

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. M. OULHADJ - Bouira  
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées  
Département de Génie des Procédés



# Mémoire

Présenté par

Houssam ABBAD  
Sofiane OULDAMER

Pour l'obtention du diplôme de

# MASTER

Filière: GENIE DES PROCEDES  
Spécialité : GENIE DE PHARMACEUTIQUE

Contribution à l'étude des effets antioxydants  
d'extrait éthanolique de propolis de la Wilaya de  
Sétif

Soutenu le 22 / 06 / 2016

Devant le jury composé de :

Mme L. SEID	Maitre Conférence B	UAMO, Bouira	Présidente
Mme R.GUEDOUARI	Maitre-Assistant A	UAMO, Bouira	Examinatrice
Mme E. SOLTANI	Maitre-Assistant B	UAMO, Bouira	Promotrice

## REMERCIEMENTS

*Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH qui nous a donné la force afin de l'accomplir.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre promotrice, Madame **EI-khamsa SOLTANI**, qui a su, à sa façon, nous conseiller et nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions vivement les membres de ce jury:*

- *Madame **L. SEID** nous sommes très honorés que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assurée de notre profonde gratitude.*
- *Madame **R.GUEDOUARI**, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.*

*Nous remercions également madame **K. ZAIM** pour sa contribution et son aide concernant la réalisation des analyses sur la propolis et tous qui nous ont accueillis dans le **laboratoire de biochimie appliquée de Sétif**, pour les conditions techniques mises à notre disposition afin de réaliser des différents tests sur notre extrait.*

*Un immense merci au **personnel du laboratoire des sciences et des sciences appliquée du pôle universitaire de Bouira**.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à tout le **personnel du département de Génie des procédés du pôle universitaire de Bouira**.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.*

## DEDICACE

**J**e dédie ce mémoire :

**A** mes parents

**A** mes sœurs et frères

**A** mes cousins et cousines, mes tantes et mes oncles

**A** tous mes amis(es)



**PARTIE BIBLIOGRAPHIE**

**CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA PROPOLIS**

**Tableau II-1** : Origine botanique de la propolis.....22

**PARTIE EXPERIMENTALE**

**CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES & RESULTATS ET DISCUSSION**

**Tableau III-1** : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour a réalisation de la courbe  
d'étalonnage des polyphénols totaux.....42

**Tableau III-2** : Préparation des dilutions de quercetine pour a réalisation de la courbe  
d'étalonnage des flavonoïdes totaux.....45

---

## PARTIE BIBLIOGRAPHIE

### CHAPITRE I : LES POLYPHENOLS ET LES ANTIOXYDANTS

<b>Figure I-1</b> : Structure du noyau phénol.....	3
<b>Figure I-2</b> : Principaux acides hydroxycinnamiques.....	4
<b>Figure I-3</b> : Principaux acides hydroxybenzoïques.....	5
<b>Figure I-4</b> : Gaïacol.....	5
<b>Figure I-5</b> : Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes.....	6
<b>Figure I-6</b> : Principaux types de coumarines.....	6
<b>Figure I-7</b> : Exemples des structures chimiques des lignanes. (A) unité de phénylpropane C6-C3. (B) sauriol A (lien $\beta$ - $\beta'$ ). (C) rufescidride.....	7
<b>Figure I-8</b> : Exemples des structures chimiques des quinones.....	7
<b>Figure I-9</b> : Structure de base d'un flavonoïde.....	8
<b>Figure I-10</b> : Des exemples des structures chimiques des flavones.....	8
<b>Figure I-11</b> : Des exemples des structures chimiques des flavonols.....	9
<b>Figure I-12</b> : Des exemples des structures chimiques des flavanones.....	9
<b>Figure I-13</b> : Deux exemples des structures chimiques des flavan-3-ols.....	10
<b>Figure I-14</b> : Numérotation du squelette chalcone.....	10
<b>Figure I-15</b> : Deux exemples des structures chimiques des anthocyanidines.....	11
<b>Figure I-16</b> : Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b).....	11
<b>Figure I-17</b> : Deux exemples des structures chimiques des tannins hydrolysables.....	12
<b>Figure I-18</b> : La structure chimique des tannins condensés.....	12
<b>Figure I-19</b> : Schéma des différentes formes des radicaux libres.....	13
<b>Figure I-20</b> : Schéma général de biodisponibilité des polyphénols.....	17
<b>Figure I-21</b> : Schéma illustre les trois mécanismes.....	18
<b>CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA PROPOLIS</b>	
<b>Figure II-1</b> : La récolte de la propolis par l'abeille.....	25

