

Nouv. Dermatol. 1994; 13: 470-475

## Etude comparative *in vivo* des propriétés hydratantes de trois gels d'huile essentielle: mandarine, matricaire, orange

## Comparative *in vivo* study of the moisturising properties of three gels containing essential oils: mandarin, german camomile, orange

Ph. MONGES\*, G. JOACHIM\*, M. BOHOR\*\*, L. PETIT\*\*, J.P. REYNIER\*

\* Laboratoire de pharmacie galénique et cosmétologie - 27 boulevard Jean Moulin - 13385 Marseille

\*\* Institut de recherche et d'exploration fonctionnelle cutanée - Hôtel Dieu - 13000 Marseille

### RÉSUMÉ/SUMMARY

Les propriétés hydratantes cutanées de trois huiles essentielles: matricaire, mandarine, orange, incluses dans un gel aqueux sont étudiées sur six volontaires par application unique sur les faces internes des avant-bras.

Les spectres IRTF et les mesures de la capacitance électrique de la peau montrent une action immédiate aiguë des trois préparations, comparativement à une zone témoin. Ces résultats sont confirmés par le test statistique de Newman-Keuls. Avec le gel de matricaire, l'hydratation est la plus intense et la rémanence de l'effet plus importante quel que soit le temps de mesure. La présence de certains hydrocarbures aromatiques dans la matricaire pourrait jouer un rôle dans le processus d'hydratation.

*The cutaneous moisturising properties of three essential oils: mandarin, german camomile, orange, formulated in an aqueous gel, were studied in six volunteers after a single application to the inner surface of the arm.*

*The I.R.F.T. spectra and the electrical capacitance measurements of the skin show an immediate effect of the three preparations, comparative to the control zone. These results are confirmed by the Newman-Keuls statistical test. With the german camomile gel, the hydration is more intense and the length of the effect greater, irrespective of the time point at which it is measured. The presence of some aromatic hydrocarbons in german camomile may play a role in the moisturising process.*

### Introduction

En cosmétologie, les huiles essentielles ne sont plus utilisées exclusivement pour leurs propriétés odoriférantes, mais aussi comme des principes actifs pouvant traiter différents déséquilibres physiologiques de la peau.

Dans cette perspective, nous nous sommes intéressés à trois huiles essentielles: mandarine, matricaire, orange. Elles sont présentées comme agents émoullissants et hydratants, propriétés qui intéressent les peaux sèches irritées et sensibles (Robertet VH. *Les huiles essentielles en cosmétologie. Thèse d'Etat en Pharmacie, Paris 1990*).

L'objet de ce travail repose sur:

- la préparation des trois hydrogels, identiques d'un point de vue galénique, et ne différant que par la nature de l'huile essentielle;
- l'étude comparative des propriétés hydratantes des trois formulations.

Ce travail est réalisé après application unique et simultanée de chacun des gels sur la peau de six volontaires; selon deux techniques de mesure: un premier appareil mesurant la capacitance électrique de la peau et un second, la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF), une zone de peau témoin étant délimitée comme référence.

### Formulation et contrôles galéniques

#### 1- Formulation

Après des études de préformulation optimisant les concentrations en solubilisant et gélifiant, une même formule chimique est mise au point, compatible avec les trois huiles essentielles:

- huile essentielle 5g,
- carboxy methyl cellulose sodique (CMC) 3 g,

### Introduction

In cosmetology, the essential oils are no longer used exclusively for their properties of smell but also as active principles for the treatment of different physiological disequilibria in the skin. For this reason, we were interested in three essential oils: mandarin, german camomile, orange. These are presented as emollient and moisturising agents, properties which are interesting for dry, irritated and sensitive skin (Robertet VH. *Les huiles essentielles en cosmétologie. Thèse d'Etat en Pharmacie, Paris 1990*).

The aim of this study was essentially:

- the preparation of three hydrogels, identical from a galenic point of view, and which differed only in the nature of the essential oil;
- the comparative study of the hydrating properties of the three formulations.

This study was carried out after a single and simultaneous application of each of the gels to the skin of six volunteers, and made use of two measurement techniques. A first instrument measured the electrical capacitance of the skin and the second used infra red Fourier transformation spectroscopy (IRTF), with a zone of untreated skin being delineated as a control.

