il s'agit d'une glande à sécrétion holocrine annexée à chaque cheveu et ayant une activité sécrétoire. Sa taille est inversement proportionnelle à celle du poil qu'elle annexe. Cette glande est formée de plusieurs alvéoles dilatées en sac reposant sur une assise basale qui sécrète des gouttelettes lipidiques devenant du sébum et étant évacué par le canal excréteur.

Ce sébum a pour rôle de lubrifier le poil et la peau.

Il participe à l'élaboration du film hydro lipidique de surface et aurait des propriétés antibactériennes et antifongiques. Il véhicule les odeurs individuelles comme les phéromones.

I.1.3.2 Le muscle arrecteur du poil :

Les fibres musculaires, tendues obliquement dans le derme, sont insérées sur le follicule pileux et sur la glande sébacée. Elles ont un rôle lors de l'érection du poil, participant à la thermorégulation et au cours de certains états émotionnels. La contraction de ce muscle agit également sur l'excrétion sébacée.

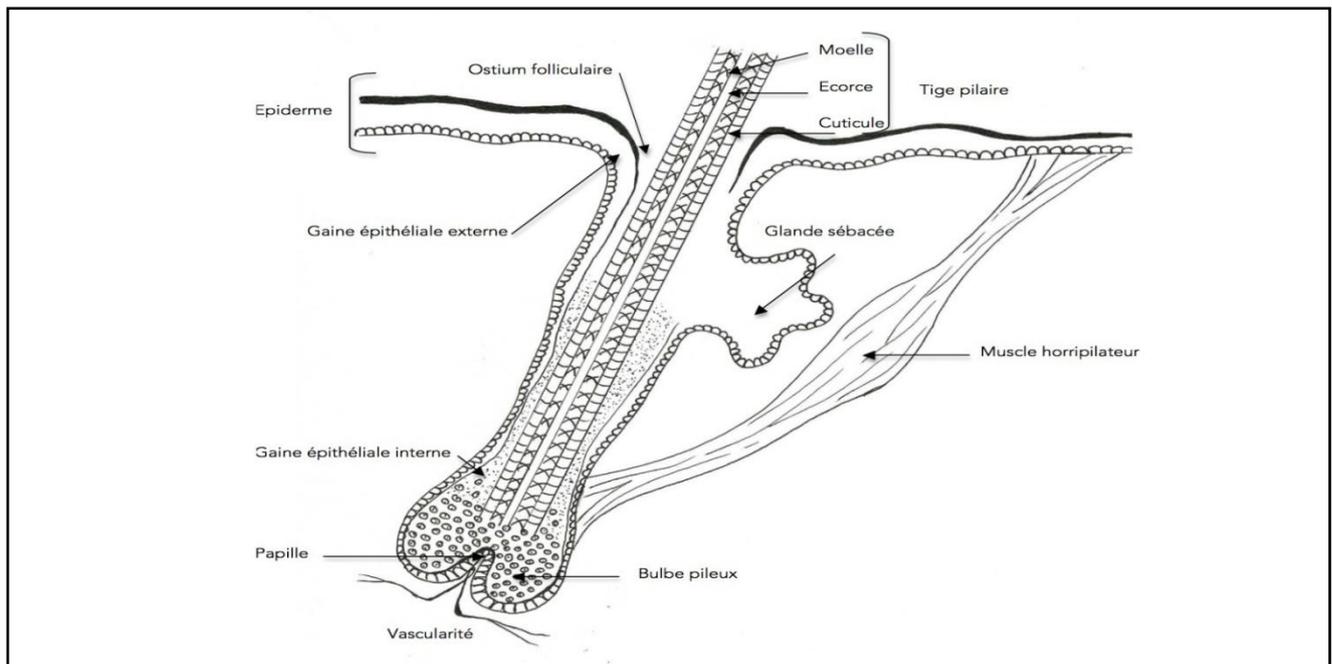


Figure 01 : La structure d'un cheveu et de ses annexes [6]

Pendant la première année de la vie, tous les cheveux poussent au même rythme et selon le même schéma. Mais après cette première année, chaque cheveu suit un cycle de croissance qui lui est propre. [4]

I. 2. Les différentes phases du cycle :

Le cycle pileux est caractérisé par la succession de trois phases : anagène, catagène et télogène. Le follicule pileux est en phase de production de tige pileuse pendant la phase anagène, en involution pendant la phase catagène puis en phase de repos avec chute de cheveux pendant la phase télogène. Sur une chevelure normale on peut considérer que 85% des follicules sont en phase anagène, 1 à 2% en phase catagène et 15% en phase télogène. (**Figure 02**)

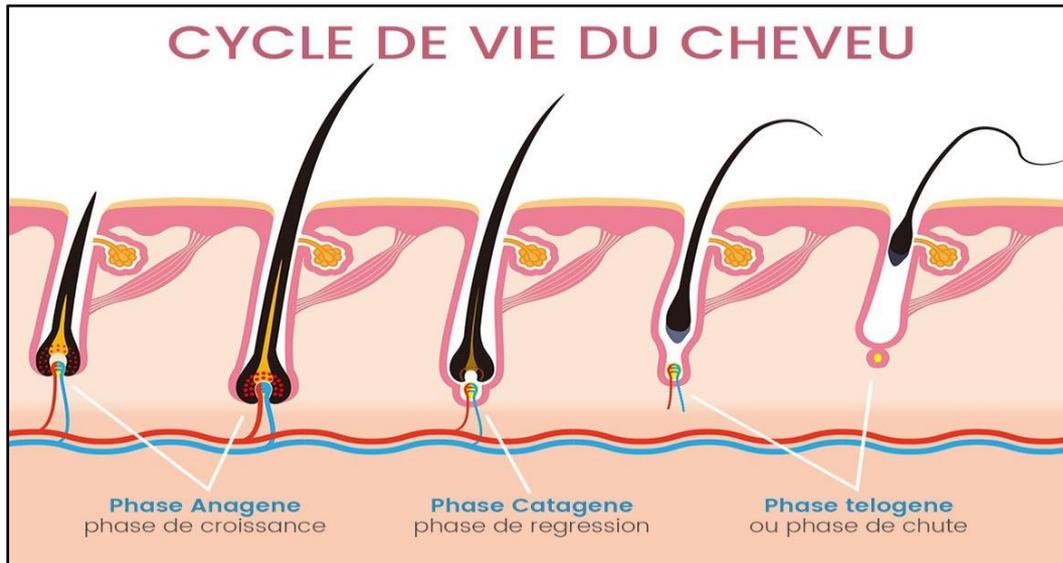


Figure 02 : Cycle du cheveu [7]

La phase anagène est la phase de croissance, sa durée moyenne est de **2 à 6 ans** (elle est plus longue chez la femme). C'est la durée de cette phase qui déterminera la longueur maximale que les cheveux pourront atteindre.

La phase anagène se termine pour laisser la place à la phase catagène. Cette phase est une période de régression et d'arrêt de la croissance, elle dure environ **trois semaines**. C'est une phase d'involution durant laquelle la croissance s'arrête, le bulbe se rétractant suite à un signal d'apoptose.

Enfin, a lieu la phase télogène qui dure environ **deux à trois mois**. Le follicule pileux régresse sur moins de la moitié de sa longueur initiale. Elle concerne 15 à 20% des cheveux.

A la fin de cette phase, le cheveu mort est expulsé du cuir chevelu par le nouveau bulbe en croissance. La chute du cheveu est appelée **effluvium** [4] [5].

Chez l'Homme, la croissance des cheveux n'est pas un phénomène synchrone. On parle de croissance en mosaïque : chaque follicule fonctionne et évolue indépendamment. Certains cheveux sont donc en phase de croissance, d'autres en phase d'involution et d'autres en phase de chute. Les transitions entre les phases successives sont influencées par de nombreux signaux externes : hormones, cytokines, facteurs de croissance, toxines, nutriments, vitamines, énergie. Ainsi, la densité de la chevelure reste stable au cours du temps.

Une chute de cheveu est la conséquence directe d'une perturbation d'une des phases du cycle capillaire. [5]

I.3 Facteurs influençant la croissance des cheveux :

Le cycle de vie du cheveu peut subir à plusieurs facteurs qui peuvent ralentir ou entraver la croissance naturelle des cheveux. En fait, les perturbations qui affectent la croissance de cheveux sont dues généralement à des facteurs pathologiques, hormonaux où bien des facteurs dépendant des conditions exogènes de la personne. [8]

I.3.1 Les facteurs hormonaux [9]:

Les hormones stéroïdes jouent un rôle important aussi bien sur l'activité du follicule pileux que sur celle de la glande sébacée. Certains follicules pileux et leurs annexes ne dépendent pas des hormones stéroïdiennes (les sourcils et les cils) alors que d'autres en dépendent (certains cheveux).

I.3.1.1 Les androgènes :

Dans les années quarante, James Hamilton a mis en évidence l'influence de la testostérone et du patrimoine génétique sur la chute de cheveux. Il observait un « couple » de vrais jumeaux âgés d'une quarantaine d'années : l'un des jumeaux, qui avait subi avant sa puberté une castration accidentelle, possédait tous ses cheveux tandis que l'autre avait développé une importante calvitie. Pour parfaire sa démonstration, il administra au sujet castré des doses de Testostérone, et ce dernier perdit l'intégralité de ses cheveux en quelques mois. Cette observation mit en lumière le rôle conjoint de l'hérédité et de la Testostérone sur la chute de cheveux.

La Testostérone est synthétisée au niveau des testicules et des glandes surrénales. La quasi-totalité de la Testostérone circulante (99%) est inactive puisque liée à une protéine de transport. C'est la forme libre qui va avoir une action au niveau du follicule pileux. L'activation est consécutive à la conversion de la Testostérone en Dihydrotestostérone (DHT) par la 5 alpha-réductase. **(Figure 03)**

La DHT va par la suite se lier aux récepteurs à androgènes, pénétrer dans le noyau et influencer la synthèse protéique et par conséquent, le développement du cheveu.

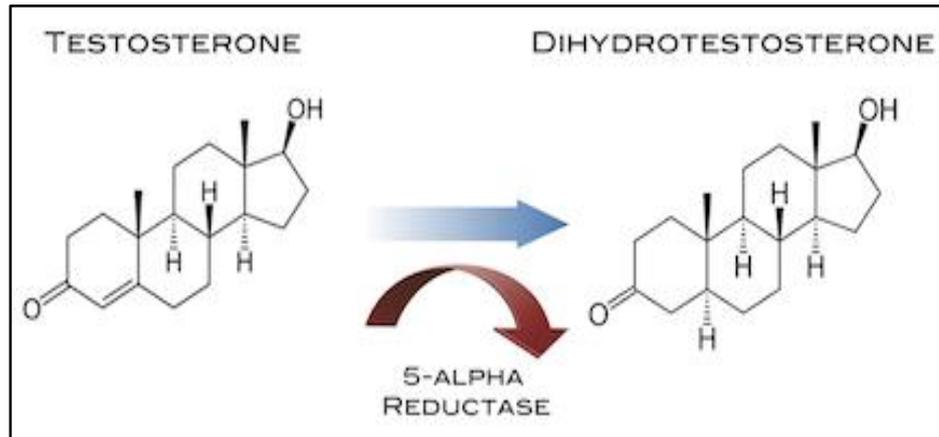


Figure 03 : Conversion de la Testostérone en Di-Hydro testostérone (DHT) [10]

I.3.1.2 Les œstrogènes :

Contrairement aux androgènes, les hormones féminines vont stimuler l'activité mitotique des cellules de la matrice. La phase anagène du cycle pileux est allongée, le cheveu est plus fort et plus beau. C'est la chute importante du taux d'œstrogène lors de l'accouchement qui explique l'alopecie-post partum, très fréquente chez les jeunes mamans. De même, à la ménopause avec l'arrêt des sécrétions ovariennes, les femmes perdent 80 % de leurs œstrogènes. En revanche, leur taux d'androgènes reste presque constant. Le rapport androgènes/œstrogènes augmente donc significativement et a pour conséquence une chute de cheveux dans les mois qui suivent la ménopause.

I.3.1.3 Les progestatifs :

Il semblerait que la progestérone et certains progestatifs de synthèse aient une action anti-androgénique attestée par la réduction de la 5 α -réductase.

I.3.1.4 Les hormones thyroïdiennes :

La glande thyroïde régule de nombreux systèmes de l'organisme dont le système pileux. Les hormones thyroïdiennes régulent le cycle pileux, stimulent les follicules pileux et favorisent le tonus des cheveux.

I.3.2 L'alimentation :

Grâce à certaines études, nous savons que la malnutrition, un régime pauvre en protéines et certains désordres alimentaires peuvent être responsables d'une perte de cheveux. La synthèse des protéines et de l'ADN par le follicule pileux est très rapidement ralentie.

Cependant, seule une deficiance en fer et en L-lysine peut etre responsable d'une chute de cheveu chez un individu globalement sain.

I.3.3 Les changements de saison :

Les variations saisonnieres peuvent se faire sentir chez l'Homme au niveau de la croissance des cheveux. Une croissance souvent maximum en debut d'ete pour une chute maximum en debut d'hiver. Nous savons que le cycle pileux est principalement sous dependance genetique et hormonale, or la production des hormones steroïdiennes depend notamment de la duree d'exposition solaire. De plus, en ete la chaleur favorise la vasodilatation ce qui ameliore l'apport des nutriments au niveau du bulbe.

I. 3.4 Certaines substances chimiques :

Certaines substances chimiques peuvent agir sur la croissance du cheveu soit en l'inhibant, soit en la stimulant, soit en provoquant sa chute.

I.4 La chute de cheveux :

Il faut savoir qu'une chute de cheveux est consideree comme normale lorsqu'elle concerne 30 à 100 cheveux par jour. Au-delà, on parle d'une chute excessive.

La perte de cheveux n'a pas la même signification chez un homme ou une femme, chez un adulte ou un enfant. De même elle n'a pas le même retentissement en fonction de la quantité de cheveux perdus.

Elle peut etre diffuse comme dans les alopecies androgenetiques, en plaques comme dans la pelade, les teignes, la trichotillomanie, la traction, totale comme dans la pelade ou apres certaines chimiotherapies .[11]

Nous allons traiter un parmi les pathologies les plus frequentes du cuir chevelu, l'alopecie androgenique et envisager les traitements existants.

I.5 Physiopathologie de l'alopecie androgenique :

L'alopecie androgenique ou androgenetique constitue à l'heure actuelle l'un des motifs les plus frequents de consultation pour chute de cheveux chez les dermatologues ou chez les medecins generalistes. **Tableau 01**

C'est un processus de chute anormale des cheveux qui touche preferentiellement les hommes mais également les femmes.

Tableau 01 : Prévalence de l'AAG chez l'homme et chez la femme en fonction de l'âge. [8]

Prévalence de l'Alopecie chez l'homme et la femme		
	Homme	Femme
< 50 ans	40-50 %	25-30 %
>50 ans	60-80 %	40-50 %

Le terme androgénique explique la double origine de ce phénomène : d'une part la réceptivité des racines des cheveux aux hormones mâles et d'autre part la prédisposition génétique des cheveux à subir cette stimulation.

I.5.1 L'AAG masculine (AAGM) :

I.5.1.1 Physiopathologie :

L'alopecie androgénique est la conséquence de l'action des androgènes au niveau des bulbes pileux du cuir chevelu. Au cours de l'AAG, les cycles pileux se raccourcissent de plus en plus. On observe une diminution du diamètre et de la longueur du cheveu en fin de cycle proportionnellement à la durée de la phase anagène, on parle de miniaturisation progressive des follicules pileux.

Les follicules pileux arrivent plus rapidement à épuisement.

I.5.1.2 Hormonodépendance :

L'AAG n'est pas la conséquence d'un excès de production de Testostérone par les cellules de Leydig au niveau des testicules mais plutôt d'un excès de conversion en Dihydrotestostérone (DHT) au niveau des follicules pileux sous l'action d'une enzyme : la 5-alpha réductase.

La Testostérone est acheminée par voie sanguine jusqu'aux cellules cibles, en l'occurrence les cellules des racines et des glandes sébacées. Après fixation sur un récepteur membranaire, elle pénètre dans la cellule et est transformée en DHT grâce à la 5-alpha réductase. C'est l'hyper-réceptivité des récepteurs aux androgènes et l'élévation de la 5-alpha réductase qui sont responsables de l'augmentation de la DHT. La DHT va ensuite pouvoir pénétrer dans le noyau du follicule pileux et inhiber l'adényl-cyclase, diminuant ainsi le taux d'AMP cyclique, ce qui se traduit par une diminution de la synthèse protidique. La conséquence est un raccourcissement de la phase anagène et du cycle pileux. **(Figure 04)**

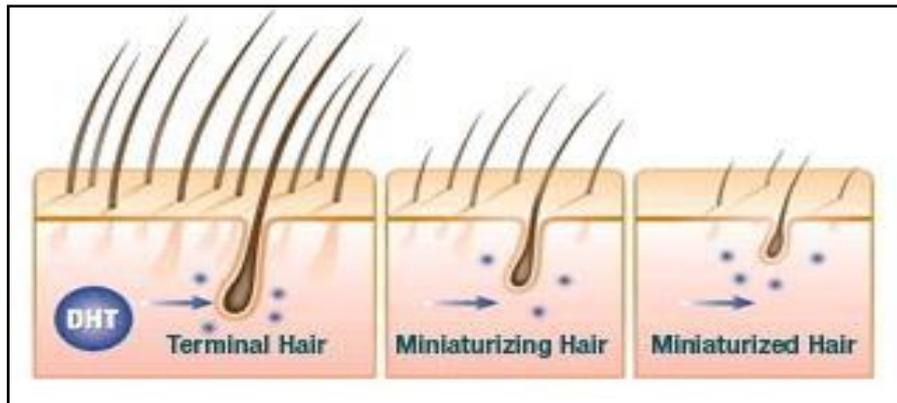


Figure 04 : Miniaturisation du cheveu sous l'effet de la DHT[8]

On assiste à un renouvellement accéléré du cheveu. Le bulbe pileux fournit petit à petit un cheveu plus fin, plus court, plus fragile jusqu'à former un duvet. L'épuisement de la capacité de renouvellement du cheveu entraînera la disparition de ce duvet et donc une calvitie irréversible.

Ce raccourcissement des cycles ne se produit que sur des zones prédéterminées fronto-temporales et occipitales, du cuir chevelu. Cette localisation précise serait la conséquence d'une différence de sensibilité du cuir chevelu à la DHT. Cette particularité permettra le transfert des bulbes pileux de la zone occipitale et la greffe de ceux-ci dans la zone frontale étant donné l'insensibilité aux androgènes des bulbes de la zone occipitale.

L'imprégnation androgénique est un facteur indispensable au développement de l'AAG mais d'autres composantes telles la génétique, influencent l'évolution.

I.5.1.3 Génétique :

Les gènes responsables de l'alopecie androgenique n'ont pas encore tous été identifiés. Le polymorphisme du gène récepteur aux androgènes a été très tôt identifié par les équipes d'Axel Hilmer (Université de Düsseldorf) comme déterminant dans l'alopecie androgenique. Ce gène AR est situé sur le chromosome X et est donc transmis par la mère. Or on sait que l'on retrouve souvent le même tableau d'alopecie chez un fils et son père, ainsi la mutation du gène AR ne peut à elle seule expliquer le développement d'une AAG.

I.5.1.4 Pronostic :

L'évolution de l'AAG chez l'homme est très incertaine. La chute de cheveux est en général progressive mais elle peut être rapide et aboutir en seulement quelques années à une calvitie sévère.

(Figure 05)

- Il est possible de distinguer deux types évolutifs :
- La forme précoce sévère, où les premiers signes apparaissent dès la puberté et qui évolue rapidement vers une calvitie sévère aux approches de la trentaine.
- La forme progressive, à début souvent retardé autour de 35 ans, touchant préférentiellement le vertex et chez laquelle la perte est estimée à 1% par an.
- Dans certains cas, après une perte initiale rapide, le processus semble se stabiliser. D'où la difficulté pour interpréter l'efficacité des différents traitements proposés.

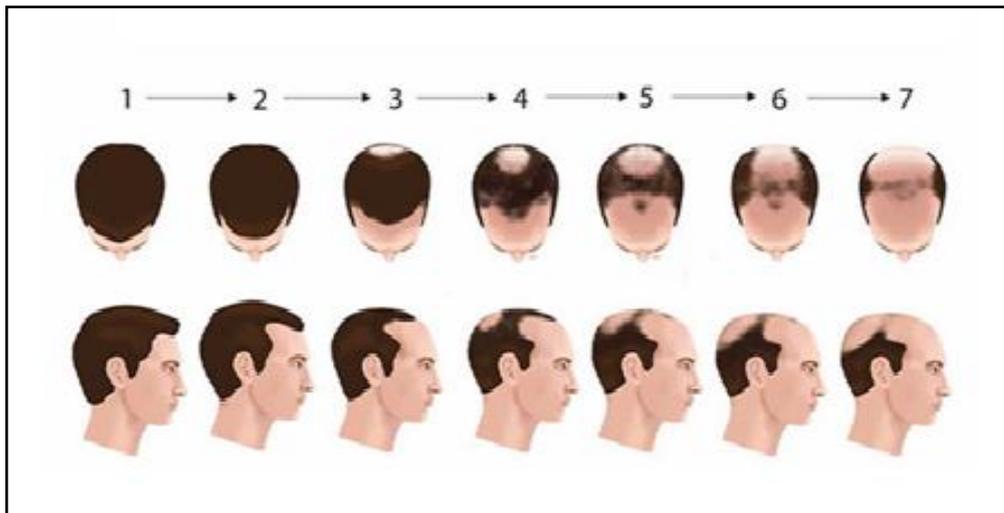


Figure 05 : Classification des AAG masculines. [12]

I.5.2.L'AAG féminine (AAGF) :

L'Alopecie Androgenique féminine (AAGF) est la forme la plus fréquente de chute de cheveux chez la femme. Elle survient chez la patiente qui possède des antécédents alopeciques parmi ses ascendants et ses collatéraux féminins.

Plus de 25% des femmes entre 35 et 45 ans et près de 40% des femmes de la cinquantaine sont confrontées à ce phénomène. La chute de cheveux peut débuter à l'occasion d'un changement hormonal (début ou arrêt d'une contraception, post-partum...) mais elle débute le plus souvent au moment de la ménopause.

I.5.2.1 Physiopathologie :

Tout comme l'AAGM, l'AAGF est due à l'action de la DHT sur les follicules pilo-sébacés. La conversion de la Testostérone en DHT par la 5alpha réductase va entraîner un raccourcissement des cycles pilaires et donc une miniaturisation du follicule pileux.

Des taux d'androgènes plus bas et des différences dans les taux en récepteurs androgéniques sont responsables de la forme clinique particulière de l'AAGF.

I.5.2.2 Pronostic :

Tout comme celle de l'AAGM, l'évolution de l'alopecie féminine est très incertaine. L'âge d'apparition des premiers signes peut renseigner sur le pronostic :

L'adolescence : la patiente ayant des prédispositions génétiques, possède une sensibilité accrue aux androgènes probablement due à une hyperactivité de la 5-alpha réductase ou à une hyper expression des récepteurs androgéniques périphériques. Notons que dans la majorité des cas, le taux d'androgène sérique reste normal. En l'absence de traitement, cette AAG à début précoce évolue rapidement vers un dégarnissement important. **(Figure 06)**

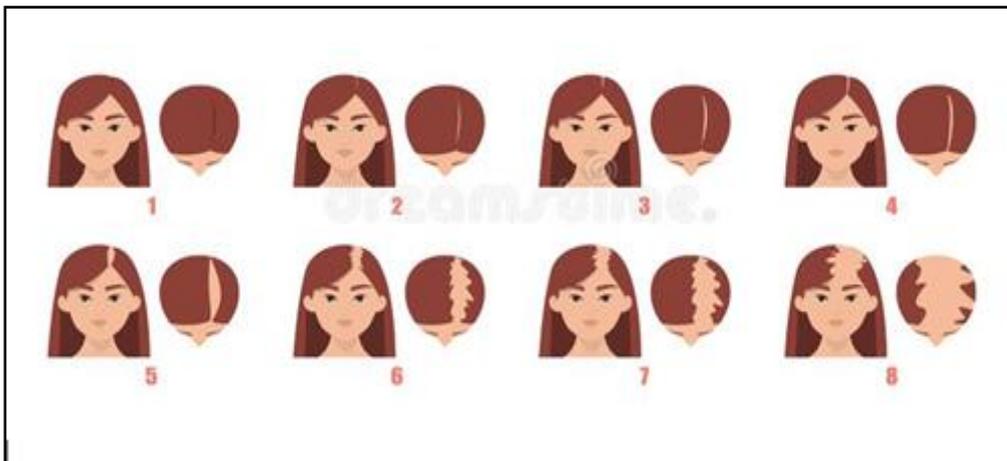


Figure 06 : Classification des AAG féminine[13]

- **Adulte jeune** : L'augmentation de la chute de cheveux, ou la diminution de la densité capillaire, est souvent précédée d'un épisode d'effluvium télogène. Ce phénomène est très fréquent en post partum. Dans ces cas, la rémission est spontanée et s'effectue sans traitement particulier dans les 6 mois.
- **Période post-ménopausique** : L'arrêt de l'activité ovarienne entraîne une diminution du rapport œstrogènes/androgènes. L'éclaircissement du vertex est progressif et constant en l'absence de traitement.

Les patientes ayant un dégarnissement se plaignent fréquemment d'anxiété et de gêne sociale. L'apparence physique est primordiale et la chute de cheveux a souvent un retentissement psychologique considérable. En l'absence de traitement, l'AAGF peut évoluer rapidement et progressivement. Lors de la mise en place d'un traitement, il est important pour le médecin comme pour le pharmacien, d'expliquer à la patiente que la réponse au traitement peut être lente et peut comprendre une repousse ou seulement un arrêt de la chute.

La prise en charge psychologique fait partie intégrante du traitement, les femmes ont besoin d'être rassurées quant au fait qu'elles ne deviendront pas chauves.

I.6 Traitements médicamenteux utilisés dans l'AAG :

I.6.1 Le Minoxidil :

Le Minoxidil était prescrit dans les années 60 dans le traitement de l'hypertension artérielle sévère. Dès les premiers mois qui suivaient l'initiation du traitement, le Minoxidil entraînait une hypertrichose (augmentation globale de la pilosité corporelle) chez plus de 70 % des patients. Cette observation a entraîné l'essai de son application locale dans l'alopecie androgenique. Ses nombreux effets secondaires (cardiovasculaires notamment) contraindiquent son utilisation per os dans le traitement de l'alopecie.

Le mode d'action du Minoxidil, dérivé des pipéridinopyrimidines, reste aujourd'hui hypothétique. Il est l'objet de nombreuses études. Dépourvu d'effet anti-androgène, le Minoxidil possède un effet vasodilatateur, un effet mitogénétique et prolonge la durée de vie des kératinocytes.

Différentes études ont montré qu'une application topique de Minoxidil entraînait une augmentation du diamètre de la lumière des capillaires périfolliculaires et donc une augmentation du flux sanguin. L'action vasodilatatrice ne suffit pas à elle seule à expliquer la croissance pileuse consécutive à l'application de Minoxidil. **(Figure 07)**

Des travaux ont montré que le Minoxidil augmenterait la libération des facteurs de croissance VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) à l'origine d'une meilleure vascularisation de la papille dermique et donc d'une repousse du cheveu.

Au sein du follicule, il a été montré que le Minoxidil possède une action mitogène sur les cellules épithéliales et prolonge la durée de vie des kératinocytes. Le rallongement de la phase anagène sous l'effet du Minoxidil laisserait supposer que ce phénomène se déroule également au niveau des cellules matricielles.

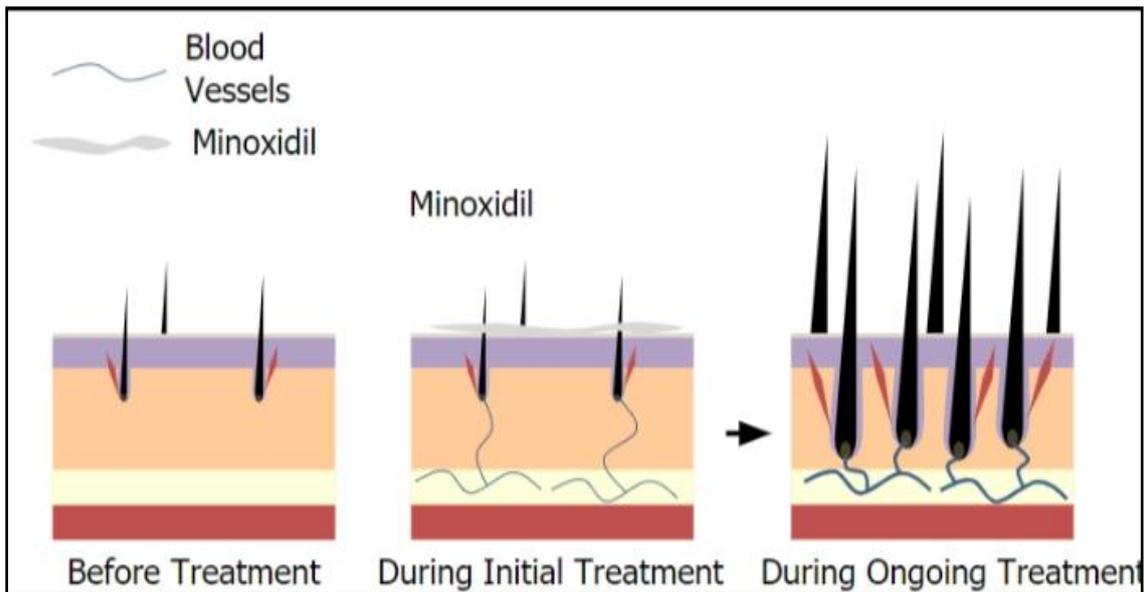


Figure 07: Le mode d'action du Minoxidil [14]

I.6.1.1 Posologie et mode d'administration :

Classiquement présenté sous forme de solutions pour applications cutanées, le Minoxidil existe dorénavant en mousse pour application cutanée. Conditionné en flacons de 60 ml (ou 60 g pour la mousse) un flacon permet un mois de traitement.

La posologie est la même quel que soit le dosage utilisé (2% ou 5%) à savoir l'application biquotidienne de 1ml de solution de Minoxidil ou 1g pour la forme mousse.

L'arrêt du traitement entraîne une chute capillaire et un retour à l'état antérieur en 3 à 6 mois.

Le pharmacien rassurera le patient quant à la survenue d'une chute importante et transitoire dans les 6 premières semaines qui suivent l'initiation du traitement par Minoxidil. Le patient qui applique du Minoxidil et qui souhaite prendre du Finastéride devra continuer le Minoxidil pendant au moins 4 mois avant de l'interrompre afin d'éviter la chute spécifique survenant à l'arrêt du traitement.

I.6.1.2 Effets indésirables :

Les effets indésirables rencontrés lors de l'utilisation du Minoxidil sont principalement de types cutanés : irritation locale, desquamation, érythème, dermite.

Les hypertrichoses à distance (dos de la main, sourcils...) réversibles à l'arrêt du traitement.

I.6.2.2 Posologie et administration :

La posologie recommandée de PROPECIA® est d'un comprimé à 1 mg, une fois par jour, avec ou sans aliment.

Un traitement quotidien pendant au moins trois mois est nécessaire avant de pouvoir juger d'une repousse ou de l'arrêt de la perte de cheveux.

L'utilisation continue est recommandée pour maintenir le bénéfice thérapeutique. L'arrêt du traitement entraîne la réversibilité des effets obtenus dans les 12 mois qui suivent.

Aucune étude n'a montré qu'une augmentation de la dose journalière augmentait les effets du médicament.

Chez les patients présentant une insuffisance rénale à divers degrés, il n'est pas nécessaire d'adapter la posologie. En effet, les études pharmacocinétiques n'ont pas révélé de modification de l'élimination rénale. En cas d'oubli de prise, il ne faut pas prendre de dose supplémentaire le lendemain. Seule la dose habituelle doit être prise.

I.6.2.3 Contre-indications :

Le Finastéride est contre-indiqué chez la femme alopecique en âge de procréer. En effet, le traitement est susceptible de provoquer des anomalies des organes génitaux chez le fœtus de sexe masculin s'il est administré à une femme enceinte.

