

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière :** Sciences Biologiques  
**Spécialité/Option:** Immunologie Appliquée  
**Département:** Biologie

---

**Thème :**

### **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut de la propolis *in vitro***

---

**Présenté par :**

BOUSSAHA Billel

SIAFA Farid

**Devant le jury composé de :**

**Président:** Mr Adrar Nassim

**Université de Guelma**

**Examineur :** M<sup>me</sup> Mairif Samah

**Université de Guelma**

**Encadreur :** M<sup>me</sup> Hanane Nadia BOUSSENANE

**Université de Guelma**

**Juin 2018**

## **Remerciement**

*Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et le courage de surmonter tous les problèmes.*

*Nous tenons à remercier **M<sup>me</sup> Boussenane Hanane Nadia**, qui en tant que directrice de la mémoire, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans elle ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Nous exprimons notre profonde et respectueuse gratitude à **M<sup>r</sup> Adrar Nassim**, pour sa disponibilité de présider notre jury.*

*Nous tiens également nos vifs remerciements à **M<sup>me</sup> Mairif Samah** de nous avoir honorées en acceptant de faire partie du jury et d'examiner notre mémoire.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à tous nos enseignants de faculté des sciences de la nature et de la vie spécialement département de **Biologie** de l'université **08 mai 1945 de Guelma** qui ont assurés notre formation.*

*Aux personnels du laboratoire de l'immunologie pour leur aide, en particulier **M<sup>me</sup> Ghaniya** pour leur aide.*

*À tous les étudiants de master de la promotion 2018.*

*À tous nos amis.*

*À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Farid Siafa*

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers  
parents **Sebti** et **Louiza** a qui m'avez dirigé et suivi pondant  
toute mes années d'étude.*

*Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde  
gratitude à:*

*Toute ma famille.*

*Mon binôme : Billel.*

*Également je dédie ce travail à mes amis.*

*A tous ceux qui me sont chères.*

*A tous ceux qui m'aiment.*

*A tous ceux que j'aime.*

*Je dédie ce travail.*

## *Dédicace*

### *Billel Boussaha*

*Je dédie ce mémoire*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour inestimable, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études*

*Bonne santé et longue vie.*

*A mes chères sœurs : **Amina** et **Hasna** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

*Et surtout ma sœur **Chahla** qui a joué un grand rôle dans mon succès.*

*A mon petit frère « **Iyed** ».*

*A mes meilleurs collègues du monde : **Farid, Haroun, Micha, Marwa, Amani, Hana, Basma, Halouma et Khawla** .*

*A tous mes oncles et mes tantes.*

*A mon ami et mon collègue de ce travail : **Siafa Farid**.*

*A mes chers amis : **Najib, Anwer, Walid, Sofien** .*

## Liste des abréviations

- AA** : Acide arachidonique
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
- AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens
- AP-1**: Protéine activatrice 1
- CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
- Con A** : Concanavaline A
- COX**: Cyclooxygénase
- Mg** : Magnésium
- J-C** : Jésus-Christ
- Fe** : Fer
- Zn** : Zinc
- Ni** : Nickel
- Si** : Silicium
- DL** : *Dose létale*
- EEP** : Extrait Ethanolique de Popolis
- ELAM-1** : Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1
- FAO**: Formes activées de l'oxygène
- GC**: Glucocorticoïdes
- GRE**: Glucocorticoid Response Element
- HRBC**: Human Red Blood Cell
- HSP**: Heat Shock Proteins
- ICAM-1**: InterCellular Adhesion Molecule
- IFN $\gamma$**  : Interféron gamma
- IFN**: Interferon
- IgG(Fc)** : *Immunoglobuline G (fragment constant)*
- IL**: Interleukine
- LPS**: lipopolysaccharide
- LTB4** : Leukotriene B4

**LTC4** : Leukotriene C4

**LTD** : Leukotriene D

**NF-κB** : Nuclear factor-kappa B

**NSAIDS** : Médicaments d'Anti-inflammatoire non stéroïdien

**p38** : Protéine 38

**PGE2** : La prostaglandine E2

**PMA** : Acétate de miristate de phorbol

**Th2**: T-helper2

**TNFα**: Tumor necrosis factorα

**VCAM-1**: Vascular cell adhesion molecule 1

Les unités couramment utilisées sont citées ci-dessous

- **C°** : Température en degrés Celsius
- **g** : Gramme
- **h** : Heure
- **Kg** : kilogramme
- **mg** : Milligramme
- **mn** : Minute
- **ml** : Millilitre
- **nm** : Nanomètre
- **μg** : Microgramme
- **V** : Volume
- **ml** : Microlitre

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Composition moyenne globale de la propolis.....	12
<b>Figure 2:</b> Récolte de la propolis .....	13
<b>Figure 3:</b> la propolis sur cadres en bois prélevés d'une ruche d'abeilles.....	13
<b>Figure 4:</b> Propolis de Guelma .....	21
<b>Figure 5:</b> le macérât de propolis.....	22
<b>Figure 6:</b> la filtration de macérât par papier Wattman01.....	22
<b>Figure 7:</b> Extrait hydro-éthanolique de propolis .....	23
<b>Figure 8:</b> Evaporation de l'extrait dans Rotavapor®-2015 .....	23
<b>Figure 9:</b> l'extrait après l'évaporation .....	24
<b>Figure10:</b> La poudre de Propolis après l'extraction .....	24
<b>Figure 11:</b> Procédure de dosage des composés phénoliques totaux.....	26
<b>Figure 12:</b> Procédure de dosage des flavonoïdes totaux.....	27
<b>Figure 13:</b> Protocole de préparation de la suspension. ....	28
<b>Figure 14:</b> le pourcentage de rendement d'extraction de propolis.....	30
<b>Figure15:</b> Histogramme de teneurs en polyphénols, en flavonoides de l'extrait hydro-éthanolique de propolis .....	31
<b>Figure 16:</b> Effet de l'extrait et l'indométhacine sur l'inhibition de la dénaturation des protéines.....	31
<b>Figure 17:</b> Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges traités par l'extrait hydro-éthanolique de propolis et l'indométacine à différentes concentrations .....	32

## **Liste des tableaux :**

<b>Tableau 1:</b> Les fonctions des principaux médiateurs inflammatoires. ....	4
<b>Tableau 2:</b> Les principaux AINS disponibles sous forme orale. ....	9
<b>Tableau 3 :</b> Les Forme pharmaceutiques de la propolis .....	17



## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité anti inflammatoire de l'extrait hydro-éthanolique de la propolis.

La première technique consiste à évaluer la teneur en polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et celle des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium.

La détermination quantitative des polyphénols totaux révèle que l'extrait hydro-éthanolique est riches en polyphénols avec une teneur de : 17,06 mg EAG / mg E exprimée en équivalent acide gallique par mg d'extrait respectivement,et une teneur en flavonoïdes avec 14,60 mgEC/mgE exprimée en équivalent acide catéchine par mg d'extrait.

La deuxième technique consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines et d'après les résultats obtenus, l'extrait hydro-éthanolique de propolis est doté d'une forte activité anti-inflammatoire dont les pourcentages d'inhibition sont : (15.65 ±0.0001) % à 250 µg/ml (31.69 ±0.0001)% à 500 µg/ml (63.74 ±0.0001)% à 1000 µg/ml) exprimée en équivalent l'indométacine.

En conclusion l'extrait hydro-éthanolique possède une activité anti inflammatoire.

Mots clés : propolis, polyphénols et flavonoïdes, inflammation.

## **Adstract**

The objective of this study is to evaluate the anti-inflammatory activity of the hydro-ethanol extract of propolis.

The first technique consists of evaluating the total polyphenol content by the Folin-Ciocalteu method and that of flavonoid by aluminum trichloride method.

Quantitative determination of the total polyphenols reveals that the hydro-ethanolic extract is rich in polyphenols with a content of : 17.06 mg EAG/ mgE expressed in galic acid equivalent per mg extracted respectively, and a flavonoid content with 14.60 mg EC/ mgE expressed in catechin acid equivalent per mg extracted.

The second technique is to study the anti-inflammatory activity according to the protein denaturation inhibition method and according to the results obtained, the hydro-ethanol propolis extract has a strong anti-inflammatory activity of which inhibition percentages are:  $(15.65 \pm 0.0001)$  % at 250  $\mu\text{g} / \text{ml}$   $(31.69 \pm 0.0001)$  % at 500  $\mu\text{g} / \text{ml}$   $(63.74 \pm 0.0001)$  % at 1000  $\mu\text{g} / \text{ml}$  expressed as the equivalent of indomethacin.

In conclusion, the hydro-ethanolic extract has anti-inflammatory activity.

Key words: propolis, polyphenols and flavonoids, inflammation.

## الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للالتهابات من مستخلص الايثانول-المائي للعكبر (la propolis). تعتمد التقنية الأولى على تقييم محتوى البوليفينول الكلي (polyphénols totaux) بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu و محتوى الفلافونويد (flavonoïdes) بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم (trichlorure d'aluminium).

إن التحدد الكمي للبوليفينول الكلي ( ) يكشف عن أن مستخلص الايثانول المائي للعكبر يحتوي على نسبة عالية من هذا الأخير بتركيز : 17.06 ملغ / EAG / ملغ معبرا عنه بمكافئ حمض الغاليك cide gallic لكل ملغرام من المستخلص، و محتوى الفلافونويد flavonoïdes بتركيز: 14.60 ملغ / EC / ملغ معبرا عنه بمكافئ حمض الكاتيشين لكل ملغرام من المستخلص.

الطريقة الثانية هي دراسة النشاط المضاد للالتهابات وفق تقنية تثبيط مسخ البروتين، ووفقا للنتائج المتحصل عليها، فإن مستخلص الايثانول المائي للعكبر يمتلك نشاطا قويا مضادا للالتهابات بنسبة مئوية قدرها:  $(0.0001 \pm 15.65)\%$  عند 250 ميكروغرام / مل  $(0.0001 \pm 31.69)\%$  عند 500 ميكروغرام / مل  $(0.0001 \pm 63.74)\%$  عند 1000 ميكروغرام / مل معبرا عنها بالمكافئة مع الاندوميتاسين.

ومن هذا، نستنتج أن لمستخلص الايثانول المائي للعكبر تأثيرا على نشاد مضاد للالتهابات.

كلمات مفتاحية: عكبر، بوليفينول، فلافونويد، التهاب.

# Sommaire

## Liste des abréviations

## Liste des Figures

## Liste des Tableaux

Introduction.....	1
-------------------	---

## PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : Inflammation

I.1. Définition.....	2
I.2. Facteurs déclenchant l'inflammation.....	2
I.3. Cellules et médiateurs de l'inflammation.....	2
I.3.1. Les cellules de l'inflammation.....	2
I.3.1.1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN).....	2
I.3.1.2. Phagocytes mononucléaires.....	3
I.3.1.3. Les lymphocytes.....	3
I.3.1.4. Les mastocytes.....	3
I.3.1.5. Les basophiles.....	3
I.3.1.6. Les cellules endothéliales.....	3
I.3.1.7. Les fibroblastes.....	3
I.3.1.8. Les plaquettes.....	3
I.3.2. Les médiateurs de l'inflammation.....	3
I.3.2.1. Cytokines.....	4
I.3.2.2. Neuropeptides.....	4
I.3.2.3. Médiateurs lipidiques.....	4
I.3.2.4. Autre médiateurs de l'inflammation.....	4
I.4. Types d'inflammation.....	5
I.4.1. Inflammation aiguë.....	5

I.4.1.1. Phase vasculaire .....	5
I.4.1.2. Phase cellulaire.....	6
I.4.1.3. Phase de résolution .....	6
I.4.2. Inflammation chronique .....	7
I.5.L'inflammation et la dénaturation protéique .....	7
I.5.1.La première étape (altération des protéines) .....	7
I.5.2.La seconde étape (réponse au choc thermique) .....	8
I.5.3.Phase d'élimination.....	8
I.6. Traitement de l'inflammation .....	8
I.6.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	8
I.6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes .....	10
I.6.3. Anti-inflammatoires naturels .....	10

## **Chapitre II : La propolis**

II.1. Définition.....	11
II.2. Origine de la propolis .....	11
II.3. La composition de la propolis.....	11
II.4. Récolte :.....	13
II.5. Usages de la propolis.....	14
II.5.1. Usage traditionnel.....	14
II.5.2. Usage thérapeutique.....	14
II.5.2.1. Activités thérapeutiques de la Propolis .....	14
II.5.2.1.1. Activité antimicrobienne .....	14
II.5.2.1.2. Activité antibactérienne .....	14
II.5.2.1.3. Activité antifongique .....	15
II.5.2.1.4. Activité antivirale .....	15
II.5.2.1.5. Activité antiparasitaire.....	15
II.5.2.1.6. Activité antioxydante .....	15
II.5.2.1.7. Effets immunomodulateurs.....	16

II.5.2.1.8. Activité anti-inflammatoire.....	16
II.5.2.1.9. Activité anti-ulcéreuse.....	16
II.5.2.2. Formes pharmaceutique de la propolis.....	17
II.5.3. Utilisation de la propolis par l'Homme :.....	18
II.5.3.1. Cosmétique.....	18
II.5.3.2. Médecine.....	18
II.5.3.3. Technologie alimentaire.....	19
II.6. Toxicité :.....	19
II.7. Conservation.....	19

## **PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES**

I. Matériel végétal.....	21
II. Méthodes.....	21
II.1. Extraction.....	21
II.2. Le criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique.....	25
II.2.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques.....	25
II.2.1.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	26
II.2.1.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	26
II.3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire <i>in vitro</i> .....	27
II.3.1. Méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines.....	27
II.3.2. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains.....	28
II.3.2.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (HRBC).....	28
II.3.2.2. Dosage de l'activité de stabilisation de la membrane.....	29
II.4. Analyses statistique.....	29

### **Chapitre II : Résultats et Discussion**

II.1. Résultats.....	30
II.1.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques.....	30

II.1.2. La teneur en composés phénoliques.....	30
II.1.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	31
II.1.3.1. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique.....	31
II.1.3.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges.....	32
II.2. Discussion.....	34

## **Conclusion**

## **Références Bibliographiques**

## **Annexes**

# Introduction



## Introduction

L'inflammation est un mécanisme de défense indispensable pour l'intégrité de l'organisme, dont le but est d'éliminer l'agent pathogène et réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies de la régulation du processus inflammatoires, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. D'autre part, la surproduction des espèces réactive d'oxygènes au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologique donne lieu au stress oxydant, qui est impliqué dans l'apparition des maladies inflammatoires chroniques (Rousselet *etal.*, 2005).

La thérapeutique anti-inflammatoire fait appel à divers molécules synthétiques, les glucocorticoïdes et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Bien qu'efficaces, ces médicaments présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent limiter leur utilisation à long terme. De ce fait, la recherche de substances d'origine végétale douées d'activités anti-inflammatoires s'avère très utile pour l'amélioration de la santé humaine (Lee et Feldman, 1997). Aujourd'hui, les plantes médicinales connaissent un succès accru et sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, notamment dans le traitement de maladies impliquant un processus inflammatoire, la propolis est utilisée en médecine traditionnelle, en apithérapie, comme biocosmétique ou encore comme alicament, elle enferme beaucoup de flavonoïdes dont elle tire sa capacité à piéger les radicaux libres, et d'autres propriétés thérapeutiques (propriété antibiotique, immunostimulante, anti-inflammatoire, antifongique, cytostatique...) (Gharbi, 2011).