### Formulation and galenic tests

#### 1- Formulation

After pre-formulation studies to optimise the concentrations of solubilising and gelling agents, one single chemical formula was developed which was compatible with the three essential oils:

- essential oil 5 g,
- sodium carboxymethyl cellulose (CMC) 3 g,

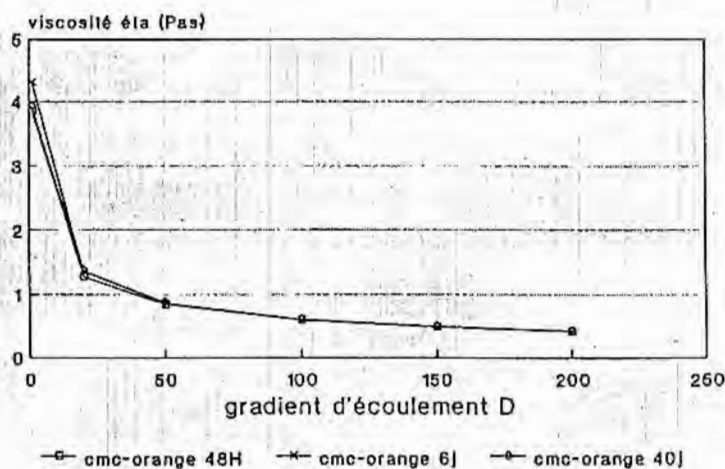


Figure 1: Courbes d'écoulement de l'hydrogel à base de carboxyméthylcellulose sodique (CMC) et d'huile essentielle d'orange  
Flowing's curves of the aqueous colloid with CMC and the essential oil of orange

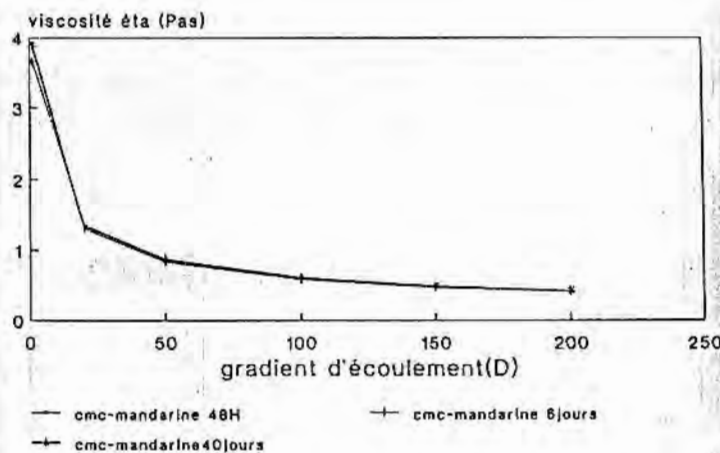


Figure 2: Courbes d'écoulement de l'hydrogel à base de carboxyméthylcellulose sodique (CMC) et d'huile essentielle de mandarine  
Flowing's curves of the aqueous colloid with CMC and the essential oil of mandarin

- solubilisant gamma 24 20 (Gatte-fossé) 6 g,
- parahydroxybenzoate de méthyl et propyl (parabens) 0,1 g,
- eau distillée qsp 100 g.

Tous les gels sont préparés selon le même mode opératoire, à froid, en deux temps. Le gélifiant est dispersé dans l'eau contenant le parabens, sous agitation mécanique (IKA WERK type RW 20®) pendant 30 mn, à 22 °C. La vitesse d'agitation est de 500 tours/min.

Après 24 heures, l'huile essentielle et le solubilisant sont incorporés goutte à goutte dans l'hydrogel par agitation mécanique. La vitesse d'homogénéisation est de 700 tours/mn, pendant 30 mn à 22° C.

**2- Contrôles galéniques**

La stabilité des formes galéniques, dans les conditions normales de fabrication (22°C à l'abri de la lumière), peut être appréciée par la mesure du pH et de la viscosité à différents temps (48 heures, sept jours, 40 jours après fabrication) (1, 2).

Les appareils de mesure sont:

- le pHmètre Hanna®, instruments 8417.11,
- le viscosimètre rotatif VT 500 Haake® à 22° C, à mobile tournant (système MV2).