En ce qui concerne la femme ménopausée : les résultats d'une étude contrôlée par placebo menée pendant un an auprès de 137 femmes ménopausées en bonne santé et atteintes d'alopecie androgenique (âge variant de 41 à 60 ans) ont montré que PROPECIA® à raison de 1 mg par jour n'a entraîné aucune amélioration de l'aspect de la chevelure.

I.6.2.4 Effets indésirables :

Les effets indésirables sexuels (baisse de la libido, troubles de l'érection, troubles de l'éjaculation) ont été observés chez 1 à 2% des sujets traités dans des études cliniques ayant conduit à l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Ces effets sont généralement transitoires pendant le traitement et réversibles à l'arrêt du traitement. Toutefois, des cas de troubles de l'érection persistant à l'arrêt du traitement et des cas de cancer du sein chez l'homme ont été rapportés durant la commercialisation sans qu'un lien direct n'ait pu être établi. .

Il convient au médecin comme au pharmacien d'informer le patient sur la survenue possible de ces désagréments.

D'autres effets indésirables ont été rarement rapportés: réaction d'hypersensibilité (éruption cutanée, prurit, urticaire...) et gonflement des lèvres et du visage, sensibilité de la poitrine, douleurs testiculaires...

I.6.3 La Spironolactone :

La Spironolactone est un antagoniste de l'Aldosterone, ce qui lui confere une action anti-hypertensive et diurétique. La Spironolactone possède également une action antagoniste des androgènes au niveau de leurs récepteurs ainsi qu'un pouvoir d'inhibition de la synthèse de Testosterone.

La Spironolactone a été utilisée, hors AMM, pendant deux décennies dans le traitement de l'AAGF et a montré de bons résultats en ce qui concerne l'arrêt de la chute de cheveux, associée très rarement à une repousse.

Elle n'a pour le moment toujours pas d'AMM, ni pour le traitement de l'hirsutisme, ni pour celui de l'alopecie.

Le rôle des minéralocorticoïdes sur le cycle pileux a récemment été étudié. Un modèle animal a été créé utilisant une souris transgénique pour laquelle le gène codant pour le récepteur aux minéralocorticoïdes (RM) a été mis sous le contrôle de promoteur kératinocytaire. Il a permis de montrer que la surexpression du RM était à l'origine d'une alopecie. Ceci apporte des arguments pour évoquer un rôle direct des minéralocorticoïdes dans l'alopecie.

En lien avec ces résultats est l'association rapportée entre hypertension artérielle et risque de développer une alopecie androgenique.

Autre traitement : Saw palmetto ; Biotine..etc

CHAPITRE II

l'aromathérapie et le traitement d'alopecie androgénique

II.1 Introduction :

L'aromathérapie ou l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques est en expansion dans le monde. Elle s'affirme comme une thérapeutique complémentaire dans le conseil officinal. Elle permet l'harmonisation de la santé mentale et physique passant par la beauté.

Les bienfaits des huiles essentielles ne sont pas nouveaux, depuis longtemps les gens l'ont utilisé, parmi les précurseurs : on a les Égyptiens et leur célèbre technique d'embaumement au temps faste des pharaons.

Le nom « **aromaterii** » a été donné aux apothicaires vers le XVe siècle, donne une idée de la place occupée par les plantes aromatiques et leurs extraits dans la médecine à cette époque.

Les huiles essentielles et les arômes constituent dans le contexte de la santé, la majeure partie des composés aromatiques naturels qui sont aujourd'hui de plus en plus utilisés en diffusion, massage, par voie orale, dans le bain ... dans différents domaines : en **parfumerie** (HE de rose, de jasmin...) en **cuisine** (du fait leur apparition dans l'agroalimentaire et leur utilisation comme exhausteur de goût et fragrances dans divers produits : cafés, thés).

En **cosmétologie** (comme cicatrisant, anti-âge..) et en **thérapeutique** leurs rôle est avéré depuis l'Antiquité. Ces huiles sont extraites par hydrodistillation et possèdent un large éventail d'activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, anti-cancérogène, anti-inflammatoire...).

II.2 Historique :

L'histoire de l'aromathérapie commence plus de 3500 ans avant JC. Les plantes aromatiques étaient utilisées à l'époque dans les domaines : la parfumerie, la cosmétique, la religion, et de la médecine. C'était important pour les Egyptiens, les Arabes et les Grecs. Les formes d'emploi des huiles essentielles ont été surtout en pommade et en baume pour l'application cutanée, cependant l'utilisation par voie orale était également appliquée.

En 1910 le chimiste, parfumeur et père de l'aromathérapie scientifique René-Maurice Gattefossé redécouvre les bienfaits des huiles essentielles.

Le 25 juillet 1910, René-Maurice Gattefossé se brûle à la tête et sur les bras, par reflexe il prolonge sa main dans un récipient rempli d'huile essentielle de Lavande vraie. Le soulagement est immédiat, la guérison et la cicatrisation apparaît rapidement et efficacement sans infections ni cicatrices. Ce résultat surprenant l'incite à se consacrer à l'étude des propriétés et bienfaits des HE. **(Figure 09)**

Il crée en **1928** le mot « aromathérapie » en 1931 il publie son premier ouvrage du même nom lequel il décrit la relation entre structure biochimique et activité des composants aromatiques et a codifié les grandes propriétés des arômes naturels. Malheureusement les découvertes de René-Maurice Gattefossé n'ont pas reçu un grand succès, car à cette époque, il se développe en parallèle les produits chimiques de synthèse.



Figure 09 :Photo de René-Maurice Gattefossé [20]

En **1975, Pierre Franchomme**, biochimiste français fonde le premier laboratoire spécialisé dans les HE. Il met en évidence l'importance du chémotype. Sa précision permet de réduire les échecs thérapeutiques et de diminuer les effets secondaires ou les risques de toxicité.

Aujourd'hui, l'aromathérapie est accessible à tous et les connaissances quant à leurs utilisations sont précises. Il ne tient alors qu'au consommateur de s'y intéresser et de garder un regard critique qu'en à la qualité des produits qu'il achète. L'aromathérapie est sûrement l'une des techniques les plus naturelles possibles contre les affections du corps humain. Elle est aussi efficace en prévention qu'en guérison. [18], [19] [20]

II.3 Définition de l'aromathérapie :

C'est le chimiste René-Maurice Gattefosée qui a créé le terme « aromathérapie » en 1928.

Il vient du grec **aroma** qui signifie **odeur** et **therapia** qui signifie **soins**.

L'aromathérapie se base sur l'utilisation de la seule partie aromatique des plantes médicinales pour extraire les essences, les huiles essentielles et les hydrolysats aromatiques. A des fins thérapeutiques que ce soit à titre préventive ou curative les maladies physique et psychosomatique, malgré qu'elle fait partie de la phytothérapie mais c'est différent de cette dernière, c'est une « biochimio-thérapie naturelle » qui se fonde sur les relations existante entre les composants chimiques des huiles essentielles et leur activités thérapeutiques. [21]

II.4 Définitions de huile essentielle [22] :

Le terme « huile essentielle » est défini à la fois par l'agence nationale de sécurité du médicament {ANSM} pour les usages pharmaceutiques et cosmétiques et par la pharmacopée européenne et par l'AFNOR/ISO pour les usages aromatiques et alimentaires.

II.4.1 Selon ANSM :

« Ce sont des "produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition» [23]

II.4.2 Selon la Pharmacopée Européenne VIe édition : L'huile essentielle définie par la Pharmacopée Européenne «ne doit être ni partiellement, ni totalement déterpénée ou désquiterpénée. Elle ne doit pas être rectifiée par distillation fractionnée, ce qui serait susceptible de modifier sa composition. Elle ne doit pas avoir été modifiée par suppression, ni partielle, ni totale de l'un ou de plusieurs de ses constituants». [24].

II.4.3 Définition de l'huile essentielle selon la norme AFNOR NT 75-006 (fév 2006) :

« Une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par un entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus soit par distillation sèche, et qui est séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques » [25]

Il ne faut pas confondre :

D'autres extraits végétaux sont obtenus par extraction avec des solvants non aqueux volatils (hexane, éther...) tandis qu'un nouveau procédé d'extraction s'est développé récemment : l'extraction au CO₂ supercritique. Dans tous ces cas, il ne s'agit alors plus d'huiles essentielles, terme réservé aux produits de la distillation aqueuse, à sec ou de l'expression à froid, mais d'extraits végétaux qui portent différents noms selon les procédés successifs qui leur sont appliqués : concrètes, absolues, résinoïdes, oléorésines, etc.

Enfin, l'extraction sans distillation par de l'alcool, de l'eau liquide ou un mélange des deux, porte différents noms selon les méthodes pratiquées : tisane, macération, décoction, extrait hydro-alcoolique, teinture, etc.

L'ensemble est regroupé sous le terme générique « extraits naturels complexes » (natural complex substances ou NCS en anglais).

II.5 Choix de la méthode d'extraction :

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte.

II.6 Techniques conventionnelles d'extraction des huiles essentielles :

II.6.1 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :

La distillation par entraînement à la vapeur est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est placé dans l'alambic sur une plaque perforée située à une certaine distance au-dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée mais pas avec l'eau bouillante. La vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de glandes qui libèrent leurs composés aromatiques. Les huiles essentielles

diffusent donc à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées avant d'être décantées. Du fait de leur différence de densité, les HEs et l'eau sont séparées en deux phases et les HEs sont ensuite récupérés. Cette technique permet d'éviter des réactions lors du contact des constituants des huiles essentielles avec l'eau conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait. En outre, elle agit mieux avec les huiles essentielles contenues dans les glandes situées à la surface du végétal. La distillation à la vapeur des huiles essentielles non superficielles est plus longue et exige plus de vapeur que celle des HEs superficielles. (Figure 10)

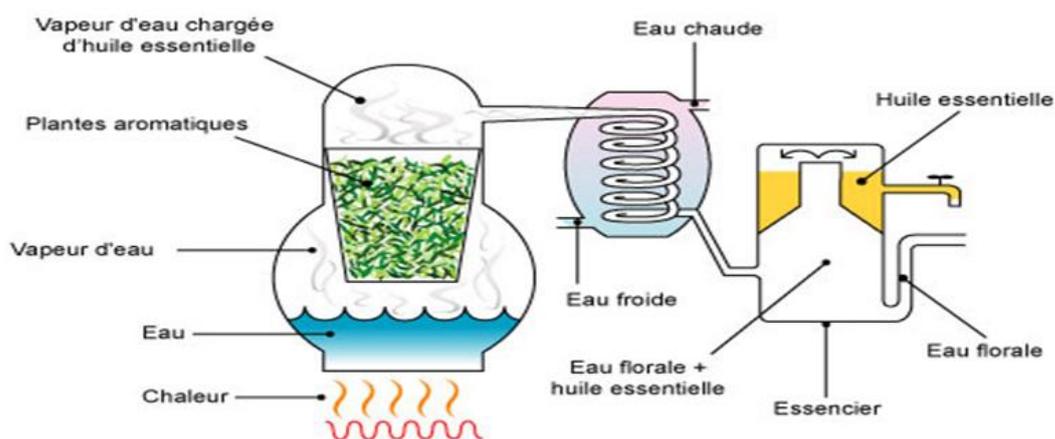


Figure 10 : Extraction par distillation à la vapeur. [25]

II.6.2 Hydrodistillation :

La méthode d'extraction des huiles essentielles la plus simple est l'hydrodistillation.

Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Durant l'hydrodistillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle contenue dans les cellules de la plante. La solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuse ensuite à travers le tissu de l'organe végétale vers la surface extérieure où l'huile essentielle sera vaporisée. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope. À la température d'ébullition, les pressions de vapeurs combinées sont égales à la pression d'évaporation. Ainsi, les huiles essentielles, dont les points d'ébullition varient normalement de 200 à 300 °C, s'évaporent à une température proche de celle de l'eau. Le mélange est ensuite refroidi.

L'eau et les HEs, une fois condensées, se séparent en deux phases. Le contact du matériel végétal avec l'eau dans cette technique engendre notamment des phénomènes d'hydrolyse. [26], [27] (**Figure11**).

L'effet de la chaleur peut causer des modifications chimiques et des dégradations des composants thermosensibles. Par conséquent, l'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère de l'essence originelle, d'autant plus que la durée de distillation est longue (3 heures). Les conditions opératoires et notamment la durée de distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'HE. [28]

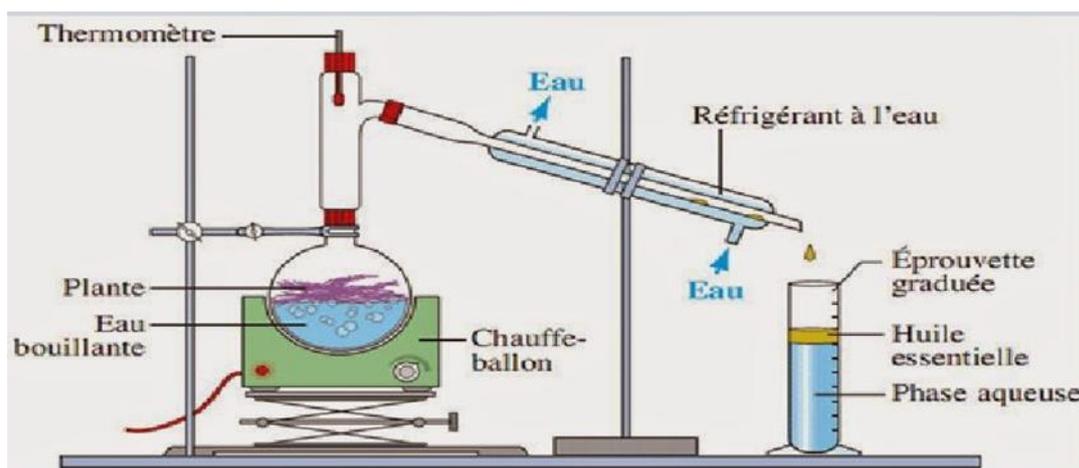


Figure11 : Schéma d'extraction par hydrodistillation. [26]

II.6.3 Expression à froid :

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes (Citron, Mandarine, Orange, Pamplemousse). Le principe de ce procédé mécanique consiste à éclater les minuscules vésicules et les poches à essences. L'essence ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau. Le procédé consiste à fixer le fruit sur une coupe équipée de de lames et une seconde coupe pour l'enfermer. Un couteau circulaire creuse un trou à la base du fruit. L'application d'une pression sur les parois du fruit entraîne l'extraction du jus qui va être transporté jusqu'au collecteur pendant que l'essence est extraite de la peau et collectée à l'aide d'un jet d'eau. L'émulsion eau-essence est ensuite séparée par décantation. L'intérêt de cette technique réside dans l'obtention d'essence n'ayant pas subi de modification chimique liée à la chaleur. De même, elle est couplée avec la production du jus de fruit. [27] (**Figure12**)

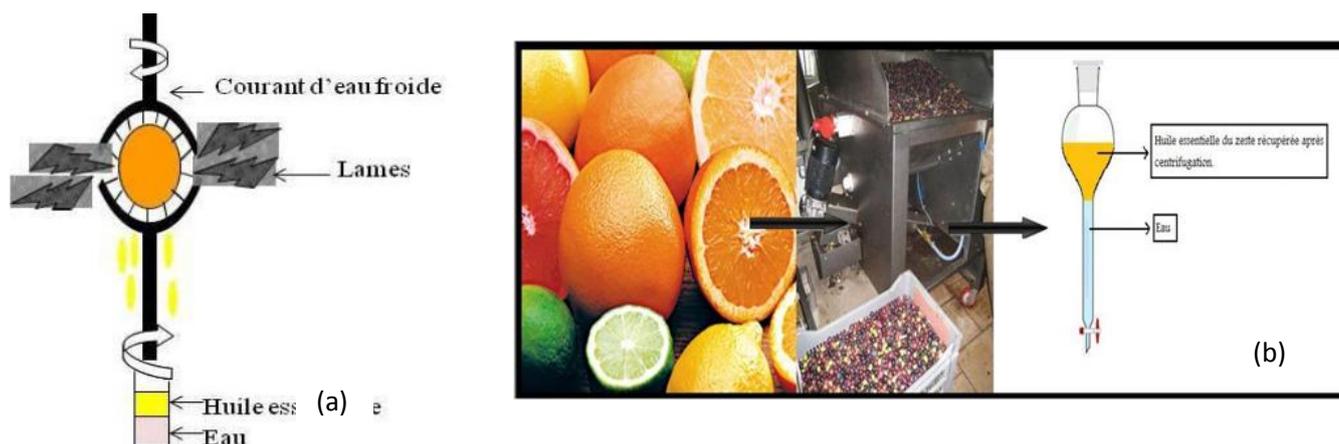


Figure 12 : Schéma (a) et photo(b) représentant l'extraction par expression à froid. [25]

I.6.4 Extraction sans solvant assistée par micro-ondes :

Les micro-ondes constituent, par ailleurs, une méthode d'extraction en plein développement. Cette méthode permet de réaliser des extractions du matériel végétal frais à pression atmosphérique, sans ajout d'eau ou de solvant. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes. Le chauffage interne de l'eau intrinsèque de la plante permet de dilater ses cellules et provoquer la distillation azéotrope d'un mélange d'eau/huile essentielle. Un système réfrigérant situé à l'extérieur du four à micro-ondes permet la condensation du distillat en continu, puis le mélange est dirigé dans l'appareil de Clevenger où les composés aromatiques sont obtenus par simple séparation de phase. L'excès d'eau est réintroduit dans le réacteur de manière à restaurer la quantité d'eau initialement présente dans la plante.

Comparée à la distillation traditionnelle, l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes permet d'obtenir une huile essentielle similaire de point de vue qualitative et quantitative en une durée d'extraction plus courte. Toutefois, l'extraction des composés oxygénés, de valeurs odorantes plus significatives que les monoterpènes est favorisée [27], [29], [30] (**Figure13**)

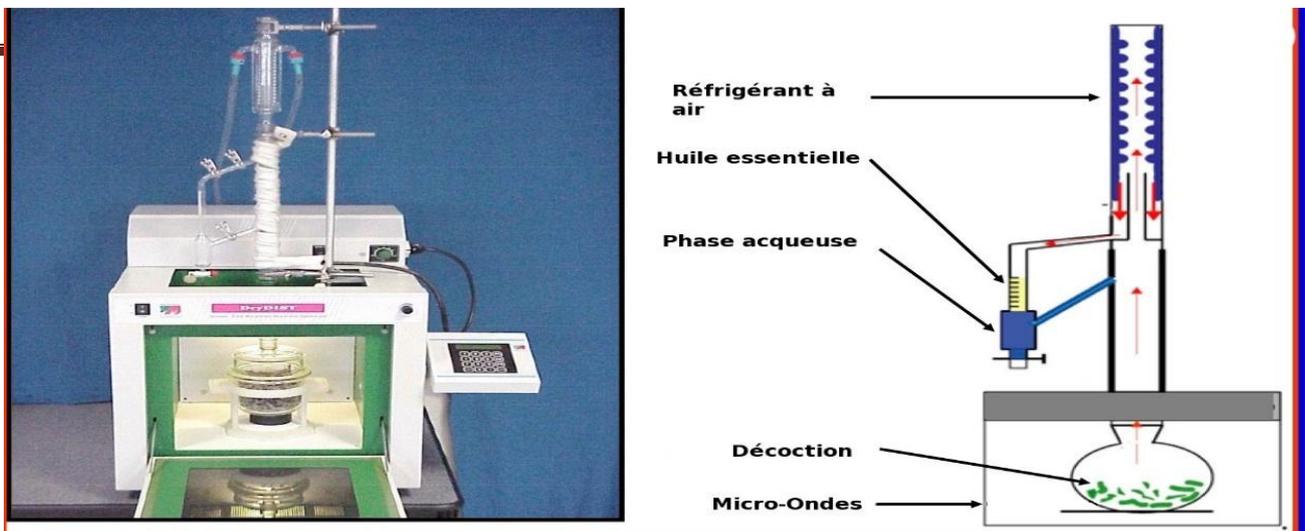


Figure 13 : Schéma d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes. [27]

II.7 Critères de qualité :

Bien que les huiles essentielles soient naturelles, elles n'en sont pas moins dotées de puissantes propriétés, ce qui les rend délicates à manipuler. La réglementation sur les huiles essentielles tend à contrôler leur utilisation pour en limiter les risques. **Tableau: 02**

II.8 Notion de chémotype :

Selon le climat, la composition du sol, l'altitude, la période de récolte, une plante ne se développera pas de la même manière. Pour certaines espèces de plantes aromatiques, il peut exister deux plantes identiques, appartenant au même genre et à la même espèce et pour une même partie de plante utilisée et des individus morphologiquement identiques, pourront produire des huiles essentielles totalement différentes. Il s'agit des chémotypes ou race chimique, qu'il faut systématiquement identifier et signaler. Ces chémotypes ou chémotypes se différencient par la composition chimique de leur huile essentielle. Ils correspondent à la carte d'identité biochimique de la plante en question (la liste des molécules présentes dans l'huile et leur concentration). Et qui dit molécules différentes : dit propriétés différentes ! mais dont la toxicité est également très variable.[31]

La notion de chémotype, introduite par Pierre Franchomme vers 1975. Il fait aujourd'hui figure de norme européenne puisque l'Union européenne a officialisé son adoption en 2006 par la ratification du règlement REACH (Enregistrement, Evaluation et Autorisation des produits Chimiques).

Chapitre II : l'aromathérapie et le traitement d'alopecie androgenique

Tableau 02: Les critères de qualité des huiles essentielles [19], [20] .[20], [21] [22] .[20] .[23] [24]

Matières premières végétales	Huile essentielle
<p>➤ Dénomination botanique : L'origine végétale du produit doit être définie avec précision par la dénomination scientifique botanique selon les règles linnéennes. L'aromathérapie exige une rigueur et une attention toute particulière à l'égard du nom entier (genre, espèce, sous-espèce, variété...) de la plante utilisée pour obtenir une huile essentielle de qualité.</p> <p>➤ Paramètres influençant la composition des plantes aromatiques :</p> <p>*les conditions environnementales de croissance (l'intensité lumineuse, la température...).</p> <p>* l'origine géographique.</p> <p>* conditions de culture, ou l'état sauvage.</p> <p>* Les conditions de récolte (récolte avant, pendant ou après floraison).</p> <p>* une bonne conservation (favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte).</p> <p>➤ Partie utilisée : La composition biochimique de l'huile essentielle extraite d'une même plante aromatique provenant du même biotope (l'environnement) peut varier en fonction de la partie de la plante qui est distillée (fleurs, feuilles, racines, zestes)</p> <p>➤ Précision du chémotype</p>	<p>➤ Le mode d'extraction : la composition des huiles essentielle chémotypes. peut varier selon le mode d'extraction utilisé. Ce choix conditionne les caractéristiques de l'HE (viscosité, couleur, solubilité, volatilité, sensibilité des composants enrichissement ou appauvrissement en certains constituants et utilisations et applications.) et dépend aussi de la matière première végétale (état originel et ses caractéristiques, sa nature).</p> <p>➤ Caractères physico-chimiques : Les HE sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles. . Elles sont plus ou moins colorées avec une densité en général inférieure à celle de l'eau leur indice de réfraction est élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels, entraînaibles à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau. Il y a une relation entre la structure chimique des molécules contenues dans les huiles essentielles, et leur activité biologique.</p> <p>➤ Identification et analyses chromatographiques : à l'aide de techniques telles que la chromatographie en phase gazeuse. Le profil chromatographique d'une huile essentielle, réalisé dans des conditions bien déterminées, permet d'obtenir une estimation reproductible des teneurs en différents composés caractéristiques de l'échantillon.</p> <p>➤ Conditions de conservation et de stockage : Après distillation, les huiles essentielles doivent être filtrées, puis stockées dans des cuves hermétiques inaltérables entreposées dans une cave fraîche. Leur mise en bouteille doit se faire uniquement dans des flacons en verre opaque pour assurer leur conservation à l'abri de la lumière et de l'oxygène.</p> <p>Les récipients sont fermés avec des bouchons étanches et inertes et doivent être conservés dans un endroit frais. La durée de conservation des huiles essentielles pures dans de bonnes conditions, se situe aux alentours de 12 à 36 mois selon l'huile essentielle considérée.</p>

II.9 Les plantes aromatiques:

De nos jours entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale. Les extractions de différents produits se font sous différentes formes dont les plus importantes sont : les tisanes, la gélule de la plante, suspensions intégrales de plantes fraîches, les teintures mères, les macérats glycélinés, et les huiles essentielles.

Certaines plantes sont à usage alimentaire, tisanes, industriels, d'autre à usage cosmétique sont capables, à partir des sucres issus de la photosynthèse et des nutriments puisés dans le sol, de synthétiser des essences aromatiques. C'est le soleil qui fournit aux plantes l'énergie nécessaire à la synthèse de ces substances. Cela explique pourquoi la majorité des plantes aromatiques poussent dans des zones ensoleillées, chaudes, voire sèches.

On peut citer par exemple les régions méditerranéennes avec les plantes aromatiques comme : le Romarin, le Thym, la Menthe ou la Lavande.

Certaines plantes ne sont pas forcément capables de produire suffisamment d'essences pour que l'on puisse les extraire sous forme d'HE. Les différents exemples du **tableau 03** permet de déduire que la quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible.

Tableau 03: Rendement d'huile essentielle obtenue à partir des plantes fraîches. [32]

Nom commun	Nom scientifique	Quantité de MV	Rendement
Camomille romaine	<i>Chamaemelum nobile</i>	200g	0.02%
Eucalyptus officinal	<i>Eucalyptus globulus</i>	20kg	2%
Giroflier (arbre au clou)	<i>Syzygium aromaticum (bouton floral)</i>	160kg	16%
badiane chinoise (anis étoilé)	<i>Illicium verum (fruit)</i>	50kg	5%
Lavande vraie	<i>Lavandula angustifolia</i>	6kg	0.60%
mélisse officinale	<i>Melissa officinalis (plante)</i>	80kg	8%
Marjolaine a coquilles	<i>Origanum majorana</i>	3kg	0.30%
Rose de Damas	<i>Rosa damascena</i>	3g	0.0003%
Thym commun	<i>Thymus vulgaris</i>	1kg	0.10%

II.9 .1 Les grandes familles des plantes aromatiques :

Le règne végétal recense plus de **800 000** espèces réparties sur l'ensemble de la planète bleue. Parmi ces plantes, certaines (seulement **10 %...**) sont dites aromatiques et capables de produire des huiles essentielles. Les espèces aromatiques sont retrouvées en grande majorité chez les végétaux supérieurs et dans un nombre limité de familles. **Tableau: 04**

Tableau 04 : Les grandes familles de plantes aromatiques[33], [34]

Les familles	Exemples
Les Abiétacées	les conifères (le sapin, le pin, le cèdre, la pruche)
Les Apiacées	l'angélique, la coriandre coriandre, fenouil, anis
Les Astéracées	la camomille, l'estragon, romaine, matricaire
Les Cupressacées	cyprés, le genévrier
Les Lamiacées	thym, lavande, sauge, menthe, romarin
Les Myrtacées	eucalyptus, giroflier
Les Rutacées	citron, orange, bergamote
Les Pinacées	sapin, pin, cèdre.....
Les Lauracées	laurier noble, bois de rose camphrier
Les Géraniacées	géranium bourbon et géranium rosat...
Les Myrtacées	eucalyptus, giroflier, myrte, melaleuca (tea tree)
Les Poacées	citronnelle de Java, palmarosa, lemon-grass
Les Éricacées	deux genres très intéressants en thérapeutique la gaulthérie et le lédon
Les Zingiberacées	gingembre, la cardamom

II.9 .2 Les plantes étudiées:

Pour notre étude nous allons nous intéresser par les plantes qui ont une action thérapeutique contre l'alopecie androgenique. *Il faut savoir que* : les huiles essentielles pénètrent à travers la peau et atteignent le système circulatoire (le sang) où elles se lient aux récepteurs et modifient la composition chimique. La phytothérapie topique stimule les follicules pileux et s'est avérée être le moyen le plus sûr de faire face à différents types de perte de cheveux (alopecie). [35], [36]

II.9.2.1 Rosmarinus officinalis L

Tableau 05 : Classification taxonomique de Cronquist

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Offecinalis</i>



Le nom binominal :

Rosmarinus officinalis L

Figure 15 : Planche de Rosmarinus officinalis L (a) [29] feuilles et fleurs de R. officinalis L(b) [30]

Du latin *rose* = apparente à **rhus** et signifiant arbrisseau ou buisson, *marinus*= **de mer** : allusion à son parfum et à son habitat sur les coteaux maritimes.

➤ Description :

Arbuste ou sous- arbrisseau très odorant, peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur, voire jusqu'à 2 m en culture. Feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, linéaire a marques révolutées, sessiles, mesurant 2cm de longueur sur 2mm de largeur, verdâtres en dessus et tomenteuses en dessous. Fleurs bleuâtres, déposées en grappes courtes, axillaires, brièvement pédicellées. Bractées petites, caduque,

calice a lèvre supérieure ovale et dont les lobes de la lèvre inférieure sont lancéolées corolle bleue rarement blanche avec lèvre supérieure divisée en 2 segments et a lèvre inférieure à 3 lobes dont un médian plus large. [37], [38]

- **La floraison** : commence dès le mois de février, parfois en janvier, et se poursuit jusqu'en Avril-Mai [39]
- **le fruit** : est un tétrakène. Ce dernier est de couleur brune.
- **La couleur des fleurs** : varie du bleu pâle au violet.
- **Exposition** : soleil.
- **Partie utilisées** : sommités fleuries.
- **Le moment de récolte** : pendant la floraison / après-midi. [33], [35]

II.9.2.1.1 Composition des huiles essentielles de romarin :

Composition des huiles essentielles du Romarin sont par la présence d'un ensemble des molécules chimiques de synthèse naturelle. Cestes dernières différent selon la nature de la plante, le sol [43] le temps de récolte [44], la partie de la plante [45], la préparation de l'échantillon,, ainsi que la méthode d'extraction [46].

A l'aide de la chromatographie en phase gazeuse on peut étudier les composants des huiles essentielles, les plus abondants sont : la résine, l'acide tannique, les flavonoïdes et 1-2% d'huile volatile contenant 0,8-6% d'esters et 8-20% d'alcools. Les principaux constituants sont le 1, 8-cinéole (15-30%), le bornéol, le camphre (15-25%), l'acétate de bornyle et les hydrocarbures monoterpéniques l'alpha-pinène (25%), la verbénone 1%) [45].



Figure 16: L'huile essentielle du Romarin. [40]

II.9.2.1.2 Classification des huiles essentielles du Romarin :Trois chemotypes [19].

Sont classée en fonction de leur chemotypes, ou "type chimique "« lorsqu'une molécule est présente en fort pourcentage dans une huile essentielle » [47] [43] . **Tableau: 06**

Tableau 06 : Représentant les différents chemotypes du Romarin [2].

1 Chemotype (Romarin a camphre)	camphre (30 %)	1,8 -cinéole (15-30 %)	alpha-pinène (25 %)	boméol libre et estérifié (1 à 5 %)	alpha-terpinéol (12 à 24 %)	limonène, camphène, bêta-pinène, bêta-caryophyllène, myrcène
2 Chemotype (Romarin a cineole)	camphre 8 %,	1,8cinéole 45%	alpha pinène (10 %)	béta pinène 8%	béta-caryophyllène (3%)	
3 Chemotype (Romarin a verbenone)	Camphre (1-15%)	1,8-cinéole (20%)	alpha-pinène	acétate de bomyle	Verbenone (15-37%)	

Tableau 07 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle du Romarin.