Notre travail est divisé en deux parties. La première partie est une synthèse bibliographique qui où sont exposés les généralités sur la réaction inflammatoire et présentation de la propolis. La deuxième partie, la partie pratique, est scindée en deux sections dont la première décrit le matériel et les méthodes utilisés et la seconde est réservée pour les résultats obtenus et la discussion.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire, *in vitro* par l'étude de l'inhibition de la dénaturation protéique et la stabilisation de la membrane des globules rouges humains (GRh).

PARTIE I :  
REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE

# Chapitre I : Inflammation

# Chapitre I : Inflammation

## I. 1. Définition

La réponse inflammatoire est une série de mécanismes dynamiques bien coordonnés, en conséquence d'une réponse immunitaire contre une agression causée par des microorganismes, des agents physiques ou chimiques, une blessure ou une brûlure (Gokhale *et al.*, 2002; Hou *et al.*, 2004). Elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé, par divers processus de réparation (Nathan, 2002). Les symptômes caractéristiques de l'inflammation sont la douleur, le gonflement, la rougeur et la sensation de la chaleur (Rousselet *et al.*, 2005).

## I. 2. Facteurs déclenchant l'inflammation

Les facteurs qui déclenchent les phénomènes inflammatoires peuvent être divers :

- **Éléments physiques**, comme la chaleur (*brulure*), le froid (*gélure*), les rayonnements ionisants, qui vont entraîner des lésions tissulaires et la libération de produits de dégradation comme le collagène.
- **Éléments solides exogènes ou endogènes**, comme les pathogènes microbiens, un dard d'insecte ou des microcristaux (*cristaux d'urate*), des produits chimiques (*acide, base, toxique*), des produits biologiques (*toxines, produits de dégradation tissulaire*), des composés issus de la réaction immunitaire (*complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines*).

Quelle que soit la nature du stimulus, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes. C'est l'intensité des manifestations et leur durée qui changent et conditionnent les effets bénéfiques ou délétères de la réaction inflammatoire. (Bernard *et al.*, 2003)

## I. 3. Cellules et médiateurs de l'inflammation

### I. 3. 1. Les cellules de l'inflammation

#### I. 3. 1. 1. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

Représentent 60 à 75 % des globules blancs totaux (Demareta *et al.*, 2014). Elles sont un des pivots de l'immunité innée et constituent un puissant système de défense de l'homme contre les agents pathogènes (Anne *et al.*, 2012).

#### I. 3. 1. 2. Phagocytes mononucléaires

Sont le groupe le plus important des cellules phagocytaires, leur fonction est de capter les particules, y compris les agents infectieux, de les ingérer et de les détruire (Roit, 2002).

### **I. 3. 1. 3. Les lymphocytes**

Sont des cellules qui arrivent dans un foyer inflammatoire ou infectieux, ils peuvent libérer des médiateurs qui contrôlent l'apport ultérieur et l'activation des autres cellules. Ils lancent ainsi le processus de l'immunité adaptative (Roit, 2002).

### **I. 3. 1. 4. Les mastocytes**

Sont des cellules résidentes des tissus, notamment d'interface (Blank *et al.*, 2014).Elles jouent un rôle important dans l'homéostasie et la régulation immunitaire (Frenzel *et al.*, 2013).

### **I. 3. 1. 5. Les basophiles**

Libèrent un grand nombre de médiateurs pro-inflammatoires influençant profondément l'orchestration de l'inflammation (Rostana *et al.*, 2014).

### **I. 3. 1. 6. Les cellules endothéliales**

Sont des cellules aplatis constituées à des organites particuliers qui expriment CD31 (Revillard, 2001).

### **I. 3. 1. 7. Les fibroblastes**

Sont des cellules cibles à des cytokines secrétés parTh2 (l'IL-4 et l'IL-13) qui induisent leur prolifération et stimulent leur différenciation myofibroblastique (Létuvé, 2013).

### **I. 3. 1. 8. Les plaquettes**

Sont des cellules auxiliaires importantes dans le déclenchement et le développement de l'inflammation (Revillard, 2001) par la libération des médiateurs de l'inflammation comme la sérotonine lorsqu'elles sont activées au cours de la coagulation ou au contact de complexe antigène- anticorps (Roit *et al.*, 2002).

## **I. 3. 2. Les médiateurs de l'inflammation**

La libération des médiateurs inflammatoires augmentent la contraction du muscle lisse et le flux sanguin (Lydyard *et al.*, 2002).Ces médiateurs peuvent être des :

### **I. 3. 2. 1. Cytokines**

Sont des médiateurs de la communication intercellulaire, libérés par les monocytes, les macrophages et les lymphocytes .Ils peuvent être pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-8), et anti-inflammatoires (IL-4, IL-10, IL-12, IL-13) (Le ,2002).

### **I. 3. 2. 2. Neuropeptides**

Régulent la réaction inflammatoire dont la substance P est le principale neuropeptide impliqué dans le remodelage des tissus enflammés, elle stimule la prolifération des kératinocytes, des cellules endothéliales, des fibroblastes et des cellules musculaire lisse (Henrotin *et al.*, 2001).

### I. 3. 2. 3. Médiateurs lipidiques

L'acide arachidonique (AA) est libéré principalement par l'action de la phospholipase A2 et sa transformation enzymatique conduit à la libération des prostanoïdes par la voie de cyclo-oxygénase. Le PGE2 et leucotriène B4 sont les deux médiateurs lipidiques majeurs (Raymondjean *et al.*, 2007).

### I. 3. 2. 4. Autre médiateurs de l'inflammation

Plusieurs telle que les fractions du complément, les facteurs de la coagulation, les métalloprotéases et les formes activées de l'oxygène et de l'azote (FAO) (Henrotin *et al.*, 2001).

**Tableau 1:** Les fonctions des principaux médiateurs inflammatoires. (Genetet, 1997 ; Rousselet, 2005).

Médiateurs	Fonctions
Histamine, bradykinine, C3a, C5a, LTC4, LTD4, PGE2, prostaglandines, facteur XII, facteur kiningénique.	Augmentation de la perméabilité capillaire
Thromboxane A2, leucotriènes C et D, C5a-LTB4.	Vasoconstriction d'aval.
C3a, C5a, histamine-leucotriènes C et D, Tromboxane A2, bradykinine.	Contraction des muscles lisses.
IL-1, TNF $\alpha$ , endotoxine, LTB4	Augmentation de l'adhésivité des phagocytes aux cellules endothéliales.
IL-1, C3c	Prolifération des cellules souches médullaires.
C5a, LTB4, PAF, IL-8, histamine, laminine, fragments de collagène, facteurs lymphocytaires, chimiotactiques, thrombine, produits bactériens.	Chimiotactisme cellulaire.
C5a, PAF, IL-8	Réglage des médiateurs lysosomiaux intra granulaires.
C5a, TNF $\alpha$ , PAF, IL-8, IFN $\gamma$	Augmentation de la production des radicaux oxygénés.
C3b, IgG(Fc), fibronectine	Accentuation de la phagocytose.
IL-1, TNF $\alpha$ , TNF $\gamma$	Formation de granulome inflammatoire.
PGE2, IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6	Fièvre
PGE2, bradykinine	Douleur

Destruction (cellules, matrice)	Radicaux libres oxygénés,enzymes des lysosomes, NO, cytokines lymphocytaires
---------------------------------	--

## I. 4. Types d'inflammation

Plusieurs agressions tissulaires déclenchent une réaction inflammatoire aiguë, mais certaines lésions peuvent provoquer d'emblée une réaction inflammatoire chronique (ex : infection virales, réaction à corps étrangers, mycoses). Une inflammation aiguë peut disparaître ou aboutir à une cicatrisation, mais en absence d'une résolution elle peut évoluer vers une inflammation chronique (Stevens *et al.*, 2004).

### I. 4. 1. Inflammation aiguë

Il s'agit de la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours à quelques semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculoexsudatifs intenses. Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles, si la destruction tissulaire est importante (Charles *et al.*, 2010). L'inflammation aiguë repose sur trois phases principales en relation les uns avec les autres :

#### I. 4. 1. 1. Phase vasculaire

La phase vasculaire consiste en une vasoconstriction artériolaire extrêmement brève, de quelques secondes, de type réflexe sous l'action du système nerveux sympathique. Elle est très rapidement ressentie puisque douloureuse, expliquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine (Weill *et al.*, 2003). Ces médiateurs activent les plaquettes présentes dans la circulation, ce qui conduira à une vasodilatation des vaisseaux sanguins. En conséquence, le débit local est augmenté et la perméabilité des capillaires est exacerbée, ce qui explique l'extravasation des protéines plasmatique et cellules sanguines vers les tissus diapédèses. L'augmentation du débit microcirculatoire provoque l'apparition de chaleur, rougeur et d'œdème (Kumar *et al.*, 2007).

L'altération des parois vasculaires va entraîner l'apparition de nouveaux récepteurs des cellules endothéliales comme ELAM-1, VCAM-1 et ICAM-1, ce qui va accentuer les phénomènes d'extravasation et de migration des cellules vers les tissus lésés. Ce phénomène est amplifié sous l'effet de la sécrétion de chimiokines par les cellules des parois vasculaires altérées (Weill *et al.*, 2003).

#### **I. 4. 1. 2. Phase cellulaire**

La phase cellulaire commence lorsque se trouvent rassemblés un grand nombre de polynucléaires, de macrophages et de plaquettes au site de l'inflammation ; les polynucléaires et les macrophages phagocytent les bactéries, les microcristaux et les débris de tissus nécrosés, phagocytose facilitée par les substances opsonisantes que sont les IgG et le C3b ayant des récepteurs sur la membrane de ces phagocytes (Pasquier, 1995).

Lors de la phagocytose, l'agent pathogène est internalisé par invagination de la membrane plasmique des polynucléaires, afin de former un phagosome. Les granules cytosoliques fusionnent à ce phagosome en déversant leur contenu hautement toxique dans le milieu intracellulaire forment ainsi ce qu'on appelle un phagolysosome ou dans le milieu extracellulaire lorsque l'agent pathogène possède une masse moléculaire élevée (Klebanoff *et al.*, 1992).

#### **I. 4. 1. 3. Phase de résolution**

La résolution de l'inflammation est à l'origine de la réparation tissulaire. Après un séjour de 24 à 48 heures, les neutrophiles s'engagent massivement vers la voie de l'apoptose, en réponse à divers signaux, notamment la diminution des messagers de survie (Ward *et al.*, 2002). Les neutrophiles apoptotiques sont rapidement phagocytés par les macrophages, donnant à ces derniers un signal qui remplace leur synthèse de cytokines pro-inflammatoires par celle de cytokines anti-inflammatoires (Fadok *et al.*, 1998).

Il en découle que la phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages, joue un rôle déterminant lors de la résolution de l'inflammation et de la réparation tissulaire (Marsolais, 2005). Elle aboutit à une cicatrice si le tissu lésé ne peut régénérer ou lorsque la destruction tissulaire a été très importante et/ou prolongée. La réparation peut aboutir à une restitution intégrale du tissu, il ne persiste alors plus aucune trace de l'agression initiale et de l'inflammation qui a suivi (Weill, 2003).

#### **I. 4. 2. Inflammation chronique**

L'inflammation chronique correspond à un échec de l'inflammation aiguë qui évoluent en inflammation chronique, lorsque la phase vasculo-exsudative est passée inaperçue, c'est souvent le cas de maladies auto-immunes (Seignalet, 2004;Rousselet, 2005), quand l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détersion incomplète) ou bien lorsque la phase aiguë est récidive de façon répétée dans le même organe en entrainement à chaque épisode des destructions tissulaires mal réparées (Raynaud, 2008).



La persistance de l'inflammation serait responsable de séquelles anatomiques et fonctionnelles qui font la gravité des maladies inflammatoires chroniques (Seignalet, 2004).

## **I. 5. L'inflammation et la dénaturation protéique**

Une réaction inflammatoire non immune peut conduire à une inflammation immune après dénaturation des protéines endogènes devenues auto-antigéniques (Clos, 2012).

L'exposition d'une cellule au choc thermique provoque: l'altération des protéines, la réponse au choc thermique et enfin la récupération ou l'élimination des protéines altérées (Nguyen *et al.*, 1989 in Lanneau, 2010).

### **I. 5. 1. La première étape (altération des protéines)**

L'albumine subit des changements structuraux avec perte de sa forme tridimensionnelle et exposition de certains sites hydrophobes (comme le résidu cystéine 34) qui sont inaccessibles dans le cas physiologique normal (protéine native fonctionnelle). Ces zones hydrophobes peuvent interagir et former des agrégats qui sont délétères pour la cellule (Arrigo, 2005).

### **I. 5. 2. La seconde étape (réponse au choc thermique)**

Cette étape y'aura l'intervention des protéines de choc thermique (HSP ou heat shock proteins) qui vont reconnaître les régions normalement enfouies dans la molécule (l'albumine) et qui deviennent accessibles après dénaturation ou dégradation (Jacquier-sarlin et Polla, 1994). L'interaction HSP-protéines dénaturées favorise soit leur dégradation, soit leur transport dans les différents organites et leur assemblage, et l'activation des lymphocytes T après présentation des auto-antigènes en présence des molécules de CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) et la différenciation des monocytes en macrophages (Jacquier-sarlin et Polla, 1994).

### **I. 5. 3. Phase d'élimination**

Elle consiste à éliminer les protéines anormales et empêcher la formation d'agrégats, ou permet la renaturation des protéines si les possibilités de réparation de la cellule le permettent (Arrigo, 2005).

L'albumine est une petite protéine globulaire de 66 k Da et la plus abondante dans le plasma. Elle représente environ 60% des protéines plasmatiques et possède 585 acides aminés avec un groupement thiol au niveau de sa cystéine 34 sous forme réduite (Mira, 2008) qui joue un rôle dans l'agrégation de l'albumine sous l'effet de l'augmentation de température (Barone, 1992). Cette protéine, synthétisée par le foie est soumise à une régulation par le statut nutritionnel, l'insuline, le cortisol, le glucagon ou les hormones thyroïdiennes (Evans, 2002). Elle

est distribuée dans le sang et les organes comme la peau, le muscle, l'intestin, les tissus sous-cutanés (Evans, 2002). Sa demi-vie est de 15 à 20 jours. Elle est catabolisée par le système réticulo-endothélial (Mira, 2008).

## I. 6. Traitement de l'inflammation

Le terme anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens est connue comme traitement actuel de l'inflammation. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long terme (Rahmani, 2016).

### I. 6. 1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des acides faibles lipophiles et regroupent des molécules ayant, malgré une hétérogénéité structurale, un même mode d'action (Vaubourdolle, 2007). Les AINS forment un groupe de médicaments destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies rhumatismales. Tous les AINS possèdent à des degrés divers les propriétés anti-inflammatoires ; analgésiques et antipyrétiques quelle que soit la voie d'administration. Ils réduisent la vasodilatation, la perméabilité capillaire, mais aussi la migration des leucocytes et perturbent les réactions énergétiques nécessaires au processus inflammatoire (Charpentier, 2004).