Pour chaque gel, le pH reste stable sur 40 jours à plus ou moins 0,3 unités, témoin de la bonne conservation des préparations. Le pH proche du pH cutané rend les gels compatibles avec une application topique (Tableau I).

L'étude rhéologique montre pour les trois gels un comportement rhéofluidifiant: la viscosité diminue quand le gradient de vitesse augmente (Fig. 1, 2, 3) (3).

Les rhéogrammes mettent en évidence des courbes d'écoulement stables dans le temps. Les valeurs de viscosité recueillies pour un gradient de vitesse  $D(1/5) = 41$ , confirment la stabilité des formulations sur 40 jours (Tableau I) (4).

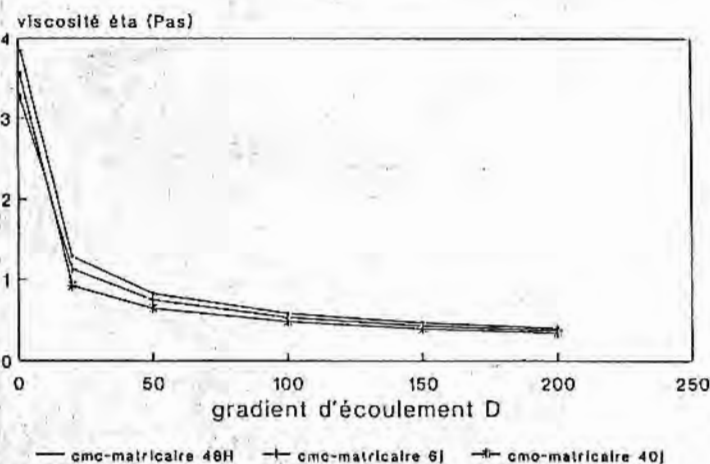


Figure 3: Courbes d'écoulement de l'hydrogel à base de carboxyméthylcellulose sodique (CMC) et d'huile essentielle de matricaire  
Flowing's curves of the aqueous colloid with CMC and the essential oil of German camomile

- 24 40 gamma solubiliser (Gatte-fossé) 6 g,
- methyl and propyl parahydroxybenzoate (Parabens) 0.1 g,
- distilled water qsp 100 g.

All the gels were prepared according to the same operating procedure, in the cold, in two stages. The gelling agent was dispersed in water containing the parabens, with mechanical agitation (Ika Werk type RW 20®) for 30 min at 22°C. The speed of mixing was 500 rpm.

After 24 hours, the essential oil and the solubilising agent were incorporated in a drop-wise fashion into the hydrogel with mechanical stirring. The speed of homogenisation was 700 rpm for 30 min at 22°C.

**2- Galenical tests**

The stability of the galenical forms, under normal conditions of manufacture (22°C in the dark), can be evaluated by measuring the pH and the viscosity at different times (48 hours, seven days, 40 days after manufacture) (1, 2).

The measurement apparatuses used were:

- a Hanna pH meter®, instrument 8417.11,
- a rotating viscometer VT 500 Haake® at 22°C, with a rotating plate (MV2 system).

For each gel, the pH remained stable to within 0.3 pH units for 40 days, testifying to the good preservation of the preparations. The pH was close to cutaneous pH and rendered the gels compatible with a topical application (Table I).

The rheological study showed a rheofluidifying behaviour for the three gels: the viscosity was reduced as the speed increased (Fig. 1, 2, 3) (3).

The rheograms demonstrated stable flow curves over time. The values for viscosity recorded using an acceleration  $D(1/5) = 41$ , confirms the stability of the formulations over 40 days (Table I)(4).