Propriétés d'huile essentielle	Indications
<ul style="list-style-type: none">➤ Anti-inflammatoire➤ Antimicrobienne➤ Antibactérienne➤ Antioxydante et protectrice ADN➤ Antalgique➤ Antiseptique pulmonaire➤ Anti fongique➤ Anti androgenique	<ul style="list-style-type: none">➤ Voie orale :<ul style="list-style-type: none">• soulager des symptômes de dyspepsie des troubles spasmodiques lies au tractus gastro-intestinal, de la grippe.• maladies rhumatismales, douleurs articulaires, contractures musculaire. .➤ Voie cutanée et comme additif pour le bain :<ul style="list-style-type: none">• Traitement adjuvant pour soulager les douleurs musculaires et articulaires ainsi que les troubles circulatoires périphériques mineurs.➤ Usage externe :<ul style="list-style-type: none">• affections ORL et broncho-pulmonaires, sinusites, bronchites, asthme Asthénie, surmenage.• chute de cheveux

II.9.2.1.3 Travaux antérieurs sur l'activité anti-alopecie androgenique de l'HE du Romarin

Nous avons se focaliser sur **l'activité anti androgenique** : [48], [49] [50] [51]

➤ **Au niveau de la faculté de pharmacie, de l'université de Kinki, d'Osaka, Japon en 2013:**

Une expérience a été établie sur des souris dont la zone dorsale était rasée pour juger l'efficacité d'extrait de feuille de Romarin sur la croissance et la pousée des cheveux, ce dernier a montré une activite anti androgenique de 82.4% et 94.6% à 200 et 500mg/ml respectivement. D'autre part les chercheurs ces chercheurs ont étudié le mécanisme d'activité anti androgenique de l'extrait de feuille de Romarin l'une des stratégies efficaces pour traiter AGA consiste à inhiber la liaison de la dihydrotestosterone aux recepteurs androgeniques. Par consequent l'extrait du Romarin est un médicament puissant pour améliore la croissance des cheveux. [50]

- **En 1998, des chercheurs du département de dermatologie d'Aberdeen, au Royaume-Uni :**

Ont mené une autre étude a été effectuée pour évaluer l'efficacité de l'application topique d'huiles essentielles en tant que traitement de l'alopecie areata. L'effet du l'aromathérapie contre AGA. **86** patients randomisent en 2 groupes. . Le groupe de traitement a reçu des massages quotidiens du cuir chevelu avec le mélange d'huiles essentielles *Lavande, Romarin, bois de Cèdre et Thym* Le groupe placebo a reçu des massages utilisant uniquement les huiles de support (Jojoba et de Raisin) Apres 7 mois, **19 (44%)** de 43 patients du premier groupe ont montrées une amélioration comparable à **6 (15 %)** de 41 patients du groupe témoin(**P.008**) les résultats démontrent que utilisation des huiles essentielles est un traitement efficace contre AGA. [52]

- **Teheran, Iran en 2015 :**

Des chercheurs furent un essai sur 100 patients avec AGA qui ont été divisés en deux groupes : se qui ont été traité par une lotion topique à l'huile de Romarin (3.7mg/ml) et l'autre par le Minoxidil 2%, pendant une période de six mois. Les deux groupes ont montré une augmentation significative des cheveux comptés à 6 mois. L'effet indésirable le plus fréquent concernant porté démangeaisons du cuir chevelu, plus fréquentes avec l'utilisation de Minoxidil. L'huile de Romarin semblait être un produit sans ordonnance sûr alternative à l'AGA.[53]

II.9.2.2 *Lavandula angustifolia* (Lavande vraie)

Tableau 08 : Classification taxonomique de Cronquist

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astériidées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Angustifolia</i>



Figure 17:Planche de *Lavandula angustifolia* L (c) [48]

Plante lavande vraie(d) [49]

Le nom binominal :

***Lavandula angustifolia* L**

Lavande vraie, autrefois *Lavandula vera* ou *Lavandula officinalis* :

On l'appelle aussi "*Lavande anglaise*", "*Lavande des Alpes*" ou encore "*Lavande fine*".

Lavandula du latin = lavare, laver suite aux Romain qui utilise HE pour parfumer l'eau des bains, *angustifolia* = a feullees aigues

➤ **Description :**

Sous-arbrisseau aromatique plante vivace, feuillage persistant haut d'environ 1 mètre. Son port est érigé et arrondi. Son pied très ramifié est établi sur une souche fortement racinée, la racine est pivotante, rameaux dressés et très ramifiés formant des touffes denses. Ses feuilles aromatiques, opposée dont on se sert notamment comme antimites dans les armoires, sont de couleur gris vert. Elles sont étroites, linéaires, sessiles, et se terminent en pointe aigüe. Ses petites fleurs sont disposées en petits verticilles répartis par couronnes successives le long de la hampe, bleues très odorantes, formant ainsi un faux épi dressé. La corolle tubulaire s'ouvre en 2 lèvres, bilobée en haut, trilobée en bas.[54]

- **La floraison :** comestible, du fin printemps au début de l'été.
- **les fruits:** petites graines étroites elliptiques a réniformes d'un brun roux brillant.
- **La couleur des fleurs :** violet /lavande.
- **Exposition :** soleil, mi- ombre une partie de la journée.
- **Partie utilisées :** sommités fleuries.
- **Le moment de récolte :** pendant la floraison / en matinée. Elles se cueillent à l'éclosion, après la rosée du matin, mais avant la grosse chaleur de midi. [55], [56] [57]

II.9.2.2.1 Composition d'huile essentielle de Lavande vraie :

L'analyse qualitative et quantitative par (GC/SM) de l'huile essentielle a permis d'identifier **20 composés** qui représentent un total de **91,84 %**. L'essence de *Lavandula officinalis* est constituée principalement de : Linalyl acétate (32,98 %), Linalool (28,92 %), β -caryophyllène (4.62 %), Acétate de lavandulyle (4.52 %), Z- β -ocimène (4.44%),terpinène-4-ol (4,32 %), E- β -ocimène (3.09 %), β -farnésène (2.73 %) totalisant environ 85,62 % Lavenanol, linalyl acetate, linalol, lavendulyl acetate, terpineol and cineol. [58], [59] **Tableau: 09**



Figure 18 : L'huile essentielle de Lavande [56]

Tableau 09: Chémotype de l'huile essentielle de Lavande [60], [61] [19]

Lavandula angustifolia (Lavande vraie)	Acetate de linalyl (42-52%)	linalool (32-42%)	terpinene-4 ol (4.32%)	
Lavande aspic (Lavandula spica)	Cinèole-1,8 (25.91%)	Linalool (49.47%)	Camphre (13%)	Bisabolène.

Tableau 10 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle de Lavande vraie.

Propriétés d'huile essentielle	Indications
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Antiseptique ➤ Tonique/spasmolytique ➤ Cicatrisante ➤ Anesthésique ➤ Antifongique ➤ Anti androgénique 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Voie orale et comme additif pour le bain : <ul style="list-style-type: none"> • Soulager les symptômes bénins de stress mental et d'épuisement ainsi que pour aider au sommeil ➤ voie interne : <ul style="list-style-type: none"> • carminatif, stomachique, diurétique et sédatif. • chute de cheveux

II.9.2.2 Travaux antérieurs sur l'activité anti-alopécie androgénique de l'HE de la Lavande :

➤ **Un groupe des chercheurs de l'université de Keimyng, Daegu, Corée**, a fait une étude animale pour déterminer les effets sur la croissance des cheveux de l'huile essentielle de Lavande (LO) chez la femelle C57BL / 6 souris. Les animaux de laboratoire ont été divisés en un groupe normal (N: solution saline), un groupe témoin de véhicule (CV: huile de Jojoba), un groupe témoin positif (PC: **3% Minoxidil**), un groupe expérimental 1 (**E1: 3% LO**), et groupe expérimental 2 (**E2: 5% LO**). Les groupes PC, E1 et E2 ont montré une croissance plus rapide et approfondis des follicules pileux, avec une couche dermique épaisse, Ces résultats indiquent que LO a un effet promoteur marqué pour la croissance des cheveux, LO pourrait être pratiquement appliqué comme agent favorisant la croissance des cheveux. [62]

➤ **Une autre étude a été effectuée pour évaluer l'effet de l'aromathérapie contre AGA. 86** patients randomisent en 2 groupes. Un premier groupe fait un massage a base des huiles essentielles (*Lavande, Romarin, bois de Cèdre et Thym*) mixe avec l'huile de jojoba et de Raisin et le deuxième groupe témoin à utilise que l'huile végétale sans huile essentielle. Après 7 mois, **19 (44%)** de 43 patients du premier groupe ont montrées une amélioration comparable à **6 (15 %)** de 41 patients du groupe témoin (**P.008**) les résultats démontrent que utilisation des huiles essentielles est un traitement efficace contre AGA . [63]

II.9.2.3 Menthe spicata L (Menthe verte) :

Tableau 11 : Classification taxonomique de Cronquist

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Spicata</i>



Figure19 : Planche de Mentha spicata L.(e)
[61]

feuilles de Menthe verte (f) [62]

Le nom binominal :
Mentha spicata L

Autres noms vernaculaires : Menthe crépue, Menthe douce, Menthe en épi

➤ Description :

C'est une plante très aromatique, vivace herbacée (hémicryptophyte) elle peut atteindre 60 cm et même 1 m de hauteur. Les tiges de section carrée, robustes sont glabres ou glabrescentes. La plante est pourvue de stolons qui assurent sa multiplication, ce qui peut la rendre envahissante. Le feuillage vert profond, ces feuilles opposées sessiles, glabres et ovales lancéolées avec des bords en dents de scie (serretés). Ses inflorescences en verticilles axillaires forment des épis terminaux denses, souvent ramifiés avec des fleurs labiées parfumées mellifères et nectarifères. Le calice est en tube glabre. La corolle glabre en dedans. Les fruits sont des tétrakènes, issus d'un ovaire infère sont groupés dans le bas du calice persistant. [64], [65]

- **La floraison** : fin d'été : d'Août à Octobre.
- **La couleur de des fleurs** : blanche, rose ou lilas.
- **Exposition** : soit exposé en plein soleil ou à la mi-ombre.
- **Partie utilisées** : la partie aérienne (les feuilles).
- **Le moment de récolte** : selon les besoins tout au long de l'année / le matin avant les grandes chaleurs, coupez au ras du sol. [64], [66]



Figure 20: Fleur de Menthe verte [67]

II.9.2.3.1 Composition d'huile essentielle de la Menthe verte :

Les compositions sont très variables selon les lieux de la récolte et donc les conditions climatiques. [68], [69] **Tableau: 12**

L'huile essentielle de *Mentha spicata*. C'est un liquide jaune pâle, d'odeur herbacée, menthée, douce et sucrée. La norme ISO 3033-1:2005 la désigne comme « Huile essentielle de Menthe crépue (ou Menthe verte) ». [70] L'huile essentielle officinale renferme de 55 à 67 % de carvone et de 2 à 25 % de limonène.



Figure 21 : L'huile essentielle de Menthe [71]

Tableau 12: les composants de HE de Menthe verte d'Algérie analysée par GC/MS [71]

Compositions	Pourcentage
Caryophyllene	1.2
Spathulenol	0.32
β – phellandrène	0.86
β - myrcène	1.84
Limonène	21.02
1,8-cinéole	3.8
β -pinène	1.62
Eucalyptol	5.63
P cymene	0.15
α -pinene	1.44
β - Bourbonene	2
L-Borylacetate	0.31
Pulegone	0.23
Aromadendrene	0.49
P.mentha3,4-diene	0.33
D germacrene	0.21
Neodyhydrocarveol	4.05
Transhydrocarvone	3.09

L'analyse de l'huile de *Mentha spicata* cultivée à Turin (Italie) et d'une variété originaire du Michigan (USA) indique aussi des profils chromatographiques semblables [65]

Tableau 13: Composition chimique d'huile essentielle de Menthe verte de Turin et de Michigan [65]

la carvone (39,13% et 59,26%) resp	limonène	terpinène- 4-ol	<u>dihydrocarvéol</u>	caryophyllène	<u>germacrène D</u>	Pas de menthol
--	----------	--------------------	-----------------------	---------------	---------------------	---------------------------

L'huile essentielle de la Menthe verte peut présenter plusieurs chémotypes différents :[65], [72]

Tableau: 14

Chémotype 1 : huiles riches en carvone, donnant une flaveur chaude peu épicée et une sensation de fraîcheur. Ainsi l'analyse de l'huile essentielle des chercheurs (M. Govindarajan & R. Sivakumar & M. Rajeswari & K. Yogalakshmi) a révélé 18 composés dont les trois principaux sont :[73]

Tableau 14 : Les chémotypes de l'huile essentielle de la Menthe verte.

Chémotype 1	Carvone (48.60%)	Cis-carvéol (21.30%)	Limonène (11.30%)
Chémotype 2	Pipériténone (pipéritone)	Pulégone	Menthone
Chémotype 3	Pipériténone		

Tableau 15 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle de la Menthe verte.

Propriétés d'huile essentielle	Indications
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Expectorant, Mucolytique ➤ Anti-Inflammatoire ➤ cholagogue, Cholérétique ➤ Antiviral antiparasitaire ➤ Cicatrisant ➤ Calmante nerveuse 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Application cutanée : <ul style="list-style-type: none"> • Angoisse, blocage du plexus solaire, cicatrice, plaie, spasmophilie, ➤ Voie respiratoire : <ul style="list-style-type: none"> • Angoisse, blocage du plexus solaire, nervosité, sinusite, spasmophilie, stress, toux grasse ➤ Voie interne : <ul style="list-style-type: none"> • Bronchite, digestion difficile, infection respiratoire, toux grasse

II.9.2.4 Pistacia lentisque (Arbre au mastic):

Tableau 16 : Classification taxonomique de Cronquist

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidées
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceés
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Lentiscus</i>



Le nom binominal :

Pistacia lentiscus L

Figure 22 : Planche Pistacia lentiscus (j) [75] fruit de lentisque (h) [76]

➤ **Description :**

C'est un arbuste à feuillage persistant haut de 3 à 6 mètres. Son tronc produit une écorce gris-orangé qui contient les canaux d'où l'on peut extraire la fameuse résine de Lentisque. Ses feuilles sont disposées de façon alterne sur les rameaux, elles sont paripennée, coriace et persistante composées de 1 à 6 paires de folioles au contour entier et à nervation pennée, insérées sur un rachis ailé de couleur vert clair au printemps, plus foncé en été et sombre en hiver. Le Lentisque est une plante dioïque ses fleurs apétales sont groupées en racèmes axillaires courts et cylindriques. Les fleurs mâles présentent 5 petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres, les fleurs femelles 3 ou 4 sépales et un ovaire supère avec un style se terminant par 3 stigmates. Les fruits sont disposés en grappe dense, ornementaux et comestibles.

- **La floraison :** entre Mars - Mai et Juin.
- **Les fruits:** drupes, comestible. D'abord rouge et d'une saveur amère elle devient ensuite noire et douce en hiver.
- **La couleur des fleurs :** verte
- **Exposition :** ensoleillée à ombre claire
- **Partie utilisées :** rameaux feuillés.
- **Le moment de récolte :** Décembre à Janvier. [77],[79]



Figure 23: l'huile essentielle de lentisque. [80]

II.9.2.4.1 Composition de l'huile essentielle de lentisque:

l'huile essentielle de Lentisque pistachier est limpide, de couleur jaune, à l'odeur intense herbacée, les compositions sont très variables selon les lieux de récolte [71], [77].cette huile essentielle est fortement concentrée en alpha-pinène, terpinèn-4-ol et myrcène notamment [19]

Tableau: 17

Chapitre II : l'aromathérapie et le traitement d'alopecie androgenique

Tableau 17: Certain composants chimiques de l'huile essentielle de Lentisque d'Algerie analysee par GC/MS. [71]

Constituant	Pourcentage
P. cymène	14.85
Spatulenol	13.09
α -pinène	2.22
β - myrcène	1.91
β -phellandrène	5.61
Camphène	0.24
Naphtalène	0.82
γ -gurjunène	1.99

Tableau 18 : Quelques propriétés et indications de l'huile essentielle de Lentisque.

Propriétés d'huile essentielle	Indications
<ul style="list-style-type: none">➤ décongestionnant lymphatique➤ décongestionnant veineux➤ décongestionnant prostatiqu➤ anti-inflammatoire➤ Antispasmodique	<ul style="list-style-type: none">➤ Application cutanée :<ul style="list-style-type: none">• cellulite, ecchymose, escarre, jambes lourdes, œdème, pieds fatigués, prostatite, rhinopharyngite, varices,➤ Voie respiratoire :<ul style="list-style-type: none">• Angoisse, anxiété, bronchite, fatigue, nervosité, rhinopharyngite, sautes d'humeur, sinusite, stress



CHAPITRE III
Généralité sur les émulsions

III Généralité sur les émulsions :

III .1 Les émulsions :

De nos jours, les émulsions constituent 60% des formes utilisées comme des produits de dermatopharmacie et cosmétique. Elles sont aussi, très utilisées dans d'autres industries, notamment l'industrie pharmaceutique, agroalimentaire, les peintures, l'agrochimie et l'industrie pétrolière.

Dans l'industrie pharmaceutique, les applications sont nombreuses : émulsions parentérales, topiques, orales ou ophtalmiques, et ceci du fait de leurs excellentes capacités de solubilisation des ingrédients actifs lipophiles et hydrophiles, et du fait de leur bonne tolérance.

L'étude des émulsions est ainsi complexe mais primordiale dans le domaine industriel pour assurer des produits stables possédant les propriétés attendues par le consommateur.

Dans le contexte actuel, le désir des consommateurs d'acheter des produits de plus en plus naturels fait qu'il est nécessaire de rechercher et de formuler des émulsions sans ingrédients d'origine chimique. [78]

III.1.1 Définitions :

Une émulsion est une dispersion d'un liquide dans un autre, les deux liquides étant non miscibles entre eux, le plus souvent de l'eau et de l'huile. La dispersion d'une phase dans une autre nécessite la création d'interfaces coûteuses en énergie.

Le liquide dispersé en petites gouttelettes est appelé la phase dispersée, interne ou discontinue.

L'autre liquide est le milieu de dispersion, la phase externe ou la phase continue.[79] (**Figure 24**)

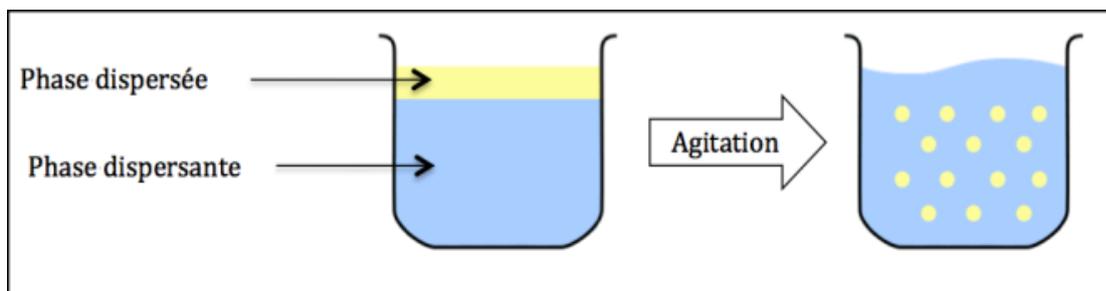


Figure 24 : Emulsion : phase dispersée et phase dispersante [80]

Pour que l'état dispersé demeure dans le temps, il faut ajouter au système un émulsifiant qui va s'adsorber à l'interface eau – huile, abaisser la tension interfaciale et permettre ainsi de limiter cinétiquement la séparation de phase.

III .1.2 Différents types d'émulsions :

Le terme « émulsion » peut désigner différents systèmes, en fonction de la nature et la taille des gouttelettes de la phase dispersée :

III .1.2.1 En fonction de la taille :

- Les macro-émulsions : simplement appelées émulsions, sont des systèmes pour lesquels la taille moyenne des gouttes est supérieure au micromètre. Elles sont donc généralement soumises au crépage ou à la sédimentation sous l'effet de la gravité. Ce sont des systèmes thermodynamiquement instables et leur préparation demande un apport énergétique extérieur.
- Les microémulsions : sont des systèmes pour lesquels un émulsifiant rend possible le mélange à l'échelle micrométrique des deux phases, le plus souvent sous la forme de micelles gonflées ou de phases bi-continues. Ce sont des systèmes thermodynamiquement stables, leur formation se fait sans apport extérieur d'énergie.
- Enfin, les nano-émulsions : désignent des systèmes pour lesquels la taille des gouttes de la phase dispersée est comprise entre 20 et 200 nm. Elles sont donc moins affectées que les macro-émulsions par la sédimentation et le crépage. Cependant, ces systèmes sont eux-aussi thermodynamiquement instables [81]

III .1.2.2 En fonction de la nature de la phase dispersée [81]:

Nous distinguons plusieurs types d'émulsions (**Figure 25**)

- Les émulsions à phase externe hydrophile : c'est les émulsions « huile – dans – eau » (h/e) ou L/H Les émulsions inverses lipophiles « eau – dans – huile » (e/h) ou H /L
- Les émulsions multiples (e/h/e) ou (h/e/h), qui sont des émulsions dont la phase dispersée est elle-même une émulsion.
- Les émulsions Janus ((h1 + h2)/e), qui sont des émulsions formées à partir d'au moins trois phases. Le plus souvent, elles sont composées de deux huiles immiscibles dispersées dans l'eau sous la forme d'une émulsion directe pour laquelle chaque goutte contient les deux types d'huile.

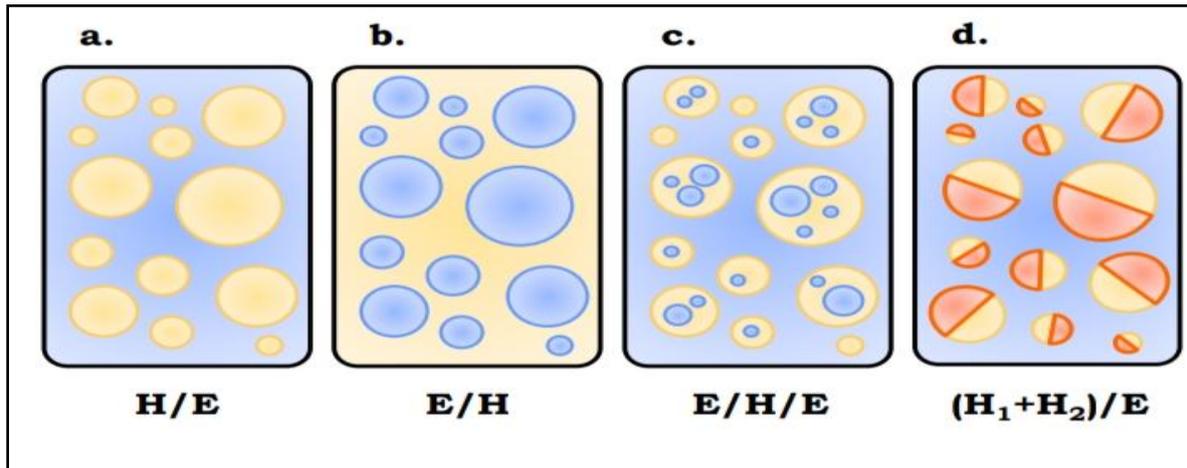


Figure 25: Différents types d'émulsions. (a. émulsion directe, b. émulsion inverse, c. émulsion multiple à phase continue aqueuse et d. émulsion de Janus. [81]

III.2 Les avantages et les inconvénients des différents types d'émulsions [82]:

Chaque type d'émulsion possède un certain nombre d'avantages et des inconvénients, ils sont mentionnés dans : **Tableau 19**

Tableau 19: Les avantages et les inconvénients des émulsions.

	Les avantages	Les inconvénients
Emulsions H/E	Texture fluide Toucher et utilisations agréables Etalement facile Sensation de fraîcheur	Peu occlusives donc peu protectrices, elles peuvent favoriser la déshydratation et engendrer des sensations de tiraillements.
Emulsions E/H	Elles ont une substantivité et une occlusivité supérieures aux précédentes, elles sont donc plus protectrices et leur action est plus prolongée.	Toucher plus gras Texture plus épaisse ➤ Etalement moins facile Ses inconvénients tendent à s'atténuer avec les nouveaux émulsionnants polymères et les phases lipophiles plus légères, notamment les huiles de silicone (Emulsions E/H).
Les émulsions multiples	Texture onctueuse et fine sans toucher gras Protection des actifs et possibilité d'introduire dans une même formule des actifs incompatibles Possibilité de moduler la libération et de prolonger l'action des actifs.	Leur formulation, délicate à réaliser. Leur fragilité vis-à-vis de la rupture nécessitant une quantité plus importante d'additifs.
Les microémulsions	Leur fort pouvoir de solubilisation qui leur permet de véhiculer des actifs peu solubles Leur stabilité Leur esthétique du fait de leur transparence Elles augmenteraient la pénétration des substances actives.	Leur plus forte proportion en tensioactifs, nécessaire à leur réalisation, pouvant être à l'origine d'irritation. Leur faible viscosité.

III.3 Phénomène d'instabilité des émulsions : [81]

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. 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 (**Figure 26**) :

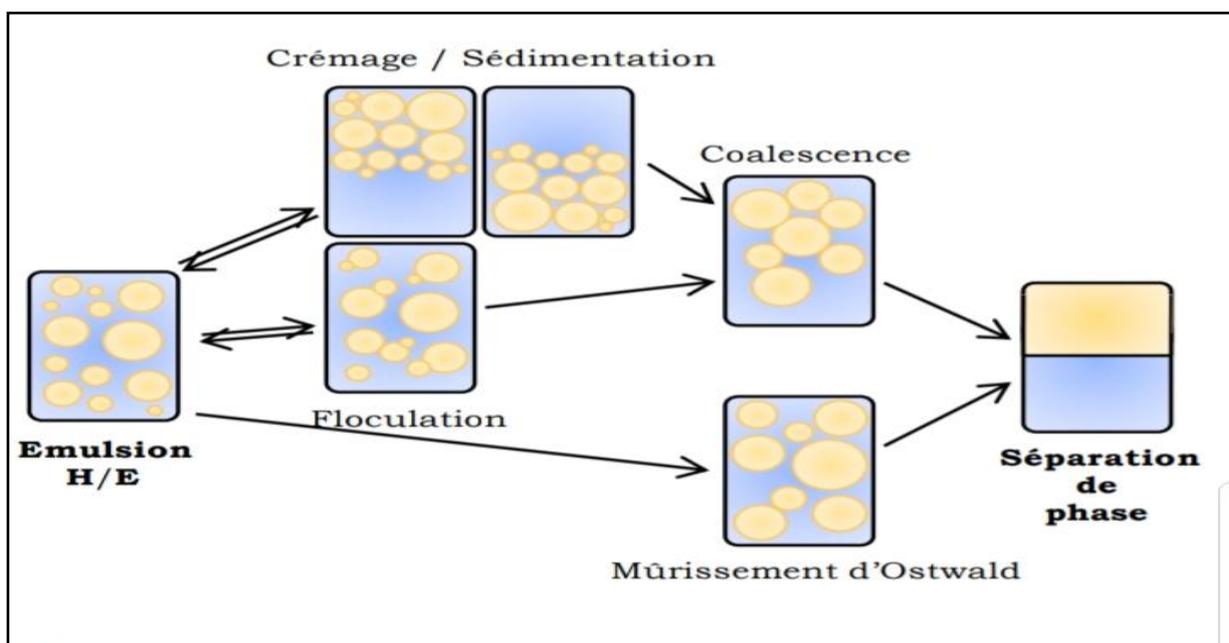


Figure 26 : les différents mécanismes de déstabilisation des émulsions simples. [81]

III.3.1 Phénomènes réversibles :

Le crémage, la sédimentation et la floculation sont des mécanismes réversibles de vieillissement qui ne conduisent pas à une déstabilisation macroscopique de l'émulsion. Ils n'affectent pas la distribution de taille des gouttes de la phase dispersée mais peuvent contribuer à rendre l'émulsion inhomogène.

- Le crémage ou la sédimentation résultent de la différence de densité entre la phase aqueuse et la phase huileuse. La phase émulsifiée se concentre alors soit au-dessus, dans le cas du crémage, soit en dessous de la phase continue.
- Dans le cas de la sédimentation. Ce processus intervient lorsque les forces de gravité dominant l'agitation thermique.
- La floculation est induite par les interactions attractives entre les gouttes, telles que le phénomène de déplétion, le pontage des gouttes par l'émulsifiant, et / ou les interactions de Van der Waals. Elle intervient lorsque ces forces attractives sont plus importantes que les forces répulsives que sont les interactions électrostatiques ou stériques.

-La vitesse de migration des gouttelettes est régie par la loi de Stokes :

$$v = \frac{2}{9} \frac{\Delta\rho g r^2}{\eta_c} .$$

Avec : v = vitesse de migration de la goutte (m.s^{-1}).

g = accélération due à la pesanteur (m.s^{-2}).

$\Delta\rho$ = différence entre les masses volumiques des phases (kg.m^{-3}).

r = rayon de la goutte (m).

η_c = viscosité dynamique de la phase continue (Pa.s).

Pour réduire la vitesse de floculation, crémage et sédimentation, on peut agir soit sur la viscosité de la phase externe par addition d'épaississants, soit sur le diamètre des globules qui doit être le plus petit possible, ou encore sur le rapprochement des masses volumiques des deux phases.

III .3.2 Phénomènes irréversibles :

Enfin, il existe deux mécanismes irréversibles qui conduisent à la séparation de phase de l'émulsion :

Le mûrissement d'Ostwald et la coalescence.

- Le mûrissement d'Ostwald : correspond au transfert des gouttes les plus petites vers les plus grosses. Ce phénomène est causé par la différence de pression de Laplace existant entre gouttes de différentes tailles, la pression étant plus importante dans les petites gouttes qui se vident au profit des plus grosses.

➤ La coalescence : consiste en la fusion de deux gouttes par rupture du film interfacial. Elle est d'autant plus importante que les gouttes de la phase dispersée sont proches les unes des autres, comme c'est le cas après crémage, sédimentation ou floculation de l'émulsion

III.4 Formulation des émulsions :

La formulation d'une émulsion vise à apporter au mélange le ou les produits qui vont permettre ou faciliter la formation d'un système stable au repos, pour un temps plus ou moins long suivant l'usage prévu.

Les paramètres imposés par les conditions de mise en œuvre, de fabrication , de stockage, varient tellement d'un cas à l'autre que l'on doit adapter à chaque type une composition d'émulsion ou procédés de formulation différents[83].

Elles traitent de :

➤ **Rationalisation du choix des constituants**

Il est conseillé d'adopter une approche rationnelle de choix des constituants. Le formulateur doit commencer par choisir le type d'émulsion qu'il veut réaliser : eau dans l'huile ou huile dans l'eau. Il devrait ensuite s'efforcer de justifier la présence de chacun des constituants : telle phase grasse pour améliorer le toucher, tel polymère pour augmenter la viscosité finale, etc. [83].

➤ **Importance du mode opératoire**

Le mode opératoire est très important pour obtenir le résultat désiré. Le développement d'un mode opératoire adapté fait donc partie intégrante de la stratégie de formulation.

Il est important donc de :

- Fixer les proportions des phases lipophiles et hydrophiles.
- Optimiser la quantité d'émulsifiant à utiliser.
- Fixer l'ordre d'addition des phases.
- Déterminer la température de dispersion.
- Évaluer l'énergie de mélange nécessaire pour l'émulsification.[84]

III .4.1 Techniques d'émulsification [85]:

III. 4.1.1 Par agitation mécanique :

III .4.1.1.1 Par dispersion :

Le principe de cette méthode repose sur la création d'un bon cisaillement pour favoriser la rupture des gouttelettes. Ce type d'agitation doit assurer une bonne circulation du produit afin de fournir une distribution de taille étroite. Si la dispersion s'avère difficile à effectuer, l'ajout d'homogénéiseur est indispensable.

III .4.1.1.2 Par homogénéisation :

L'homogénéisation des dispersions doit permettre de conférer au produit fini la granulométrie et la stabilité requise. La taille des gouttes de l'ordre 10 à 100 μm obtenu lors de l'étape précédente est ramenée à une valeur inférieure au micromètre.

Les appareils utilisés présentent comme caractéristiques communes une géométrie complexe forçant le liquide à passer dans une zone confinée ou il subit de très forts gradients de vitesse.

Exemples d'équipements fonctionnant par homogénéisation :

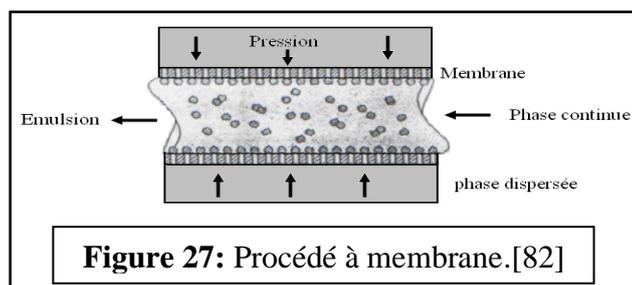
- Dispositif rotor stator
- Moulin colloïdal

III .4.1.2 Procédés par ultrason :

Les ultrasons de puissance sont des ondes sonores dont les fréquences sont comprises entre 16 KHz et 1 MHz. Ils génèrent des émulsions très fines et très stables avec une quantité de tensio-actif très faible.