Ils agissent tous en inhibant une enzyme membranaire, la cyclo-oxygénase (COX), diminuant ainsi la production des prostaglandines E2 et I2, médiateurs importants des phénomènes inflammatoires (Dangoumau *et al.*, 2006). Les principaux AINS disponibles sous forme orale sont présentés dans le tableau 1. (Gilles *et al.*, 2012)

**Tableau 2:** Les principaux AINS disponibles sous forme orale. (Gilles *et al.*, 2012)

Familie chimique	DCI	Spécialité (exemples)	Posologie quotidienne	
			Moyenne	Maximale
Salcylés	Acide acétylsalicylique	Aspirine Ursa®	2-3 g	6 g
	Acétylsalicylate de lysine	Aspégic®	2-3 g	6 g
Arylpropioniques	Acide tiorofénique*	Surgam®	300-400 mg	600 mg
	Fénoprofène	Nalgésic®	900 mg	1500 mg
	Flurbiprofène*	Cébuitid®	200 mg	300 mg
	Ibuprofène *	Brufen®	1,2 g	2,4 g
	Kétoprofène *	Profénid®	150 mg	300 mg
	Naproxène sodique *	Apranax®	550 mg	1100 mg
Arylacétat	Diclofénac *	Voltaire®	75-100 mg	150 mg
	Acéclofénac	Cortrex®	100 mg	200 mg
Coxibs	Célécoxib	Celebrex®	200 mg	400 mg
	Étoricoxib	Arcoxia®	30 mg	60 mg
Oxicams	Méloxicam	Mobic®	7,5 mg	15 mg

<b>Divers</b>	Piroxicam *	Feldène ®	10-20 mg	30-40 mg
	Ténoxicam	Tilcotil ®	10 mg	20 mg
	Nabumétone	Nabucox ®	1g	2 g
	Étodolac	Lodine ®	400 mg	600 mg
	Indométacine*	Indocid ®	50-100 mg	150-200 mg
	Acide niflumique	Nifluril ®	750-100 mg	1500 mg

\* Médicament disponible sous la forme de générique

En 1971, il a été démontré que l'aspirine et l'indométhacine inhibaient la cyclo-oxygénase (Cox) d'homogénat de poumon de cobaye, de plaquettes humaines et, *in vivo*, au niveau de la rate du chien, prévenant la synthèse des prostaglandines et molécules dérivées (prostanoides). L'inhibition de cette production de prostaglandine a dès lors été proposée comme étant le mécanisme d'action de l'ensemble de l'anti-inflammatoire non stéroïdien. L'inhibition de la cyclo-oxygénase explique également directement les effets secondaires classiquement attribués à cette molécule : ulcération digestive essentiellement de la muqueuse gastrique puisque la prostacycline en est un important cytoprotecteur, inhibition des prostaglandines rénales perturbant la régulation physiologie de cet organe. (Malaise, 1996)

### **I. 6. 2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou glucocorticoïdes**

Les médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Les glucocorticoïdes (GC) traversent librement les membranes cellulaires, se fixent sur des récepteurs spécifiques qui appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires aux stéroïdes et migrent vers le noyau et agissent directement sur l'ADN en se fixant sur des séquences spécifiques, dites GRE (Glucocorticoid Response Element). Ce complexe intervient dans la régulation de la transcription des gènes cibles en réduisant la perméabilité capillaire, la production de facteurs chimiotactiques, la phagocytose, bloquant ainsi la libération de sérotonine, d'histamine et de bradykinines. De plus, les GC peuvent augmenter la transcription des gènes anti-inflammatoires et inhiber l'action de certaines protéines nucléaires transactivatrices, dont le NF- $\kappa$ B et la protéine activatrice-1 (AP-1), inhibant ainsi l'expression de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-2, TNF- $\alpha$ ); récepteurs et molécules d'adhésion et la production de la phospholipase A2 (Barnes, 1998).

### **I. 6. 3. Anti-inflammatoires naturels**

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de lacyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (Barnes, 1998).

# Chapitre II :

## La propolis

## **Chapitre II : La propolis**

### **II. 1. Définition**

Beaucoup moins anciennement connue que le miel, la propolis remonte vraisemblablement à l'Égypte antique et de façon certaine aux grecs. La propolis provient du grec : pro, qui signifie : en avant, et de polis : la cité ; l'entrée de la ruche. Aristote en parle dans son livre « l'histoire des animaux » et la considère comme un remède aux affections de la peau, des plaies et des suppurations (Almeida *et al.*, 2002). C'est une substance résineuse et gommeuse de consistance visqueuse, recueillie par les abeilles sur certaines parties (bourgeons et écorces essentiellement) de végétaux (certains arbres principalement) (Ghisalberti, 1979). Elle est utilisée comme biocide par les abeilles, elle est responsable de la faible incidence des bactéries et moisissures à l'intérieur de la ruche (Ghisalberti, 1979).

Les abeilles l'utilisent pour enduire l'entrée et les cadres de la ruche pour empêcher l'entrée de courant d'air à l'intérieur de la ruche. Elle est utilisée aussi pour embaumer (momifier) les ennemis tués s'ils sont trop volumineux pour être évacués par les abeilles hors de la ruche (Challem, 1995, Ghisalberti, 1979, Lavie, 1975).

### **II. 2. Origine de la propolis**

Plusieurs recherches ont montré que la propolis pouvait avoir deux origines : interne, issue de la première phase de digestion du pollen (Hegazi, 1997) ou externe, collectée par les abeilles de différentes plantes. Ces dernières la rapportent à la ruche, et la modifient en partie par l'apport de certaines de leurs sécrétions propres (cire et sécrétions salivaires essentiellement) (Valcic *et al.*, 1999). Cependant, la théorie de l'élaboration interne de la propolis (qui serait issue de la première phase de digestion du pollen), régurgitée ensuite par l'abeille, semble, d'après les dernières observations effectuées en la matière, ne plus pouvoir être retenue, c'est ainsi que les violons de stradivarius ont été induits pour donner un meilleur son et pour les protéger contre le ver de bois (Burdock, 1998).

### **II.3. La composition de la propolis**

La composition de la propolis est variable selon l'origine géographique et l'écologie de l'abeille, ainsi que des arbres se trouvant dans son écosystème. Il existe des différences significatives de composition entre les propolis, selon le lieu géographique de la ruche, les végétaux employés, les espèces d'abeilles et la disponibilité des végétaux nécessaires à l'élaboration de la propolis (Ghedira *et al.*, 2009). Ce dernier critère est très important car, à

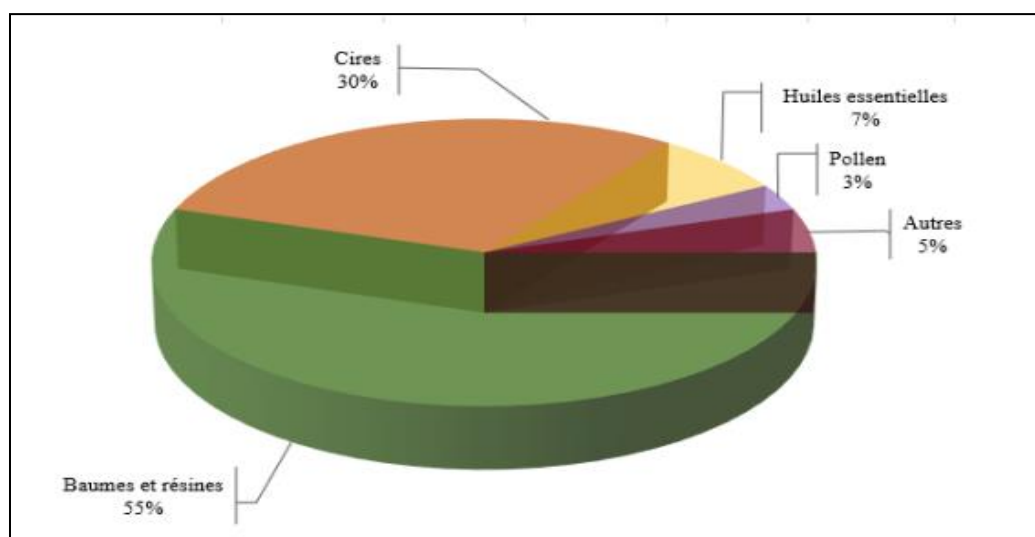
défaut des plantes nécessaires aux abeilles pour élaborer la propolis, ces dernières utilisent des matériaux de substitution plus ou moins nocifs dans la santé humaine (bitume, vernis, huiles minérales, etc.) (Ghedira *et al.*, 2009).

La composition de la propolis brute diffère de celle de la propolis pure (Nader, 2013). Toutefois, un échantillon de la propolis est généralement composé de :

- Résine et baumes : 55%. (flavonoïdes et acides aromatiques essentiellement)
- Cires végétales, la cire d'abeille.
- Huiles essentielles.
- Un peu de pollen et divers (matières minérales et organiques).

Les produits les plus intéressants sont les flavonoïdes et les acides aromatiques tels l'acide benzoïque (benjoin), l'acide coumarique, l'acide cinnamique et l'acide caféique et surtout leur ester.

- Vitamines A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, C, E, mais en moindres quantité que dans le pollen ou la gelée royale.
- Sels minéraux : Mg, Fe, Zn, Ni, Si sous forme organique donc assimilables (Françoise, 2012).



**Figure**

Composition moyenne globale de la propolis. (Marion, 2016).

#### **II. 4. Récolte :**

La propolis peut être récoltée selon deux techniques diverses :

- Raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence par température assez basse. La propolis alors dure et friable se détache mieux (Lavie, 1975).

- Utilisation de différents dispositifs: grille moulée en matière plastique ou en métal. On pose cette grille comme couvre cadres. Les abeilles s'empressent d'obturer ces trous de propolis. Le moment idéal se situe après la récolte d'été, les abeilles se consacrent plus facilement à cette tâche, sachant l'hiver proche (Krell, 1996).



**Figure 2:** Récolte de la propolis.



**Figure 3:** La propolis sur cadres en bois prélevés d'une ruche d'abeilles.

## **II. 5. Usages de la propolis**

### **II. 5. 1. Usage traditionnel**

Au cours du premier siècle avant J-C, le célèbre savant latin Varron en fait état dans ses travaux. Le poète Virgile, dans ses écrits en fait de même. Au tout début de notre millénaire, les romains Pline et Dioscoride entretiennent une polémique quant à son origine, le premier écrivait par ailleurs à son sujet : « elle retire les aiguillons et ce qui est entré dans la



chair, elle réduit les enflures et ramollit les durcissements de la peau. Elle diminue les douleurs nerveuses, guérit les ulcères, abcès, furoncle souvent incurables» (Lavie, 1975). Au 2<sup>ème</sup> siècle après J-C, c'est au tour du médecin Galien d'en faire mention dans ses traités avant le philosophe médecin iranien Avicenne qui, au 11<sup>èmesiècle</sup>, note à son propos : « a la qualité de faire éliminer les pointes des flèches et les épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement » (Lavie, 1975).

Connue des Incas chez lesquels elle était utilisée dans le cadre des infections fébriles, la propolis est retrouvée également dans les livres de médecine de Géorgie, à partir du 12<sup>ème</sup> siècle, où elle entre dans la préparation de nombreux remèdes (Lavie, 1975).

En France, on trouve quelques traces de son usage aux 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècles dans le traitement des plaies. Mais c'est surtout à l'occasion de la guerre des Boers en Afrique du Sud qu'elle connaît son apogée d'utilisation (Lavie, 1975).

## **II. 5. 2. Usage thérapeutique**

### **II. 5. 2. 1. Activités thérapeutiques de la Propolis**

#### **II. 5. 2. 1. 1. Activité antimicrobienne**

Environ sept cents documents traitent cet aspect (Bogdanov, 2016). Malgré les grandes différences de composition des différents types de propolis, elles ont toutes une activité antimicrobienne. Il semble que c'est la somme des composantes de la propolis qui sont responsable de l'action antimicrobienne plutôt qu'individuelles (Kujumgiev et al., 1999).

#### **II. 5. 2. 1. 2. Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne de la propolis a été confirmée par de nombreuses études scientifiques et démontrée contre les deux types de bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Bankova 2005; Bankova et al., 2007). Cette activité antibactérienne de la propolis de peuplier et d'autres types de propolis d'origine géographique et botanique différentes sont similaire (Kujumgiev et al., 1999). (Silici et al., 2005).

#### **II. 5. 2. 1. 3. Activité antifongique**

Les effets antimycosiques de la propolis résultent de l'activité de substances multiples telles que : la Galangine, le Kaempférol, la Pinocembrine et l'acide caféique. (Nader ,2013). Cette activité s'exerce sur plusieurs espèces de champignons parasites générateurs de mycoses, notamment : Le genre Candida et, plus particulièrement, Candida albicans ; Trichophyton ; Microsporum Canis (Dobrowski et al., 1991).



#### **II. 5. 2. 1. 4. Activité antivirale**

Grâce à la présence des flavonoïdes, la propolis est efficace contre le poliovirus, les virus de type Herpes (par des esters de l'acide caféique) et l'adénovirus et présente aussi une relative efficacité dans la grippe, l'hépatite B ainsi que le zona. Même les propolis ne contenant que très peu de flavonoïdes ont une action antivirale, expliquée par certains composants comme les sesquiterpènes ou les naphthoquinones (constituants actifs des essences végétales) (Dandiya et al., 1991).

#### **II. 5. 2. 1. 5. Activité antiparasitaire**

La propolis est efficace dans le cas d'infections par certains parasites comme le *Toxoplasma gondii* impliqué dans la toxoplasmose, particulièrement dangereux chez les femmes enceintes, ou encore contre les *Trichomonas*, *Trypanosoma cruzi* ou *Giardia lamblia*. Le produit de la ruche empêcherait la croissance du parasite, sans que les principes actifs de celui-ci ne soient clairement identifiés (Dandia et al., 1991).

#### **II. 5. 2. 1. 6. Activité antioxydante**

L'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait correspond à sa capacité à diminuer ou à empêcher les réactions d'oxydation. Les antioxydants naturels les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés (poly)phénoliques en général. (Popovici et al., 2009)

Plusieurs études ont montré que l'activité antioxydante de la propolis était positivement corrélée avec sa teneur en polyphénols (Bonvehí, 2011), (Velazquez et al., 2007). Ainsi, la propolis de type peuplier des zones tempérées, plus riche en polyphénols, possède un potentiel antioxydant supérieur à celui de la propolis verte du Brésil, par exemple (Kumazawa et al., 2004).

#### **II. 5. 2.1. 7. Effets immunomodulateurs**

##### **Action sur les macrophages**

Des essais *in vitro* et *in vivo* ont démontré l'action modulatrice de la propolis sur les macrophages péritonéaux murins, augmentant ainsi leur activité microbicide. Les meilleurs résultats immuno-modulateurs ont été observés lorsque la propolis a été administrée à court terme aux animaux. La propolis de peuplier et de *Baccharis* augmentait l'activité des macrophages (Sforzin, 2007).

##### **Action sur les lymphocytes et la production d'anticorps**

D'autres parts, les deux types de propolis de peupliers et de Baccharis peuvent avoir un effet immunomodulateur en augmentant la production d'anticorps et en activant des lymphocytes B et T (Sforcin, 2007).

Les tests immunomodulateurs ont inclus des tests avec des témoins positifs tels que le lipopolysaccharide (LPS), la concanavaline A (Con A), l'acétate de miristate de phorbol (PMA), les cytokines (IFN-) ou d'autres pour comparer l'efficacité de la propolis. Le cyclo phosphamide est couramment utilisé comme médicament immuno-suppresseur et il a été utilisé in vivo à la fois comme témoin négatif et aussi pour étudier l'action immuno-restauratrice de la propolis de peuplier (Dimov et al., 1992).