GEL/GEL	pH à T 2 jours pH at T 2 days	pH à T 5 jours pH at T 5 days	pH à T 40 jours pH at T 40 days	Viscosité T 2 jours* Viscosity T 2 days*	Viscosité T 5 jours* Viscosity T 5 days*	Viscosité T 40 jours* Viscosity T 40 days*
Mandarine/ Mandarin	6,02	6,14	6,05	0,951	0,916	0,946
Matricaire/ German camomile	5,73	5,68	5,46	0,912	0,918	0,711
Orange /Orange	60,2	6,21	5,88	0,912	0,934	0,948

\* Viscosités (en Pascal) mesurées pour un gradient de vitesse  $D (1/S) = 41$  / \*Viscosities (in Pascals) measured for an acceleration  $D (1/S) = 41$

Tableau I: Paramètres de conservation en gel  
Parameters of gel preservation

## Matériels et méthodes

### 1- Principe

Un ml de chaque gel est appliqué sur une des quatre zones délimitées de la face interne des deux avant-bras chez six volontaires sains. L'étude ne débute qu'après acclimatation du sujet aux conditions de température et d'hygrométrie de la pièce de mesure (20° C, 60% HR). Le temps d'acclimatation est de 30 mn.

Les mesures sont réalisées pour chaque zone, aux temps T0, T5, T30, T90, T120 (mn). T0 correspond à la mesure avant application du produit.

**2- Techniques d'exploration** (Mazauric H. Etude comparative de trois préparations à base d'urée, d'acide salicylique et de tréinoïne sur les propriétés physiques de la peau mesurées de façon non invasives et in vivo. Mémoire DEA de Biologie Cutanée, Lyon 1990; 7-8).

#### - Appareil mesurant la capacitance électrique de la peau

Le Cornéomètre® est un appareil qui permet la détermination de la quantité d'eau présente dans la couche cornée. Il fonctionne sur courant alternatif à fréquence moyenne. Il est constitué par une électrode sèche qui, appliquée directement sur la peau, donne une mesure qui correspond à la capacitance électrique. En effet, les propriétés électriques de la peau varient en fonction de la quantité d'eau présente au niveau des espaces intercellulaires de la couche cornée. Plus la valeur est élevée, plus l'hydratation est importante. Chaque mesure a été pondérée pour tenir compte de l'évolution de la couche témoin.

#### - Spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier (IRTF)

Cette technique permet d'évaluer l'eau présente dans la partie superficielle de la peau et de suivre à court terme l'effet d'agents topiques sur le contenu en eau du stratum corneum.

Les spectres infrarouges sont obtenus au moyen de l'appareil Perkin Elmer Modèle 1600®. Le rayonnement est appliqué directement sur la peau à travers un cristal de sélénure de zinc qui assure la réflexion. A la sortie de ce cristal, le rayonnement émergent est comparé, en amplitude, au rayon émis pour chaque longueur d'onde.

La bande d'absorption Amide I (1649  $\text{cm}^{-1}$ ) est spécifique de l'eau et de la kératine (protéine constitutionnelle de la couche cornée), tandis que la bande Amide II (1540  $\text{cm}^{-1}$ ) est exclusivement due à la kératine. La bande Amide II est censée ne pas être influencée par l'apport d'eau.

Ainsi, le paramètre permettant de mettre en évidence les varia-

## Materials and methods

### 1- Principle

One ml of each gel was applied to four zones, delineated on the internal surface of the two forearms, in six healthy volunteers. The study did not begin until after acclimatisation of the subject to the conditions of temperature and hygrometry in the measurement room (20°C, 60% R.H.). The acclimatisation time was 30 min.

The measurements were carried out for each zone at times T0, T5, T30, T90 T120 (in minutes). T0 corresponded to the measurement made before application of the product.

**2- Examination techniques** (Mazauric H. Etude comparative de trois préparations à base d'urée, d'acide salicylique et de tréinoïne sur les propriétés physiques de la peau mesurées de façon non invasives et in vivo. Mémoire DEA de Biologie Cutanée, Lyon 1990; 7-8).