III .4.1.3 Procédés à membranes :

Le procédé consiste à forcer la phase dispersée à passer dans la phase continue, qui contient les tensioactifs, à travers une membrane de microfiltration ou d'ultrafiltration. (**Figure 27**)



III .4.2 Fabrication des émulsions :

Généralement la préparation des émulsions se décompose en deux étapes successive : d'abord une étape de dispersion, mélange visant à préparer séparément la phase continue et discontinue puis à une étape d'émulsification précédé d'une étape de pré-émulsification dont le but est de réduire la taille des gouttes de façon à conférer à l'émulsion les propriétés requises et à la stabiliser.

III .4.2.1 Matières premières :[86]

III .4.2.1.1 Phase hydrophile :

La phase aqueuse ou phase hydrophile contient l'eau et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc.

En fonction du type d'émulsion (alimentaire, cosmétique, pharmaceutique) les substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses propriétés : augmentation de la durée de conservation, modification du goût, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité, etc.

III. 4.2.1.2 Phase lipophile :

La nature de la phase huileuse influence le comportement du système. Cependant, si des conditions correctes de préparation sont appliquées, la plupart des huiles forment des émulsions ; celles-ci correspondent soit à des huiles au sens strict du mot, soit à des phases organiques.

La phase huileuse ou phase grasse, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à température ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale.

Le **tableau 20** donne quelques exemples d'ingrédients de la phase huileuse.

Tableau 20: Exemples d'ingrédients de la phase huileuse.[86]

Origine	Cires	Graisses	Huiles
Animale	Cire d'abeille	Lanoline	Huile de baleine
Végétale	Cire de Carnauba	Beurre de cacao	H. Arachide, soja, olive
Minérale	Paraffine	Vaseline	Vaseline, paraffine
Synthétique	Esters gras	Esters gras	Huiles de silicone

III .4.2.1.3 Les émulsifiants:

Il existe plusieurs familles d'émulsifiants : les tensioactifs, les particules, les polymères et les protéines.

➤ Les tensioactifs :

Les tensioactifs sont les émulsifiants les plus utilisés et les mieux décrits dans la littérature. Ce sont des molécules amphiphiles de faible masse molaire constituées d'une chaîne carbonée hydrophobe et d'une tête polaire hydrophile neutre ou chargée.

• Différents types de molécules tensioactives :

Les tensioactifs peuvent être : soit des petites molécules (phospholipides, monoglycérides, diglycérides, ...) soit des molécules de tailles plus importantes. Il existe de nombreuses molécules tensioactives très différentes les unes des autres. On peut classer ces molécules en fonction de la charge de la tête hydrophile :

✓ **Les tensioactifs anioniques** : La tête polaire est chargée négativement. Par exemple, les ions carboxylates ou sulfonâtes.

✓ **Les tensioactifs cationiques** : La tête polaire est chargée positivement. Par exemple, les amines protonées ou encore les ammoniums quaternaires. Cependant, ce type de tensioactifs regroupe des molécules toxiques et irritantes, leur utilisation est donc limitée.

✓ **Les tensioactifs amphotères** : La tête hydrophile porte à la fois une fonction acide et basique. En fonction du pH du milieu, le tensioactif ne libère pas le même ion. En milieu basique, ce tensioactif se comporte comme un anion et en milieu acide comme un cation. C'est le cas des phospholipides (comme les lécithines) mais aussi des bétaïnes.

✓ **Les tensioactifs non ioniques** : La tête polaire n'est pas chargée mais elle possède des groupements polaires susceptibles de créer des liaisons hydrogènes. Par exemple, les esters de glycol ou encore des éthers d'alcool gras.[87]

• Balance hydrophile lipophile « HLB » :

Le concept de balance hydrophile-lipophile (HLB) qui permet de préciser la nature plutôt hydrophile ou plutôt lipophile d'un tensioactif est couramment utilisé. Le paramètre HLB, qui croît avec le caractère hydrophile du tensioactif, a été défini par Griffin dès les années 50. Il est facilement accessible par le calcul dans le cas des tensioactifs non ioniques : il est d'ailleurs souvent précisé par les fournisseurs.

➤ Les polymères :

Les polymères sont également des émulsifiants efficaces. Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, leur structure pouvant être très variée aussi bien chimiquement qu'architecturalement.

- Nous distinguons les homopolymères, formés à partir d'un seul type de monomère, des copolymères composés d'au moins deux monomères différents. Contrairement aux tensioactifs classiques, les polymères créent une répulsion stérique importante entre les gouttes, ce qui permet de stabiliser des émulsions sur des temps longs avec des concentrations faibles en émulsifiant. De plus, grâce à leur masse molaire élevée, ils sont généralement considérés comme moins toxiques que les tensioactifs. [81]

➤ les protéines :

Les protéines peuvent aussi être utilisées comme émulsifiants. Les protéines sont des macromolécules biologiques formées d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques. Ces macromolécules sont donc constituées d'un enchaînement d'acides aminés et présentent une organisation spatiale complexe. Ainsi, elles possèdent souvent des propriétés tensioactives. Les protéines permettent donc de stabiliser efficacement des émulsions mais aussi de leur conférer des propriétés physico-chimiques originales. Les émulsions stabilisées par des protéines sont souvent très stables dans le temps grâce à la bonne répulsion stérique et électrostatique garantie par ces macromolécules. Par exemple, la β -caséine est une protéine que l'on trouve en outre dans le lait et qui est très utilisée pour stabiliser des émulsions dans l'industrie agroalimentaire. Les protéines permettent notamment la stabilisation efficace d'émulsions multiples en deux étapes d'émulsification.

III .4.2.1.4 Autres matières :

➤ Conservateurs :

Les conservateurs sont utilisés pour augmenter la durée de conservation du produit. Ils empêchent la croissance de micro-organismes susceptibles d'entraîner la détérioration des émulsions. On compte parmi ces composés des acides sorbiques et benzoïques et leurs sels, acides acétique, propionique, malique, fumarique et leurs sels.

➤ Parfums et colorants :

Parfums, produits aromatiques dégagant une odeur agréable. On distingue les parfums naturels qui sont d'origine animale ou végétale, et les parfums artificiels.

Colorants, composés chimiques colorés, naturels ou synthétiques, en général organiques, qui ont la propriété de colorer durablement le support sur lequel ils sont appliqués dans certaines conditions

III .4.2.2 Le procédé d'émulsification : [88]

La formulation d'émulsion se déroule généralement suivant les étapes : **(Figure 28)**

➤ **Etape 1 : Préparation des phases aqueuses et huileuses :**

Le but de cette étape est de conditionner des phases aqueuses et huileuses avant l'émulsification. La phase huileuse, corps gras parfois pâteux ou même solide, doit être chauffée (entre 70 et 90 °C) afin d'atteindre une viscosité permettant de rendre aisée sa manipulation. Le ou les émulsifiants sont ajoutées durant cette étape. L'opération se déroule sous agitation.

➤ **Etape 2 : Mélange – dispersion:**

La nature de la dispersion créée, dépend de la formulation mais également du mode opératoire et de la façon dont la phase dispersée est introduite dans la phase continue.

➤ **Etape 3 : Homogénéisation :**

Cette étape est essentielle pour obtenir une émulsion fine et stable avec des gouttelettes de petite taille .

➤ **Etape 4 : Refroidissement – finition:**

Enfin, la dernière étape est une étape de refroidissement où peuvent être ajoutés des additifs permettant de corriger la viscosité, la brillance, la couleur.

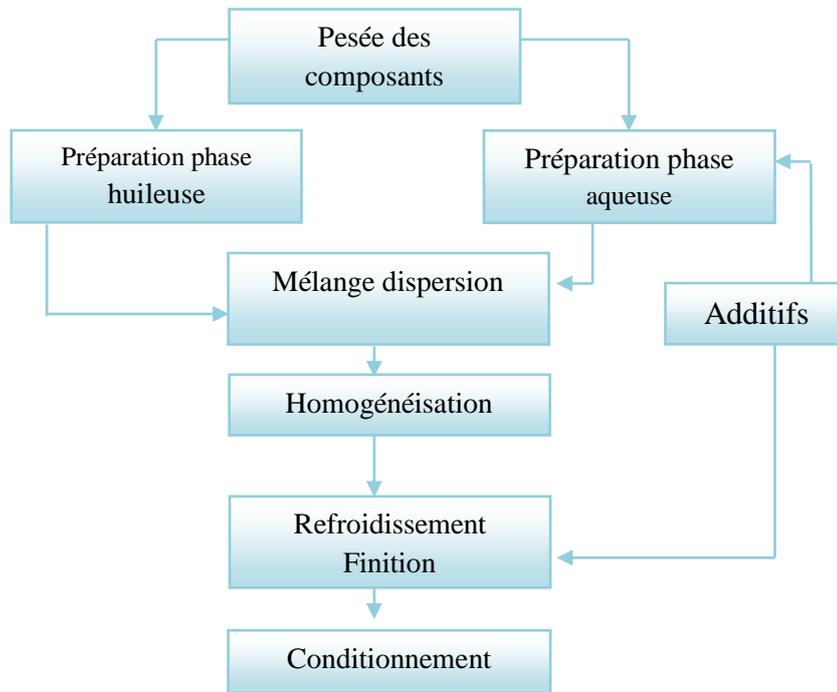


Figure 28: Procédé d'émulsification.

III .5 Contrôles des émulsions [89]:

Comme toute forme galénique, les émulsions sont soumises à un certain nombre de contrôles. En l'absence de monographie dans la Pharmacopée Européenne, nous pouvons tout de même référencer un certain nombre de contrôles qui sont classiquement employés

ce sont principalement : le sens de l'émulsion, taille des gouttes, la stabilité physique, détermination du pH, viscosité des émulsions, essais microbiologique...

III .5.1 Détermination du sens de l'émulsion :

Elle est réalisée soit par :

A. Méthode de dilution : Le contact avec l'émulsion se faisant par la phase externe, les propriétés de mouillabilité et de dispersion sont celles de la phase continue. Par exemple, une petite quantité d'émulsion H/E va s'étaler sur un substrat hydrophile comme un morceau de verre propre ou de papier filtre, alors que l'émulsion E/H ne s'étalera pas. Si une petite quantité d'émulsion H/E est versée dans un milieu aqueux, sa phase externe va se dissoudre dans la phase aqueuse et les gouttelettes d'huile vont se disperser, ce qui n'est pas le cas pour une émulsion E/H.

B. Méthode par les colorants : On peut aussi utiliser la méthode des colorants, c'est-à-dire qu'on ajoute à l'émulsion un colorant liposoluble en poudre (du soudan III par exemple) : si l'émulsion est du type E/H, la coloration se propage dans l'émulsion, si elle est du type H/E, elle ne s'étend pas.

C. Conductivité électrique : La variation de conductivité est proportionnelle à la variation de proportion de phase externe quand il s'agit d'une émulsion H/E et la conductivité ne varie quasiment pas pour des changements de proportion d'une émulsion E/H. Cela est dû au fait que la conductivité d'une phase huileuse est 100 à 1000 fois inférieure à celle d'une phase aqueuse salée. Par conséquent le point où l'émulsion change de type correspond à une grosse variation de conductivité qui peut être détectée facilement, à la seule condition qu'il y ait une agitation suffisante pour assurer un système homogène.

III .5.2 Taille des gouttes :

Après avoir caractérisé le type de l'émulsion, la seconde information importante est la taille des gouttes de la dispersion. Une émulsification est généralement un procédé d'agitation dans lequel cassure et coalescence sont en équilibre, l'émulsion qui en résulte est un système polydispersé dans lequel coexistent des petites et des grosses gouttes. Cet équilibre dépend de l'agitation, de la viscosité, de la température et de la formulation. La meilleure description consiste à donner une distribution de ses tailles de goutte qui traduit un inventaire statistique de la fragmentation de la phase dispersée.

La taille des gouttes peut être mesurée par plusieurs techniques : turbidité, diffraction laser, atténuation ultrasonore, comptage individuel ou fractionnement capillaire.

III .5.3 Détermination du PH :

La mesure du PH est nécessaire, car il peut réagir, soit sur l'aspect technologique, soit sur l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique.

En effet, il peut avoir une influence sur la stabilité physique d'une crème ou d'un gel, ou sur celle d'un principe actif, ou modifier les caractères rhéologiques ou l'activité des conservateurs, ou être responsable d'une incompatibilité entre excipient et substances médicamenteuses. La mesure du pH doit être déterminée par potentiométrie (pharmacopées française et européenne) à l'aide d'un pH mètre, sur toutes les préparations hydrophiles et dans certains cas, sur des préparations lipophiles.

Cette mesure est effectuée, soit directement sur la préparation, soit sur une dilution ou une dispersion, le plus souvent au dixième dans de l'eau distillée bouillie. Toutes fois des électrodes, de forme adaptée, peuvent rendre cette dilution inutile. La mesure du pH peut se faire aussi avec des réactifs colorés.

III .5.4 Viscosité des émulsions :

La viscosité des émulsions est principalement assujettie à celle de sa phase externe. Le volume de la phase interne des émulsions a également une très grande importance : si celle-ci est inférieure à 20%, toutes les gouttes sont indépendantes, le rapport volumique est favorable à la formation de l'émulsion dans le sens désiré, dans ce cas la viscosité est faible. Avec une phase interne comprise entre 50% et 70%, les interactions gouttes/ gouttes seront dominantes.

Dans le cas extrême ou la phase interne dépasse 75%, le rapport volumique est défavorable à la stabilité et les émulsions seront très visqueuses.

La viscosité est aussi fonction de la taille moyenne et de la distribution des gouttes, elles-mêmes dépendantes de la formulation et de l'appareillage utilisé. La polydispersité induit une augmentation de la viscosité, les petites gouttes auront tendance à s'insinuer entre les grandes. La rhéologie des émulsions qui traite de l'écoulement, des déformations et plus généralement de la viscosité des matériaux sous l'action de contraintes qui leur sont appliquées, permet une analyse très fine des formulations.

III .5.5 Essais microbiologique :

Ils concernent l'étude de l'efficacité de la conservation antimicrobienne ou « challenge test », par un test de contamination artificielle, et le contrôle de la contamination microbienne dite propreté microbiologique, par numération des germes.

Le développement galénique doit justifier la concentration utilisée par l'efficacité des conservateurs, dont le maintien à péremption doit être démontré par les essais de stabilité.

La propreté microbiologique doit être réalisée en routine ou en périodique, selon le risque de contamination de la préparation.

III .5.6 Evaluation de la stabilité :

Le concept de stabilité dans le domaine des émulsions est une notion toute relative, aussi une émulsion sera-t-elle définie comme stable par une absence de changements visibles de façon macroscopique ou microscopique durant la période d'utilisation. Plusieurs tests permettent de mesurer la stabilité des émulsions.

La coalescence des gouttes ou le déphasage pourront être mis en évidence par centrifugation, celle-ci pouvant être à vitesse constante et temps variable ou inversement (10 min à 2000, 4000,6000 tr /min).

Les émulsions peuvent également être analysées en microscope ou en spectroscopie de corrélation de photons afin de mesurer la taille moyenne des globules au cours du temps mais aussi pour éventuellement repérer les phénomènes de floculation ou de coalescence.

Au microscope optique, la présence de fissures pour les émulsions H/L est un facteur prédictif d'instabilité très net, car ces fissures sont un signe de synérèse.

En dernier, les émulsions doivent être soumises à l'influence de la température, en général 35°C et 50°C dans une étuve, mais aussi subir des cycles alternant 5°C et 50°C.

Une augmentation de la température tendra à diminuer la viscosité des émulsions et donc à augmenter la sédimentation gravitationnelle.

III.6 Indications en cosmétologie et en pharmacie [78]:

Les émulsions sont des préparations fréquemment rencontrées en cosmétologie (crèmes et laits corporels) et en pharmacie (formes dermatologiques).

Pour être utilisables, ils doivent être stables, souples et onctueux afin que l'application soit facile, avoir un pH proche de celui du sébum ($\pm 4,5$), n'être pas irritants ni sensibilisants pour la peau. En plus de cela, ils ne doivent pas réagir avec les substances actives incorporées mais au contraire, favoriser leur pénétration cutanée.

III.6.1 Indications en Pharmacie :

En pharmacie, les émulsions sont des véhicules (bases de formulation) destinés le plus souvent à l'administration des principes actifs par voie cutanée, en vue d'une action thérapeutique locale ou générale (systémique).

A cause de leur double polarité (phase lipidique et phase aqueuse) de leurs propriétés intrinsèques, ces bases favorisent la pénétration percutanée des principes actifs et participent souvent à leurs activités par effet synergique.

Selon la composition des bases émulsionnées utilisées en pharmacie, on distingue :

=> Les véhicules évanescents (les émulsions H/E) sont indiquées pour incorporer des principes actifs destinés aux traitements des peaux séborrhéiques, de l'acné, des affections des zones pileuses, des dermatoses exsudatives, etc..

=> Les véhicules émoullissants: ce sont des émulsions (H/E ou E/H) qui hydratent la couche cornée, est préconisé pour l'incorporation des principes actifs destinés aux traitements des dermatoses hyperkératosiques, des brûlures, des peaux sèches et très sèches, etc.

III.6.2 Indications en cosmétologie [78]:

On estime qu'environ 90 % des cosmétiques se présentent sous forme des émulsions.

Beaucoup de produits de soins du visage et du corps sont des préparations laiteuses ou crémeuses. A titre d'exemple, on peut citer les crèmes dites protectrices, hydratantes, les crèmes pour peaux grasses, sèches, très sèches, sénescents, les crèmes et laits antisolaires et «après soleil», certains masques, produits de gommage chimique, les bases de maquillage, etc.

Au niveau des produits capillaires, des crèmes sont souvent utilisées dans la mise en forme permanente des cheveux (crèmes oxydantes et réductrices) dans les soins capillaires (crèmes hydratantes pour la sécheresse capillaire) pour la teinture (coloration) et la décoloration capillaires.

La famille des *cosmétiques biologiques* regroupe des produits contenant un maximum de produits d'origine naturelle et particulièrement issus du règne végétal. Elle utilise beaucoup les huiles végétales comme l'huile d'Olive, d'Amande douce, d'Argan, mais aussi le Karité, les eaux florales, les huiles essentielles ou les extraits de fruit.

Les fabricants s'interdisent l'utilisation de certaines substances d'origine synthétique comme les silicones (non biodégradables), les parfums, colorants ou pigments de synthèse, les conservateurs trop puissants ou les huiles minérales qui proviennent de la pétrochimie et donc sont des matières premières non renouvelables. Sont exclus également les substances produites par des procédés non respectueux de l'environnement ou impliquant la mort d'un animal.



PARTIE EXPERIMENTALE



CHAPITRE IV
Matériel et Méthodes

IV Matériel et méthodes

Objectif du travail :

L'objectif de notre travail est de démontrer l'intérêt de l'aromathérapie comme une approche alternative au traitement de l'alopecie androgénique. En effet beaucoup d'études scientifiques ont mis en évidence l'apport des huiles essentielles dans le traitement des alopecies, pour notre contribution nous avons procédé à la réalisation des formulations galéniques à l'exemple des microémulsions et des crèmes pour un usage capillaire (masque capillaire).

Démarche expérimentale :

La démarche de notre expérimentation s'articule autour : de l'extraction d'hydrolat d'ortie, caractérisation microbiologique des huiles essentielles afin d'évaluer l'effet antimicrobien, mise au point de formulations de microémulsions et d'un masque capillaire, l'évaluation de l'activité anti-androgénique des formulations à base des 4 huiles essentielles sur un modèle animale, et enfin la caractérisation physico-chimique et texturale des formulations. Le plan de notre travail est présenté dans la **figure 29**.

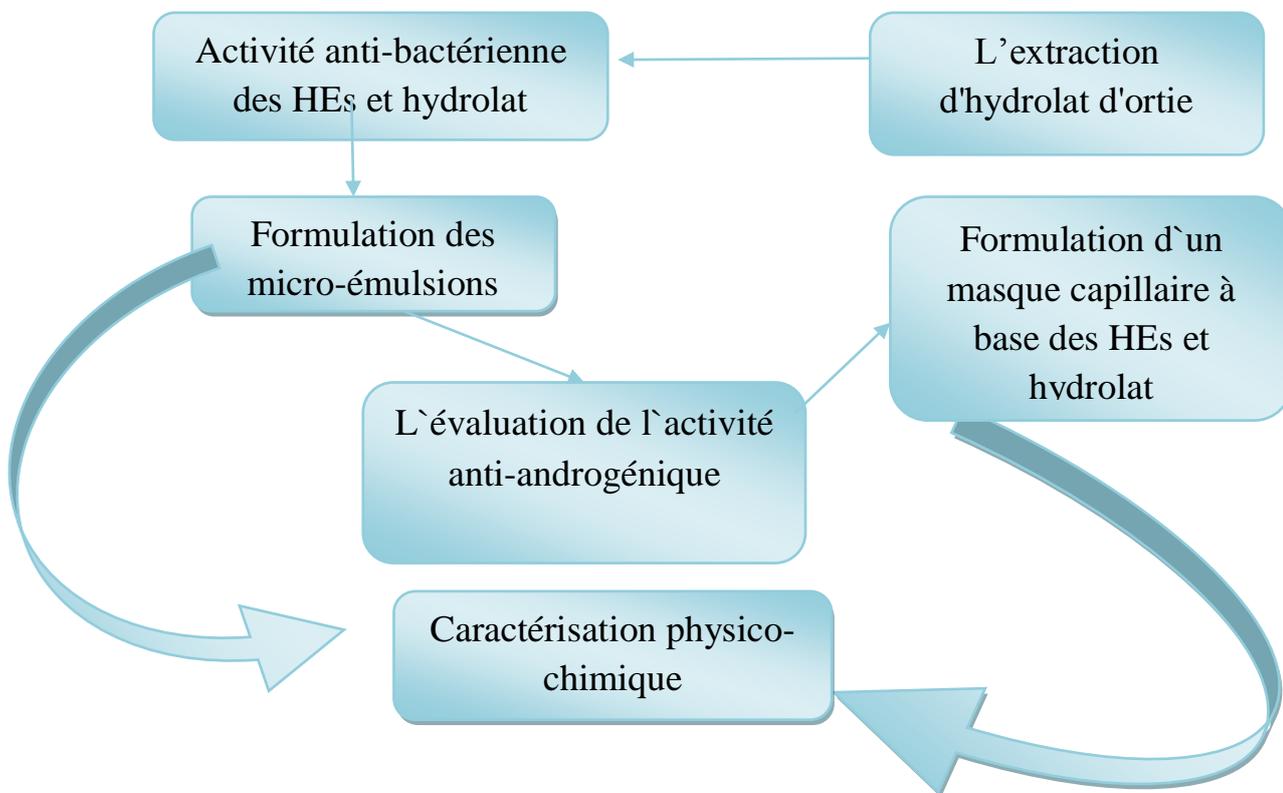


Figure 29 : Schéma récapitulatif de démarche expérimental.

IV 1. Matériel :

IV 1.1 Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé pour préparation de l'hydrolat est constitué de la plante entière (feuilles, tiges et racines) de *Urtica dioica*, récoltée dans la région de Mouzaia et El Affroun. (**Figure 30**) en Janvier 2021. Le matériel végétal fraîchement collecté est nettoyée, séchée à l'ombre, à température ambiante et dans un endroit sec à l'abri de l'humidité pendant quelques jours jusqu'au moment de préparation.



Figure 30 : Carte géographique indiquant le lieu de récolte. [90]

Les huiles essentielles et les huiles végétales ont été fournis par la société **VieBio Blida**, nous avons utilisé dans notre expérience cinq huiles essentielles : Romarin, Lavande, Lentisque, Menthe verte et Menthe poivrée dont les caractéristiques sont représentées dans le **tableau 21**, et deux huiles végétales : huile Nigelle et huile de Ricin.

Huile essentielle	Nom latin	Origine géographique	Mode de culture.	La partie de la plante distillée	Le mode d'extraction	Date d'extraction	La qualité
Romarin	Salvia rosmarinus	Tébessa Algérie	sauvage	feuille et rameaux	entraînement à la vapeur	Juin 2019	100% Naturel et pur
Lavande	Lavandula angustifolia	Tlemcen Algérie	cultivé	sommets fleurés	entraînement à la vapeur	Juillet 2020	100% Naturel et pur
Lentisque	pistacia lentiscus	Algerie	sauvage	feuille et rameaux	entraînement à la vapeur	Fevrier 2020	100% Naturel et pur
Menthe verte	mentha spicata	El-bayadh Algérie	Cultivé	feuille et rameaux	entraînement à la vapeur	Juin 2020	100% Naturel et pur
Menthe poivrée	Mentha piperita	Importation					100% Naturel et pur

Tableau 21: Caractérisation des huiles essentielles.

IV 1.2 Matériel biologique :

➤ **Matériel animal :**

Le matériel animal est constitué de 40 souris mâles de souche BALB C provenant de l'animalerie d'élevage de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA). Les animaux pesaient entre 25 et 30 g. Les souris étaient nourries avec un aliment standard. Ils avaient libre accès à l'eau et à l'aliment (**figure 36**). Ils étaient placés dans les conditions de température ambiante avec une alternance diurne et nocturne normale.

➤ **Matériel microbiologique :**

• **Milieux de culture :**

Selon la méthode employée, nous avons utilisé les milieux de culture Gélose Mueller Hinton, milieu PCA et SC.

• **L'antibiotique :** l'antibiotique de référence utilisé est l'Ampicilline 10mg (**AM**).

- **Choix des souches** : Les souches ont été aimablement fournies par le laboratoire central de biologie, unité de microbiologie, du centre hospitalo-universitaire FRANTZ FANON de Blida.

Nous avons essayé d'élargir la gamme de bactéries testées à Gram positif et à Gram négatif :

- ✓ **Bactérie à GRAM -** : *Pseudomonas aeruginosa* , *Escherichia coli* .
- ✓ **Bactérie à GRAM +** : *Staphylococcus aureus*.

La description des différentes souches microbiennes testées est représentée dans le **tableau 22**

Tableau 22: Description des différentes souches microbiennes testées.

Nom de souche.	Quelques propriétés des souches testées.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci à Gram positif, immobiles et disposées en amas, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastroentérites et infection pulmonaires. acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline, à la méthicilline1 (MRSA), et aux fluoroquinolones mais sensible au B- lactamines [91]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25924	Bacille à Gram négatif, mobile aérobie, non capsulé. Agent pathogène opportuniste actif, résistance à l'ampicilline, céphalothine, triméthoprine et acide nalidixique. provoque des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire[92]
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacilles à gram négatifs asporulées, la famille des entérobactéries, fermentent le lactose et le glucose, responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites[93]

IV.1.3 Matériel de laboratoire : les équipements utilisés sont regroupés dans le **tableau 23** suivant :

Tableau 23 : Les équipements utilisés au niveau de laboratoire.

Equipement	Marque
Hydrodistillateur	CLEVENGER
Etuve	MEMMERT.
Densitomètre	/
Rhéomètre MCR 300	PHYSICA PAAR
Microscope optique	OPLYMPUS
Agitateur magnétique chauffant	VELP
Centrifugeuse	SIGMA
Bain-marie	LAUDA
Plaque chauffante	BIBBY
Balance de précision	KERN
Ph-mètre	TOLEDO
Viscosimètre	Brookfield
Conductimètre	STARTER
Rhéomètre	Anton Paar

IV 1.4 Excipients : les produits chimiques utilisés sont regroupés dans le **tableau 24** suivant :

Tableau 24: Produits chimiques utilisés au niveau de laboratoire.

Les produits chimiques	Fournisseur
Polysorbate 80 (tween 80)	SAIDAL
Eau distillée	CHU Blida
CIRE ÉMULSIFIANTE N°3	Aroma-zone
CONSERVATEUR COSGARD®	Aroma-zone
Testosterone injectable 250mg /1ml	Sustanon
D/E NEUTRALIZING BROTH	DIFCO

IV.2 Méthodes :

IV.2.1 Extraction d'hydrolat d'ortie :

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clévenger. Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les des molécules odorantes et les essences aromatiques sous forme solubilisée.

➤ Mode opératoire :

L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre de 2000ml, nous avons ajoute une quantité suffisante d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées des essences aromatiques passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans l'ampoule. Après 2 h heures d'extraction, l'hydrolat d'Ortie a été recueilli dans un récipient, puis nous l'avons gardé au réfrigérateur. **(Figure31)**
 Cette technique a été réalisée au sein de la société *VieBio Blida*.



Figure 31: Extraction de l'hydrolat d'Ortie dans un Clevenger (société VieBio Blida).

IV.2.2 Etude des activités microbiologiques :

IV.2.2.1 Activité antibactérienne des huiles essentielles :

L'objectif de l'étude présentée dans ce chapitre est d'évaluer l'activité antibactérienne des quatre huiles essentielles et l'hydrolat d'Ortie sur des souches bactériennes, et ce par la méthode de diffusion sur milieu solide selon deux techniques : sur disques et en puits.

Cette étude a été accomplie au niveau du laboratoire Centrale de biologie du centre hospitalo-universitaire CHU FRANTZ FANON de Blida.

IV.2.2.1.1 Etude de l'activité antimicrobienne in vitro :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Romarin*, *Lavande*, *Lentisque*, *Menthe vert et le mélange*, ainsi celui de l'hydrolat d'Ortie. A été réalisée par la technique de contact direct.

➤ Principe de la technique :

La méthode de diffusion en milieu gélosé ainsi appelée, permet de prévoir avec certitude l'efficacité in vitro des différents extraits, il s'agit en fait d'une appréciation qualitative de l'activité.

➤ **Méthode de diffusion :**

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'huile essentielle (aromatogramme). Inspiré d'une vieille méthode de **Shroeder et Messing datant de 1949**, l'aromatogramme consiste à déposer des disques de papiers filtres ou buvard imprégnés des extraits sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

IV 2.2.1.2 Mode opératoire :

Dans cette partie nous aborderons l'étude de l'effet antimicrobien des huiles essentielles et de l'hydrolat d'Ortie. Cette technique s'effectue dans des conditions aseptiques, devant un bec bunsen pour éviter la contamination des milieux ou du matériel.

a) **Préparation de la suspension bactérienne :**

En premier lieu, une suspension bactérienne d'une opacité de 0.5 Mc Farland est préparée à partir d'une culture pure et jeune. Cette opacité, équivalente à une densité optique de 0.08 – 0.1 à 625 nm, peut être diminuée (ou augmentée) en ajoutant plus de culture afin d'ajuster la densité optique (DO).

Il est à signaler d'une part que la suspension ajustée devra contenir 108 UFC /ml (units forming colony /ml) et d'autre part que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne. Nous avons préparé trois inoculums :

Inoculum 01 : *Escherichia coli*.

Inoculum 02 : *Staphylococcus aureus*.

Inoculum 03 : *Pseudomonas aerogenosa*.

b) **Ensemencement :**

L'ensemencement est effectué sur des géloses de Muller Hinton (**figure 32**) préalablement coulées dans des boîtes de Pétri puis séchées à l'étuve à 37 °C, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée, 6 boîtes de Pétri, sont écouvillonnées par le même écouvillon à la condition d'être recharger pour chacun d'elles.



Figure 32: L'ensemencement.

Réalisation de l'aromatogramme avec les deux techniques :

L'aromatogramme est réalisé comme décrit sur la **figure 33**.