### **II. 5. 2. 1. 8. Activité anti-inflammatoire**

La propolis possède un effet anti inflammatoire significatif sur différents modèles in vivo d'arthrite, d'œdème de la patte ou d'inflammation chronique ou aiguë<sup>14</sup>. Plusieurs mécanismes d'actions ont été proposés : inhibition de l'activation de certaines molécules du système immunitaire (I L-6) et inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique de l'inflammation (cyclo-oxygénase, lipo- oxygénase, myéloperoxidase, NADPH-oxydase, ornithine décarboxylase). Le CAPE s'est révélé être le composé possédant le plus fort effet inhibiteur sur l'activité des cyclooxygénases COX- 1 et COX-2, évalué par la production de prostaglandines pro-inflammatoires (Rossi et al., 2002).

### **II. 5. 2. 1. 9. Activité anti-ulcéreuse**

(Tossoun et al., 1997) et (Boyanova et al., 2005), ont rapporté que le miel et la propolis ont été efficaces en tant que traitement des ulcères cutanés chroniques. En effet, la propolis bulgare possède un effet inhibiteur in vitro sur la croissance d'Helicobacter pylori.






### **II. 5. 2. 2. Formes pharmaceutique de la propolis**

Dans le circuit commercial, la propolis est proposée sous de multiples formes galéniques, la plupart sous forme de spécialités pharmaceutiques. Elle est devenue aujourd'hui un produit très facile à se procurer sur le marché avec un grande choix de marques et de présentation de permettant de trouver celle qui répond le mieux à nos besoins. (Donadieu, 2008)

Nous avons sélectionné ici quelques spécialités à base de propolis qu'ont trouve aisément dans les magasins de diététique et les parapharmacies :

**Tableau 3:** les Forme pharmaceutiques de la propolis (Donadieu, 2008)

Mode d'usage	Nom commercial & indication	Figures
--------------	-----------------------------	---------

<b>Voie générale interne</b>	<p><b>Propolin 205 mg Aagaard®</b></p> <p>Gélules de poudre pour ultrafine destinés aux indications par voie générale interne, les affections touchant les appareils : <b>digestif</b> et <b>génito-urinaire</b></p>	
	<p><b>Sirop Propolin Aagaard®</b></p> <p>Sirop à boire associant la propolis à des extraits de plantes à des huiles essentielles, indiqué pour les affections <b>broncho-pulmonaires</b>.</p>	
<b>Voie locale interne</b>	<p><b>Bain de bouche Aagaard®</b></p> <p>Flacon de liquide à diluer dans de l'eau pour lavage de bouche et gargarismes afin de combattre la <b>mauvaise haleine</b>, prévenir les inflammations de la <b>muqueuse buccale</b>.</p>	
<b>Voie locale externe</b>	<p><b>Crème Propolin 10% Aagaard</b></p> <p>Tube de crème pour application locales dans de très nombreuses <b>indications dermatologiques</b>.</p>	
	<p><b>Baume d'En Calcat® à la propolis</b></p> <p>Élaboré à partir de propolis, de cire d'abeille, d'huiles végétales ainsi que d'huiles essentielles. Ce baume est indiqué pour un meilleur <b>confort musculaire et articulaire</b> (arthrose)</p>	

### II. 5. 3. Utilisation de la propolis par l'Homme :

La propolis est largement utilisé dans plusieurs domaines tels que :

### **II. 5. 3. 1. Cosmétique**

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique (Lejeune et al., 1988). Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications (Krell, 1966).

### **II. 5. 3. 2. Médecine**

Aujourd'hui, la propolis est incluse dans le registre des médicaments autorisés pour une utilisation en médecine. Leur utilisation basée sur les données recueillies par de nombreuses études qui ont permis aux médecins de découvrir la vaste quantité de propriétés qu'elle contient. (Paul, 2017)

Aussi, en médecine dentaire, la propolis possède un effet anesthésique cinq fois plus efficace que la cocaïne. Elle est aussi utilisée dans les dentifrices et les rince-bouche traitant la gingivite, la chéilite et la stomatite (Krell, 1966).

### **II. 5. 3. 3. Technologie alimentaire**

Les activités anti-oxydantes, antifongiques et antibactériennes de la propolis lui offrent une place de choix dans ce domaine. Les résidus de propolis semblent avoir un effet généralement bénéfique sur la santé humaine. Cependant, seulement très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur les plus grandes consommations de propolis. D'après la littérature, certains composants identifiés dans les propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine. (Krell, 1966)

La propolis peut être utilisée comme conservateur en matériel d'emballage de nourriture (Mizuno et al., 1987). Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (Ferhoum, 2010).

## **II.6. Toxicité :**

Les études en rapport avec la toxicité de la propolis sont rares. Ghisalberti (1979) signale qu'elle n'est pas toxique pour les hommes et les animaux, si elle est consommée en quantités raisonnables. Avrouest-Grand et al. (1994) ont reporté une DL50 de 7340 mg/kg. Par contre, Hrytsenko et al. (1977) ont reporté une DL50 de 2050 mg/kg et une DL 100 de 2750 mg/kg. Cette différence peut être expliquée par une différence au niveau de l'extraction de cette substance (choix du solvant et pourcentage utilisé). L'administration orale de 200 à 1220 mg/kg/J d'extrait éthanolique de propolis (EEP) pendant 7-10 jours, n'entraîne aucun effet nocif (Higashi, 1995).

De plus, l'extrait alcoolique de propolis incorporé dans l'eau potable (rat et souris) et utilisé aux doses 1875 et 2470 et 4000 mg/kg/J pendant 30, 60 et 90 jours respectivement, ne montre aucun effet toxique (Segueni, 2012).

## **II.7. Conservation**

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît néanmoins préférable de la garder dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence). De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques. Cependant, pour en obtenir de meilleurs effets et résultats, il vaut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible. Il faut signaler enfin, que la lyophilisation de la propolis (dessiccation obtenue par congélation brutale à basse température, suivie d'une sublimation sous vide, permettant d'obtenir une poudre poreuse qui se conserve indéfiniment sous vide) maintient aussi ses propriétés biologiques. (Segueni, 2011).

PARTIE II :  
ETUDE  
EXPERIMENTALE

# Chapitre I :

# Matériel et Méthodes

## Chapitre I : Matériel et Méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objet l'étude de l'activité anti-inflammatoire de la propolis, elle est réalisée au laboratoire d'immunologie, Université 08 Mai 1945 - Guelma -.

### I. Matériel végétal

La propolis a été récoltée en mois de Mars 2018 à partir de la région d'Roknia, wilaya de Guelma. Puis, elle a été séchée à l'abri de la lumière et stockées dans des boîtes érémitiques à température ambiante dans un endroit sec jusqu'à l'utilisation.



Figure 4: Propolis de Guelma.

## II. Méthodes

### II.1. Extraction

L'extraction n'est qu'une étape de transformation de la matière première (dans notre cas c'est la propolis) en un extrait. Toutes les étapes qui précèdent ou suivent l'extraction doivent être maîtrisées avec précision pour un produit final de qualité optimale. Dans cette optique, le découpage de la propolis a été réalisé de façon à pouvoir récupérer des morceaux très fins dans le but d'optimiser l'extraction.

La préparation de l'extrait brut à partir de la poudre de la propolis a été réalisée par une méthode solide-liquide Elle est réalisée en deux étapes : macération et l'évaporation (Owen *et al.*, 1999).



### II.1.1. Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante. 50g de la poudre de la propolis à été effectuée à température ambiante pendant deux semaines dans 1000 ml d'eau-méthanol 70/30 (v/v) à un rapport solide/liquide de 1/10 (p/v) sous agitation continue.



**Figure 5:** Le macérât de propolis.

### II.1.2. Évaporation

L'extrait hydro-éthanolique ou le macérât a été filtré par le papier wattman 01 et il a une solution Bordeaux.



**Figure 6:** La filtration de macérât par papier Wattman01.

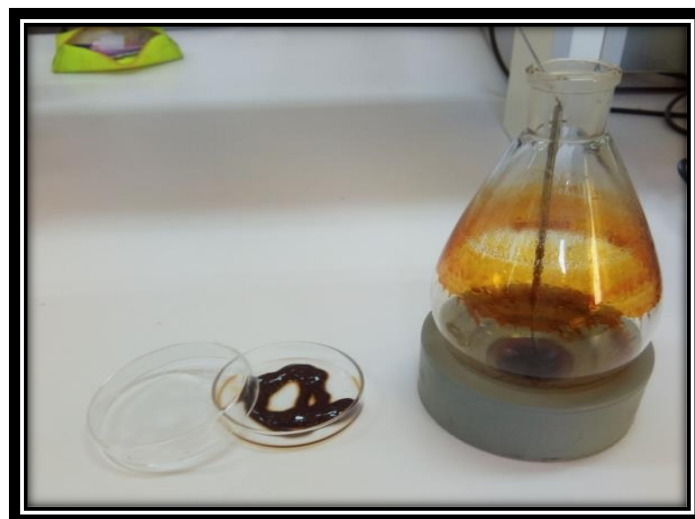


**Figure 7:** L'extrait hydro-éthanolique de propolis.

Ensuite, cette solution a été concentré à 40 °C dans un évaporateur rotatif de type Rotavapor®-215.



**Figure 8:** L'évaporation de l'extrait dans Rotavapor®-215.



**Figure 9:** L'extrait après l'évaporation.

Après l'évaporation, l'extrait a été conservé dans boîte de pétrie en vert stérile à l'obscurité au réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.



**Figure 10:** La poudre de Propolis après l'extraction.

Le rendement d'extraction a été calculé par le rapport entre le poids de l'extrait après l'évaporation du solvant (g) et le poids de la prise d'essai (g) en poudre (Stanojević *et al.*, 2009). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (g/100 g de poudre)} = \frac{PF}{P^{\circ}} \times 100$$

Où : Pf : poids de l'extrait après l'évaporation du solvant (g)

P° : poids de la prise d'essai (g)

## **II. 2. Le criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique**

Le criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique se fait par des réactions colorimétriques dans le but d'évaluer qualitativement et quantitativement le contenu en composés phénoliques de l'extrait de propolis, deux protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en composés phénolique totaux, flavonoïdes totaux (Othman *et al.*, 2007).

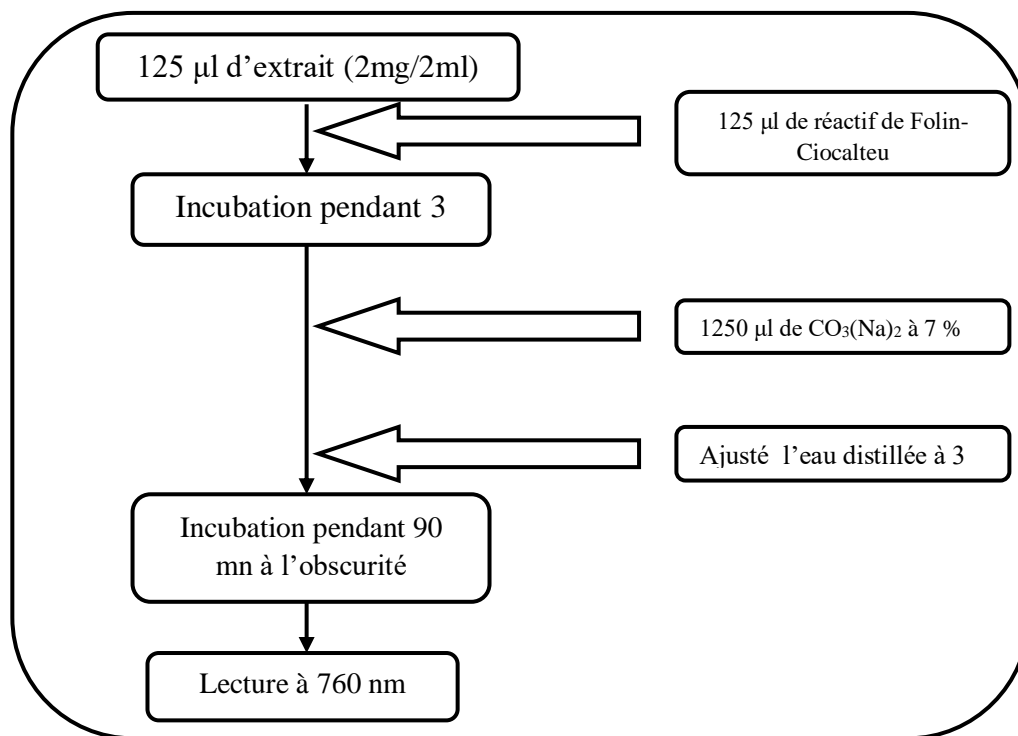
### **II. 2. 1. Détermination de la teneur en composés phénoliques**

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par mg de la matière végétale sèche. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués (Othman *et al.*, 2007).

#### **II. 2. 1. 1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux**

La méthode de Folin-Ciocalteu est l'une des méthodes adaptées dans la plupart des travaux concernant les antioxydants naturels, elle est considérée comme étant la meilleure méthode pour la quantification des polyphénols totaux (Spignon *et al.*, 2007). Le principe de cette méthode repose sur la capacité d'un phénol à réduire le réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune constitué des acides phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) en milieu alcalin en un mélange de tungstène et de molybdène de couleur bleue. La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé (Ribéreau *et al.*, 1982).

Une prise de 125  $\mu$ l de l'extrait dilué (selon le solvant et l'organe) est mélangée avec 500  $\mu$ l d'eau distillée et 125  $\mu$ l de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250  $\mu$ l de  $CO_3(Na)$  2 à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml (Annexe 04). Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm, La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 10, 20, 30, 60, 130, 250  $\mu$ g/ml. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/mg MS) (Othman *et al.*, 2007).