---

<b>Figure II-2</b> : Butineuses de propolis dans la ruche.....	25
<b>Figure II-3</b> : Récolte de la propolis par l'homme au niveau de la ruche.....	26
<b>Figure II-4</b> : Grille en inox.....	27
<b>Figure II-5</b> : Grille en plastique.....	27
<b>Figure II-6</b> : Propolis pure.....	27
<b>Figure II-7</b> : Différentes couleurs de propolis.....	28
<b>Figure II-8</b> : Composition moyenne de la propolis.....	30
<b>Figure II-9</b> : Les abeilles réduisent le trou de vol avec de la propolis.....	34

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES & RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>Figure III-1</b> : Protocole de préparation de l'extrait éthanolique par macération.....	40
<b>Figure III-2</b> : Organigramme représentant le dosage des polyphénols totaux.....	43
<b>Figure III-3</b> : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	44
<b>Figure III-4</b> : Organigramme représentant le dosage des flavonoïdes dans l'extrait de propolis.....	45
<b>Figure III-5</b> : Réduction du radical libre DPPH*en DPPH.....	46
<b>Figure III-6</b> : Organigramme représentant les étapes de teste DPPH.....	47
<b>Figure III-7</b> : Les électrodes utilisées dans cette étude: (A) électrode de travail en carbone vitreux, (B) électrode de référence au calomel saturée, (C) contre-électrodes platine.....	48
<b>Figure III-8</b> : Potentiostat galvanostast ZRA GAMRY reference 3000.....	49
<b>Figure III-9</b> : Droite d'étalonnage des polyphénols totaux d'extrait.....	52
<b>Figure III-10</b> : Droite d'étalonnage des flavonoïdes totaux d'extrait.....	53
<b>Figure III-11</b> : Activité antioxydante d'extrait éthanolique de propolis.....	54
<b>Figure III-12</b> : Activité antioxydante du BHT.....	55

---

**Figure III-13** : Voltamétrie linéaire d'une solution aqueuse contenant 0.1 M de KCl et 500mg/ml de propolis à Vb (Vitesse de balayage) = 50 mV/s sur une électrode de carbone vitreux(ET); électrode de référence (ER); électrode auxiliaire (EA) de platine.....56

# **TABLES DES MATIERES**

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIE</b>	
<b>CHAPITRE I : LES POLYPHENOLS ET LES ANTIOXYDANTS</b>	
I. Généralités sur les polyphénols.....	3
II. Classification des polyphénols.....	4
II.1. Polyphénols simples.....	4
II.A. Phénols simples et les acides phénoliques.....	4
II.1.A.a.1. Acides hydroxycinnamiques.....	4
II.1.A.a.2. Acides hydroxybenzoïques.....	5
II.1.A.a.3. Phénols simples.....	5
II.1.A.b. Les stilbènes.....	5
II.1.A.c. Les coumarines.....	6
II.1.A.d. Les lignanes.....	7
II.1.A.e. Les quinones.....	7
II.1.B. Flavonoïdes.....	7
II.1.B.a. Structure chimique et classification.....	8
II.1.B.a.1. Flavones.....	8
II.1.B.a.2. Flavonols.....	9
II.1.B.a.3. Flavanones.....	9
II.1.B.a.4. Flavanols ou flavan-3-ols.....	10
II.1.B.a.5. Chalcones.....	10
II.1.B.a.6. Anthocyanidines.....	10
II.1.C. Alcools phénoliques.....	11