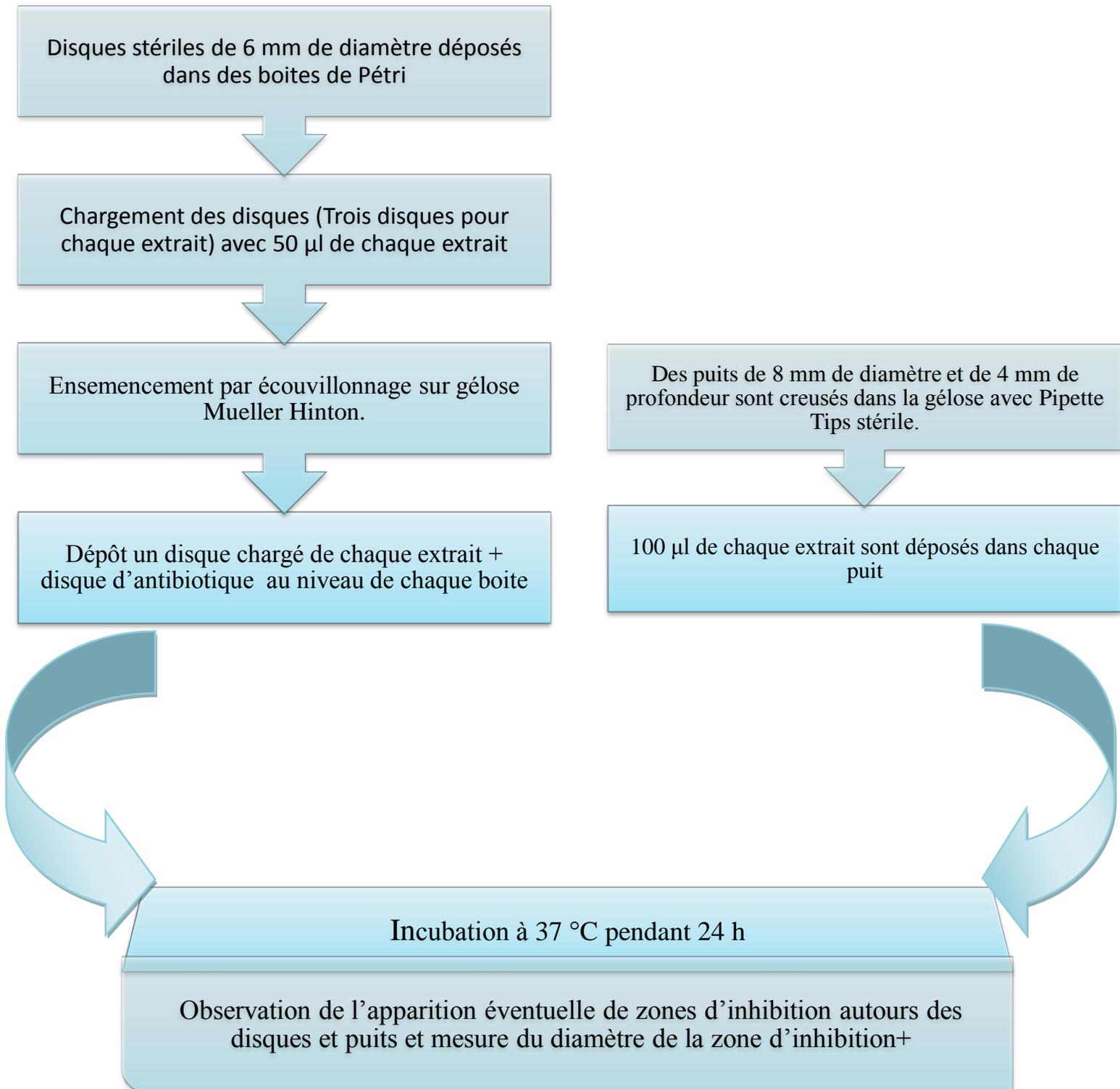


Figure 33 : Etapes de réalisation de l'aromatogramme.

IV 2.2.1.2 Expression des résultats :

L'apparition d'une zone claire autour du disque appelée « zone d'inhibition » après incubation est considérée comme un résultat positif. La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm, La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm.

Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm, pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

La mesure du diamètre des zones d'inhibition autour les disques d' ATB se fait dans le but d'assurer le contrôle qualité (le milieu de culture ; le manipulateur ; la méthode de travail).[94]

IV .2.3 Formulation galénique :

Nous avons préparé des formulations galéniques à base des huiles essentielles, il s'agit de deux types de formulation :

- Microémulsions.
- Crème (masque capillaire).

IV .2.3.1 Etude de formulation :

La formulation proprement dite consiste à élaborer une forme plus ou moins complexe qui, aux impératifs de stabilité et de degré de pénétration à conférer, devra dans toute la mesure du possible, ajouter des critères d'ordre cosmétiques, importants pour l'observance et donc l'efficacité du traitement.

Dans une émulsion , aux trois éléments de base (huile, eau et émulsionnant) viennent s'ajouter des constituants divers : principes actifs, épaississant, aromatisants, colorants, conservateurs,... dans chaque cas, les trois constituants de base doivent être choisis avec beaucoup de soin pour avoir une émulsion aux caractéristiques bien déterminées. Pour ce qui est des proportions, c'est souvent par tâtonnements qu'on arrive à une formule stable et de consistance adaptée à l'utilisation.[95]

Un des principaux problèmes rencontré par le formulateur lors de la réalisation d'émulsions, qu'elles soient de type conventionnel ou naturel, est de faire coexister, dans un même système, des substances qui n'ont pas la même solubilité. La stabilité du produit est très difficile à maîtriser.

IV.2.3.2 Choix de type de l'émulsion :

Notre choix pour les deux préparations est orienté vers une émulsion de type h/e ou (L/H) réalisée par inversion de phase pour les raisons suivants :

- Ces émulsions présentant l'avantage d'être plus stables au stockage.
- Il subsiste encore un besoin d'améliorer les propriétés cosmétiques et conditionnantes, telle que le toucher des cheveux traités.
- La taille des gouttes, généralement plus faible qu'avec un procédé d'émulsification direct, en apportant moins d'énergie mécanique.
- Le pH qui va de 4 à 5.5.
- Lorsqu'elles sont rincées, une bonne ré-émulsification de la phase lipophile lors du rinçage à l'eau pour limiter le résidu lipophile sur le cuir chevelu ou les cheveux.[96]

IV.2.3.3 Préparation de la Microémulsion :

a. choix du principe actif :

Les principes actifs utilisés sont les huiles essentielles de : *Salvia rosmarinus* (1,8 cinéole), *Lavandula angustifolia*, *Pistacia lentiscus* et de *Mentha spicata*.

Les propriétés médicinales de ces HEs sont déjà démontrées par la bibliographie, repose des effets anti-androgénique. Rajouter à cela la propriété anti-inflammatoire et antibactérienne locale.

b. Choix des excipients:

✓ Choix de la phase aqueuse :

Eau distillée :

Nous avons choisi comme liquide de dispersion de l'eau distillée fraîchement préparée afin d'éviter l'utilisation d'une eau contaminé au départ. L'eau distillée est bien disponible et elle est préparée par distillation de l'eau potable en utilisant un distillateur à simple effet au niveau de laboratoire central CHU BLIDA.

✓ Choix des tensioactifs :

Nous avons utilisé dans notre formulation les tensioactifs de la famille **Tween 80**. Les tensioactifs Tween[®] (polysorbat) sont hydrophiles, généralement solubles ou dispersibles dans l'eau, et solubles à des degrés variés dans les liquides organiques. Ils sont utilisés pour des émulsifications h/e, dispersions ou solubilisations d'huiles, et mouillages.[97]

c. Préparation des microémulsions :

La préparation de ces microémulsions se déroulent principalement en utilisant la méthode d'inversion de phase d'émulsion ,qui consiste à titrer une phase aqueuse en une phase organique sous agitation constante.[98]

Les expériences ont été réalisées dans un bécher de 125 ml à température ambiante. Les formulations ont été conçues pour que l'émulsion finale avait toujours une masse totale de 50 g dont 5g de phase organique (c'est-à-dire 5 % en poids d'huile essentielle, et 5 % en poids de tween 80). Initialement, une phase organique a été préparée par l'ajout du tensioactif et l'huile essentielle dans le bécher, puis nous avons mélangé à l'aide un agitateur magnétique (750 rpm) pendant 30 min. La phase aqueuse est alors ajoutée à la phase organique à l'aide d'une burette avec un débit de 4 ml/min tout en continuant d'agiter le système avec l'agitateur (750 rpm) pendant 60 min. (Figures 34 -35)

Cinq types de microémulsions ont été préparés selon l'huile essentielle qui a été utilisée.

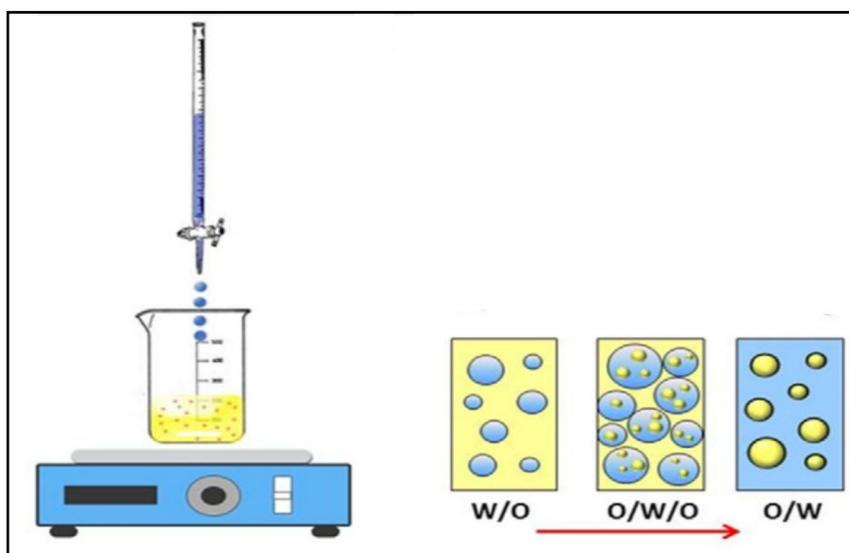


Figure 34 : Représentation schématique du protocole utilisé pour réaliser la méthode d'inversion de phase en microémulsion. [98]



Figure 35 : Représentation du protocole utilisé pour réaliser la méthode d'inversion de phase en microémulsion

IV .2.3.4 Préparation de la crème (masque capillaire) :

Après avoir évalué les résultats de l'activité anti-androgénique des huiles essentielles dans la microémulsion formulée, nous avons utilisé ces HES pour faire une autre formulation, il s'agit d'une crème : un masque capillaire antichute, qui favorise la poussée des cheveux.

a. Choix du principe actif :

Les principes actifs utilisés sont les mêmes huiles essentielles que nous avons utilisées à l'exception d'HE de *Menthe vert* qui a été remplacée par l'HE de *Menthe poivrée*.

L'efficacité de HE de *Menthe poivrée* dans le traitement de l'alopécie androgénique a été démontré par les travaux de l'auteur **Ji Young Oh**[99]

b. Choix des excipients:✓ **Choix de la phase aqueuse :**

Eau distillée : véhicule

Hydrolat d'Ortie : L'hydrolat d'Ortie est utilisé dans la préparation des soins capillaires pour embellir les cheveux depuis l'Antiquité. Il permet de lutter contre les pellicules, fortifier les cheveux et stimuler leur poussé. [100]

✓ **Choix de la phase huileuse :**

Nous avons utilisé l'huile de Nigelle et huile de Ricin comme phase huileuse :

➤ **Huile de Nigelle :**

L'huile de Nigelle contient des acides gras, polyinsaturés, mono insaturés et saturés. Elle est riche en acide oléique, en acide palmitique, en oméga 3 et en vitamine E, ce qui fait d'elle un puissant antioxydant et anti-inflammatoire. Elle aide par ailleurs à l'élimination des toxines et active la microcirculation sanguine. Elle fortifie également la fibre capillaire et laisse les cheveux souples et brillants. Une étude de 2014 a indiqué qu'un mélange d'huile de noix de Coco et d'huile de Nigelle était suffisamment efficace pour favoriser la poussé des cheveux pour justifier une étude plus approfondie[101]. En outre, une étude de 2017 a indiqué qu'une huile capillaire à base de plantes contenant de la *Nigella sativa* entraînait une réduction de la chute des cheveux jusqu'à 76%. [102]

➤ **Huile de Ricin :**

L'huile de Ricin est riche en acide ricinoléique, un type d'acide gras qui le rend très utile dans l'industrie chimique [103]. Lorsqu'il est appliqué sur le cuir chevelu, il est censé améliorer la santé des follicules pileux et à son tour, favoriser la croissance des cheveux (ainsi que protéger contre la chute des cheveux). L'huile de Ricin est considérée comme un liquide de support, qui peut être utilisée pour diluer d'autres huiles essentielles tout aussi puissantes [104].

✓ **Choix de l'émulsifiant :**➤ **Cire émulsifiante sans huile de Palme :**

Nous avons utilisé dans notre formulation la cire *émulsifiante N°3 sans Palme* fournie par AROMAZONE®.

Caractéristiques : Elle est d'origine végétale (Olive et Coco) et minérale (potassium), sans dérivés de Palme, son nom chimique est *Glycéryl stéarate SE* est un auto-émulsifiant huile dans eau, de type non ionique et non-éthoxylée.

Cette cire auto-émulsifiante est très facile à l'emploi, permet la réalisation des crèmes lisses et onctueuses. Elle peut former une large gamme de textures stables, du lait à la crème épaisse, en fonction de son dosage. Elle donne des touchers non gras et frais.[105]

✓ **Choix du conservateur :**

L'émulsion étant fluide, contenant des substances facilement altérables par les proliférations microbiennes, l'addition d'un conservateur antimicrobien semble indispensable.

Nous avons choisi **COSGARD** (qui se compose de l'alcool benzylique+ acide déhydroacétique) à une concentration usuelle de 0.6% comme conservateur pour les raisons suivantes :

- Conservateur antibactérien et antifongique à large spectre, assure la conservation des préparations cosmétiques contenant une phase aqueuse (eau, hydrolat).
- Il est d'origine synthétique mais c'est l'un des rares conservateurs autorisés par **Ecocert** (entreprise française agissant comme organisme de certification utilisant son nom comme marque de certification, notamment pour l'agriculture biologique) et il est donc très utilisé en Bio-cosmétique.[106]

✓ **Les additifs :**

➤ **Vitamine E:** Cet anti-oxydant naturel permet de préserver les huiles et beurres végétales du rancissement. L'ajout de vitamine E est donc recommandé dans toutes les préparations contenant des huiles sensibles et dans les formules de baumes et mélanges huileux, dont elle prolongera la durée de conservation.[107]

➤ **L'argile rouge :**

Comme ingrédient beauté des cheveux, l'argile rouge est reconnue pour ces propriétés :

- Nettoyante : connue pour adsorber l'excès de sébum et les impuretés.
- Tonifiante.

Donc elle est excellente pour redonner du tonus aux cheveux gras .[108]

✓ **Choix du Conditionnement :**

Étant donné que les huiles essentielles sont sensibles à la lumière, on a choisi comme article de conditionnement primaire un pot en verre ombré.

✓ Les formulations réalisées :

Nous avons préparé deux types de masque capillaire : un pour les cheveux normaux et l'autre à base d'argile rouge pour les cheveux gras.

La formule quantitative des ingrédients, exprimée en pourcentage massique de chaque ingrédient [109]: 100% équivaut 100g.

Pour préparer nos formulations, on a suivi les formules types dans **tableau 25** suivant :

Tableau 25: Les formules types.

Masque capillaire sans argile	Masque capillaire avec argile
Huiles10% <ul style="list-style-type: none"> • Huile de ricin5% • Huile de nigelle.....5% 	Huiles10% : <ul style="list-style-type: none"> • Huile de ricin5% • Huile de nigelle5%
Cire émulsifiante8%	Cire émulsifiante8%
Hydrolat d'ortie55%	Hydrolat d'ortie55%
Eau distillée.....24.5%	Eau distillée.....23%
HE de Romarin.....0.75%	Argile rouge.....2%
HE de Lentisque.....0.25%	HE de Romarin.....0,5%
HE de lavande0.25%	HE de Lentisque.....0.15%
HE de menthe poivrée.....0.25%	HE de lavande0.15%
conservateur0.6%	HE de menthe poivrée.....0.2%
Vitamine E.....0.4%	conservateur0.6%
	Vitamine E.....0.4%

❖ Procédé de préparation des crèmes :

Les deux formules sont préparées selon le même protocole et selon la méthode d'inversion de phase :

1^{ère} étape : Pesée des différents ingrédients à l'aide d'une balance analytique.

2^{ème} étape : Chauffage des deux phases : organique (les huiles + cire émulsifiante) et aqueuse au bain marie jusqu'à atteindre une température de 70°C ;

NB : L'argile rouge est introduite dans la phase aqueuse sous agitation avant le chauffage pour bien le faire disperser.

3^{ème} étape : Procéder à l'émulsification à une température de 70°C environ à l'aide d'un fouet manuel: la phase aqueuse est versée lentement sous agitation manuelle à la phase huileuse.

4^{ème} étape : Poursuivre l'agitation de la préparation à température ambiante et laisser jusqu'à parfait refroidissement.

5^{ème} étape : Introduire les additifs et les huiles essentielles sous agitation manuelle et à température ambiante.

6^{ème} étape : Toutes les préparations sont conditionnées et conservées, pour les analyses ultérieures.

IV .2.4 Evaluation de L'activité anti androgénique :

Ce test a été conçu pour étudier le potentiel des huiles essentielles dans la promotion de la repousse des cheveux. La méthode est inspirée par celle utilisée par *Satish Patel* [110]

IV .2.4.1 Principe :

Nous avons étudié l'activité des huiles essentielles favorisant la pousse des cheveux après l'administration topique des microémulsions qui ont été préparés auparavant. L'alopecie a été induite chez des souris BALB/C par administration sous-cutanée de Testostérone pendant 21 jours. Les injections de Testostérone peuvent en fait conduire à des niveaux plus élevés de DHT, ce qui pourrait en effet provoquer une perte des poils chez l'animal. [110]

L'inhibition de la chute et la croissance qualitative des cheveux a été évaluée par observation visuelle pendant la durée de test. [111].

IV .2.4.2 Protocole expérimentale :

✓ **Préparation de la solution de Testostérone :** On prépare une solution de Testostérone à 1% (0,3 mg/100 g de poids corporel/jour) dans huile de Maïs.[112]

- ✓ **Répartition des lots :** Les souris ont été divisées en 7 groupes de 5 à 6 souris. (Figure 36)

Tableau 26

Tableau 26: Répartition des lots des animaux selon le traitement.

Lots	Traitement	Nombre de souris
LOT 1 (Romarin)	Injection de Testostérone + Microémulsion de Romarin :(environ 0.5 ml (trois pulvérisations) sur la surface du dos.)	6
LOT 2 (Lavande)	Injection de Testostérone + Microémulsion de Lavande (environ 0.5 ml sur la surface du dos.)	6
LOT 3 (Lentisque)	Injection de Testostérone + Microémulsion de Lentisque (environ 0.5 ml sur la surface du dos.)	6
LOT 4 (Menthe verte)	Injection de Testostérone + Microémulsion de Menthe verte (environ 0.5 ml sur la surface du dos.)	6
LOT 5 (mélange)	Injection de Testostérone + Microémulsion de mélange des HEs (environ 0.5 ml sur la surface du dos.)	6
LOT 6 Témoin (+)	Injection de Testostérone+ Minoxidil 5% : environ 0.5 ml sur la surface du dos.	5
LOT 7 Témoin (-)	Injection de Testostérone+ Eau distillée : environ 0.5 ml sur la surface du dos.	3
	Pas d'injection, Eau distillée : environ 0.5 ml sur la surface du dos.	2

- ✓ **Préparation des animaux :**

Les animaux ont été épilés dans la région dorsale, un jour avant le début de l'expérimentation, utilisant une crème dépilatoire « Splendid ».

- ✓ **Injection des animaux :**

Les animaux ont reçu une injection de 0,1 ml de solution de Testostérone par voie sous-cutanée quotidiennement pendant 21 jours. (Figure 37)

✓ **Application de traitement :**

Environ 0,5 ml de chaque préparation a été appliqué localement sur surface épilée quotidiennement pendant la période de traitement. (**Figure 38**)

✓ **Les observations :**

Les observations ont été faites après 1,3,6,9 17 et 21 jours de traitement. [111]



Figure 36 : Répartition des lots dans laboratoire de Pharmacologie université de Blida.



Figure 37 : Injection par voie sous-cutanée des souris.



Figure 38: Pulvérisateur utilisé.

IV .2.5 Evaluation des émulsions :

Les contrôles physico-chimiques des préparations ont été effectués au niveau du laboratoire de **contrôle qualité venus de Blida.**

IV .2.5.1 Propriétés organoleptiques :

L'observation visuelle à l'œil nu est l'une des méthodes les plus classiques de l'étude de la stabilité des systèmes d'émulsions.

Le principe consiste à placer verticalement les différents échantillons dans des conditions de repos (**figure39**), afin de déterminer leurs stabilités en fonction de la séparation de phase ou par une rupture totale en deux phases séparées par une couche de surfactant.

Les principaux caractères observés sont : la couleur, les aspects physiques, la consistance et l'homogénéité de la préparation.



Figure 39: Aspect d'une microémulsion de Romarin.

IV .2.5.2 Caractérisation rhéologique :

Les microémulsions et les crèmes ont été caractérisées sur le plan structural par l'évaluation de leurs comportement rhéologique en écoulement, à l'aide d'un rhéomètre de type PHYSICA PAAR MCR 302. Le dispositif utilisé est un rhéomètre rotatif à plateaux parallèles (plan-plan) , ce dernier est géré par un ordinateur qui permet le traitement des résultats par un logiciel. afin de garder les mêmes conditions de température. **(Figure 40)**



Figure 40 : Rhéomètre *PHYSICA*®

IV .2.5.3 Détermination du sens de l'émulsion :

Le sens de l'émulsion est déterminé par la méthode suivante :

✓ **Méthode par conductimétrie :**

La conductivité électrique de l'émulsion est celle de sa phase aqueuse. Une émulsion du type L/H est plus conductrice que sa phase aqueuse tandis que celle du type H/L est beaucoup moins conductrice.

La conductivité des crèmes a été mesurée à température ambiante (environ 25°C) en utilisant un conductimètre et elle est exprimée en microSiemens ($\mu\text{S}/\text{cm}$). **(Figure 41)**



Figure 41 : Mesure de conductivité.

IV .2.5.4 Essai à la centrifugation :

Cinq millilitres de deux crèmes sont introduits dans des tubes à essai. Ils sont soumis à une centrifugation de 5 minutes chacune à 2000 tours/minute.

Après chaque centrifugation, la présence ou non, de crémage ou de coalescence est notée.

IV .2.5.5 Mesure du pH :

Pour chaque préparation, elle a été effectuée à trois reprises en plongeant l'électrode du pH-mètre dans les préparations à examiner et on fait la lecture. (**Figure 42**)

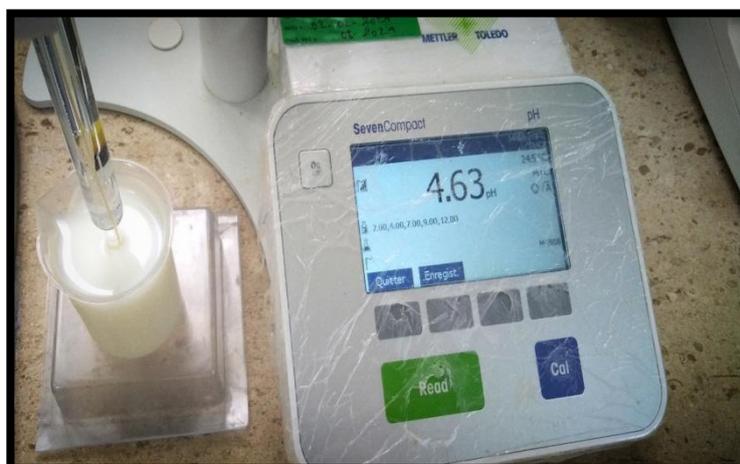


Figure 42 : Mesure de pH des microémulsions.

IV.2.5.6 Mesure de la viscosité :

Les mesures de viscosité des crèmes sont effectuées par le viscosimètre Brookfield modèle DV2T extra avec le mobile RV-5, à une vitesse de 10 RMP et à température ambiante. Chaque mesure utilise 50 ml d'émulsion. Les mobiles ont été démonté avant chaque mesure pour un bon nettoyage. (Figure 43)



Figure 43: Mesure de la viscosité.

IV .2.5.7 Mesure de la densité :

La méthode pour **mesurer** la **densité** est basée sur la détermination de la masse de la microémulsion qui est placé dans une petite coupe (pycnomètre) d'une masse vide connue (35.24g) à une température ambiante. Pour calculer la **densité** : le poids obtenu est divisé par le poids d'eau (24.21g) qui a été pesé par la même technique. (Figure 44)



Figure 44: La balance et pycnomètre.

IV .2.5.8 L'examen microscopique:

La taille des globules est observée à l'aide d'un microscope optique OPLYMPUS disponible au laboratoire de Pharmacognosie de l'université de Blida.

Une goutte d'émulsion (ni diluée, ni colorée) de la grosseur d'une tête d'épingle est déposée entre lame et lamelle, l'examen est fait immédiatement. (G : x 10, x 40)

A l'état microscopique on peut évaluer la dispersion des gouttelettes dans la phase continue ainsi que l'appréciation de leurs tailles, sachant que la stabilité de ce type de système dépend de la préparation et essentiellement de l'état de dispersion et l'aspect des globules dans la phase continue.

IV.2.5.9 Contrôle de la qualité microbiologique des émulsions:

Afin de garantir la qualité d'un produit cosmétique et la sécurité du consommateur, il est nécessaire de réaliser des contrôles microbiologiques des produits fini. Ces contrôles incluent généralement une détermination du nombre de germes dans le produit .

❖ Dénombrement des micro-organismes[113] :

La suspension est préparée à partir d'une dilution décimale 10^{-1} de la préparation dans **DIFCO** (diluant -neutralisant). (Figure 45)

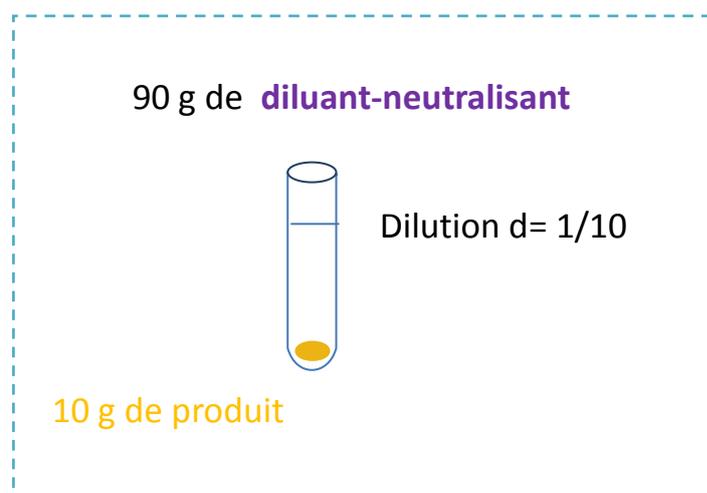


Figure 45 : Schéma de préparation de la suspension.

- **Procède** : 1/ Porter aseptiquement 1ml, à l'aide d'une pipette dans une boîte de pétri contenant de :

*La gélose de Sabouraud *au* chloramphénicol pour dénombrement des levures et moisissures.

*La gélose PCA (Plate Count Agar) pour dénombrement des germes aérobies mésophiles.

2/ Etaler les gouttes à l'aide d'un écouvillon (**figure 46**) puis, incuber la boîte à :

- 32,5 °C ± 2,5°C pendant 72 H ± 6H pour le milieu PCA.
 - 25 °C ± 2,5°C pendant 3 à 5 jours pour le milieu Sabouraud au chloramphénicol.
- (**Figure 46**)

- **Lecture** :

Le nombre d'UFC (unité formant colonie) est compté à la surface de chaque boîte. Le résultat s'exprime en UFC/ml ou UFC/g.

Selon les normes d'ISO 22716 : les résultats doivent être $\leq 10^2$ UFC/ g (ou ml).

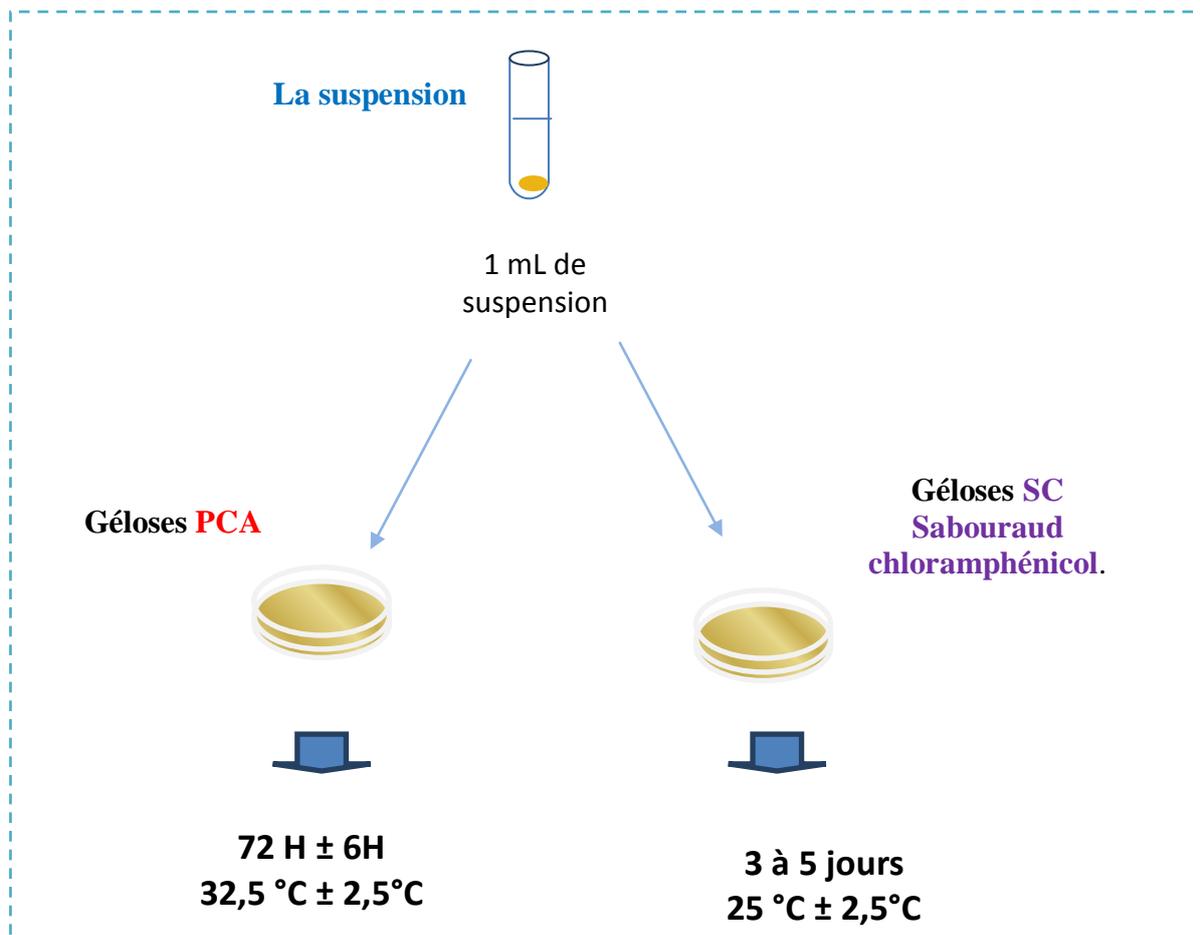


Figure 46: Schéma de réalisation du contrôle microbiologique.



Résultats et Discussion

V.1 Extraction d'hydrolat d'Ortie et le rendement de l'HE et l'hydrolat :

Le rendement d'huile essentielle est le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétale mise dans le Clevenger. C'est pareil pour l'hydrolat. Pour garantir la plus grande richesse en principes actifs aromatiques. Nous choisirons un rapport d'extraction 1/1, c'est-à-dire que pour obtenir **1 litre d'hydrolat, 1 kg de plante a été distillé**. Le rendement est exprimé en %. Pour notre cas on a introduire 100g de plantes sèches dans le ballon de 2000ml. **Tableau 27**

L'hydrolat d'Ortie obtenue par hydrodistillation est un liquide limpide, incolore, d'odeur caractéristique, végétale.

Tableau 27 : Les quantités et les rendements obtenus à partir d'Ortie.