#### - Apparatus for measuring the electrical capacitance of the skin

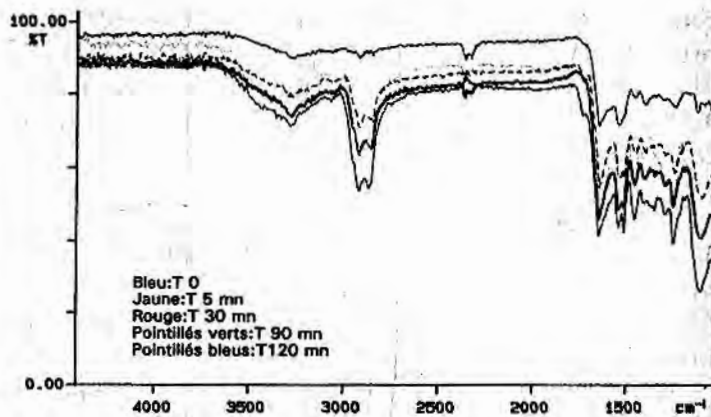
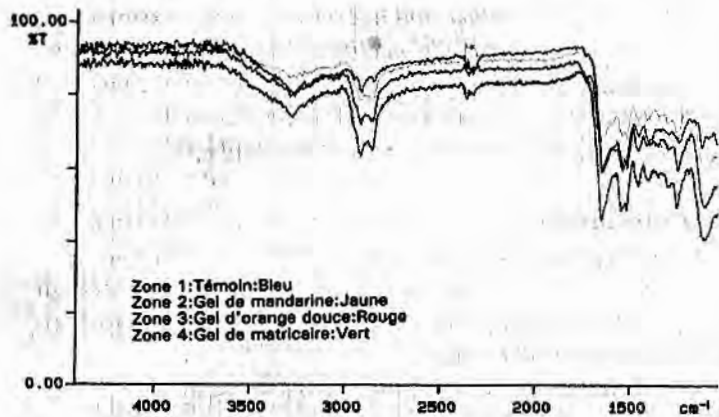
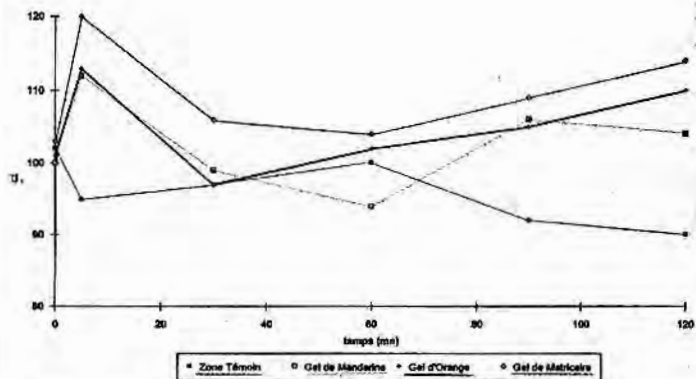
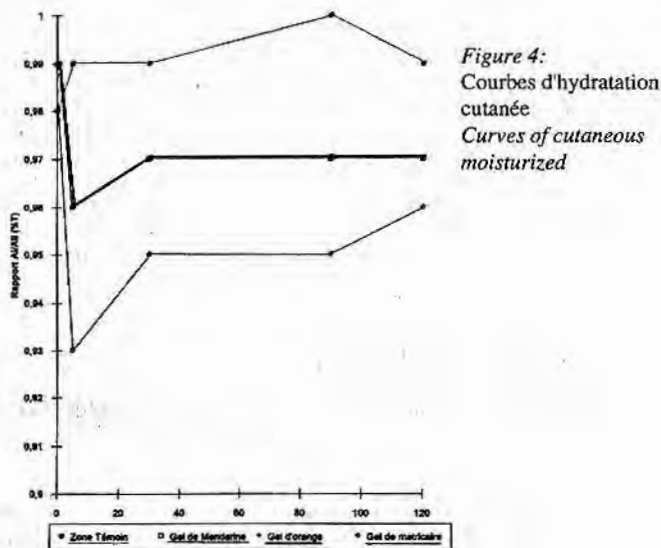
The Corneometer® is an apparatus which enables the quantity of water present in the cornified layer to be determined. It functions using AC current at average frequency. It comprises a dry electrode which, when applied directly to the skin, gives a measurement which corresponds to electrical capacitance. The electrical properties of the skin vary as a function of the quantity of water which is present in the intercellular spaces of the cornified layer. The higher the value, the greater the hydration. Each measurement has been weighted to take into account the evolution of the test zone.

#### - Infra red Fourier transformation spectroscopy (IRFTS)

This technique enables the water which is present in the superficial part of the skin to be determined, and thus the effect of topical agents on the water content of the stratum corneum over the short term.