---

II.2. Polyphenols complexes (tannins).....	11
II.2.A. Classification et structure.....	12
II.2.A.a.1. Tannins hydrolysables.....	12
II.2.A.a.2. Tannins condensés.....	12
III. Les antioxydants.....	13
III.1. Radicaux libres.....	13
III.1.A. Définition.....	13
III.1.B. Nature des radicaux libres.....	13
III.1.B.a. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO).....	13
III.1.B.a.1. Ion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ .....	13
III.1.B.a.2. Radical libre hydroxyle $OH^{\bullet}$ .....	14
III.1.B.a.3. Le radical hydroperoxyde $HO_2^{\bullet}$ .....	14
III.1.B.b. Espèces libres non oxygénées.....	14
III.2. Antioxydants.....	15
III.2.A. Définition.....	15
III.2.B. Classification des antioxydants.....	15
III.2.B.a. Antioxydants synthétiques.....	15
III.2.B.b. Substances synergiques.....	15
III.2.B.c. Antioxydants d'origine végétale.....	16
IV. Polyphénols en tant qu'antioxydants.....	16
IV.1. Activité antioxydant des polyphénols dans les aliments.....	16
IV.2. Pouvoir antioxydant des polyphénols chez les humains.....	17
IV.3. Mécanismes antioxydants des systèmes phénoliques.....	17

---

IV.3.A. Transfert d'atome d'hydrogène.....	17
IV.3.B. Transfert mono-électronique d'électron.....	18
IV.3.C. La chélation des métaux de transition.....	18

## **CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA PROPOLIS**

I. Introduction.....	19
II. Histoire de la propolis.....	20
III. Définition de la propolis.....	21
IV. Origine botanique de la propolis.....	22
V. Origine botanique de la propolis algérienne.....	23
VI. La récolte de la propolis.....	23
VI.1. Récolte de la propolis par les abeilles.....	23
VI.1.A. L'âge de l'abeille.....	24
VI.1.B. La race.....	24
VI.1.C. La saison.....	24
VI.1.D. Le climat (dont la température).....	24
VI.1.E. La géographie.....	25
VI.2. Récolte de la propolis par l'homme.....	25
VII. Propriétés physico-chimique de la propolis.....	28
VII.1. Propriétés physique.....	28
VII.1.A. Caractéristiques organoleptiques.....	28
VII.1.A.a. Couleur.....	28
VII.1.A.b. Saveur.....	28
VII.1.A.c. Odeur.....	28

VII.1.B. Consistance.....	28
VII.2. Propriétés chimique.....	29
VII.2.A. Solubilité.....	29
VII.2.B. Point de fusion.....	29
VII.2.C. La densité.....	29
VIII. Composition de la propolis.....	29
IX. Propriétés thérapeutiques de la propolis.....	30
IX.1. Activité antimicrobienne.....	30
IX.1.A. Action antibactérienne.....	31
IX.1.B. Action antivirale.....	31
IX.1.C. Action antifongique et antimycosique.....	31
IX.1.D. Action antiparasitaire.....	32
IX.2. Propriété antioxydante.....	32
IX.3. Propriété anticancéreux et immuno-modulatrice.....	32
IX.4. Propriété anti-inflammatoire.....	33
IX.5. Propriété anesthésique.....	33
IX.6. Propriété cicatrisant et régénératrice.....	33
IX.7. Activité antiallergique.....	33
X. Utilisation de la propolis.....	33
X.1. Utilisation de la propolis par les abeilles .....	34
X.2. Utilisation de la propolis par l’homme.....	35
X.2.A. Utilisation traditionnelle.....	35
X.2.B. Utilisation commerciale.....	35

---

X.2.C. Autre utilisation.....	35
XI. Forme galénique.....	35
XII. Conservation.....	36
XII.1. Les teintures.....	36
XII.2. Les extraits.....	36
XII.3. La lyophilisation.....	36