La plante	Quantité de la matière végétale(g)	Quantité d'eau distillée (ml)	Rendement d'hydrolat (%)	Rendement d'huile essentielle (%)
Ortie	100	100	100	/

V.2 Etude des activités biologiques :

V.2.1 L'activité antibactérienne :

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Salvia rosmarinus*, *Lavandula angustifolia*, *Pistacia lentiscus*, *Mentha spicata* ; et de *mélange*, ainsi celui de l'hydrolat d'Ortie vis-à-vis de 3 bactéries. Les zones d'inhibition sont indiquées dans les (**tableaux :29,30,31,32,33,34**). L'échelle de l'estimation des résultats de l'activité antimicrobienne est donnée par **Ponce** [1] et **Mutai** [2] ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 4 classes. **Tableau 28**

Tableau 28 : Les zones d'inhibitions de la croissance bactérienne et la sensibilité des germes.

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible (-)	Diamètre < 8 mm
Sensible (+)	Diamètre 8 à 14mm
Très sensible (++)	Diamètre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20mm

V.2.1.1 Les résultats d'aromatogramme par diffusion et méthode de puits :

- **Le Romarin** : les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE du Romarin sont représentés dans le **tableau 29** et (**figure 47**)

Tableau 29: Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle du Romarin.

Huile essentielle de Romarin				
Souche bactérienne	Puit d'HE pure (100 µl/disque)	Disque imbibé d'HE (50 µl/disque)	Disque d'antibiotique (Ampicilline 10 mg)	La sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	18 (+/-) 1 mm	09 (+/-) 1 mm	25 (+/-) 1 mm	Très sensible (++)
<i>Staphylococcus aureus</i>	23 (+/-) 1 mm	07 (+/-) 1 mm	42 (+/-) 1 mm	Extrêmement sensible (+++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistance	Résistance	/	Non sensible (-)

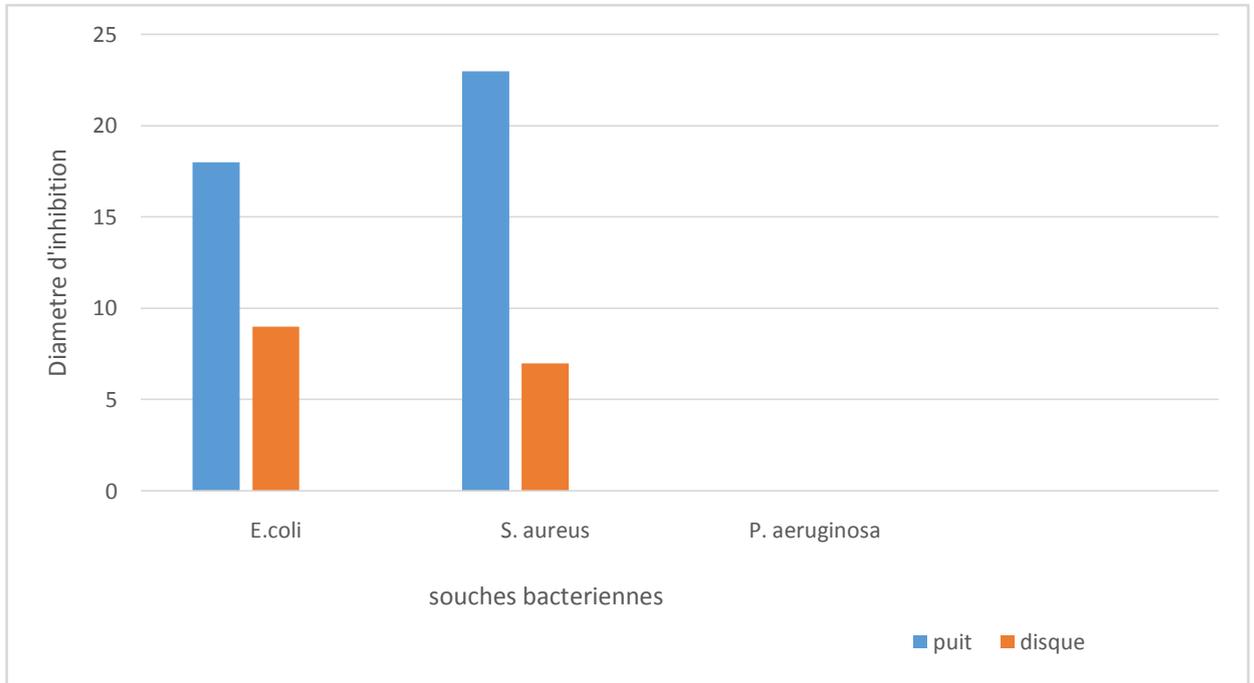


Figure 47 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle du Romarin.



Figure 48: Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Romarin contre *Escherichia coli*



Figure 49 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Romarin contre *Staphylococcus aureus*



Figure 50 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Romarin contre *Pseudomonas aeruginosa*

➤ **La Lavande:** les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE du Lavande sont représentés dans le **tableau 30 et (figure 51)**.

Tableau 30: Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de la *Lavande*.

Huile essentielle de la Lavande				
Souche bactérienne	Puit d'HE pure (100 µl/disque)	Disque imbibé d'HE (50 µl/disque)	Disque d'antibiotique (Ampicilline 10 mg)	La sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	24 (+/-) 1 mm	13 (+/-) 1 mm	25 (+/-) 1 mm	Extrêmement sensible (+++)
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 (+/-) 1 mm	10 (+/-) 1 mm	42 (+/-) 1 mm	Extrêmement sensible (+++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistance	Résistance	/	Non sensible (-)

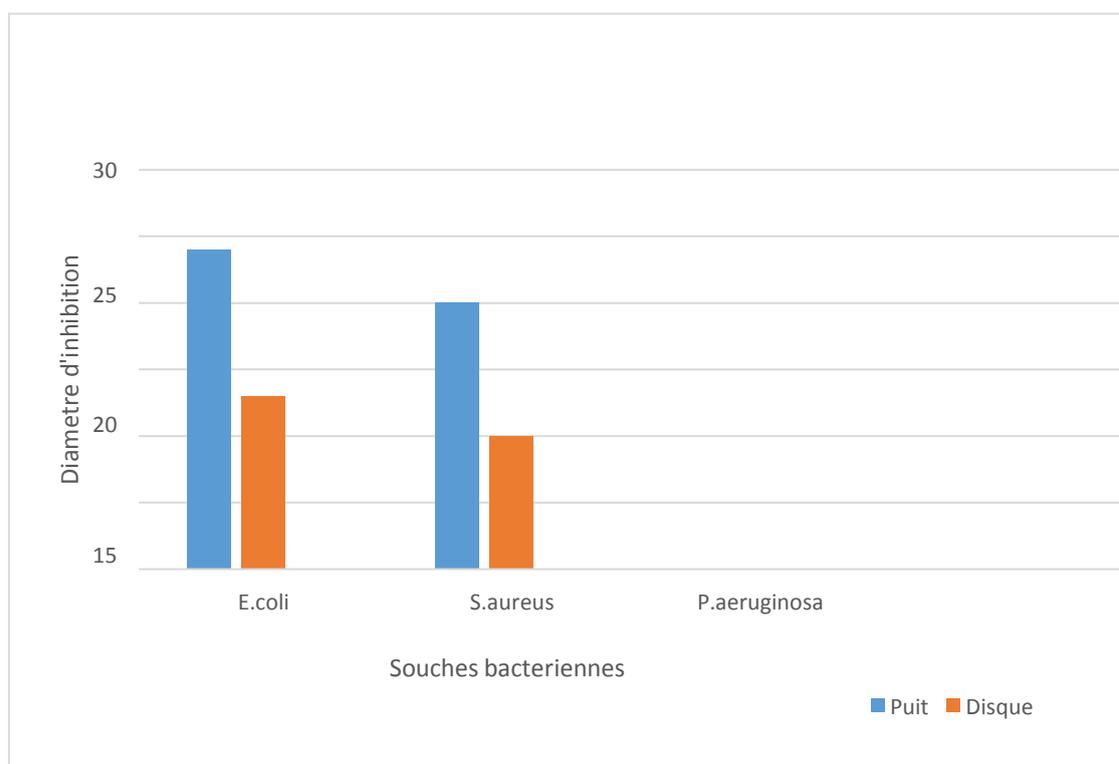


Figure 51 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la *Lavande*.



Figure 52 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande contre *Escherichia coli*

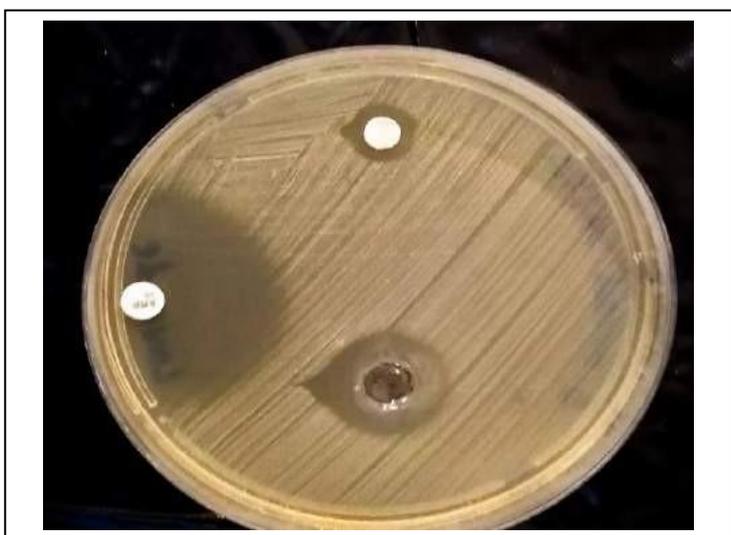


Figure 53 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande contre *Staphylococcus aureus*

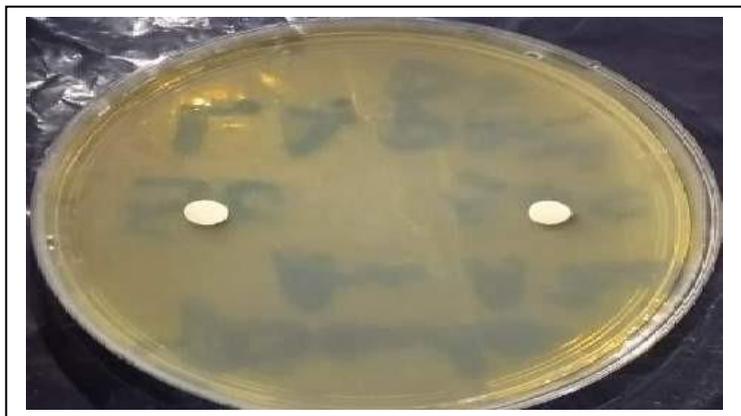


Figure 54 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Lavande contre *Pseudomonas aeruginosa*

- **La Menthe:** les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de la *Menthe* sont représentés dans le **tableau 31** et (**figure 55**).

Tableau 31 : Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de la Menthe.

Huile essentielle de la Menthe				
Souche bactérienne	Puit d'HE pure (100 µl/disque)	Disque imbibe d'HE (50 µl/disque)	Disque d'antibiotique (Ampicilline 10 mg)	La sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	/	12 (+/-) 1 mm	25 (+/-) 1 mm	Sensible (+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	09 (+/-) 1 mm	42 (+/-) 1 mm	Sensible (+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistance	Résistance	/	Non sensible (-)

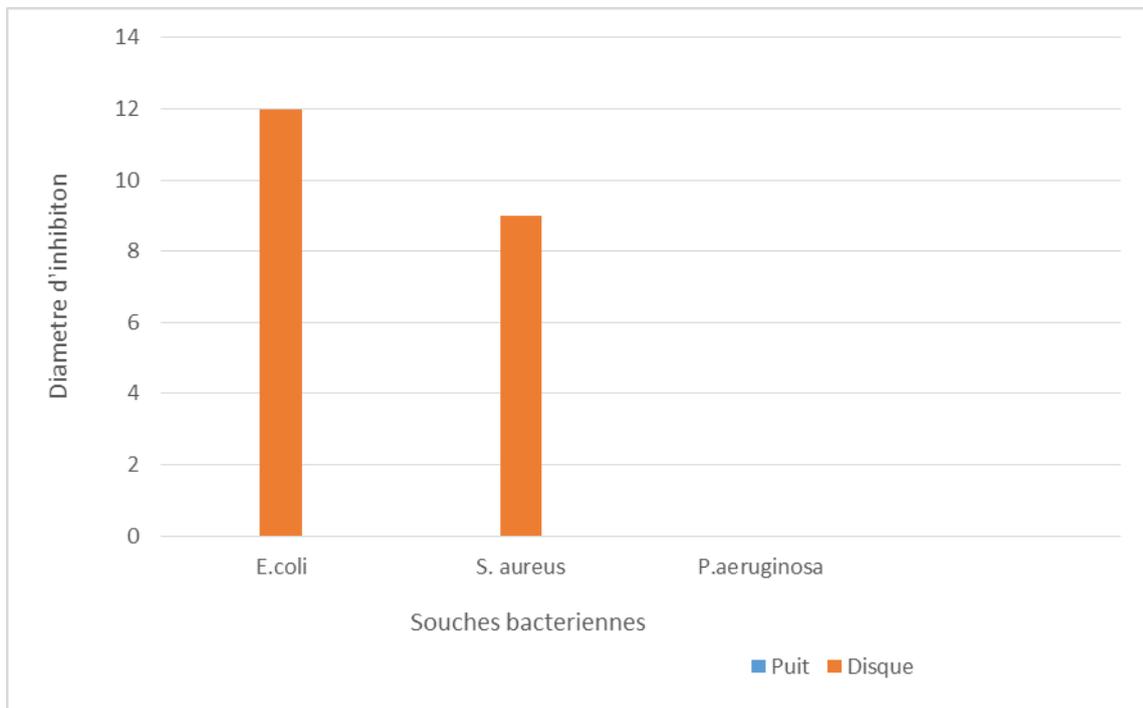


Figure 55 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de la Menthe.



Figure 56 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Menthe contre *Escherichia coli*

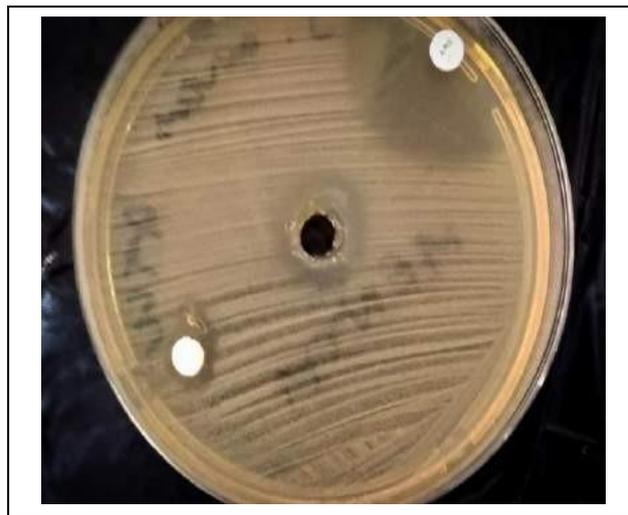


Figure 57: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Menthe contre *Staphylococcus aureus*



Figure 58: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la Menthe contre *Pseudomonas aeruginosa*

➤ *Lentisque*: les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE du *Lentisque* sont représentés dans le **tableau 32** et (**figure 59**).

Tableau 32 : Les résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle du *Lentisque*.

Huile essentielle du <i>Lentisque</i>				
Souche bactérienne	Puit d'HE pure (100 µl/disque)	Disque imbibe d'HE (50 µl/disque)	Disque d'antibiotique (Ampicilline 10 mg)	La sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	13 (+/-) 1 mm	08 (+/-) 1 mm	25 (+/-) 1 mm	Sensible (+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	19 (+/-) 1 mm	09 (+/-) 1 mm	42 (+/-) 1 mm	Très sensible (++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistance	Résistance	/	Non sensible (-)

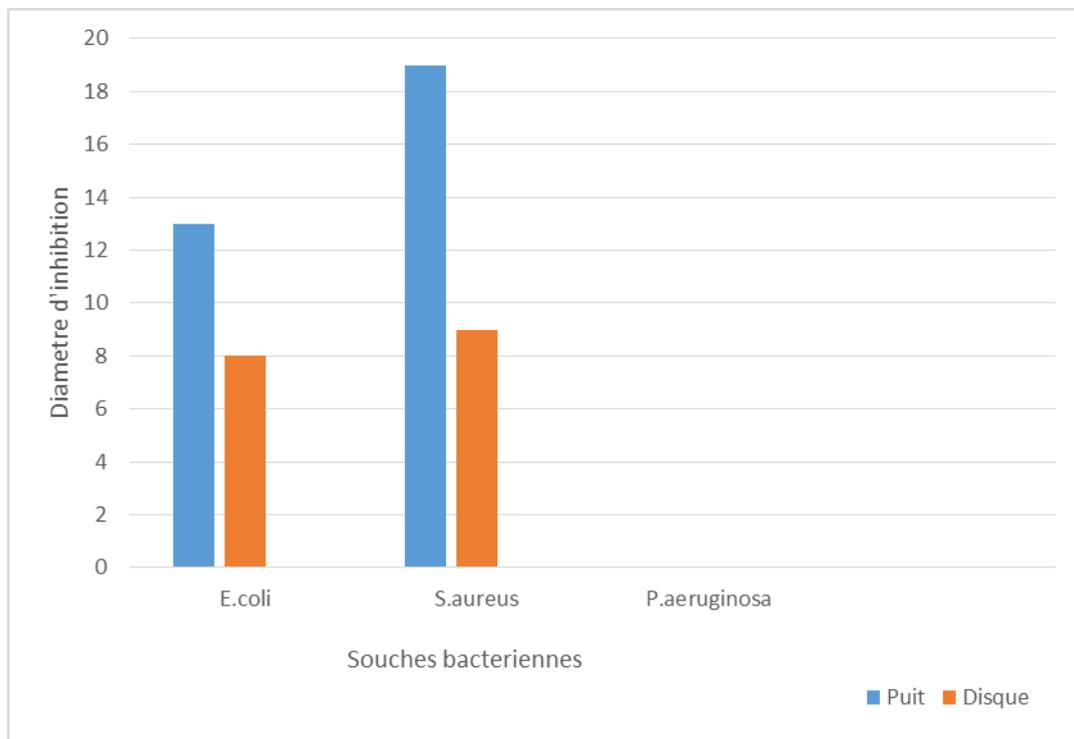


Figure 59: Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle du *Lentisque*.



Figure 60: Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Lentisque contre *E coli*

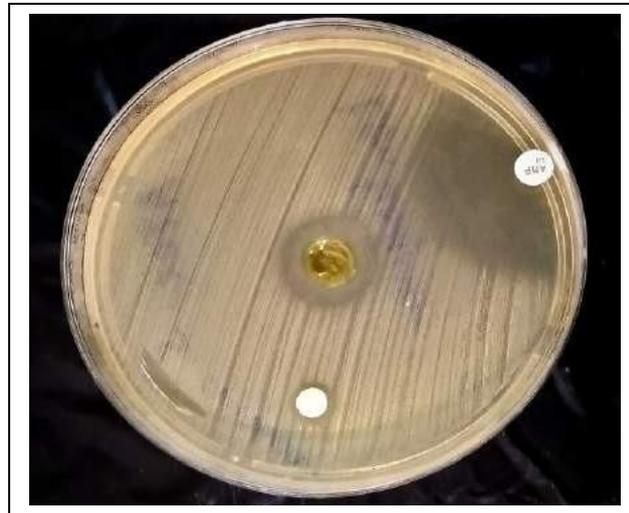


Figure 61: Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Lentisque contre *Staphylococcus aureus*



Figure 62 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle du Lentisque contre *Pseudomonas aeruginosa*

- **Le mélange** : les résultats de l'activité antimicrobienne du mélange des huiles essentielles sont représentés dans le **tableau 33** et (**figure 63**).

Tableau 33: Les résultats des zones d'inhibitions du mélange des huiles essentielles.

Mélange des huiles essentielles				
Souche bactérienne	Puit d'HE pure (100 µl/disque)	Disque imbibe d'HE (50 µl/disque)	Disque d'antibiotique (Ampicilline 10 mg)	La sensibilité
Escherichia coli	14 (+/-) 1 mm	09 (+/-) 1 mm	25 (+/-) 1 mm	Sensible (+)
Staphylococcus aureus	16 (+/-) 1 mm	07 (+/-) 1 mm	42 (+/-) 1 mm	Très sensible (++)
Pseudomonas aeruginosa	Résistance	Résistance	/	Non sensible (-)

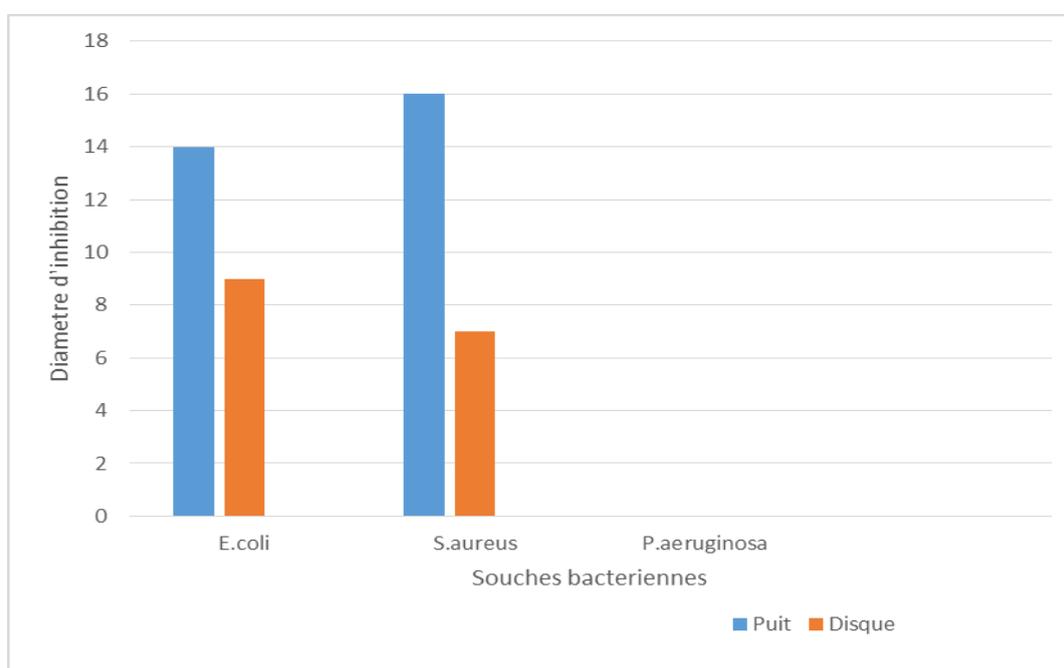


Figure 63: Résultats des diamètres d'inhibition du mélange des huiles essentielles.

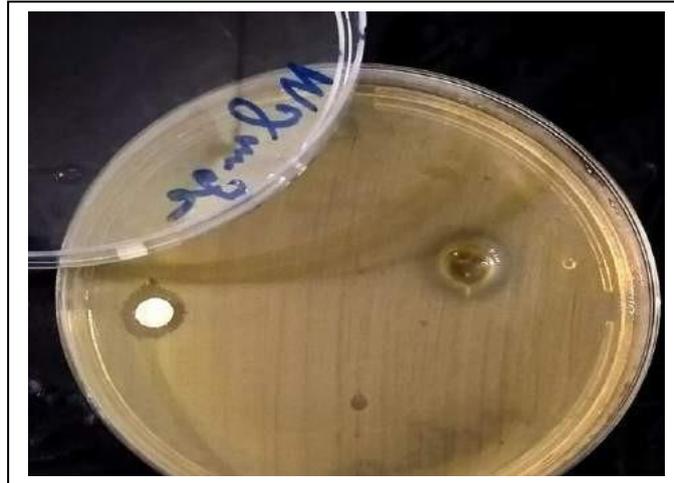


Figure 64 : Activité antibactérienne du mélange des huiles essentielles contre *E coli*

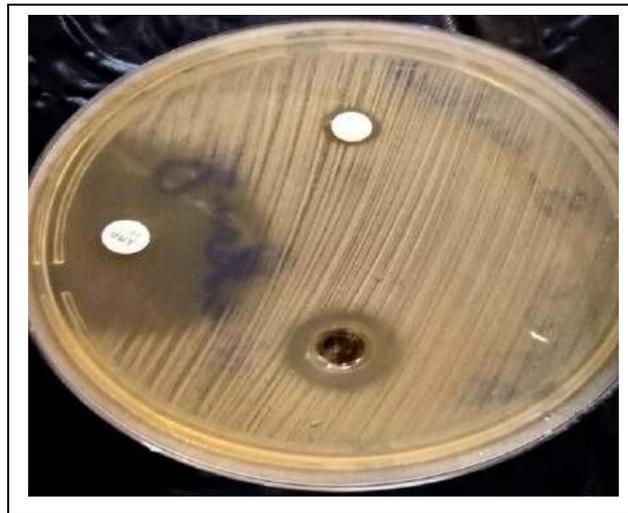


Figure 65: Activité antibactérienne du mélange des huiles essentielles contre *Staphylococcus aureus*



Figure 66: Activité antibactérienne du mélange des huiles essentielles contre *Pseudomonas aeruginosa*

- **Hydrolat d'ortie** : les résultats de l'activité antimicrobienne d'hydrolat d'Ortie sont représentés dans le **tableau 34**.

Tableau 34: Les résultats des zones d'inhibitions d'hydrolat d'Ortie.

Hydrolat d'Ortie				
Souche bactérienne	Puit d'HE pure (100 µl/disque)	Disque imbibé d'HE (50 µl/disque)	Disque d'antibiotique (Ampicilline 10 mg)	La sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	Résistance	Résistance	25 (+/-) 1 mm	Non sensible (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistance	Résistance	42 (+/-) 1 mm	Non sensible (-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistance	Résistance	/	Non sensible (-)



Figure 67 : Activité antibactérienne d'hydrolat d'Ortie contre **Staphylococcus aureus**

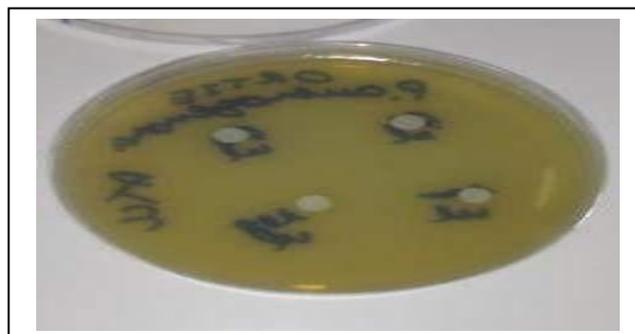


Figure 68 : Activité antibactérienne d'hydrolat d'Ortie contre **Pseudomonas aeruginosa**

- **Commentaire de l'activité antimicrobienne :**

Au vu des résultats obtenus de l'étude des activités antimicrobienne des huiles essentielles, nous constatons une sensibilité importante des germes *E.Coli* et *Staphylococcus Aureus* vis-à-vis de toutes les huiles étudiées à l'exception de HE de la Menthe, pour laquelle nous avons observé un effet destructeur de la boîte de Pétrie (pour la méthode des puits) probablement due à une acidité de cette HE. Aussi nous avons remarqué que la méthode des puits a présenté des zones d'inhibition plus grande en raison de quantité plus importante de l'HE utilisée.

Pour le germe *Pseudomonas aeruginosa* aucune sensibilité n'a été enregistrée et ce pour les quatre HEs étudiées, ce qui indique que la souche bactérienne la plus résistante à toutes les huiles essentielles, leur mélange et même à l'hydrolat d'Ortie est *Pseudomonas aeruginosa*.

On note d'autre part que l'hydrolat d'Ortie ne présente aucune activité inhibitrice.

V.3 Effet anti androgénique des microémulsions :

L'évolution de la poussée des poils des souris observés sur une période de 21 jours, a été évaluée qualitativement (la vitesse de la poussée et la surface de la zone traitée) (Tableaux: 35,36,37,38,39,40,41,42).

- **Le commentaire :**

Les résultats de l'étude de l'effet anti-androgénique ont mis en évidence :

- Une repousse des poils constatée au 6^{ème} jour pour l'HE du Romarin avec une couverture totale par des poils au bout de 9^{ème} jour de traitement
- Une repousse des poils constatée au 9^{ème} jour pour l'HE de Lavande, la Menthe et celle du Lentisque avec une couverture totale par des poils au bout de 17^{ème} jour de traitement.
- Le mélange des HEs était plus favorable à la repousse avec réapparition des poils au 6^{ème} jour.
- Pour le groupe témoin positif traité à la Minoxidil une faible voir aucune repousse (selon les différences individuelles) de poils n'a été enregistrée.
- Le groupe témoin négatif mis sous Testostérone n'a enregistré aucune repousse de poils ce qui témoigne l'effet inhibiteur de la Testostérone de la poussée des poils alors que les animaux du même groupe témoins négatif sans traitement à la Testostérone a eu une repousse normale des poils au 3^{ème} jour.

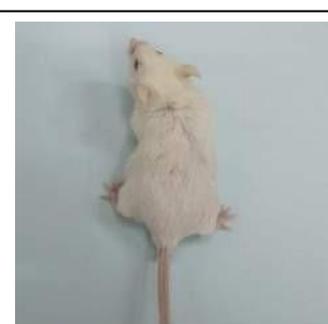
Tableau 35: L'effet du spray à base d'huile essentielle du Romarin sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le spray à base d'huile essentielle du Romarin****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

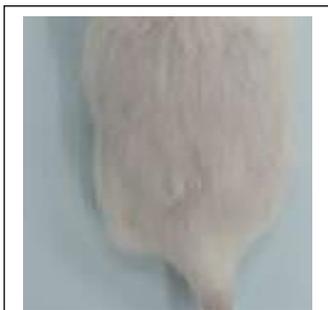
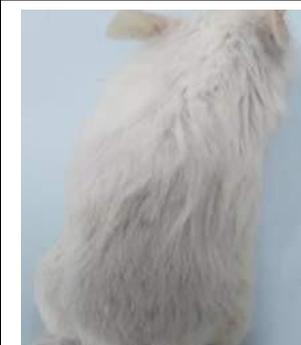
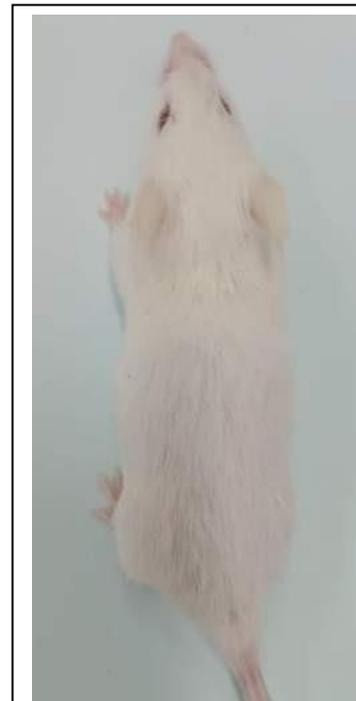
Tableau 36: L'effet du spray à base d'huile essentielle du Lavande sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le spray à base d'huile essentielle du Lavande****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

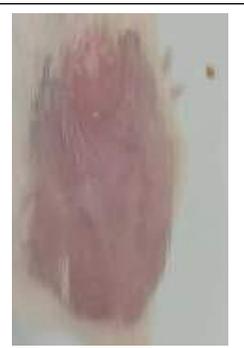
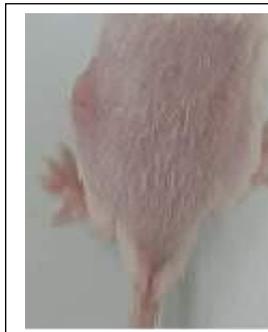
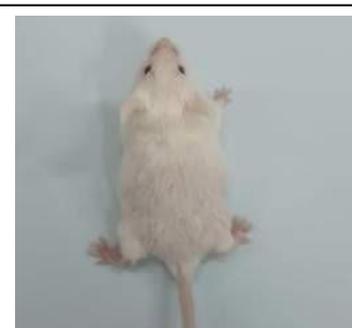
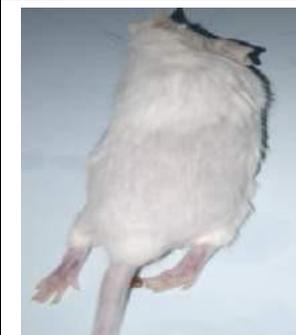
Tableau 37: L'effet du spray à base d'huile essentielle de la Menthe sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le spray à base d'huile essentielle de la Menthe****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

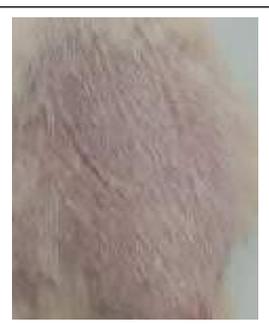
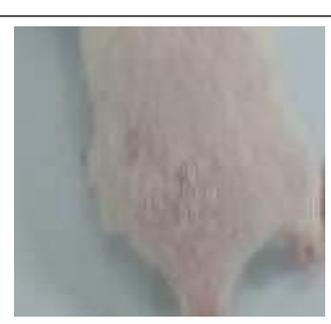
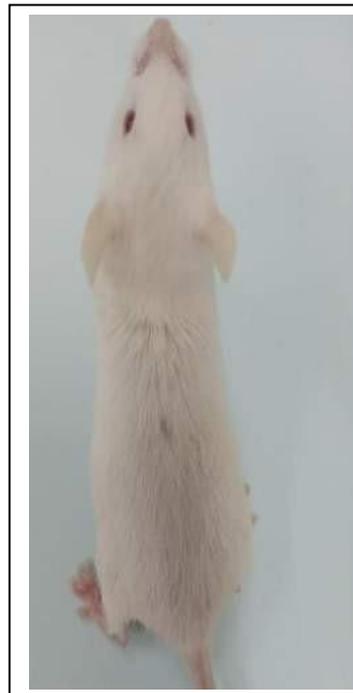
Tableau 38: L'effet du spray à base d'huile essentielle du Lentisque sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le spray à base d'huile essentielle du Lentisque****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

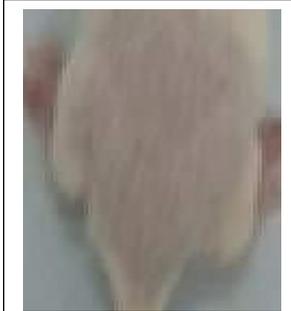
Tableau 39 : L'effet du spray à base de mélange des huiles essentielles sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le spray à base de mélange des huiles essentielles****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

Tableau 40: L'effet du Minoxidil sur la poussée des poils pendant 21 jours.