Infra red spectra are obtained using the Perkin Elmer Model 1600® apparatus. The irradiation is directly applied to the skin via a crystal of zinc selenate which ensures reflection of the rays. On leaving the crystal, the emerging ray is compared in amplitude at all wave lengths with the emitted ray.

The absorption band of Amide I (1649  $\text{cm}^{-1}$ ) is specific for water and keratin (constitutional protein of the cornified layer) whilst the Amide II band (1540  $\text{cm}^{-1}$ ) is exclusively due to the keratin. The Amide II band is not considered to be influenced by the water content.



tions de l'eau dans la couche cornée, est le rapport de l'intensité des bandes d'absorption (% Transmittance) des groupements Amides I/Amides II. Plus le rapport est faible et inférieur à 1, plus la zone étudiée sera hydratée.

Le rapport Amide I/Amide II est déterminé lors de chaque mesure. Les valeurs individuelles de ce rapport ont été pondérées pour tenir compte de l'évolution de la zone témoin.

Le spectre infrarouge à 3300 cm<sup>-1</sup> qui correspond au pic de l'eau permet d'autre part d'apprécier sa présence sur les différentes zones.

**Résultats**

La figure 4 donne les courbes moyennes pondérées du rapport Amide I/Amide II obtenues chez six volontaires,

La figure 5 présente les courbes moyennes pondérées des capacités cutanées chez ces mêmes volontaires.

Les figures 6 et 7 montrent, pour un même sujet, respectivement les spectres IRFT des quatre zones d'application à T 90 mn et l'évolution en fonction du temps du spectre IRFT sur la zone traitée par le gel de matricaire.

Thus, the parameter which enables the determination of the variation in water content of the cornified layer to be made, is the ratio between the intensity of the absorption bands (% transmittance) of the Amide I/Amide II groups. The further the ratio is below 1, the greater the hydration of the studied zone.

The ratio Amide I/Amide II is determined during each measurement. The individual values of this ratio have been weighted to take into account the evolution of the control zone.

The infra red spectrum at 3300 cm<sup>-1</sup>, which corresponds to a peak in water, also enables its presence in the different zones to be evaluated.

**Results**

Figure 4 gives the mean weighted curves of the ratio Amide I/Amide II obtained from six volunteers.

Figure 5 presents the mean weighted curves of the cutaneous capacitance in the same volunteers.

Figures 6 and 7 show for the same subject, the IRFT spectra of the 4 application zones at T 90 minutes, and the evolution as a function of time of the IRFT spectrum on the zone treated with german chamomile gel, respectively.



## Discussion

Les courbes d'hydratation sont obtenues à partir de la moyenne pondérée du rapport d'intensité des bandes d'absorption Amide I/Amide II de l'IRTF. Afin de comparer chaque zone d'application à chaque temps de l'étude, nous avons utilisé un test statistique non paramétrique de Newman Keuls.

### 1- A l'examen des courbes d'hydratation

- La peau témoin donne un rapport Amide I/Amide II qui reste proche de l'unité tout au long de l'étude.

- Les zones d'application des huiles essentielles d'orange et de mandarine présentent des courbes semblables. L'hydratation se manifeste par une baisse maximale du rapport Amide I/Amide II 5 mn après application, puis retour progressif à la valeur initiale qui n'est pas atteinte après les deux heures d'expérimentation. Il est difficile de faire la part entre l'hydratation aiguë due à la forte teneur en eau du gel et le rôle réel joué par les huiles essentielles.

- Les zones recevant le gel de matricaire donnent des rapports Amide I/Amide II encore plus faibles traduisant une forte hydratation dès l'application, avec une rémanence de l'effet qui apparaît plus marquée.

La lecture des bandes à 3300  $\text{cm}^{-1}$  permettent les mêmes constatations.

**2- De même, l'appareil mesurant la capacitance cutanée donne des résultats qui concordent avec ceux obtenus en IRTF.** Avec le gel de matricaire, l'hydratation des espaces intercellulaires de la couche cornée semble plus importante.