**PARTIE EXPERIMENTALE**

**CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES & RESULTATS ET DISCUSSION**

**MATERIEL ET METHODES**

I. Matériel et méthodes.....	38
I.1. Matériel.....	38
I.1.A. Matériel végétal.....	38
I.1.B. Matériel et équipement.....	38
I.1.B.a. Équipements.....	38
I.1.B.b. Verreries et matériel en plastique.....	38
I.1.C. Produits chimiques.....	39
II. Extraction.....	39
II.1. Extraction par le solvant.....	39
II.2. Détermination du rendement.....	41
III. Analyse chimique.....	41
III.1. Dosage des polyphénols totaux.....	41
III.1.A. Principe.....	41
III.1.B. Mode opératoire.....	41

III.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	43
III.2.A. Principe.....	43
III.2.B. Mode opératoire.....	44
III.3. Activité antioxydante.....	46
III.3.A. Test au DPPH.....	46
III.3.A.a. Principe.....	46
III.3.A.b. Mode opératoire.....	47
III.3.B. La méthode électrochimique.....	48
III.3.B.a. L'équipement.....	48
III.3.B.a.1. Matériels utilisés.....	48
III.3.B.a.2. Solutions.....	49
III.B.b. Mode opératoire.....	49

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

I. Extraction.....	51
II. Résultats de l'étude quantitative.....	51
II.1. Dosage des polyphénols totaux.....	51
II.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	52
III. Résultats des tests biologiques.....	54
III.1. Activité antioxydante.....	54
III.1.A. Test au DPPH.....	54
III.1.B. La méthode électrochimique.....	56
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>57</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>58</b>

---

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AGPI** : Acide gras polyinsaturé

**Al** : Aluminium

**BHA** : Buthylhydroxyanisol

**BHT** : Buthylhydroxytoluène

**°C** : Degré Celsius

**[C]** : Concentration

**CAPE** : Phénéthylester de l'acide caféique

**DPPH** : Le radical stable [2,2-diphényl1-1-picrylhydrazyl]

**E°** : Energie potentiel

**EAG** : Equivalent d'acide Gallique

**EC<sub>50</sub>** : La concentration en extrait de propolis nécessaire pour l'inhibition de 50 % des radicaux libres

**EQ** : Equivalent de la Quercétine

**ERO** : Espèces réactives oxygénées

**Fe<sup>2+</sup>** : Ions ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Ions ferriques

**h** : heure

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Le peroxide d'hydrogène

**HO<sub>2</sub>•** : Le radical perhydroxyle

**IFN** : Interféron

**g** : gramme

**mL** : millilitre

**mV** : millivolt

**O<sub>2</sub>** : Oxygène moléculaire

**O<sub>2</sub>•-** : Le radical superoxyde

**OH** : Hydroxyle libre

---

**OH<sup>•</sup>** : Le radical hydroxyle

**pH** : potentiel Hydrogène

**PG** : Gallate propylée

**SARM** : Stapylococcus aureus résistants à la méthicilline

**TBHQ** : Tétrabutylhydroquinone

**%** : Pourcentage

**µg** : Microgramme

**µl** : Microlitre

---

# **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION

De tout temps, l'homme a utilisé les ressources naturelles pour survivre et évoluer dans son environnement. Il a ainsi appris au fil des millénaires à récolter dans un premier temps les produits que l'abeille et ses ruches pouvaient lui fournir, avant de domestiquer ce petit animal en inventant l'apiculture. L'homme est ainsi entré dans une relation d'échanges avec l'abeille, entretenant les ruches, soignant leurs occupantes et obtenant en retour de ces services les précieux produits apicoles.

Parmi ces précieux produits apicoles, la propolis appelé les larmes des arbres. En effet, c'est une substance naturelle résineuse collectée par les abeilles soit sur des bourgeons et l'écorce de certains arbres tels que le peuplier, le chêne, l'aune, etc, soit sur des conifères, amalgamés à une sécrétion salivaire des abeilles. Elle a une odeur balsamique et une couleur variable selon ses origines végétales, elle varie du jaune claire au brun très foncé presque noir.

Très complexe, la propolis est constituée de plus de 300 constituants, dont certains encore inconnus. Ce produit est composé de matières résineuses, gommeuses et balsamiques. Sa composition, de par ses origines végétales diverses, subit des variations importantes, mais de manière constante elle contient des résines, de la cire, des baumes, mais aussi des essences et du pollen. Cette composition varie en fonction de son origine, de l'espèce d'abeille et du temps de la récolte.