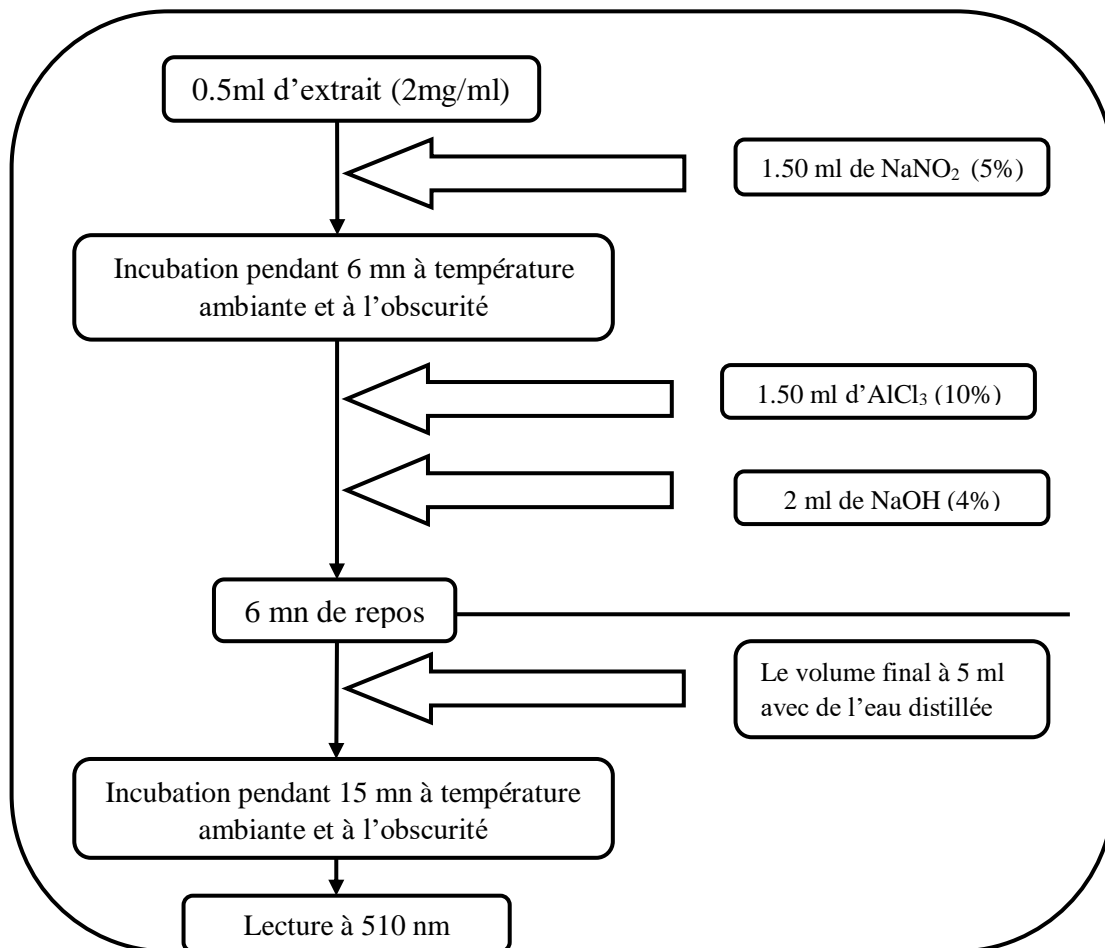
**Figure 11:** Procédure de dosage des composés phénoliques totaux (Othman *et al.*, 2007)

## II. 2. 1. 2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits bruts et leurs différentes fractions a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium décrite par Barros (2011). Le principe de leur dosage repose sur la propriété de ces composés à chélater les ions d'aluminium. En présence du chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La couleur jaune (Annexe 05) ainsi obtenue est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes dans l'extrait (Ribéreau, 1968; Berset, 2006).

Une prise de 500 µl d'extrait convenablement dilué est mise dans un tube en présence de 2 ml d'eau distillée additionnée de 150 µl d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ , 5%). Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10%) sont ajoutés au mélange. On apporte à ce dernier 2 ml d'une solution de soude ( $\text{NaOH}$ , 4%) après 6 mn de repos puis on ajuste le volume final à 5 ml avec de l'eau distillée. L'intensité de la couleur jaune est mesurée à 510 nm après 15 min d'incubation. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée dans les mêmes conditions (Barros, 2011).

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est alors exprimée en mg d'équivalents catéchine par milligramme de matière végétale sèche (mg EC/mg MS). Le mode opératoire est schématisé dans la figure 12.



**Figure 12:** Procédure de dosage des flavonoïdes totaux (Barros, 2011).

## II. 3. Evaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro*

### II. 3. 1. Méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines

L'activité anti inflammatoire *in vitro* des extraits brut de propolis a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (kar *et al.*, 2012). La méthode consiste à préparer quatre solutions :

➤ **La solution d'essai (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 ml des défiants extraits de la plante avec des concentrations varier (250,500, 1000µg/ml).

➤ **La solution control test (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillé.

➤ **La solution contrôle produit (0,5 ml)** composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml des défèrent extraits de la plante avec des concentrations varier (250, 500, 1000 µg/ml).

➤ **La solution standard test (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard Indométacine avec des concentrations varié (250, 500, 1000µg/ml).

Les échantillons ont été incubés à 37 °C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée jusqu'à 57 °C pendant 3 min. après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (PH 6,3) a été ajoutée aux solutions (Kar *et al.*, 2012).

L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculée comme suit:

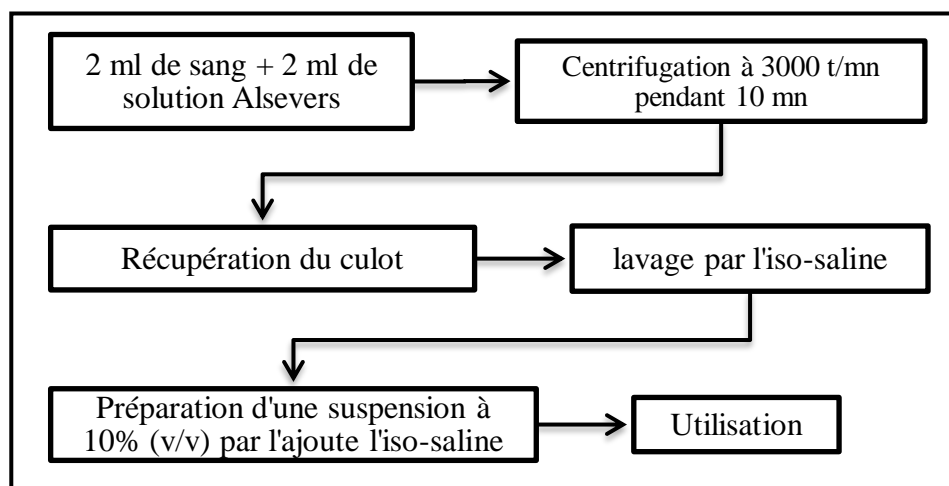
$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \left[ \frac{100 - (\text{DO de la solution d'essai} - \text{DO de contrôles des produits})}{\text{DO de test contrôle}} \right] \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

### II. 3. 2. Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains

#### II. 3. 2. 1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (HRBC)

Le sang a été recueilli auprès d'un volontaire humain en santé qui n'avait pas pris de NSAIDs pendant deux semaines avant l'expérience et a été mélangé avec un volume égal de solution Alsevers stérilisée (Annex 3). Cette solution de sang a été centrifugée à 3000 tr/min à 10 min et les cellules emballées ont été séparées. Les cellules emballées ont été lavées avec une solution d'iso-saline et une suspension à 10% v/v a été préparée avec de l'iso-saline (Kar *et al.*, 2012). Le protocole de cette préparation est résumé dans la figure 13.



**Figure 43:** Protocole de préparation de la suspension (Kar *et al.*, 2012).

#### II. 3. 2. 2. Dosage de l'activité de stabilisation de la membrane

L'activité anti inflammatoire *in vitro* d'extraits de propolis a été effectuée selon la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains, les solutions suivantes ont été utilisées (Govindappa *et al.*, 2011 ; Kar *et al.*, 2012):

- **La solution d'essai:** composé de 1 ml tampon phosphate, 2 ml solution saline hypotonique, 0,5 ml d'extrait végétal de concentration variée (250, 500 et 1000 µg / ml) et 0,5 ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.
- **Le test de contrôle:** composé de 1 ml de tampon phosphate et 2 ml d'eau et 0,5 ml de globules rouges humains 10% v/v dans une solution saline isotonique.
- **La Solution standard:** composé de 1 ml de tampon phosphate, 2 ml de solution salée hypotonique, 0,5 ml d'extrait végétal de concentration variée (250, 500 et 1000 µg / ml) et 0,5 ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.

Tous les mélanges d'essai ont été incubés à 37 ° C pendant 30 min. puis centrifugé à 3000 tr / min pendant 20 min. Le liquide surnageant a été séparé et la teneur en hémoglobine a été estimée par un spectrophotomètre à 560nm. Le pourcentage d'hémolyse a été estimé en supposant que l'hémolyse produite dans le contenu était 100% (Govindappa *et al.*, 2011).

Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane HRBC a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Pourcentage de protection} = [100 - (\text{Densité optique de échantillon} / \text{Densité optique de Contrôle})] \times 100$$

## II. 4. Analyses statistique

Les résultats de différentes évaluations effectuées sont donnés sous forme de moyennes ± écart-types. L'analyse statistique est effectuée en utilisant Two-Way ANOVA sous logiciel GraphPad Prism version 2016. Les valeur trouvées peut affirmer que les échantillons sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- $P > 0,05$  = la différence est non pas significative (ns).
- $0,05 > p > 0,01$  = la différence est significative (\*).
- $0,01 > p > 0,001$  = la différence est hautement significative(\*\*).
- $p < 0,001$  = la différence est très hautement significative (\*\*\*) .



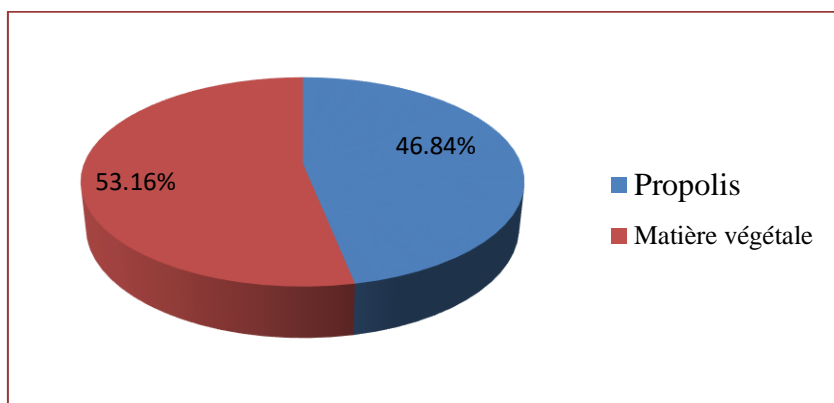
# Chapitre II : Résultats et Discussion

## Chapitre II : Résultats et Discussion

### II. 1. Résultats

#### II. 1. 1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Le rendement d'extraction propolis est calculé selon l'équation de Stanojevic. Il représente 46.84% (23.42 g d'extrait sec par 50 g de matière végétal).



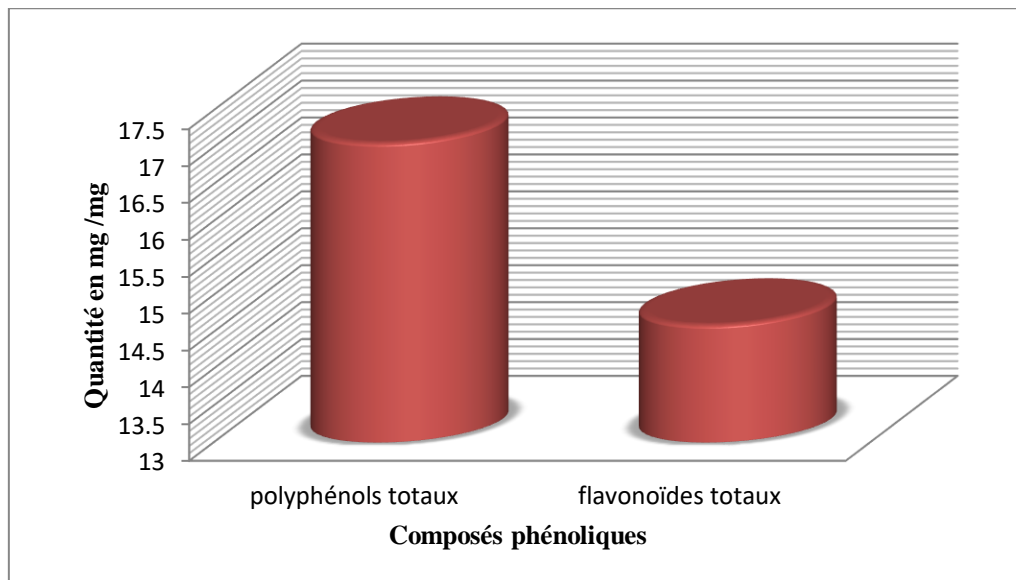
**Figure 14:** Le pourcentage de rendement d'extraction de propolis

#### II. 1. 2. La teneur en composés phénoliques

La teneur en polyphénols totaux a été effectuée par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par milligramme de la matière végétale sèche (mg EAG/mg MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ( $y = 0.0089x + 0.0028$ ,  $R^2 = 0.9996$ ) (Annexe 1). Les constituants phénoliques totaux de l'extrait ont été trouvés avec une valeur de l'ordre de 17,06 mg EAG/mg E.

La teneur en flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de catéchine par milligramme de la matière végétale sèche (mg EC/mg MS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ( $y = 0.003x + 0.0073$ ,  $R^2 = 0.998$ ) (Annexe 2). La teneur a été estimée à 14,60 mg EAC/mg E.

Les résultats de cette étude ont démontré que l'extrait hydro-éthanolique de propolis est riche en polyphénols.

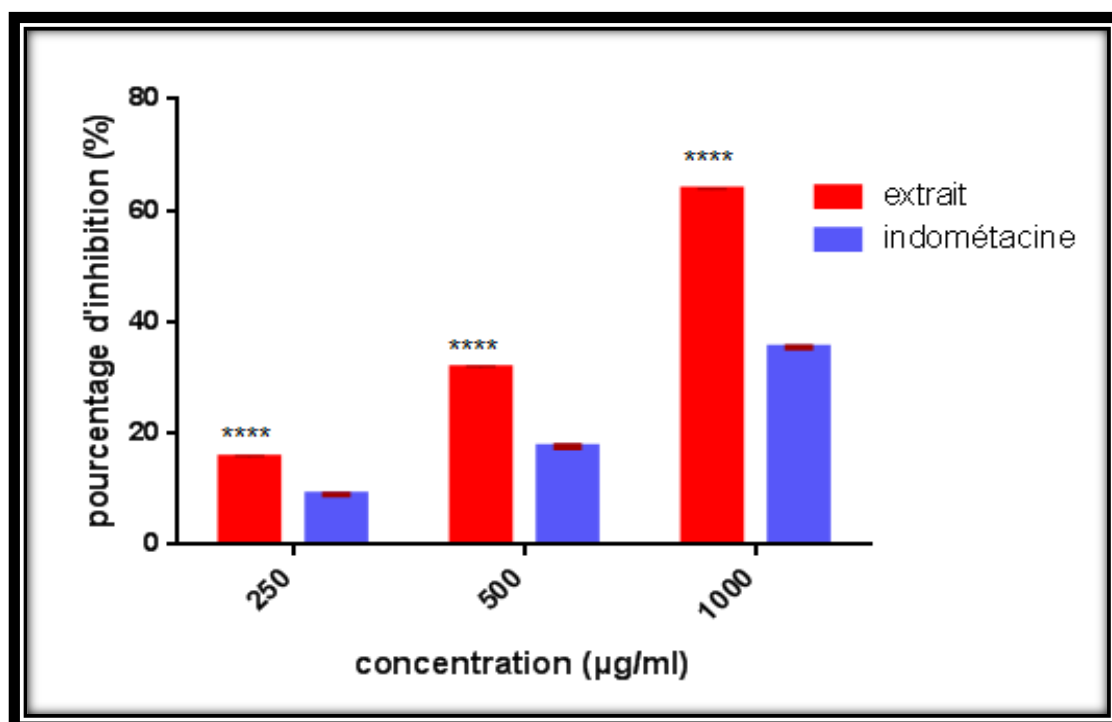


**Figure 15:** Histogramme de teneurs en polyphénols, en flavonoïdes de l'extrait hydro-éthanolique de propolis.

### II. 1. 3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

#### II. 1. 3. 1. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique

Les résultats de l'effet protecteur de l'extrait de la propolis contre la dénaturation protéique causée par la chaleur sont représentés dans la figure :16.