Le Minoxidil

Les jours du traitement

Jour 1



Jour3



Jour6



Jour 9



Jour 17



Jour 21



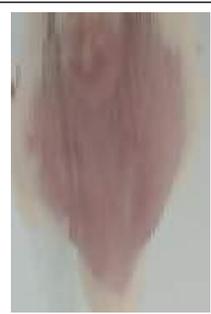
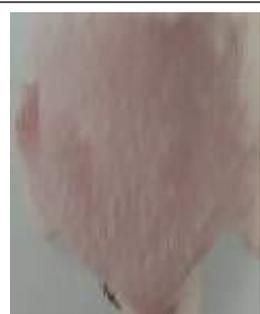
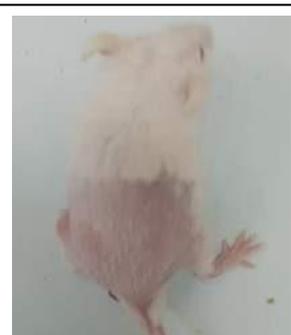
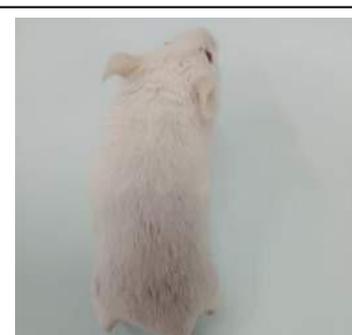
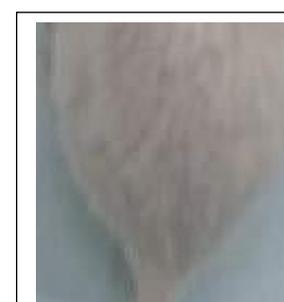
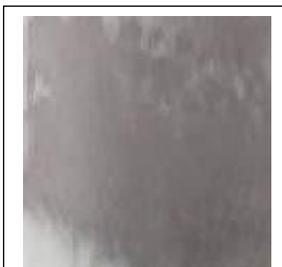
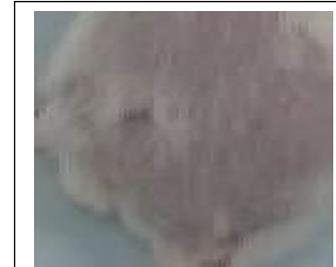
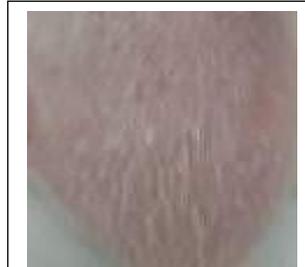
Tableau 41 : L'effet placebo sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le témoin négatif****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

Tableau 42: L'effet placebo sur la poussée des poils pendant 21 jours.**Le témoin négatif positive****Les jours du traitement****Jour 1****Jour3****Jour6****Jour 9****Jour 17****Jour 21**

V.4 Résultats de la caractérisation ces microémulsions :

V.4.1 Caractérisation organoleptique :

Les microémulsions fabriquées ont été observées à l'échelle macroscopique (**tableaux: 45, 46,47**) et microscopique **tableau 48** et leurs caractéristiques organoleptiques ont été appréciées dans le

tableau 43.

Tableau 43: Les propriétés organoleptiques des microémulsions.

Spray a base HE :	Aspect	Couleur	Odeur	Homogénéité	Pulvérisation	Texture	Fluidité
Romarin	Liquide	Blanchâtre	Caractéristique végétale	Bonne	Facile et bonne	Inconsistant	Très fluide
Lavande	Liquide	Blanchâtre	Caractéristique végétale	Bonne	Facile et bonne	Inconsistant	Très fluide
Lentisque	Liquide	Blanchâtre	Caractéristique Végétale	Bonne	Facile et bonne	Inconsistant	Très fluide
Menthe	Liquide	Blanchâtre	Caractéristique Végétale	Bonne	Facile et bonne	Inconsistant	Très fluide
Le mélange	Liquide	Blanchâtre	Caractéristique Végétale	Bonne	Facile et bonne	Inconsistant	Très fluide

V.4.2 Observation macroscopique :

Les microémulsions obtenues ont présenté un aspect opalescent et fluide sans séparation de phase, ce qui témoigne l'émulsification des HES dans la phase dispersée. **Tableau 44**

Tableau 44: L'aspect des microémulsions le premier jour.

Romarin	Lavande	Lentisque	Menthe	Le mélange
				

V.4.3 Etude de stabilité :

Nous avons réalisé un suivi de stabilité de l'aspect macroscopique des microémulsions pendant une durée d'un mois. (Tableaux : 45, 46,47). A l'issue de cette étude de stabilité nous avons pu constater que l'aspect des microémulsions est resté stable, sans changement apparent à l'œil nu du point de vue couleur, odeur ou homogénéité. Ceci témoigne la stabilité de ces systèmes dans le temps.

Tableau 45 : L'aspect du spray des différentes HEs pendant un mois.

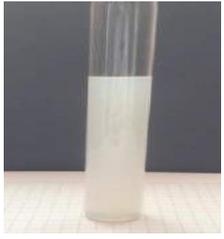
Jour 1	Jour 5	Jour 10	Jour 15	Jour 20	Jour 25	Jour 30
Le Romarin						
						
Spray de Lavande						
						

Tableau 46 : L'aspect du spray des HEs pendant un mois

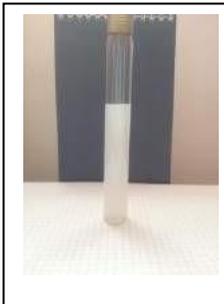
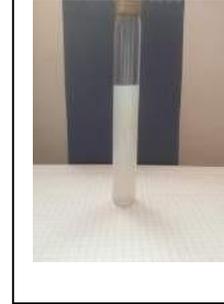
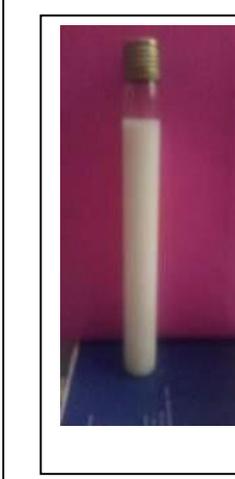
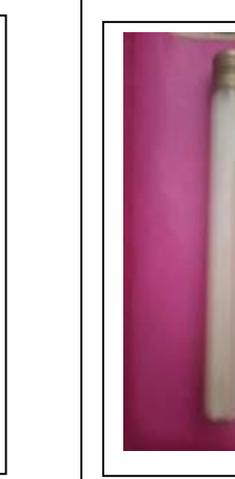
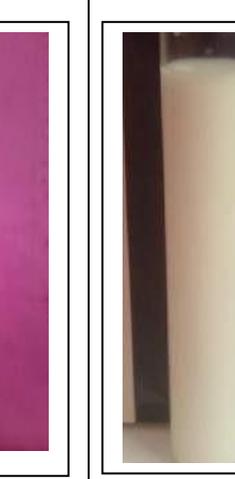
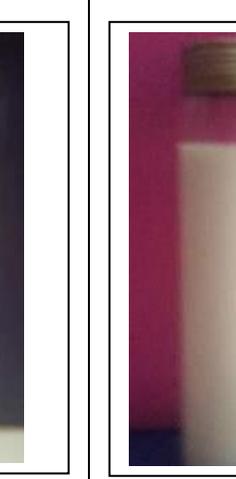
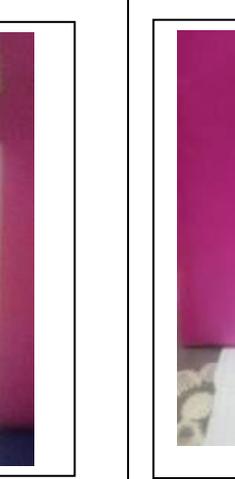
Jour 1	Jour 5	Jour 10	Jour 15	Jour 20	Jour 25	Jour 30
La Menthe						
						
Le Lentisque						
						

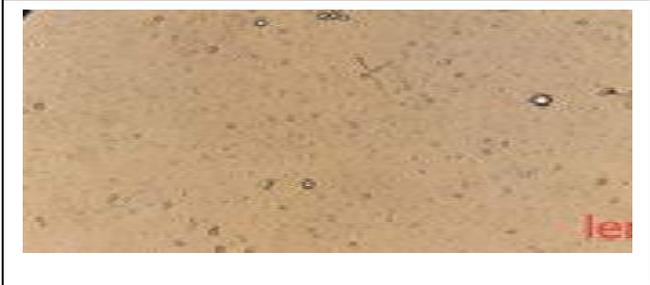
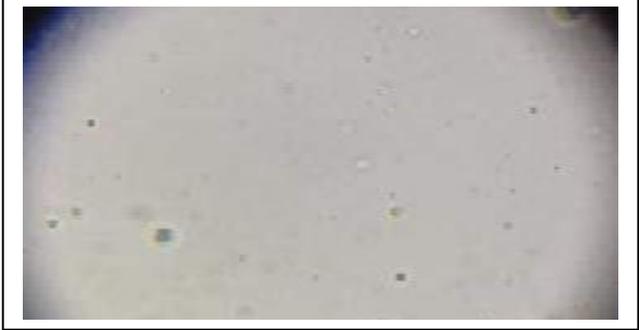
Tableau 47: L'aspect du spray du mélange des huiles essentielles pendant un mois.

Jour 1	Jour 5	Jour 10	Jour 15	Jour 20	Jour 25	Jour 30
 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a dark background.	 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a pink background.	 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a pink background.	 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a pink background.	 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a dark background.	 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a pink background.	 A clear glass spray bottle containing a clear, colorless liquid. The bottle is shown against a pink background.

V.4.4 Observation microscopique :

La forme des globules est appréciée par la mise au point au microscope optique à l'objectif x40. L'observation au microscope a mis en évidence un aspect micrométrique des globules huileux des HEs avec une dispersion homogène. Les observations sont résumées dans le **tableau 48**.

Tableau 48: Résultats de l'observation au microscope optique au grossissement x 40

Spray à base d'HE	Photos des émulsions au microscope optique (grossissement x 40)	Commentaire
Le mélange		Globules micrométriques Globules en floculation Taille polydispersée
Lavande		Globules micrométriques Bien Dispersés de taille homogène
Lentisque		Globules micrométriques Bien Dispersés de taille homogène
Romarin		Globules micrométriques Bien Dispersés de taille homogène

V.4.5 Caractérisation physicochimique :

V.4.5.1 Mesure du pH

Cette mesure est effectuée à l'aide d'un pH mètre à température ambiante. Les valeurs de pH des microémulsions est légèrement acide de l'ordre de 5.5. **Tableau 49**

Tableau 49: Résultats du pH des microémulsions à une température ambiante.

Spray à base d'HE :	Température	pH
Romarin	24.5°C	5.82
Lavande	24.5°C	5.63
lentisque	24.5°C	5.89
Menthe	24.5°C	5.12
Le mélange	24.5°C	4.63

V.4.5.2 Mesure de la densité :

Cette mesure est effectuée à l'aide d'une balance et un pycnomètre à une température ambiante. Les résultats ont montrés une densité proche de 1 donc celle du milieu dispersant des microémulsions à savoir l'eau. **Tableau 50.**

Tableau 50: Résultats de la densité des microémulsions à une température ambiante.

Spray à base d'HE :	Température	Densité
Romarin	24.5°C	0.9996
Lavande	24.5°C	0.9966
Lentisque	24.5°C	0.9970
Menthe	24.5°C	0.9990
Le mélange	24.5°C	0.9973

V.5 Caractérisation rhéologique :

La caractérisation du comportement rhéologique a été réalisée sur les crèmes (les masques capillaires) et sur les microémulsions ; nous avons étudié les échantillons en écoulement en faisant varier la vitesse de cisaillement de 0.001 s^{-1} à 1000 s^{-1}

➤ Les microémulsions :

Pour ce type de système nous constatons une chute de la viscosité pour des cisaillements très faibles, puis une stabilisation des valeurs de cette viscosité η à une valeur approximative de **2 mPa.s**, et ce pour l'ensemble des microémulsions préparées. Ce type de comportement est caractéristique des fluides newtonien. (Figures :69, 70)

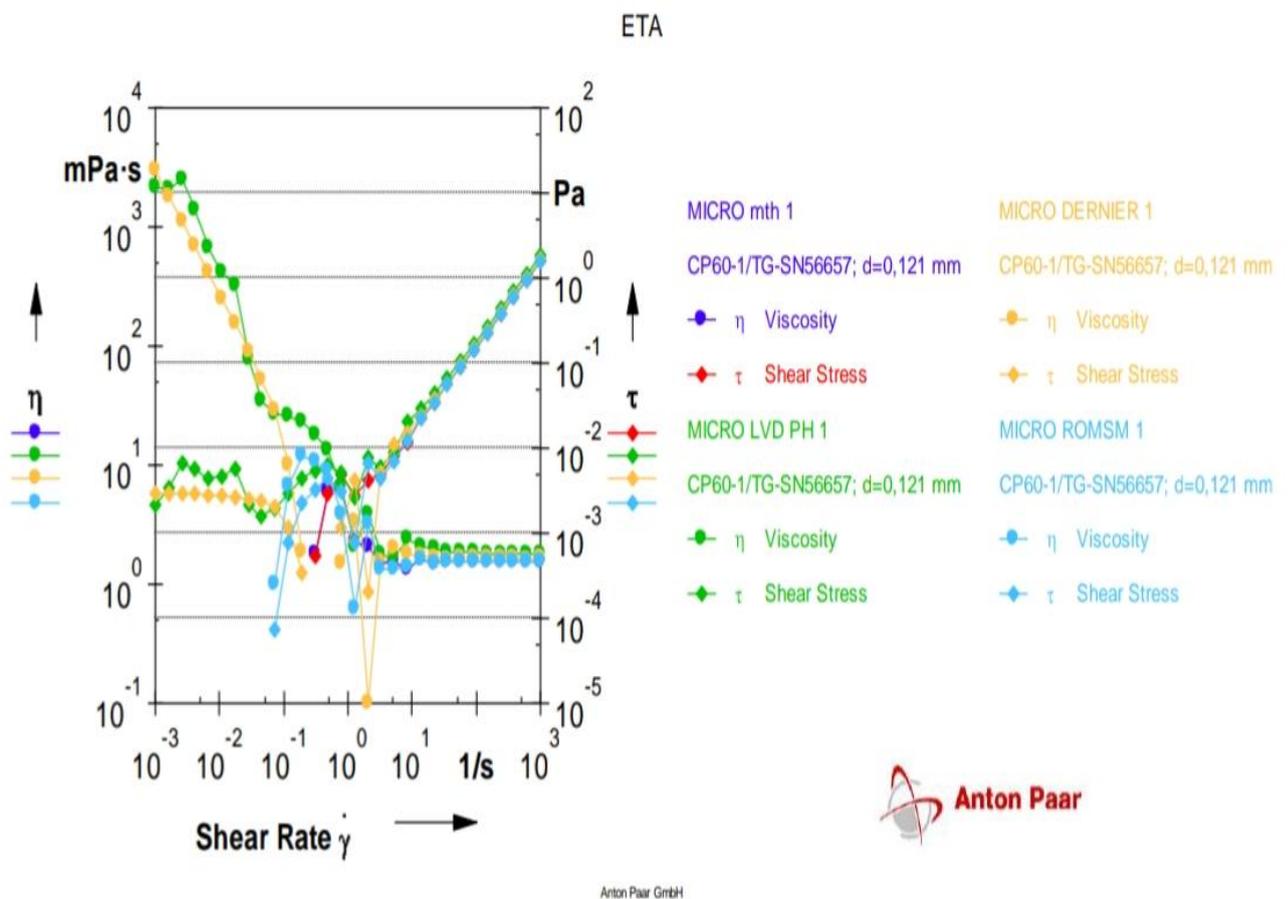


Figure 69: Courbe d'écoulement des différentes microémulsions

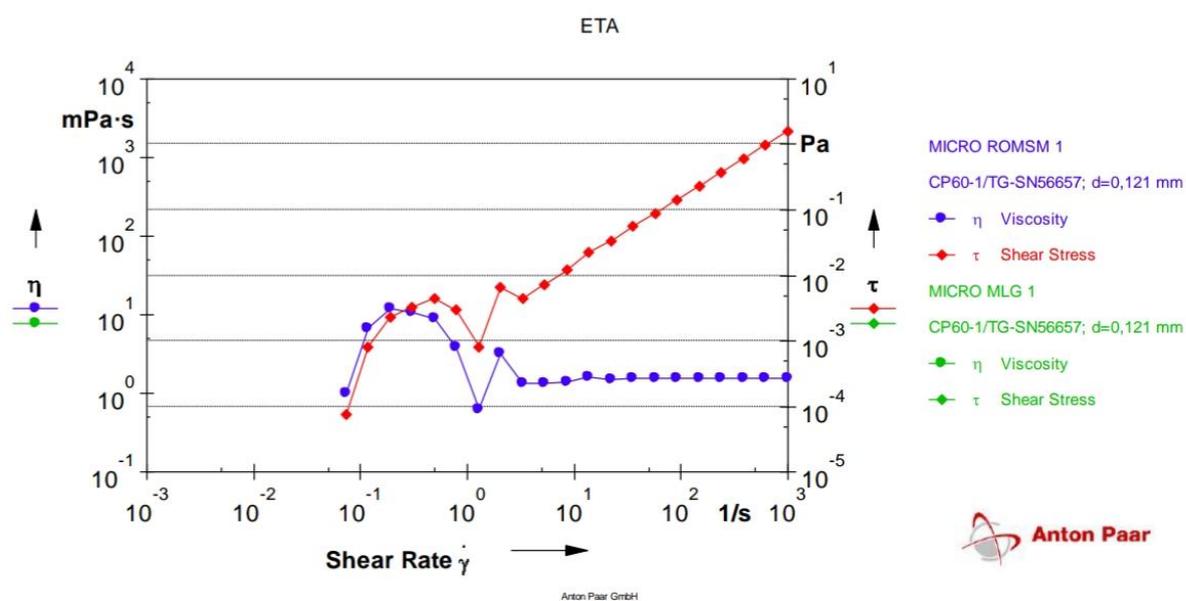


Figure 70: Courbe d'écoulement des microémulsions mélange HEs.

V.6 Contrôle microbiologique :**V.6.1 Recherche des microorganismes :**

Il y a absence de microorganisme viable, donc les résultats sont conformes. **Tableau 51**

Tableau 51: Le contrôle microbien des sprays.

Spray du Romarin	Spray du Lentisque	Spray du Lavande	Spray de la Menthe	Spray du mélange
 A petri dish with a yellowish agar surface. Handwritten text in black ink reads: "Romarin" at the top, "Twin 50" below it, "Stagier" below that, and "P. 11/06" at the bottom.	 A petri dish with a yellowish agar surface. Handwritten text in black ink reads: "Lentisque" at the top, "Twin 50" below it, "Stagier" below that, and "P. 11/06" at the bottom.	 A petri dish with a yellowish agar surface. Handwritten text in black ink reads: "Lavande" at the top, "Twin 50" below it, "Stagier" below that, and "P. 11/06" at the bottom.	 A petri dish with a yellowish agar surface. Handwritten text in black ink reads: "Menthe" at the top, "Twin 50" below it, "Stagier" below that, and "P. 11/06" at the bottom.	 A petri dish with a yellowish agar surface. Handwritten text in black ink reads: "Mélange" at the top, "Twin 50" below it, "Stagier" below that, and "P. 11/06" at the bottom.

V.6.2 Le contrôle fongique:

Il n'y avait pas une contamination fongique dans tous les sprays. **Tableau 52**

Tableau 52: Le contrôle fongique des sprays.

Spray du Romarin	Spray du Lentisque	Spray du Lavande	Spray de la Menthe	Spray du mélange
				

V.7 La caractérisation des crèmes :

V.7.1 Caractérisation organoleptique : les caractéristiques organoleptiques des crèmes fabriquées ont été appréciées. **Tableau 53**

Tableau 53: Les propriétés organoleptiques des microémulsions (les crèmes).

Crème	Aspect	Couleur	Odeur	Homogénéité	Etalement	Texture	Fluidité
Crème avec l'argile	Crémeux	Marron clair	Caractéristique végétale	Bonne	Facile et bonne	Epaisse	Non fluide
Crème sans l'argile	Crémeux	Blanchâtre	Caractéristique végétale	Bonne	Facile et bonne	Epaisse	Non fluide

V.7.2 Observation macroscopique :

Les crèmes formulées sont de consistance semi-solide mais légère et facile à étaler sur une surface.

La crème à base d'argile est de couleur caractéristique de l'argile. **Tableau 54**

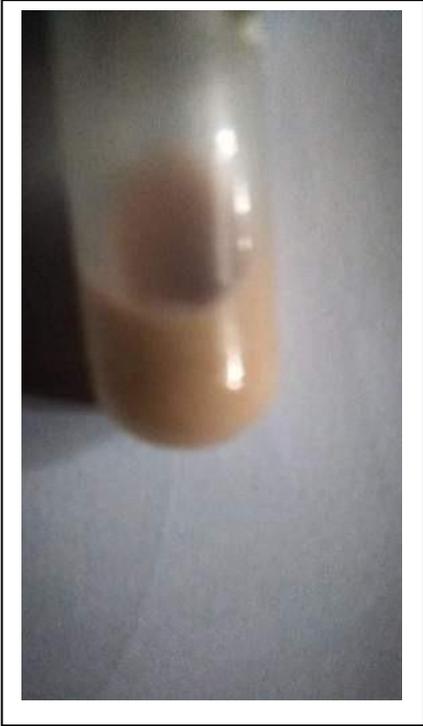
Tableau 54 : L'aspect des crèmes le premier jour.



V.7. 3 Etude de stabilité :

Nous avons réalisé une centrifugation de 2000 tours/5min pour apprécier la stabilité en au vieillissement accéléré à la centrifugation (condition extrêmes de stabilité). **Tableau 55**

Tableau 55: L'aspect des crèmes après la centrifugation.

La crème avec l'argile	La crème sans l'argile
	

V.7.4 Aspect microscopique :

La forme des globules est appréciée par la mise au point au microscope optique à l'objectif x10.

Tableau 56

Tableau 56: Résultats de l'observation au microscope optique au grossissement x 10.

Spray à base d'HE	Photos des émulsions au microscope optique (grossissement x 10)	Commentaire
Crème avec l'argile		Les globules de la phase dispersée sont de taille homogène et de taille micrométrique
Crème sans l'argile		Les globules de la phase dispersée sont de taille homogène et de taille micrométrique

V.7.5 Caractérisation physicochimique :

V.7.5.1 Mesure du pH :

Cette mesure est effectuée à l'aide d'un pH mètre à température ambiante. **Tableau 57**

Tableau 57: Résultats du pH des crèmes à une température ambiante avant et après ajustement.

Crème	Température	pH avant ajustement	pH après ajustement
Crème avec l'argile	24.5°C	7.49	5.41
Crème sans l'argile	24.5°C	7.39	5.41

Pour un soin capillaire ,le PH doit être entre 4.0 à 5.5 , un ajustement du pH de la formulation était nécessaire pour favoriser la pénétration de molécules actives. Nous avons choisi un solution de l'acide citrique 0.13 M comme ajusteur de PH.

A la fin d'ajouter 0.5 ml de la solution à 5 ml de la préparation nous avons obtenu un PH de 5.41 qui il est acceptable.

V.7.5.2 Mesure de la conductivité :

Cette mesure est effectuée à l'aide d'un conductimètre à une température ambiante. **Tableau 58**

Tableau 58 : Résultats de la conductivité des crèmes à une température ambiante.

Crème	Température	Conductivité en $\mu S/cm$
Crème avec l'argile	24.5°C	172.8
Crème sans l'argile	24.5°C	213

V.7.5.3 Mesure de la viscosité :

Cette mesure est effectuée à l'aide d'un viscosimètre à une température ambiante. **Tableau 59**

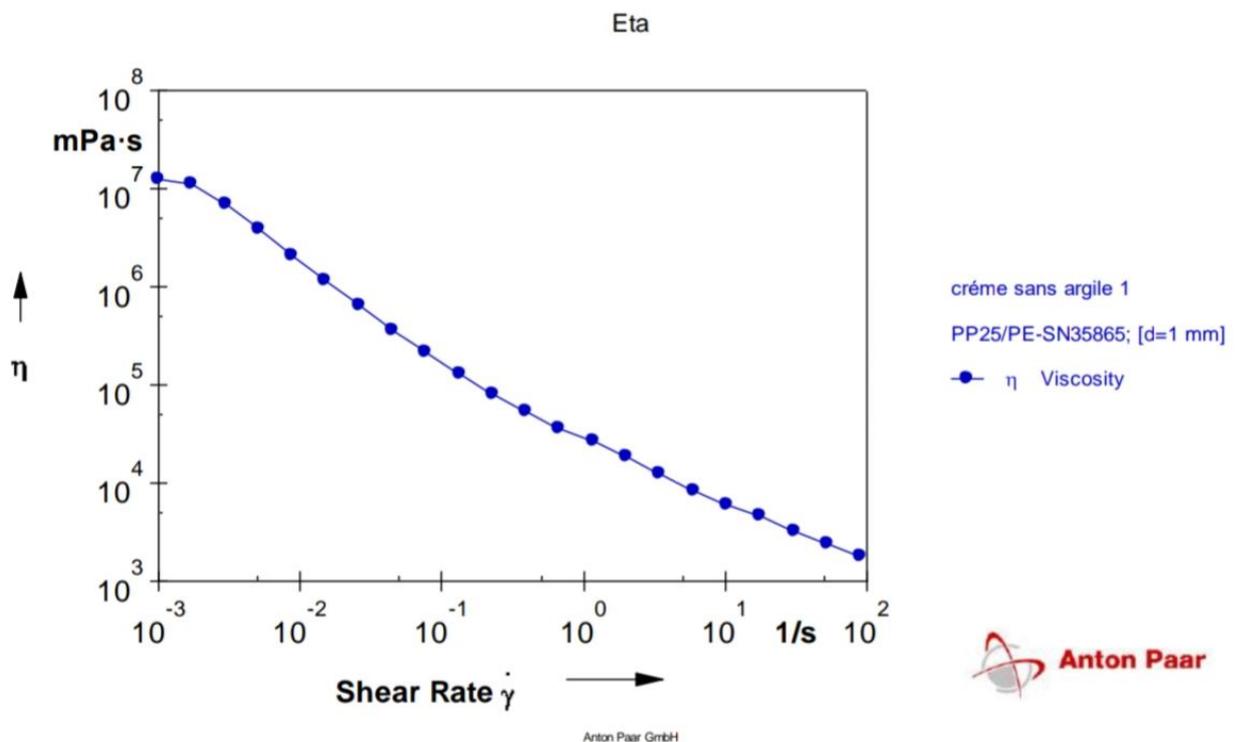
Tableau 59 : Résultats de viscosité des crèmes à une température ambiante

Crème	Mobile N°	Vitesse en rpm(tours/min)	Viscosité en mPa.s,
Crème avec l'argile	5	10	27.560
Crème sans l'argile	5	10	27.560

V.7.5.4 Caractérisation rhéologique :

➤ Pour les crèmes (masque capillaire) :

Le résultat montre une diminution de la viscosité η , avec l'accroissement de la vitesse de cisaillement, ce type de comportement est dit rhéofluidifiant, c'est-à-dire plus la contrainte imposée est importante plus la viscosité décroît et l'écoulement est grand et ce pour les deux types de crème avec et sans argile. (Figures : 71, 72)

**Figure 71:** Courbe d'écoulement de la crème sans argile.

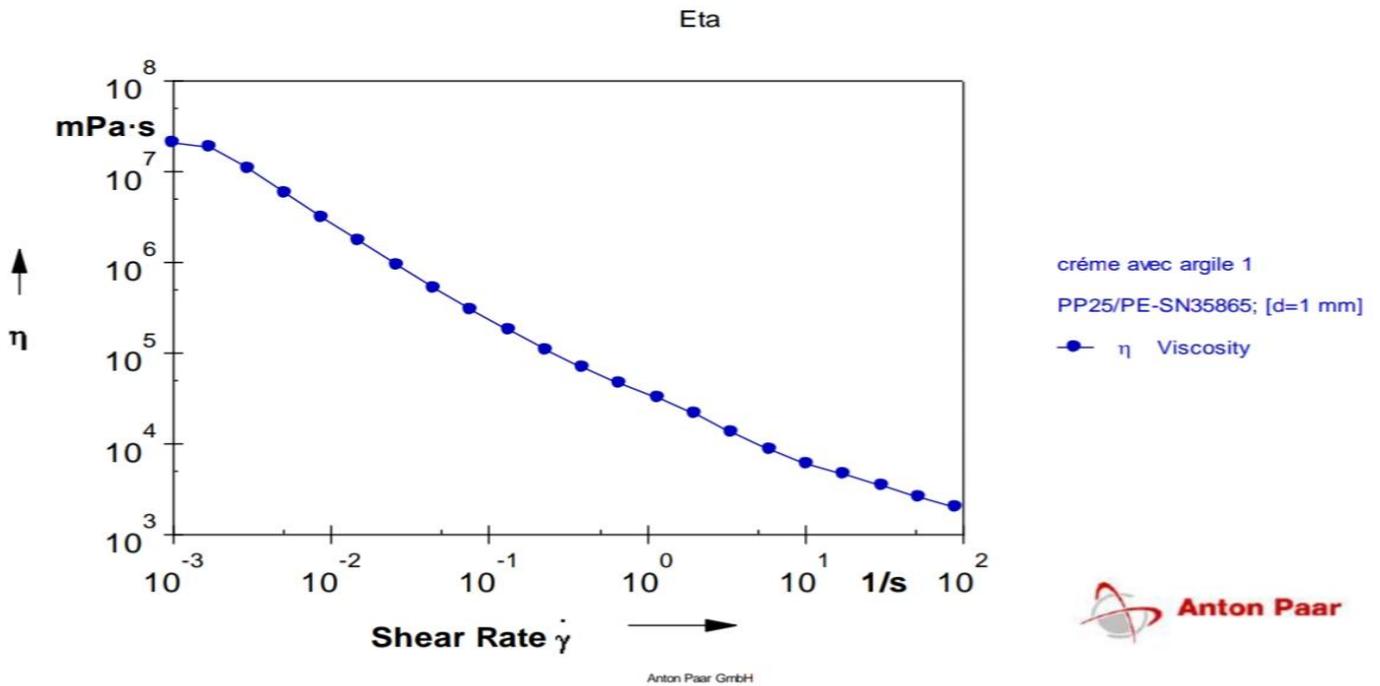


Figure 72 : Courbe d'écoulement de la crème avec l'argile.