Ces dernières années de nombreux travaux ce sont intéressés à la composition chimique et aux effets biologiques de cette substance. Ces travaux ont montré que cette substance est très précieuse en raison de ses propriétés antioxydantes, antibactériennes, antivirales, anticancéreux et thérapeutiques liées à sa composition en polyphénols et flavonoïdes.

A cet effet, la propolis est extensivement utilisée dans l'industrie alimentaire, la médecine, la cosmétologie et en médecine vétérinaire.

Cette étude est réalisée afin de pouvoir identifier les activités biologique d'extrait éthanolique de la propolis Algérienne (Sétif) et d'exploiter ses vertus les motivée par :

- la volonté de valoriser un sous-produit de la ruche ;
- avoir une connaissance des éléments chimiques présent dans la propolis Algérienne (Sétif), afin d'améliorer son utilisation ;
- la mise à la disposition des populations d'un produit naturel, présentant une activité thérapeutique inestimable.

Ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est répartie en deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à une étude sur les polyphénols et leurs classifications, ainsi qu'une mise au point sur les radicaux libres, les antioxydants dans la nature et leur mécanisme d'actions. Le second chapitre est consacré à une histoire, l'origine botanique et la récolte de la propolis d'abeille, ainsi que son utilisation au cours des siècles passés, ses propriétés physico-chimiques et thérapeutiques, sa composition et sa conservation.

Dans la seconde partie, nous avons décrit les méthodes et les techniques d'extraction d'échantillon de la propolis étudiée, leur rendement d'extraction, leur teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, ainsi que l'évaluation des activités antioxydants en utilisant une méthode classique, qui est la méthode du test DPPH et une nouvelle méthode qui est la méthode électrochimique en utilisant la technique de la voltampérométrie. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale et les références bibliographiques.

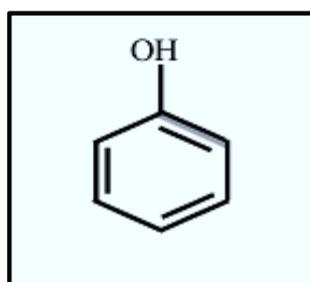
**PREMIER PARTIE**  
**PARTIE BIBLIOGRAPHIE**

# ***CHAPITRE I***

## ***LES POLYPHENOLS ET LES ANTIOXYDANTS***

## I. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau phénolique à 6 carbones auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre (OH), ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc [1].



**Figure I-1:** Structure du noyau phénol [1].

Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées [2 , 3].

Les composés phénoliques sont fortement répandus dans le règne végétal; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Les composés phénoliques représentent de 2 à 3 % de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10 % et même davantage [4].

Ces corps jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé que consomme l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E [5].

Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent

plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs et fruits [1].