**Figure 16:** Effet de l'extrait et l'indométhacine sur l'inhibition de la dénaturation des protéines. Les valeurs sont présentées sous formes de moyenne  $\pm$  SEM (n=3).

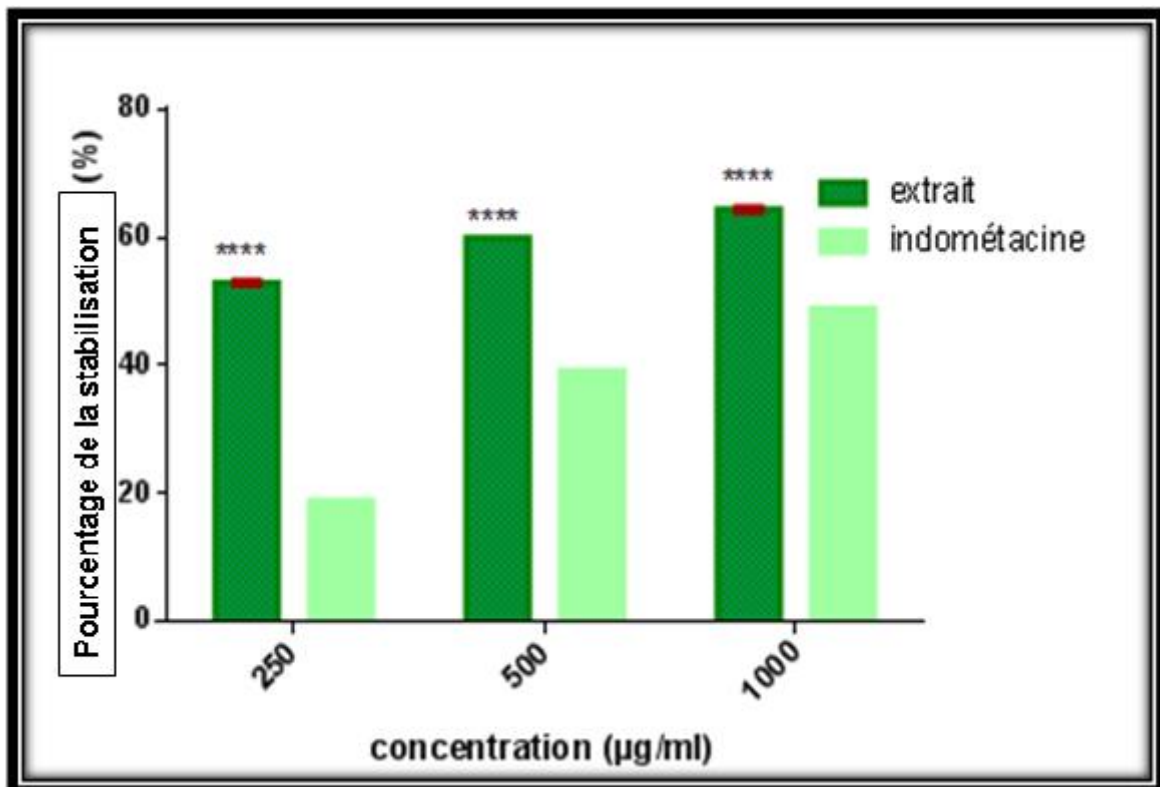
D'après l'histogramme de pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique (figure : 01), on observe que l'extrait hydro-éthanolique de propolis présente une inhibition maximale de la dénaturation des protéines à un pourcentage de  $(15.65 \pm 0.0001)$  % à 250 µg/ml

(31.69 ±0.0001)% à 500 µg/ml (63.74 ±0.0001)% à 1000 µg/ml, alors que la solution standard de l'indométacine présente une inhibition maximale ne dépasse pas (8.94 ±0.001)% , (17.52 ±0.001)% ,(35.41 ±0.001)% à la même concentration.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'extrait hydro-éthanolique de propolis possède une activité anti-inflammatoire *in vitro* à la dose de 250, 500 et 1000 µg/ml plus élevé par rapport à l'indométacine de la même concentration.

### II. 1. 3. 2. Stabilisation de la membrane des globules rouges

L'effet protecteur de l'extrait de la propolis contre l'hémolyse des globules rouge induite par la chaleur est illustré dans la figure : 17.



**Figure 17:** Pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges traités par l'extrait hydro-éthanolique de propolis et l'indométacine à différentes concentrations. Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n=3).

D'après les résultats représentés dans l'histogramme de pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges (figure : 04), on observe que l'extrait hydro-éthanolique de propolis présente une inhibition très élevée de l'hémolyse des globules rouges à différentes concentrations par rapport à l'indométacine. En effet l'inhibition maximale est de (64.38 ± 0.0001)% avec l'extrait de propolis à la dose de 1000 µg/ml, alors que la solution standard de l'indométacine présente une inhibition maximale de (48.81 ±0.0001) % à la même concentration.

L'évaluation du pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges montre que l'extrait hydro-éthanolique de propolis possède une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges à différentes concentrations.

## II. 2. Discussion

L'objectif de notre étude est d'une part de réaliser l'extraction hydro-éthanolique à partir de la propolis pour faire une étude phytochimique par le dosage des composés phénoliques et d'autre part de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait par deux méthodes basées sur le calcul du pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique (kar *et al.*, 2012), et de l'hémolyse des globules rouges (kar *et al.*, 2012 ;Govindappa *et al.*, 2011).

L'extraction des composés phénoliques à partir du matériel végétal est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend du solvant et de la méthode approprié qui préservent leurs propriétés biologiques (Mahmoudi *et al.*, 2012). Elle dépend aussi à leur structure chimique, la taille des particules formant l'échantillon, le temps, les conditions de stockage ainsi que la présence d'interférants (Naczk et Shahidi, 2004).

Le choix du solvant a été conditionné par le caractère polaire des composés phénoliques. La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation de nombre de groupe hydroxyles (-OH) (Bonnaillie *et al.*, 2012), ainsi que l'interaction de ces composés phénoliques avec d'autres constituants alimentaires et la formation de complexes insolubles. Pour cette raison, l'éthanol a été recommandé et fréquemment utilisé pour l'extraction des composés phénoliques (Falleh *et al.*, 2008).

L'extrait utilisé dans cette expérimentation est obtenu après macération de la poudre fine de propolis dans une solution hydro-éthanolique (70/30). On remarque d'après les résultats obtenus dans cette étude que le rendement d'extraction de la propolis était de 23.42 g d'extrait sec par 50 g de matériel végétal sec qui est un rendement très important (46.84%) notre résultat est en accord avec celui de Cherbal *et al.*, (2012), leur rendement est de 22.29 g d'extrait sec par 50 g de matériel végétal sec.

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans l'extrait végétal où l'absorption maximale est de 760 nm (Boizot et Charpentier, 2006).

D'après les résultats obtenus, la quantité des composés phénoliques totaux dans l'extrait de propolis est importante (17,06 mg EAG/mg E) en comparaison avec d'autres travaux sur des échantillons de propolis d'autres wilaya déjà étudiées tel que l'extrait hydro-éthanolique de Yakouren commune de la wilaya de Tizi Ouzou qui contient 11.53 mgEAG/mg E, en plus, la teneur en flavonoïdes de cette étude 14,60 mg E C/ mg E est équivalant que celle trouvé par l'extarit hydro-éthanolique de Metija qui contient 13.33 mg Ec/mg E (Ferhoum, 2010)

On peut conclure que l'extrait de la propolis constitue une source prometteuse en composés phénoliques. La quantité de ces derniers dépend d'un nombre des facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnementales, manipulation et stockage) (Falleh *et al.*, 2008).

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tertiaire et secondaire par l'application d'un stress externe ou d'un composé tel que l'acide fort ou la base, d'une concentration en sel inorganique, un solvant organique ou par la chaleur dont la plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (Marliyah et Ananthi, 2015). La dénaturation des protéines est une cause de l'inflammation bien documentée, elle peut être à l'origine de la production d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques comme la polyarthrite rhumatoïde (Chandra *et al.*, 2012). Elle a été utilisée dans le cadre de l'enquête sur les mécanismes de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (Govindappa *et al.*, 2011). D'après les résultats obtenus, on peut suggérer que l'extrait hydro-éthanolique de propolis a inhibé la dénaturation d'albumine à un pourcentage de des résultats similaires ont été observés à partir de nombreux extraits de plantes (Reshma, 2014). Plusieurs médicaments anti-inflammatoires ont montré une capacité concentration-dépendante pour inhiber la dénaturation des protéines provoquées thermiquement (Grant, 1970).

Les extraits peuvent éventuellement inhiber la libération des neutrophiles de leur teneur en lysosomes sur le site de l'inflammation. Ces constituants lysosomaux des neutrophiles comprennent des enzymes bactéricides et des protéinases qui, lors de la libération extracellulaire, provoquent une inflammation et un endommagement tissulaire supplémentaire (Govindappa *et al.*, 2011). L'extrait hydro-éthanolique de propolis possède une protection hautement-significative estimée par un pourcentage d'inhibition de 64.38 % à la dose de 1000 µg/ml a été fournie par des inhibiteurs de protéinases. Des études récentes ont montré que de nombreux flavonoïdes et polyphénols apparentés ont contribué de manière significative aux activités anti-oxydantes et anti-inflammatoires de nombreuses plantes (Govindappa *et al.*, 2011). La présence de ces composés bioactifs dans l'extrait hydro-éthanolique de propolis trouvé lors de criblage phytochimique peut contribuer à cette activité anti-inflammatoire. Par conséquent, l'utilisation des agents qui peuvent empêcher la dénaturation des protéines serait utile pour le développement de médicaments anti-inflammatoires (Chatterjee *et al.*, 2012).

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro* parce que la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomale (Marliyah et Ananthi, 2015). D'après les résultats de cette expérimentation, l'extrait hydro-éthanolique de propolis a présenté une stabilisation très hautement significative de la membrane des globules rouges à différentes concentrations par

rapport à différentes concentrations de l'indométacine. Cette inhibition est concentration-dépendante et leur inhibition maximale est de 63.74 % à la dose de 1000 µg/ml. Des résultats similaires ont été observés à partir de nombreux extraits de plantes tel que l'extrait de *Pistacia lentiscus L.* une stabilisation significative de la membrane de 69.49 % à la concentration de 3000 µg/ml (Bouyoucef *et al.*, 2017) .Cette stabilisation implique que l'extrait hydro-éthanolique de la propolis peut bien stabiliser la membrane lysosomale.

La stabilisation du lysosome est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux des neutrophiles activés, tels que les enzymes bactériennes et la protéase. L'enzyme lysosomale libérée lors de l'inflammation produit divers troubles. On dit que l'activité extracellulaire de ces enzymes est liée à une inflammation aiguë à chronique. Les médicaments non stéroïdiens tel que l'indométacine agissent soit en inhibant les enzymes lysosomales, soit en stabilisant les membranes lysosomales (Sree Kumari *et al.*, 2015).



# Conclusion

## Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a connu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce de moins effets secondaires. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielles auxquelles on attribue des capacités anti-inflammatoires. La propolis possède un pouvoir pharmacologique, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. L'activité anti-inflammatoire d'extraits hydro-éthanolique de la propolis a été évaluée, via le test de stabilisation de la membrane des globules rouges, par induction de l'hémolyse en exposant ces derniers à un milieu hypotonique associé à une température élevée.

*In vitro*, l'extrait hydro-éthanolique de la propolis a révélé une activité anti-hémolytique importante. En comparaison avec l'indométacine comme médicament anti-inflammatoire non stéroïdien.

En effet, la stabilisation de la membrane des globules rouges, par l'extrait hydro-éthanolique de la propolis pourrait être liée à leur composition chimique qui est riche en polyphénols tels que l'acide gallique et les flavonoïdes, possédant des propriétés anti-inflammatoires.

A l'issue de cette étude, il ressort que, l'activité anti-hémolytique révélé par l'extrait hydro-éthanolique pourrait avoir un effet sur la stabilité de la membrane lysosomale, qui est semblable à celle des globules rouges, et pourrait empêcher ainsi la sortie des constituants lysosomaux au cours de l'inflammation.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits hydro-éthanolique montre que cette substance possède un pouvoir pharmacologique, ce qui valide son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Ces études doivent être orientées vers la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires des composés actifs des extraits de la propolis, et l'évaluation de leurs effets sur le processus inflammatoire.

# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

**Anne Gougerot-Pocidaloa M.** Polynucléaire neutrophile et inflammation systémique, 2012. J. Éditorial / Revue du rhumatisme. Vol.79, p.183-186.

**Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P** (1994). Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. Journal de Pharmacie de Belgique 4, 462–468.

**Bankova, V.,** (2005b). Recent trends and important developments in propolis research. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2, 29–32.

**Bankova, V., Popova, M. and Trusheva, B.** (2007) Plant Origin of Propolis: Latest Developments and Importance for Research and Medicinal Use, In: Marghitas, L.A. and Dezmirean, D., Eds., Apicultura-De la stiinta la agribusiness si apiterapie, Editura Academic Pres, Cluj Napoca, 40-46.

**Banskota, A., H., Tezuka, Y., Adnyana, I., K., Ishii, E., Midorikawa, K., Matsushige, K., Kadota, S.,** (2001b). Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. Phytomedicine, 8 (1), 16-23.

**Barnes, P. J.**(1998).Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. Clinical science, 94(6) ,557-572

**Barros, L., Cabrita, L., Boas, M.V., Caralho, A.M., Ferreira, I.C.F.R.** chemical, biochemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidant activity of wilds. Food chemistry, 2001, vol. 127, n°4, pp.429-433.

**Basim, E., Basim, H., Ozcan, M.,** (2006). Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. Journal of Food Process Engineering, 77, 992-996.

**Bernard Weill, Frédéric Batteux.** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bibliothèque Royale Albert. Bruxelles 2003. Page : 12

**Berset C.** Antioxydants phénoliques-Structures, propriétés, sources végétales. In «Les polyphénols en agroalimentaire ». 2006, Ed. Lavoisier, p. 01-27. ISBN 2-7430-0809

**Blank U. et Vitte J.** Les médiateurs du mastocyte. Rev Fr Allergol (2014).

**Bogdanov, S.,** (2016). Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review, Bee Product Science, 6.

**Boizot N. et Charpentier J.P.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, 2006.

**Bonnaillie C., Salacs M., Vassilova E., et Saykova L.** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*), 2012. J. Revue de génie industriel. Vol. 7, P. 35-45.

**Bonvehí, J.; Gutiérrez, A.** Antioxidant Activity and Total Phenolics of Propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). Journal of the American Oil Chemists' Society 2011, 88, 1387–1395.

**BOUYOUCHEF Hanane.** AIT-IDIR Narimane. Etude de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, des extraits des feuilles et des écorces des racines de Pistacia lentiscus L. sur la stabilité membranaire du globule rouge. 2016. Université A.MIRA de Bejaia

**Boyanova, L., Gergova, G., Nikolov, R., Derejian, S., Lazarova, E., Katsarov, N., Mitov, I., Krastev, Z.,** (2005). Activity of Bulgarian propolis against Helicobacter pylori strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. Journal of Medical Microbiology, 54, 481-483.

**Burdock, G. A** (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food and Chemical Toxicology 36, 347-363.

**Challem, J** (1995). Medical Journal Document Value of Bee Propolis, Honey and Royal Jelly. The nutrition reporter.

**Chandra S., Chatterjee P., Dey P. and Bhattacharya S.** Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein, 2012. J. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. P. 178-180.