L'analyse statistique vise à comparer les quatre zones d'application à chaque temps de mesure 0, 5, 30, 90, 120 mn pour les deux techniques d'exploration. Elle met en évidence: un premier groupe n'incluant que la zone témoin qui se distingue du groupe représenté par les trois zones traitées. Cependant, le test de Neuman Keuls n'a pas permis de démontrer à l'intérieur du second groupe des différences significatives entre les capacités hydratantes des trois gels ( $p < 0,05$ ).

## Conclusion

L'évaluation du pouvoir hydratant des trois huiles essentielles sous forme de gel a été mesurée de façon non invasive et *in vivo*.

L'analyse des spectres infrarouges et les mesures de capacitance cutanée sont concordantes. Les premiers résultats montrent un effet hydratant aigu des trois préparations comparativement à la peau témoin: avec le gel de matricaire, l'hydratation est plus intense quel que soit le temps de l'analyse, de même la rémanence de l'effet est plus importante. La présence dans l'huile essentielle de matricaire de certains hydrocarbures aromatiques pourraient jouer un rôle dans le processus d'hydratation.

Ces études préliminaires peuvent servir de point de départ à une recherche plus approfondie des principes actifs hydratants de l'huile essentielle de matricaire et de leur intérêt cosmétologique. ■

## Discussion

The hydration curves are obtained from the weighted mean of the ratio between the intensity of the absorption bands Amide I/Amide II of the IRFT spectrum. In order to compare each application zone at each time point during the study, we have used the non-parametric statistical Newman Keuls test.

### 1- On examination of the hydration curves

- The control skin gives a ratio Amide I/Amide II which remains close to unity throughout the study.

- The zones receiving the essential oils of orange and mandarin present similar curves. Hydration is observed by a maximal reduction in the ratio Amide I/Amide II five minutes after application, then progressive return to the initial value which is not achieved until after two hours of experimentation. It is difficult to distinguish between the immediate hydration due to the high concentration in water of the gel and the real role played by the essential oils.

- The zones receiving the german camomile gel give Amide I/Amide II ratios which are even lower, demonstrating a high level of hydration immediately after application with a continuation of the effect which appears to be more marked.

Observation of the bands at 3300  $\text{cm}^{-1}$  gives the same results.

**2- In the same way, the apparatus measuring cutaneous capacitance gives results which are in agreement with those obtained by IRFT.** With the german camomile gel, the hydration of the intercellular spaces in the the cornified layer seems to be greater.

The statistical analysis compares the 4 application zones at each time point, i.e. 0, 5, 30, 90, 120 minutes, for the two techniques used. It demonstrates: a first group including only the control zone which can be distinguished from the group containing the three treated zones. Nevertheless, the Neuman Keuls test did not demonstrate a significant difference within the second group between the hydrating capacities of the three gels ( $p < 0,05$ ).

## Conclusion

Evaluation of the hydrating potential of the three essential oils in the form of a gel has been measured in a non-invasive fashion *in vivo*.

The analysis of the infra red spectra and cutaneous capacitance are in agreement. The first results demonstrate an immediate hydrating effect of the three preparations in comparison to the control skin: with the german camomile gel, the hydration is more intense, irrespective of the time point, and the duration of the effect is greater. The presence of the essential oil of german camomile in certain aromatic hydrocarbons could play a role in the process of hydration.

These preliminary studies may serve as a departure point for a more detailed study of the hydrating active principles in the essential oil of German camomile and their cosmetological value. ■

## REFERENCES:

- 1- Pouget MP., Lejeune B., Pourrat A. Etude de stabilité du colorant d'hybis dans des gels. STP Pharma 1988; 4: 92-97.
- 2- Lotteau P., Seiller M., Bostsarron AM., Desmolin H. Les pommades: propositions d'essais. Rapport d'une commission SFSTP, STP Pharma 1990; 6: 333-343.
- 3- Piccerelle P., Cordier M., Santana D., Reynier JP. et al. Comportement rhéologique et pénétration cutanée des dérivés cellulose dans des mélanges binaires de solvants. *Chemica Oggi* (accepté, à paraître).
- 4- Persoz B. Introduction à l'étude de la rhéologie. Ed. Dunod, Paris 1960; 160-163.

### Mots-clés:

Huile essentielle  
Hydratation cutanée  
Hydrogel  
Matricaire

### Key words:

Essential oil  
Hydration cutaneous  
Aqueous colloid  
German camomile