## II. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes [6].

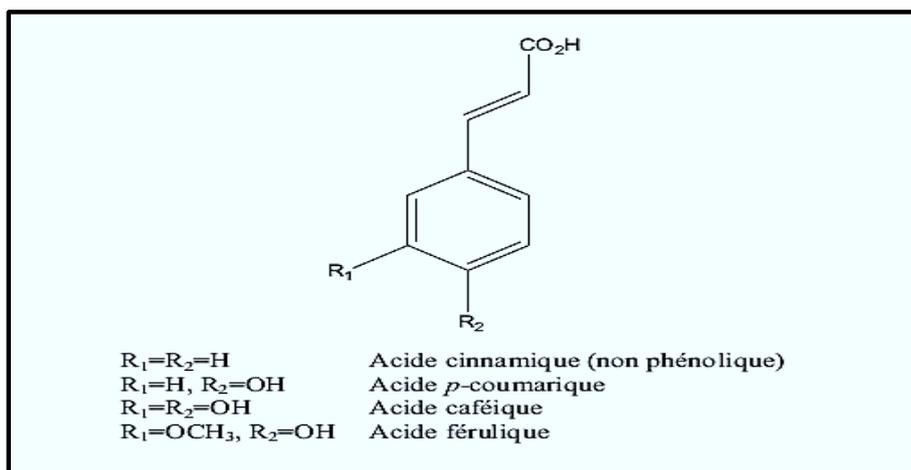
### II.1. Polyphénols simples

#### II.1.A. Phénols simples et les acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [2].

##### II.1.A.a.1. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules [3].



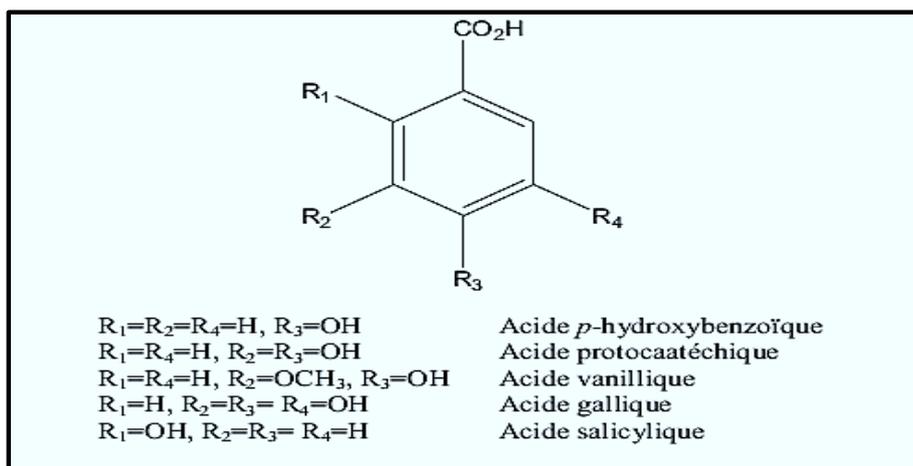
**Figure I-2** : Principaux acides hydroxycinnamiques [7].

Les acides hydroxycinnamiques sont retrouvés dans toutes les parties des fruits et des légumes, quoique les concentrations les plus élevées soient observées dans la partie externe du fruit mûr. Les laitues, les carottes, les myrtilles, les patates douces, les pommes de terre,

les pêches, le jus d'orange, les pommes, les tomates et le raisin sont les sources les plus riches en acides hydroxycinnamiques [7].

### II.1.A.a.2. Acides hydroxybenzoïques

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans la figure (I-3) [3].

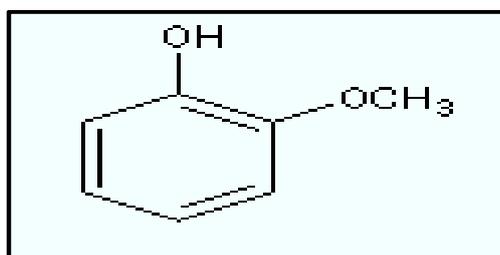


**Figure I-3** : Principaux acides hydroxybenzoïques [7].

Le thé, certains fruits, les pommes de terre sont des sources importantes des acides hydroxybenzoïques [7].

### II.1.A.a.3. Phénols simples

Tels que le catéchol, gaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...) [2].