**Charles N Serhan, Peter A. Ward and Derek W Gilroy** (2010). Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press, 2-3.

**Charpentier B.- Hamon F.- Lorleac H. – Harlay A. – Huard A. – Ridoux L. et Chansallé S.**(2004). Guide du préparateur en pharmacie, 2ème Edition, Paris, Maloine, pp:40.

**Chatterjee P., Chandra S., Dey P. et Bhattacharya S.** Evaluation of anti inflammatory effects of green tea and black tea: A comparative *in vitro* study, 2012. J. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research Apr-Jun. Vol. 3, p. 136-138.

**Chen, Y.J., Huang, A.C., Chang, H.H., Liao, H.F., Jiang, C.M., Lai, L.Y., Chan, J.T.,** (2009). Caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant from propolis, protects peripheral blood mononuclear cells of competitive cyclists against hyperthermal stress. Journal of Food Science, 74, H162-167.

**Cherbal A., Kebieche M., Madani k. and El-Adawi H.** Extraction and Valorisation of Phenolic Compounds of Laeves of Algerian *Pistacia lentiscus*, 2012. J. Asian Jornal of plant sciences. P. 1-6.

**CUSHNIE TP et LAMB AJ.** Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents 2005; 26 (5):343-356.

**DANDIYA P.C., DOBROWOLSKI J.W., NAQUI S.A.H., SHARMA K., SHAUKAT A.S., VOHORA S.B.** Antibacterial, antifungal, antiameobic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products, Journal og Ethnopharmacology 35, Elsevier Scientific Publishers, Ireland, 1991.

**Dangoumau, J., Moore, n., Molimard, m., Fourier-r a, l. K., Haramburu, f., Miremont-salame, g., et Titier, k.** (2006). Pharmacologie générale. Copyright SBN.574p.

**David, E., B., DE Carvalho, T., B., Boni De Oliveira, C., M., CoradiI, S., T., Sforcin, J.,M., Guimaraes, S.,** (2012). Characterisation of protease activity in extracellular products secreted by *Giardia duodenalis* trophozoites treated with propolis. Natural Product Research, 26 (4), 370-374.

**David, E., B., DE Carvalho, T., B., Boni De Oliveira, C., M., CoradiI, S., T., Sforcin, J.,M., Guimaraes, S.,** (2012). Characterisation of protease activity in extracellular products secreted by *Giardia duodenalis* trophozoites treated with propolis. Natural Product Research, 26 (4), 370-374.

**De Almeida, E. C., Menezes, H** (2002). Anti-inflammatory activity of propolis extract: A review. J of Venomous Animal and Toxins 8, 191-212.

**Demareta J., Monnereta G. et Venet F.** Altérations phénotypiques et fonctionnelles des polynucléaires neutrophiles au cours des états septiques sévères, 2014. J. Revue Francophone des Laboratoires. N°C462, P. 65-71.

**Di Carlo G, Maffia P, Russo A, Maiello FM, .** Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. Fitoterapia. 2002;73 Suppl 1:S38–43.

**Dimov, V., Ivanovska, N., Bankova, V., Popov, S.,** (1992). Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against Gram- negative infections and adjuvant effect of the watersoluble derivative. Vaccine, 10, 817-823.

**DOBROWSKI JW, VOHORA SB, SHARMA K et coll.** Antibacterial, antifungal, antiameobic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. J Ethnopharmacol 1991: 35 (1): 77-82.

**DONADIEU Y.** *la propolis. Paris : Dangles, 2008.*

**Fadok, V. A. Bratton, D. L., Konowal, A., Freed, P. W., Westcott, J. Y., et Henson, P. M.** (1998). Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest*, 101:890–898.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly Ch.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, 2008. *J. C. R. Biologies*. Vol. 331, p. 372-379.

**Ferhoum Fatiha** .Analyse physico-chimiques de la propolis selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*).2009-2010.pages :14.15.

**Ferhoum Fatiha**. 2010. Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*apis mellifica intermissa* et *apis mellifica sahariensis*). Univ M'hamed Bougara, Boumerdès.

**Françoise Souvager** 2012..Les produits de la ruche et la santé humaine .conférence donnée à la salle de Pétrarque de Montpellier, France. 2012.page 12.

**Frenzel L. et Hermine O.** Mastocytes et inflammation, 2013. *J. Revue du rhumatisme*. Vol. 80, p. 111-115.

**G.A. Burdock**, *Food Chem. Toxicol.* 36 (1998) 347-363.

**Genetet N.** immunologie, 1997. 3<sup>ème</sup> édition. Chapitre 6, Les systèmes non spécifiques de défense, la réaction inflammatoire et les autres moyens. 75006 paris. p. 221-230. ISBN : 2-7430-0158-5.

**Gharbi M. (2011).** Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine-pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I, pp. 221

**Ghisalberti, E. L** (1979). Propolis a review. *Bee Wold* 60,59-84.

**Gilles Bouvenot, Charles Caulin** .Guide du bon usage du médicament. Lavoisier, Paris, 2012 .page: 541.

**Gokhale, A. B., Damre, A. S., Kulkarni, K. R., et Saraf, M. N.** (2002).Preliminary evaluation of anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *S. lappa*, *A. speciosa* and *A. aspera*. *Phytomedicine*, 9(5), 433-437.

**Govindappa M., Naga Sravya S., Poojashri M.N., Sadananda T.S., Chandrappa C. P., Santoyo G., Sharanappa P. and Anil Kumar N.V.** Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-

inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc, October 2011. J. Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 5(24), p. 5718-5729.

**Govindappa M., Naga Sravya S., Poojashri M.N., Sadananda T.S., Chandrappa C. P., Santoyo G., Sharanappa P. and Anil Kumar N.V.** Antimicrobial, antioxidant and *in vitro* anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc, October 2011. J. Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 5(24), p. 5718-5729.

**Grange, J.M., Davey, R.W.,** (1990). Antibacterial properties of propolis (bee glue).Journal of the Royal Society of Medicine, 83 (3), 159-160.

**Grant N.H., Album H.E and Kryzanasuskas C.** Stabilization of serum albumin by Anti-inflammatory drugs, 1970. J. Biochemical Pharmacology. Vol. 19(3), p. 715-722.

**Gressler, L., T., Da Silva, A., S., Machado, G., Dalla Rosa, L., Dorneles, F., Gressler, L.,T., Oliveira, M., S., Zanette, R., A., De Vargas, A., C., Monteiro, S., G.,** (2012). Susceptibility of *Trypanosoma evansi* to propolis extract *in vitro* and in experimentally infected rats. Research in Veterinary Science, 93 (3), 1314-1317.

**Hameed, B. H., et El-Khaiary, M. I.** (2008). Equilibrium, kinetics and mechanism of malachite green adsorption on activated carbon prepared from bamboo by K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> activation and subsequent gasification with CO<sub>2</sub>. Journal of Hazardous Materials, 157(2-3):344-351

**Hegazi, A. G** 1997. Propolis an overview. International Symposium on Apitherapy Cairo 8- 9th Egypt.

**Henrotin Y., Deby-Dupont G. et Reginster J.Y.** les médiateurs biochimiques de l'inflammation, 2001. J. Rev Med Liege. Vol. 56, n°C6, p. 433-442.

**Hidaka S, Okamoto Y, Ishiyama K, Hashimoto K.** Inhibition of the formation of oral calcium phosphate precipitates: the possible effects of certain honeybee products. J Periodontal Res. 2008;43(4):450–8

**Higashi, K. O, De Castro, S. L** (1995). Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. J. Ethnopharmacology 46, 55-8

**Hou C., Kirchner, T., et Singer, M.** (2004). In vivo activity of phospholipase C inhibitor in chronic and acute inflammatory reactions. J. Pharmacology Exp. Therapeutics, 309: 609-704.

**Hrytsenko, V. I, Tyjhonov, O., Pryakhin, R** (1977). Study on the polysaccharide preparation propolis. Farmatseytychnyi Zhurnal 32, 92-93.

**Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C.** Effects of propolis on dental caries in rats. Caries Res. 1991;25(5):347–51.



**Ivanovska, N., Stefanova, Z., Valeva, V., Dimov, V., Bankova, V., and Popov, S., (1993),** Immunomodulatory action of lysine derivatives of cinnamic acid. In: Immunotherapy of Infections (K. N. Masihi, ed.). Marcel Dekker Inc, New York, USA, 177-182.

**K. Ghedira, P. Goetz , R. Le Jeune.** la Propolis. Phytothérapie .France,(2009).page: 100–101.

**Kar B., Kumar R.S., Karmakar L., Narayan Dola N., Bala A., Mazumder U.K. and Hadar P.K.** Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves, 2012. J. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. P. 976-980.

**Kar B., Kumar R.S., Karmakar L., Narayan Dola N., Bala A., Mazumder U.K. and Hadar P.K.** Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves, 2012. J. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. P. 976-980.

**Kimoto, T., Arai, S, Kohguchi, M., (1998).** Apoptosis and suppression of tumor growth by artemisinine C extracted from Brazilian propolis. Cancer Detection and Prevention, 22, 506-515.

**KIRKIACHARIAN Serge.** Guide de chimie médicinale et médicaments Lavoisier, Paris,2010.page : 49.

**Klebanoff, S. J., Gallin, M. G., et Snyderman, R. (1992).** Oxygen metabolites from phagocytes. Inflammation: basic, principles and clinical correlates. New York Raven Press, 541–588.

**Krell, R (1996).** Value-Added products from beekeeping. FAO Agricultural services. Bulletin, n0 124.

**KUJUMGIEV A, TSVETKOVA I, SERKEDIEVE Y et coll.** Antibacterial antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J Ethnopharmacol 1999; 64 (3): 234-240.

**Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., S., Chritov, R; Popov, S.,(1999).** Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of Ethnopharmacology, 64 (3), 235-240.

**Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., et Mitchell, R. (2007).** Robbins Basic Pathology. 8th Edition, 20-60.

**Kumazawa, S.; Ham asaka, T.; Nakayama, T.** Antioxidant Activity of Propolis of Various Geographic Origins. Food Chemistry 2004 , 84, 329–339.

**Kuo HC, Kuo WH, Lee YJ, Lin WL, Chou FP, Tseng TH.** Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on the growth of C6 glioma cells in vitro and in vivo. Cancer Lett. 2006;234(2):199–208.

- Laskar, R. A.; Sk, I.; Roy, N.; Begum, N. A.** Antioxidant Activity of Indian Propolis and Chemical Constituents. *Food Chemistry* **2010**, *122*, 233–237.
- Lavie, P (1975).** La propolis. Edition: Apimondia. Bucharest.
- Le Bars D.et Adam F.** Nocicepteurs et médiateurs dans la douleur aiguë inflammatoire, 2002. *J. Ann Fr Anesth Réanim.* Vol. 21, p. 315-35.
- Lee, M., & Feldman,M.** (1997). The aging stomach: implications for NSAID gastropathy. *Gut*, 41(4), 425-426.
- Lejeune. B. ; Pourrat, A. et Dehmouche. H.** 1988. Propolis utilisation en dermocosmétique. *Parfums, Cosmétiques, Aromes* : 73-77.
- Létuvé S.** Les médiateurs de l'inflammation allergique : acteurs de la fibrogenèse tissulaire, 2013. *J. Revue française d'allergologie.* Vol. 53, p.628-638.
- Lydyard P.,Whelan A. et Michael F.** Immunologie, 2002. BERTI éditions, Section I : la réponse inflammatoire aiguë, p.140-143.
- Mahmoudi S., Khali M., et Mahmoudi N.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.), 2013. *J. Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques.* N°09, P. 35-40.
- MALAISE, M** .Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Résultats de recherche. *Revue Médicale de Liège, Belgique*, 1996. Page : 124. .
- Marcucci, M.C.,** (1995). Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83-99.
- Marion AMIGOU. (2016).**Les résidus de médicaments vétérinaires et des pesticides dans les produits apicoles. (Miel, Pollen, Gelée Royale et Propolis).page :40.
- Marliyah M. and Ananthi T.** In vitro anti-inflammatory activity of seed extract of Zea Mays (L.), 2015. *J. Journal of Global Biosciences.* Vol. 4, n°5, p. 2168-2173
- Marsolais,D., et Frenette, J.** (2005).Inflammation et réparation tendineuse. . *M/S : médecine sciences*, 21(2), 181–186
- Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N., Colder, P.C.,** (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effect on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 52, 239-246.
- Missima, F., Pagliarone, A.C., Orsatti, C.L., Araújo Jr., J.P., Sforcin, J.M., 2010.** Propolis effect on Th1/Th2 cytokines' expression and production by melanoma-bearing mice submitted to stress. *Phytotherapy Research* 24, 1501-1507.

**Missima, F., Pagliarone, A.C., Orsatti, C.L., Sforcin, J.M.,** (2009). The effect of propolis on pro-inflammatory cytokines produced by melanoma-bearing mice submitted to chronic stress. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1, 11-15

**Mizuno. M. ; linuma. M ; et Kato. H.** 1987. Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*, 15 (2): 20-28.

**MURAD JM, CALVI SA, SOARES AM et coll.** Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophage against *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Ethnopharmacol* 2002; 79 (3): 331-334.

**N. Cardinault, M.-O. Cayeux, P.** La propolis : origine, composition et propriétés.. *Percie du Sert. Phytothérapie.france.2012* page :298.

**Naczk M., Shahidi F.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, 2006. *J. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 41, p. 1523-1542.

**Naczk., Mand F., and Smidi.** Exfraction and analysis of phenolics in food, 2004. *J. Chromatogr. A*. Vol. 1054, p. 95-111.

**Nader El Housseini** .2013.Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. *Mniversité de Mantes.2013*.page :21.

**NADER EL HOUSSEINI.** Interet et application cliniques de la propolis en medicine Bucco-Dentaire. *Université de NANTES. 2013*. Page: 29.

**Nathan, C.** (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420: 846-852.

**Onlen, Y., Duran, N., Atik, E., Savas, L., Altug, E., Yakan, S., Aslantas, O.,** (2007). Antibacterial activity of propolis against MRSA and synergism with topical mupirocin. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 13 (7), 713-718.

**Orsi, R.O., Funari, S.R.C., Barbattini, R., Giovani, C., Frilli, F., Sforcin, J.M., Bankova, V.,** (2006). Radionuclides in honeybee propolis (*Apis mellifera* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 76, 637-640.

**Orsolich N, Basic I.** Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. *J Ethnopharmacol*. 2003;84(2-3):265-73

**Othman A., Ismail A., Abdul Ghani N. and Adenan I.** Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans, 2007. *J. Food Chemistry*. Vol. 100, p. 1523-1530.

**Owen P.L.et Johns T.** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout, 1999. *J. Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 64, p. 149-160.

**Ozcan, M., Sagdic, O., Ozcan, G.,** (2004). Antibacterial effects of Turkish pollen and propolis extracts at different concentrations 171-464. *Archiv fur Lebensmittelhygiene*, 55 (2), 39-40.