V.7.5.5 Contrôle microbiologique :

V.7.5.5.1 Recherche des microorganismes :

Les résultats obtenus sont conformes. Absence de contamination microbiologique dans toutes les crèmes. **Tableau 60**

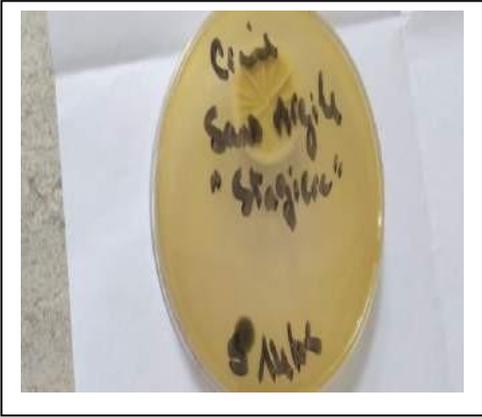
Tableau 60 : Le contrôle bactériologique des crèmes.

Crème avec l'argile	Crème sans l'argile
	

V.7.5.5.2 Le contrôle fongique:

Il n'y avait pas une contamination fongique dans les crèmes selon les normes d'ISO. **Tableau 61**

Tableau 61: Le contrôle fongique des crèmes.

Crème avec l'argile	Crème sans l'argile
 <p>A petri dish containing a yellowish cream. Handwritten text on the lid reads: "Crème Avec Argile 'Stagier'", "S 14/6". The surface of the cream is smooth and uniform in color, with no visible mold or contamination.</p>	 <p>A petri dish containing a yellowish cream. Handwritten text on the lid reads: "Crème Sans Argile 'Stagier'", "S 14/6". The surface of the cream is smooth and uniform in color, with no visible mold or contamination.</p>

Discussion générale :

Les résultats suscités montrent que l'activité antibactérienne dépend de la qualité des huiles essentielles testées ainsi que les bactéries ciblées. La sensibilité des bactéries (*E. coli*, *L. S. aureus*, et *P. aeruginosa*) varie d'une méthode à une autre, ce qui confirme que la méthode utilisée pour étudier l'effet antibactérien d'une huile peut être considéré comme un facteur influant les résultats [114]. L'activité antimicrobienne peut être influencée également par les familles des plantes, la période de la récolte et la région. [115] selon les résultats obtenus nous avons eu un diamètre d'inhibition de l'ordre de 24 mm pour le germe *E. coli*, par l'HE de Lavande.

L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la méthode et l'huile essentielle utilisée mais également de la souche bactérienne ciblée, Gram (+) ou Gram (-). Au fait, plusieurs travaux ont décelé la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Falleh *et al.*) [116] ce qui explique la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* et la sensibilité du *Staph aureus* envers toutes les HEs étudiées. ceci peut s'attribuer à des différences dans les constitutions morphologiques entre ces micro-organismes. Les bactéries à Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa*) possèdent, en plus de la paroi, une couche externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des substances chimiques antimicrobiennes par contre, les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles, car elles ont une seule couche externe de peptidoglycane, la paroi qui est perméable.

Des effets antagonistes ont été observés avec le mélange des HEs, conduisant à une réduction de l'activité antibactérienne. Ils se produisent généralement entre les molécules actives et les composés non oxygénés, qui réduisent leur solubilité et donc leur efficacité. [117]

Les résultats du contrôle microbiologique des microémulsions contenant les HEs de *Salvia rosmarinus*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha spicata* ainsi que le mélange des HEs, ont démontré que l'effet de conservation était efficace à une concentration de 5 % d'HE dans la formulation, ces résultats complètent ceux obtenus lors des essais antimicrobiens des huiles essentielles.

Pour conclure : les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles peuvent être influencés par trois facteurs principaux: la méthode utilisée, l'huile essentielle et les microorganismes ciblés. et on peut dire que les HEs utilisées semblent être plus appropriées comme agents naturels dans la préservation et la conservation des formulations cosmétiques.

L'effet de la repousse des cheveux par les microémulsions à base des HEs donné comme traitement pendant 21 jours (0.5ml /jour/souris), a été testé in vivo avec les souris BALB/C. La repousse des poils des groupes traités à la Testostérone a été retardée par rapport au groupe non traité à la Testostérone.

La croissance des poils était clairement visible chez les groupes traité à la Testostérone dans l'ordre décroissant suivant : HE Romarin > HE Lavande > HE Lentisque > HE mélange > Minoxidil > placebo, après application des microémulsions à tester.

Les résultats de l'activité anti-androgénique de l'HE de *Salvia rosmarinus* présentés ici sont similaires aux études antérieure réalisées par Kazuya Murata [118] et Yunes Panahi [119], qui ont conclu que l'HE de Romarin inhibe la liaison de Dihydrotestérone aux récepteurs androgènes ce qui les rends un traitement prometteur pour la croissance des cheveux.

Le Romarin possède une activité spasmolytique sur les muscles lisses.[120] Un tel effet pourrait entraîner la relaxation des vaisseaux du cuir chevelu et une meilleure perfusion des follicules pileux. L'un des composés phytochimiques pouvant expliquer ces effets est le camphre, connu pour exercer des effets hyperémiques locaux. Un autre mécanisme expliquant les effets bénéfiques de l'huile de Romarin est son activité antioxydante. Il a été suggéré que le stress oxydatif était associé à l'alopecie, car des niveaux significativement plus faibles d'antioxydants et des oxydants élevés ont été trouvés chez les patients atteints d'alopecie. [121] De plus, cette huile a des propriétés nourrissantes et revitalisantes, conduisant à l'aspect adoucissant et soyeux de cheveux.

Le pouvoir anti-androgénique de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* dans notre étude est aussi similaires de celui trouvé dans des travaux antérieur réalisées par Boo Hyeong Lee [122].qui a démontré sur le plan morphologique et histologique que l'HE de Lavande présente un effet favorisant la croissance et la poussée des cheveux.

En ce qui concerne l'huile essentielle de *Mentha spicata* ou *Pistacia lentiscus* aucune étude n'a encore étudié ou publiée dans le cadre d'un traitement de l'alopecie androgénétique (AGA).

Les résultats du présent essai fournissent des preuves de l'efficacité des huiles essentielles dans le traitement de l'AGA. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les ingrédients actifs et leur mécanisme d'action.

[Tapez un texte]



[Tapez un texte]

Conclusion

Aujourd'hui, il existe un grand souci posé par les médicaments conventionnel utilisés contre l'alopecie androgénique, en raison de leurs actions indésirables qui provoquent l'apparition de plusieurs affections dermatologiques. C'est pour cela que le consommateur commence à prendre conscience de l'importance du retour au produit naturel.

Le travail que nous avons entrepris a pour but de valoriser les ressources végétales, ainsi que de trouver de nouveaux produits naturels qui peuvent substituer les produits chimiques utilisés dans le traitement de la chute de cheveux. Les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales, sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés thérapeutiques très intéressantes à mettre à profit pour les utiliser dans le traitement de diverses maladies.[22]

La plupart des espèces végétales étudiées dans cette thèse sont d'origines algériennes, appartenant à la famille des Lamiacées et *Anacardiaceae* : *Salvia rosmarinus* ,*Lavandula angustifolia* , *Mentha spicata* , *Mentha piperita* et de *Pistacia lentiscus*. Le choix de ces plantes a été basé sur la rareté ou l'absence des études sur leurs activités anti-androgénique.

L'extraction d'HE et d'hydrolat de la plante *Urtica dioica* par hydrodistillation a fourni un rendement de 0% d'HE par rapport le temps d'extraction.

Les tests de l'activité antimicrobienne réalisés in vitro ont permis d'évaluer l'activité des huiles essentielles des espèces végétales sur des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) par deux méthodes, Dans l'ensemble, l'huile de *Lavandula angustifolia* a présenté le diamètre d'inhibition le plus important comparé aux autres espèces étudiées.

Les résultats, obtenus par la méthode des puits, ont montré que la souche bactérienne *E.coli* a été la plus sensible vis-à-vis l'HE de *Lavandula angustifolia* avec un diamètre d'inhibition de 24 mm. Cependant, les résultats obtenus par la méthode de diffusion des disques, ont présenté en général un faible diamètre d'inhibition. Pour le germe *P. aeruginosa* elle présentée une résistante envers toutes les HEs étudiées.

L'estimation du pouvoir anti-androgénique des HEs formulées sous forme de microémulsions testées in vivo avec les souris BALB/C pendant 21 jours (0.5ml /jour/souris), a mis en évidence que toutes les HEs utilisées ont une efficacité à des degrés divers, vis-à-vis l'alopecie androgénique provoqué par un traitement à la Testostérone, et HE de *Salvia rosmarinus* est la plus efficace.

Nous avons aussi préparé un masque capillaire avec les même HEs utilisées auparavant à l'exception d'HE de *Mentha spicata* qui a été remplacée par l'HE de *Mentha piperita*. Les quelles formulations ont été évalué sur le plan comportement rhéologique et étude de stabilité par un test de vieillissement accéléré à la centrifugation et qui a conclu une bonne stabilité.

Les résultats des tests physico-chimiques et microbiologiques des différentes formulations ont montré la bonne qualité des préparations, et l'efficacité des HEs en tant que conservateurs naturels.

En conclusion, les HEs utilisées sont jugées d'une grande importance vu leurs efficacité biologiques, Ces résultats encourageants, nous motivent à mener des expérimentations plus approfondies sur l'activité anti-androgénique notamment par des méthodes histologiques in vivo, ainsi que par des tests cliniques pour confirmer l'innocuité de ces substances afin de pouvoir estimer son éventuelle applicabilité dans le domaine médical.

REFERENCES

- [1] M. M. Manon, « DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE », p. 125.
- [2] S. Ashique, N. K. Sandhu, Sk. N. Haque, et K. Koley, « A Systemic Review on Topical Marketed Formulations, Natural Products, and Oral Supplements to Prevent Androgenic Alopecia: A Review », *Nat. Prod. Bioprospecting*, vol. 10, n° 6, p. 345 365, déc. 2020, doi: 10.1007/s13659-020-00267-9.
- [3] R. Kaushik, D. Gupta, et R. Yadav, « ALOPECIA: HERBAL REMEDIES », vol. 2, p. 7.
- [4] C. Deffaugt-Sanchez, « Le conseil capillaire à l'officine: des conseils cosmétologiques aux traitements médicamenteux », p. 169.
- [5] Basile PREZELIN, « Alopécies médicamenteuses non cytotoxiques : revue de la base de données de pharmacovigilance française. », THÈSE pour le DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, Département de Pharmacie ANGERS, Angers, 2012.
- [6] D. R. Lavocat, « La structure du cheveu et les différents types de cheveux | Dr Lavocat », *Docteur Romain Lavocat*. <https://chirurgieesthetiquelavocat.com/structure-cheveu.html>
- [7] L. C.-M. d'Esthétique Bordeaux, « À quel âge effectuer une greffe de cheveux ? Le Dr Emma Lavocat répond à vos questions », *La Confidentielle - Dr Emma Lavocat*. <https://la-confidentielle-esthetique.fr/questions-frequentes/capillaire/greffe-cheveux-quel-age.html>
- [8] « Le cycle de vie du cheveu | Yetkin Bayer », janv. 30, 2020. <https://www.yetkinbayer.com/fr/le-cycle-de-vie-du-cheveu.html>
- [9] Maurice Dugué Mac Carthy Édouard, « Prise en charge de l'alopecie androgénétique à l'officine », Thèse d'exercice : Pharmacie, Université Angers, Angers, 2014. [En ligne]. Disponible sur: <http://dune.univ-angers.fr/fichiers/20052314/2014PPHA2634/fichier/2634F.pdf>
- [10] « Testosterone Conversion to Dihydrotestosterone | Hold the Hairline ». <https://www.holdthehairline.com/natural-dht-blockers/testosterone-conversion-to-dihydrotestosterone/>
- [11] Dermato-Info, « l'alopecie », *dermato-info.fr*. https://dermato-info.fr/fr/les-phan%C3%A8res_cheveux-et-poils/1%E2%80%99alop%C3%A9cie
- [12] « Male Pattern Baldness | Follitek | Male Pattern Baldness | Scar Cover Up | Alopecia | Density Fill | Botched Procedures ». <http://follitek.com/male-pattern-baldness.html>
- [13] « Hair Loss Stages Vector Isolated. Female And Male Stock Illustration - Illustration of hair, face: 183724643 ». <https://www.dreamstime.com/hair-loss-stages-vector-isolated-female-male-alopecia-set-balding-process-hairless-woman-man-heads-image183724643>
- [14] « hair-growth-phases-minoxidil-spray - Minoxidil Spray ». <https://www.minoxidilspray.com/help/understand-hair-growth-and-its-four-stages/attachment/hair-growth-phases-minoxidil-spray/>
- [15] « Notice patient - MINOXIDIL COOPER 5 %, solution pour application cutanée - Base de données publique des médicaments ». <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=61831995&typedoc=N>
- [16] « Finastéride (alopecie, prostate) : quels méfaits ? » <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2613301-finasteride-propecia-effets-secondaires-cheveu-alopecie-traitement/>

- [17] « Finasteride | NEJM ». <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199401133300208>
- [18] « Histoire des huiles essentielles ». <https://www.compagnie-des-sens.fr/histoire-des-huiles-essentielles/>
- [19] F. Pierre, J. Roger, et P. Daniel, *L'aromathérapie exactement.pdf*. 2001..
- [20] « René-Maurice Gattefossé », *Wikipédia*. août 17, 2020.. [En ligne]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Ren%C3%A9-Maurice_Gattefoss%C3%A9&oldid=173886833
- [21] M. Faucon et A. Lobstein, *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: fondements & aide à la prescription*. Paris: Sang de la terre, 2015.
- [22] B. Alessandra, *Grand guide des huiles essentielles by Alessandra Buronzo (z-lib.org).pdf*.
- [23] « Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé - ANSM ». https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf
- [24] J. Bruneton, *Pharmacognosie phytochimie plantes medicinales BRUNETON Jean*, 5^e éd.
- [25] « DÉFINITION HUILE ESSENTIELLE SELON LA NORME AFNOR NT 75-006 (FÉV 2006 -
- [26] « CHAPITRE_I_separation_et_analyses_des_biomolecules.pdf ».
- [27] B. M. Nadjib et F. Amine, « MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE », p. 7, 2019.
- [28] I. Zinezine, « Extraction, Séparation et identification des espèces chimiques (tronc commun bac international) cours p.c »,
- [29] D. Mnayer, « Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens », p. 157, 2014.
- [30] Nabil BOUSBIA, « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ».
- [31] Dr.A. Zhiri D. Baudoux, *Huiles essentielles chemotypees et leurs synergies*.
- [32] « Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine ».
- [33] « Familles de plantes à huiles essentielles ». <https://www.compagnie-des-sens.fr/familles-plantes-huiles-essentielles/>
- [34] Charie Theophane de la, *Se Soigner Par Les Huiles Essentielles – - 9782268101774 -*.
- [35] E. Bassino, F. Gasparri, et L. Munaron, « Protective Role of Nutritional Plants Containing Flavonoids in Hair Follicle Disruption: A Review », *IJMS*, vol. 21, n° 2, p. 523, janv. 2020, doi: 10.3390/ijms21020523.
- [36] S. Ashique, N. K. Sandhu, Sk. N. Haque, et K. Koley, « A Systemic Review on Topical Marketed Formulations, Natural Products, and Oral Supplements to Prevent Androgenic Alopecia: A Review », *Nat. Prod. Bioprospect.*, vol. 10, n° 6, p. 345-365, déc. 2020, doi: 10.1007/s13659-020-00267-9.
- [37] « Romarin », *Wikipédia*. févr. 02, 2021.
- [38] Botineau Michel, *Botanique systematique et appliquee des plantes a fleurs*.
- [39] « Rosmarinus officinalis - Romarin officinal ». <https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Rosmarinus&variete=officinalis>
- [40] E. éditoriale Wikifarmer, « Récolte du romarin », *Wikifarmer*, avr. 15, 2018. <https://wikifarmer.com/fr/recolte-du-romarin/>

- [41] « Récolte et conservation du romarin », *Rustica.fr*. <https://www.rustica.fr/legumes-et-potager/recolter-conserver-romarin,5862.html>
- [42] « fiche_romarin.pdf ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.bio-aude.com/images/imagesFCK/file/espace_producteurs/ppam/fiche_romarin.pdf
- [43] A. Angioni *et al.*, « Chemical Composition, Plant Genetic Differences, Antimicrobial and Antifungal Activity Investigation of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L. », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, n° 11, p. 3530-3535, juin 2004, doi: 10.1021/jf049913t.
- [44] O. Yesil Celiktas, E. E. Hames Kocabas, F. Vardar Sukan, T. Ozek, et K. H. C. Baser, « Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations », *Food chemistry*, 2007,
- [45] G. Flamini, P. L. Cioni, I. Morelli, M. Macchia, et L. Ceccarini, « Main Agronomic–Productive Characteristics of Two Ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and Chemical Composition of Their Essential Oils », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, n° 12, p. 3512-3517, juin 2002, doi: 10.1021/jf011138j.
- [46] C. Boutekedjiret, R. Belabbes, F. Bentahar, J.-M. Bessière, et S. A. Rezzoug, « Isolation of Rosemary Oils by Different Processes », *Journal of Essential Oil Research*, vol. 16, n° 3, p. 195-199, mai 2004, doi: 10.1080/10412905.2004.9698696.
- [47] G. Sacchetti *et al.*, « Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods », *Food Chemistry*, vol. 91, n° 4, p. 621-632, août 2005, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.06.031.
- [48] I. C. Hay, M. Jamieson, et A. D. Ormerod, « Randomized Trial of Aromatherapy: Successful Treatment for Alopecia Areata », *Arch Dermatol*, vol. 134, n° 11, nov. 1998, doi: 10.1001/archderm.134.11.1349.
- [49] M. J. Harries, J. Sun, R. Paus, et L. E. King, « Management of alopecia areata », *BMJ*, vol. 341, p. c3671, juill. 2010, doi: 10.1136/bmj.c3671.
- [50] K. Murata *et al.*, « Promotion of Hair Growth by *Rosmarinus officinalis* Leaf Extract: HAIR GROWTH EFFECT OF *ROSMARINUS OFFICINALIS* LEAF », *Phytother. Res.*, vol. 27, n° 2, p. 212-217, févr. 2013, doi: 10.1002/ptr.4712.
- [51] R. Kaushik, D. Gupta, et R. Yadav, « ALOPECIA: HERBAL REMEDIES », vol. 2, p. 7.
- [52] C. Ulbricht *et al.*, « An Evidence-Based Systematic Review of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by the Natural Standard Research Collaboration », *Journal of Dietary Supplements*, vol. 7, n° 4, p. 351-413, nov. 2010, doi: 10.3109/19390211.2010.525049.
- [53] Y. Panahi, M. Taghizadeh, E. T. Marzony, et A. Sahebkar, « Rosemary oil vs minoxidil 2% for the treatment of androgenetic alopecia: a randomized comparative trial », *Skinmed*, vol. 13, n° 1, p. 15-21, févr. 2015.
- [54] « Lavandula angustifolia - Lavande vraie ». <https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Lavandula&variete=angustifolia>
- [55] R. de la Lavande, « De la graine à l'huile essentielle », *Futura*. <https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/geographie-region-paca-decouverte-lavande-261/page/6/>
- [56] « Comment réussir la culture de la lavande : taille, entretien, engrais », *Rustica.fr*. <https://www.rustica.fr/arbres-et-arbustes/lavande-lavandula,4604.html>

- [57] « *Lavandula angustifolia* - Lavande à feuilles aiguës ». http://archive.wikiwix.com/cache/index2.php?url=http%3A%2F%2Fnature.jardin.free.fr%2Farbrisseau%2Fft_lavande.html
- [58] C. Besombes, « Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées », p. 290.
- [59] G. Woronuk, Z. Demissie, M. Rheault, et S. Mahmoud, « Biosynthesis and Therapeutic Properties of *Lavandula* Essential Oil Constituents », *Planta Med*, vol. 77, n° 01, p. 7-15, janv. 2011, doi: 10.1055/s-0030-1250136.
- [60] « Huile essentielle de lavande », *Wikipédia*. oct. 30, 2019.
- [61] « Comment différencier les huiles essentielles de Lavande ? » <https://www.compagnie-des-sens.fr/differences-huiles-essentielles-lavandes/>
- [62] B. H. Lee, J. S. Lee, et Y. C. Kim, « Hair Growth-Promoting Effects of Lavender Oil in C57BL/6 Mice », *ToxicolRes*, vol. 32, n° 2, p. 103-108, avr. 2016, doi: 10.5487/TR.2016.32.2.103.
- [63] I. C. Hay, M. Jamieson, et A. D. Ormerod, « Randomized Trial of Aromatherapy: Successful Treatment for Alopecia Areata », *Arch Dermatol*, vol. 134, n° 11, nov. 1998, doi: 10.1001/archderm.134.11.1349.
- [64] « *Mentha spicata* - Menthe verte ». <https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Mentha&variete=spicata> (consulté le juin 04, 2021).
- [65] « *Mentha spicata* », *Wikipédia*. mai 25, 2021.
- [66] T. Mohamed, « Valorisation et développement des plantes aromatiques et médicinales en Algérie », déc. 2018.
- [67] « Conseils : récolte et conservation de la menthe », *Rustica.fr*. <https://www.rustica.fr/legumes-et-potager/recolter-conserver-menthe,5771.html>
- [68] P. P. Carlier-Loy, « *Mentha spicata* : Description et Utilisations en thérapeutique et en agriculture comme antigerminatif sur la pomme de terre », p. 99.
- [69] M. Snoussi, E. Noumi, N. Trabelsi, G. Flamini, A. Papetti, et V. De Feo, « *Mentha spicata* Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. Strains », *Molecules*, vol. 20, n° 8, p. 14402-14424, août 2015, doi: 10.3390/molecules200814402.
- [70] « ISO 3033-1:2005 », *ISO*. <https://www.iso.org/cms/render/live/fr/sites/isoorg/contents/data/standard/03/45/34580.html>
- [71] « THESE.pdf ».
- [72] « Benazzouz, Amina.pdf ».
- [73] M. Govindarajan, R. Sivakumar, M. Rajeswari, et K. Yogalakshmi, « Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species », *Parasitol Res*, vol. 110, n° 5, p. 2023-2032, mai 2012, doi: 10.1007/s00436-011-2731-7.
- [74] « Pistachier lentisque, Arbre à mastic, *Pistacia lentiscus* », *auJardin.info*. <https://www.aujardin.info/plantes/pistacia-lentiscus.php>
- [75] « Lentisque », *Medisite*. <https://www.medisite.fr/dictionnaire-des-plantes-medicinales-lentisque.1616059.8.html>

- [76] « Huile essentielle de Lentisque Pistachier : propriétés et utilisations - Aroma-Zone ». <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/huile-essentielle-lentisque-pistachier-bio-aroma-zone?page=library>
- [77] « *Pistacia lentiscus* », *Wikipédia*. mai 20, 2021.
- [78] S. L. N. T. M. Toé, « Essais de mises au point de formulation de crèmes et laits corporels à base du beurre de karité du Burkina Faso. », p. 109.
- [79] J. Frelichowska, « Émulsions stabilisées par des particules solides: études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée. », p. 175.
- [80] « Formulation cosmétique, les émulsions - 1.1. Qu'est-ce qu'une émulsion ». https://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/1-1.html
- [81] Marine PROTAT, « Formation d'émulsions multiples stimulables en une seule étape d'émulsification: effet du sel et évolution vers des architectures biocompatibles », THESE DE DOCTORAT, L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE, 2017.
- [82] Mlle. Nadia ELKASSOUANI, « LES PRODUITS COSMETIQUES POUR LES SOINS DU VIISAGE », Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie, UNIVERSITE MOHAMMED V - SOUSSI FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT, RABAT, 2013.
- [83] F. Puisieux et M. Seiller, *Galenica 5 : Les systèmes dispersés*, Édition Lavoisier. 1983.
- [84] BROCHETTE, « Émulsification : élaboration et étude des émulsions ». Techniques de l'ingénieur, traité Génie des Procédés. 1999.
- [85] POUX (M.) et CANSELIER, « Procédés d'émulsification : Techniques et appareillage ». Techniques de l'ingénieur. 1999.
- [86] C. Amirouche, « Cours d'Huiles et Industrie Cosmétique », p. 68.
- [87] Laurine CAULLET, Alexandra DOS SANTOS, Geoffrey KNIPPER, Margaux RUSALEN et Marie SEIGNEUR, « LES ÉMULSIONS ALIMENTAIRES ET COSMÉTIQUES ». 2018 2017.
- [88] Mme Eléonore JOUANNY - BOUYER, « STABILISATION D'ÉMULSIONS D'INTÉRÊT PHARMACEUTIQUE PAR DES PROTÉINES ET DES POLYSACCHARIDES : exemples de la β -lactoglobuline, de la gomme arabique et de la gomme xanthane », UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11, 2011.
- [89] DERRAS Meryem Ibtissem et BECHLAGHEM Mohammed, « Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge », MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD FACULTE DE MEDECINE DR. B. BENZERDJEB - TLEMEN, 2017.
- [90] « Carte géographique - Mouzaia (Mouzaïa) - MAP[N]ALL.COM ». http://www.mapnall.com/fr/Carte-g%C3%A9ographique-Mouzaia_1135759.html
- [91] Solène ACCARIAS, « Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. », Université Paul Sabatier Toulouse III, 2014.
- [92] M. Kamal ELMESKINI, « Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa* », UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT.
- [93] Alpha Amadou DIALLO, « *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire », L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE, 2013.

- [94] C. Mutai, C. Bii, C. Vagias, D. Abatis, et V. Roussis, « Antimicrobial activity of Acacia mellifera extracts and lupane triterpenes », *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 123, n° 1, p. 143-148, mai 2009, doi: 10.1016/j.jep.2009.02.007.
- [95] LE HIR A., *Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments*, 9e édition. paris: Masson, 2009.
- [96] L'Oreal, « DEMANDE DE BREVET EUROPEEN ». nov. 11, 2009. [En ligne]. Disponible sur: file:///C:/Users/bsi/Desktop/PARTIE%20PRATIQUE/EP09158076NWA1.pdf
- [97] Hasenhuettel, G., « In Food Emulsion ». New York 2008.
- [98] Felix Ostertag, Jochen Weiss, David Julian McClements, « Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion », *Journal of Colloid and Interface Science*.
- [99] J. Y. Oh, M. A. Park, et Y. C. Kim, « Peppermint Oil Promotes Hair Growth without Toxic Signs », *Toxicological Research*, vol. 30, n° 4, p. 297-304, déc. 2014, doi: 10.5487/TR.2014.30.4.297.
- [100] « Alopecie androgénétique - Des solutions naturelles - Plantes et Santé ». <https://www.plantes-et-sante.fr/articles/solutions-naturelles/602-sans-perde-et-sans-fracas>
- [101] AdidaMuhammud,Rubiah Abu Bakar,Ruhana Jaafar, « The effectiveness of coconut oil mixed with herbs to promote hair growth », *International Journal of Ethics in Engineering & Management Education*, mars 2014.
- [102] « Black Seed Oil for Hair ». <https://www.healthline.com/health/black-seed-oil-for-hair#black-seed-oil-for-hair>
- [103] « Castor Oil - Not Just Your Grandmother's Favorite Oil Anymore! », *MONQ*, janv. 18, 2019. <https://monq.com/eo/carrier-oils/castor-oil/>
- [104] V. R. Patel, G. G. Dumancas, L. C. K. Viswanath, R. Maples, et B. J. J. Subong, « Castor Oil: Properties, Uses, and Optimization of Processing Parameters in Commercial Production », *Lipid Insights*, vol. 9, p. LPI.S40233, janv. 2016, doi: 10.4137/LPI.S40233.
- [105] « Cire émulsifiante n°3 sans palme - Aroma-Zone ». <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/cire-emulsifiante-n-3-aroma-zone>
- [106] « Conservateur Cosgard - Aroma-Zone ». <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/conservateur-cosgard-aroma-zone>
- [107] « Antioxydant Vitamine E naturelle - Aroma-Zone ». <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/antioxydant-vitamine-e-aroma-zone>
- [108] Nathalie Cousin, Carole Minker, *Argile : Un concentré de bienfaits pour votre santé, votre beauté et votre maison*.
- [109] C. Amirouche, « Cours d'Huiles et Industrie Cosmétique », p. 68.
- [110] S. Patel, V. Sharma, N. S. Chauhan, M. Thakur, et V. K. Dixit, « Evaluation of hair growth promoting activity of Phyllanthus niruri », *Avicenna J Phytomed*, vol. 5, n° 6, p. 512-519, 2015.
- [111] Renuka Dhanotiaa, , Nagendra Singh Chauhana, , Dinesh K. Saraf b and, et Vinod K. Dixita*, « Effect of Citrullus colocynthis Schrad fruits on testosterone-induced alopecia », Department of Pharmaceutical Science india.
- [112] M. Gossell-Williams, A. Davis, and N. O'Connor, « Inhibition of Testosterone-Induced Hyperplasia of the Prostate of Sprague-Dawley Rats by Pumpkin Seed Oil », Pharmacology Section, Department of Basic Medical Sciences, University of the West Indies, Jamaica.

- [113] L. Tordjman-Valency, « Défi du dénombrement microbien dans l'industrie pharmaceutique: les nouvelles méthodes alternatives sont-elles appliquées? », p. 94.
- [114] M. R. Fazeli, G. Amin, M. M. A. Attari, H. Ashtiani, H. Jamalifar, et N. Samadi, « Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria », *Food Control*, vol. 18, n° 6, p. 646-649, juin 2007, doi: 10.1016/j.foodcont.2006.03.002.
- [115] A. I. Hussain, « CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS OF SOME SPECIES OF LAMIACEAE », p. 257.
- [116] S. FELLAH, M. Romdhane, et M. Abderrabba, « EXTRACTION ET ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES DE LA SALVIA OFFICINALIS. L CUEILLIE DANS DEUX REGIONS DIFFERENTES DE LA TUNISIE », *J. Soc. Alger. Chim.*, vol. 16, janv. 2006.
- [117] S. D. Cox, C. M. Mann, et J. L. Markham, « Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* », *J Appl Microbiol*, vol. 91, n° 3, p. 492-497, sept. 2001, doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01406.x.
- [118] Kazuya Murata,¹ Kazuma Noguchi,¹ Masato Kondo,² Mariko Onishi,² Naoko Watanabe,² et Katsumasa Okamura² and Hideaki Matsuda^{1*}, « Promotion of Hair Growth by *Rosmarinus officinalis* Leaf Extract ». 2012.
- [119] Yunes Panahi, PhD;¹ Mohsen Taghizadeh, PhD;² Eisa Tahmasbpour Marzony, MSc;¹ Amirhossein Sahebkar, PharmD, PhD³, « Rosemary Oil vs Minoxidil 2% for the Treatment of Androgenetic Alopecia: A Randomized Comparative Trial ». févr. 2015.
- [120] « Investigations into the specific effects of rosemary oil at the receptor level - PubMed ». <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20034774/>
- [121] M. Naziroglu et I. Kokcam, « Antioxidants and lipid peroxidation status in the blood of patients with alopecia », *Cell Biochem Funct*, vol. 18, n° 3, p. 169-173, sept. 2000, doi: 10.1002/1099-0844(200009)18:3<169::AID-CBF870>3.0.CO;2-T.
- [122] Boo Hyeong Lee¹, Jae Soon Lee² and Young Chul Kim, « Hair Growth-Promoting Effects of Lavender Oil in C57BL/6 Mice ». 2015.