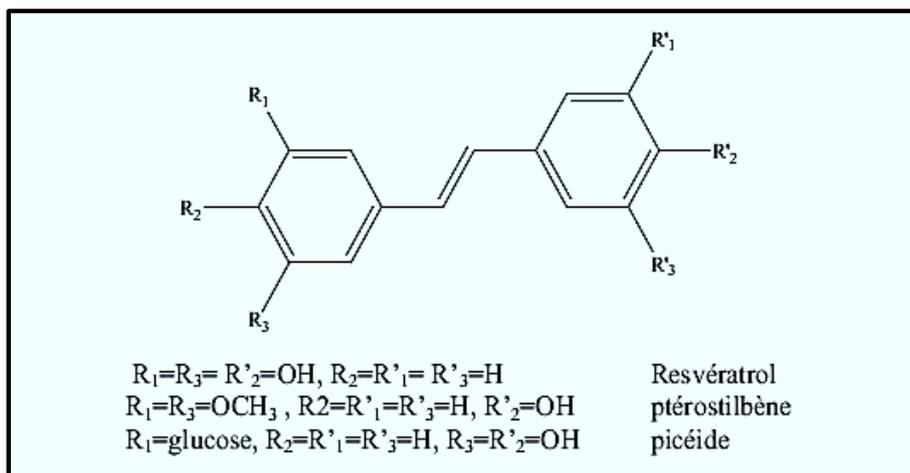


**Figure I-4**: Gaiacol [7].

### II.1.A.b. Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques naturels, contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué. Cette

particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule [8].

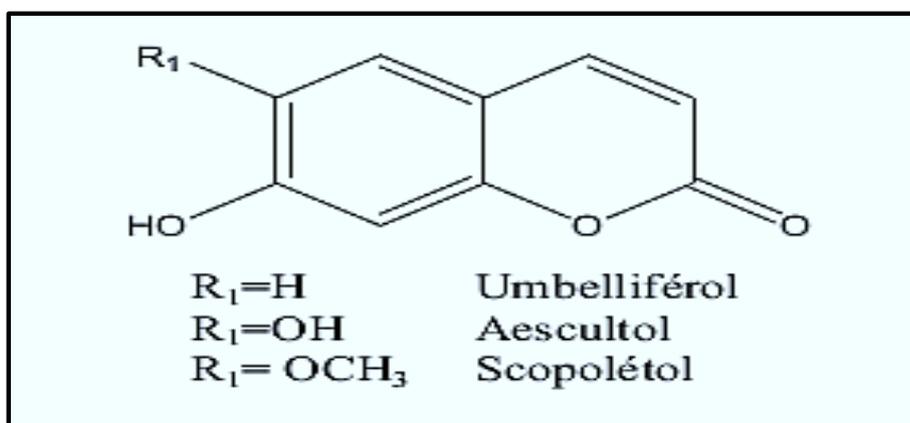


**Figure I-5 :** Quelques exemples des structures chimiques des stilbènes [7].

Ces composés sont présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures mais les principales sources alimentaires sont le raisin (les graines, la peau et les tiges) et le vin [7].

### II.1.A.c. Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale [3].

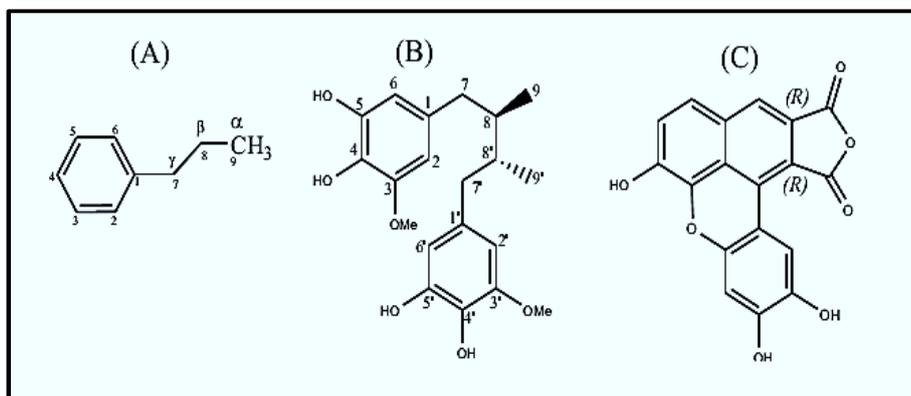


**Figure I-6 :** Principaux types de coumarines [7].

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration mais aussi suivant l'espèce. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance [7].