- Pasquier, C.**(1995).Stress oxydatif et inflammation. Revue française des laboratoires,N° 276.
- Pepeljnjak, S., Kosalec, I.,** (2004). Galangin expresses bactericidal activity against multiple-resistant bacteria: MRSA, Enterococcus spp. and Pseudomonas aeruginosa. *FEMS Microbiology Letters*, 240 (1), 111-116.
- Popovici, C.; Saykova, I.; Tylkowski, B.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel 2009 , 4, 25–39.
- R. KRELL.,** 1966. Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United nation Rone. chapitre5.
- Rahmani S., Belboukhari N., Sekkoum K. et Cheriti A.** Evaluation de l'activité anti inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei (Plumbaginacea)*, 2016. J. Algerian journal of arid environment. Vol. 6, n°C1, p. 80-86.
- Raymondjean M.** les mécanismes de l'inflammation périphérique, 2007. J. revue francophone des laboratoires. N°C389, P. 21-28.
- Raynaud,P.**(2008).Anatomie pathologie et inflammation conception d'ensemble. Anat.patho,1-5.
- Rebiai, A.; Lanez, T.; Belfar, M. L.** *In Vitro* Evaluation of Antioxidant Capacity of Algerian Propolis by Spectrophotometrical and Electrochemical Assays. *I nternational Journal of Pharmacology* 2011, 7,113–118.
- Reshma, Arun K.P. and Brindha P.** *in vitro* Anti-inflammatory, Antioxidant and Nephroprotective Studies on Leaves of *aegle marmelos* and *ocimum sanctum*, 2014. J. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Recharch. Vol.7, p. 121-129.
- Revillard J.P.** Immunologie, 2001. 4<sup>ème</sup> édition, chapitre 14, Espagne. p. 219-234.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudrand P. et Ribéreau-Gayon P.** Composés phénoliques. In «Traité d'œnologie Sciences et techniques du vin». Ed. Dunod, 1982. p. 477-519. ISBN: 2-04-015458-2.
- Ribéreau-Gayon P.** Notion générale sur les composés phénoliques. In «Les composés phénoliques des végétaux». Ed. Dunod, 1968. P. 1-27.
- Roit L., Brostoff J., et Male D.** Immunologie. 3<sup>ème</sup> édition. Belgique, 2002. p. 5-65.
- Rossi, A.; Ligresti, A.; Longo, R.; Russo, A.; Borrelli, F.; Sautebin, L.** The I nhibitory Effect of Propolis and Caffeic Acid Phenethyl Ester on Cyclooxygenase Activity in J774 Macrophages. *Phytomedicine* 2002 , 9, 530–535

**Rostana O., Tarteia K., et Amé-Thomasa P.** Le polynucléaire basophile: nouveautés en physiopathologie et implications diagnostiques, 2014. J. Revue Francophone des laboratoires. N°462, p. 95-105.

**Rousselet M.C., Vignaud J.M., Hofman P. et Chatelet F.P.** Inflammation et pathologie inflammatoire, 2005. Chapitre 3, p. 1-58.

**Rousselet, M., Vignaud, J. M., Hofman, P., et Chatelet, F. P.** (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. 1-57.

**Savka, M., Dailey, L., Popova, M., Mihaylova, R., Merritt, B., Masek, M., Le, P., Nor, S., Ahmad, M., Hudson, H., Bankova, V.,** (2015). Chemical Composition and Disruption of Quorum Sensing Signaling in Geographically Diverse United States Propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2015, Article ID 472593, 10 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/472593>.

**Scazzocchio, F., D'auria, F., D., ALESSANDRINI, D., PANTANELLA, F.,** (2006). Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. Microbiological Research, 161 (4), 327-333.

**Segueni Narimane** .Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis.. Université Mentouri de Constantine. 29/05/2011. Page 18.

**Seignalet, j.** (2004). l'alimentation ou la troisième médecine.3. Paris ; François-Xavier de Guibert. 658p.

**Sforcin, J.M.,** (2007). Propolis and the immune system: a review. Journal of Ethnopharmacology, 113, 1-14.

**Silici, S., Kutluca, S.,** (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. Journal of Ethnopharmacology, 99, 69-73.

**Simona Martinotti, Elia Ranzato.** Propolis: a new frontier for wound healing. Martinotti and Ranzato Burns & Trauma (2015) 3:9 .05.

**Speciale, A., Costanzo, R., Puglisi, S., Musumeci, R., Catania, M., R., Caccamo, F., Iauk, L** (2006). Antibacterial activity of Propolis and its active principles alone and in combination with macrolides, beta-lactams and fluoroquinolones against microorganisms responsible for respiratory infections. Journal of Chemotherapy, 18 (2), 164-171.

**Spignon G., Tramelli L. and De Faveri D.M.** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics, 2007. J. Journal of Food Engineering. Vol. 81, p. 200-208.

**Sree Kumari C., Yasmin N., Raffiq Hussain M. and Babuselvam M.** *in vitro* anti-inflammatory and anti-arthritic property of *rhizopora mucronata* leaves, 2015. J. International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR). Vol. 6, p. 482-485.

**Stanojević L., Stanojević M., Nikolić V., Nikolić L., Ristić D., Čanadanovic-Brunet J. and Tumbas V.** Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Hieracium pilosella* L, 2009. J. Extracts. Sensors. Vol. 9, p. 5702-5714

**Stepanovic, S., Antic, N., Dakic, L., Svabic-Vlahovic, M.,** (2003). *In vitro* antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. Microbiological Research, 158 (4), 353-357.

**Stevens, A., Lowe, J., et Young, B.** (2004). Anatomie pathologique. De Boeck Supérieur.

**Tossoun, Z.A., Rashed, A., Hegazi, A.G.,** (1997). Honey and propolis as management of chronic skin ulcers. International Symposium on Apitherapy, Cairo 8-9th, March.

**Uzel, A., Sorkun, K., Oncag, O., Cogulu, D., Gencay, M., Salih, B.,** (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiological Research, 160 (2), 189-195.

**Valcic, S., Montenegro, G., Mujica, A. M., Avila, G., Franzblan, S., Singh, M., Maiese, W. M., Timmerman, B. N** (1999). Phytochemical, Morphological and Biological investigation of propolis from Central Chile. Z.Naturforsch 54c,406-416.

**Varoni EM, Lodi G, Sardella A, Carrassi A, Iriti M.** Plant polyphenols and oral health: old phytochemicals for new fields. Curr Med Chem. 2012;19(11):1706–20

**Vaubourdolle, m.**(2007). Medicaments.france : Wolters Kluwer France.

**Velazquez, C.; Navarro, M.; Acosta, A.; Angulo, A.; Dominguez, Z.; Robles, R.; Robles-Zepeda, R.; Lugo, E.; Goycoolea, F. M.; Velazquez, E. F.; Astiazaran, H.; Hernandez, J.** Antibacterial and Free-radical Scavenging Activities of Sonoran Propolis. Journal of Applied Microbiology 2007, 103, 1747–1756.

**Victorino, F., R., Franco, S., L., Svidzinski, T., I., E., Avila-Campos, M., J., Cuman, R., K., N., Hidalgo, M., M., Bersani-Amado, C., A.,** (2007). Pharmacological evaluation of Propolis solutions for endodontic use. Pharmaceutical Biology, 45(9), 721-727.

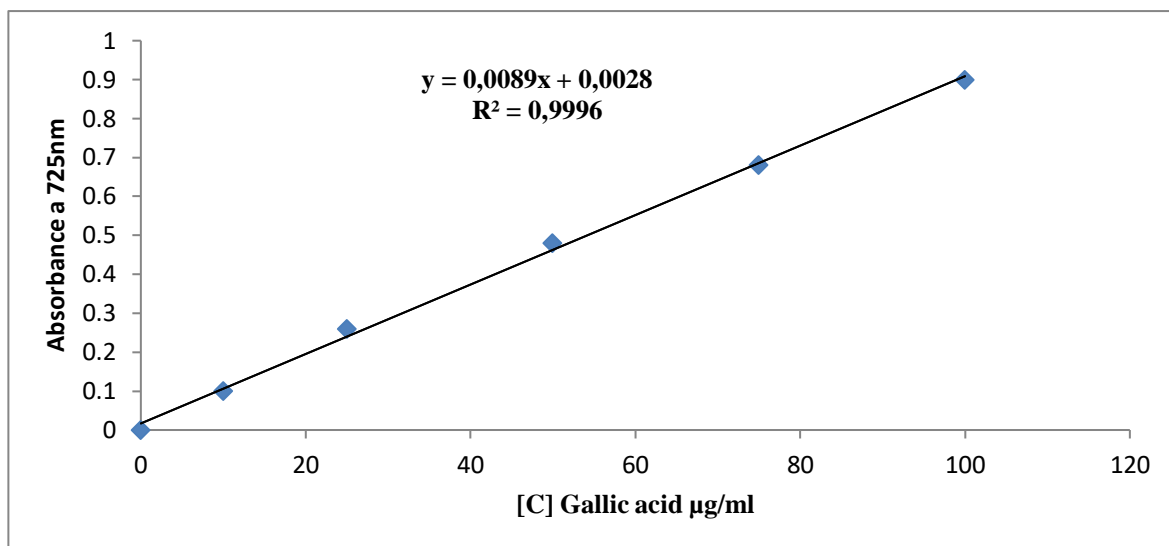
**Ward, C., Dransfield, I., Murray, J., Farrow, S. N., Haslett, C., et Rossi, A. G.** (2002). Prostaglandin D2 and its metabolites induce caspase-dependent granulocyte apoptosis that is mediated via inhibition of I $\kappa$ B $\alpha$  degradation using a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ -independent mechanism. The Journal of Immunology, 168(12) : 6232-6243

**Weill,B.,Batteux,F.,etDhainaut,J.**(2003).Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.

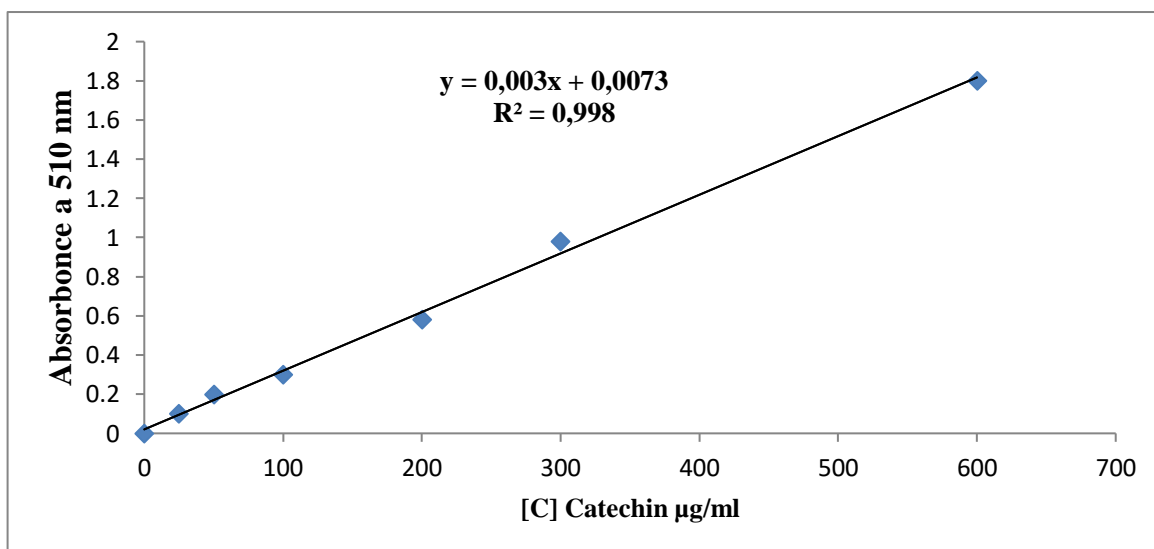
**Yang, H., Y., Chang, C., M., Chen, Y., W., Chou, C., C.**(2006). Inhibitory effect of propolis extract on the growth of *Listeria monocytogenes* and the mutagenicity of 4-nitroquinoline-N-oxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (6), 937-943.

# Annexes





**Annexe 01** : courbe d'étalonnage des polyphénols [DO = f (concentration en acide gallique)]



**Annexe 02** : courbe d'étalonnage des flavonoïdes [DO = f (concentration en catechine)]

### Annexe 03 :

#### Préparation des réactifs Alsevers solution

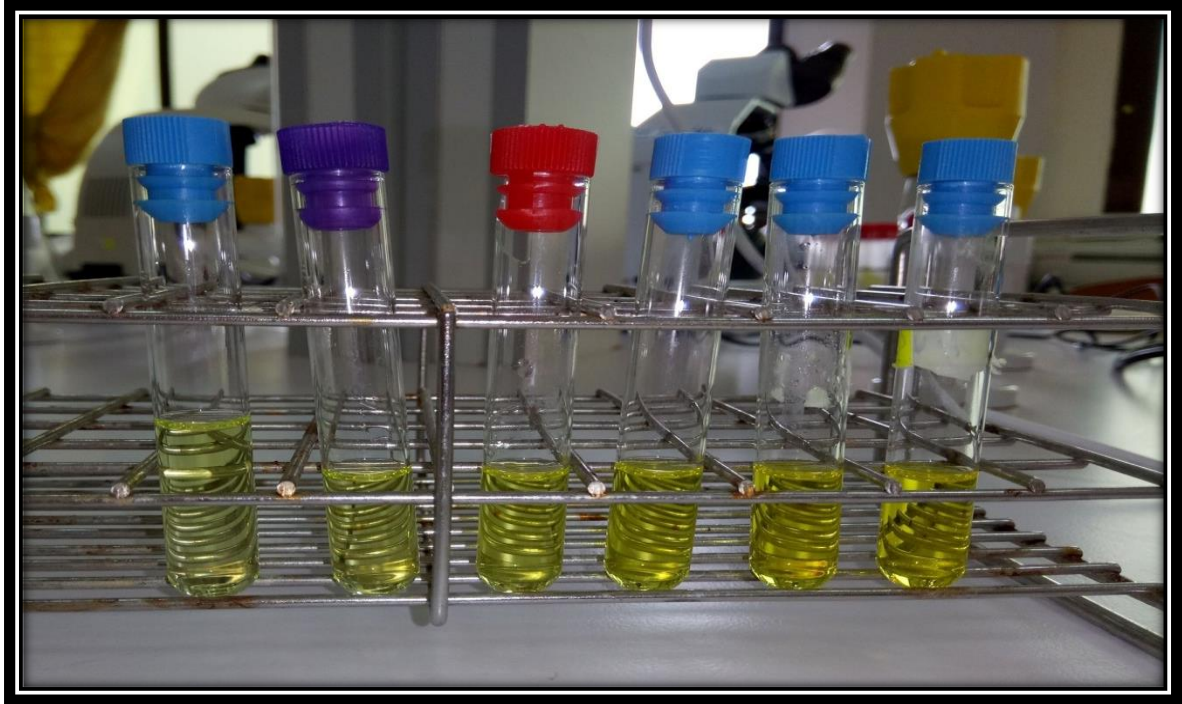
2 g dextrose, 0,8 g citrate de sodium, 0,05 g d'acide citrique et 0,42 g chlorure de sodium ont été dissous dans l'eau distillée. Le volume final a été préparé jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

• **Saline hypotonique** : 0,36 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

• **Saline isotonique** : 0,85 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

**Tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,15 M)** : 2,38 g d'hydrogène phosphatedisodium, 0,19 g de dihydrogène phosphate de potassium et 8 g chlorure de sodium ont été dissous dans 100 ml d'eau distillée.





**Annexe 05** : mélange de l'extraire hydro-éthanolique de la propolis avec le chlorure d'aluminium



**Annexe 06** : les mélanges d'essai pour Dosage de l'activité de stabilisation de la membrane après la centrifugation