### II.1.A.d. Les lignanes

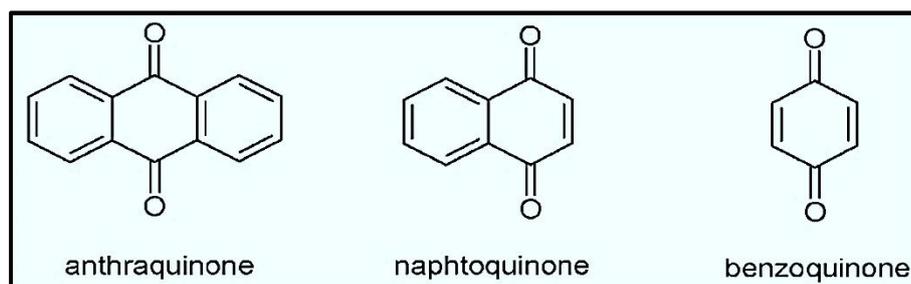
Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques ( $C_6-C_3$ ) sont liés par leur carbone 8. Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles [2, 7].



**Figure I-7 :** Exemples des structures chimiques des lignanes. (A) unité de phénylpropane  $C_6-C_3$ . (B) sauriol A (lien  $\beta$ - $\beta'$ ). (C) rufescidride [7].

### II.1.A.e. Les quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones). Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs [2].



**Figure I-8 :** Exemples des structures chimiques des quinones [3].

### II.1.B. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles [9].

### II.1.B.a. Structure chimique et classification

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en  $C_6$  (A et B) reliés entre eux par une chaîne en  $C_3$  qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C). Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanols, les chalcones et les anthocyanidines [10].

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits [11].

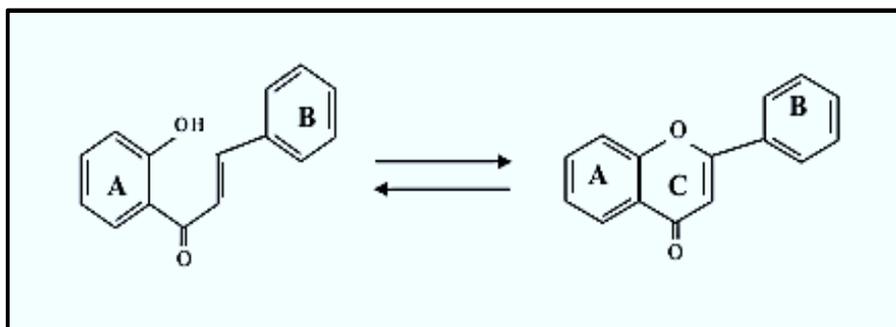


Figure I-9 : Structure de base d'un flavonoïde [10].

#### II.1.B.a.1. Flavones

Cette famille est la moins couramment trouvée dans le règne végétal. Ces composés sont présents principalement dans les céréales et certains légumes. Elles présentent une double liaison entre  $C_2$  et  $C_3$ . Les principaux flavones sont l'apigénine et la lutéoline, elles ont dans la majorité des cas la forme de glycosides [12, 13].

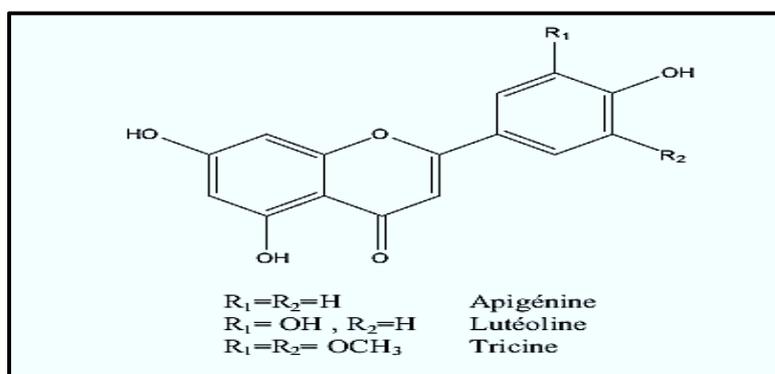


Figure I-10 : Des exemples des structures chimiques des flavones [7].

### II.1.B.a.2. Flavonols

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C<sub>3</sub> et d'une double-liaison en C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Cette sous-classe de flavonoïdes est dérivée principalement de trois formes non glycosylées autour desquelles des sucres viennent se greffer. Les formes non glycosylées, appelées « aglycones » sont la quercétine, la myricétine et le kampférol [6, 12].

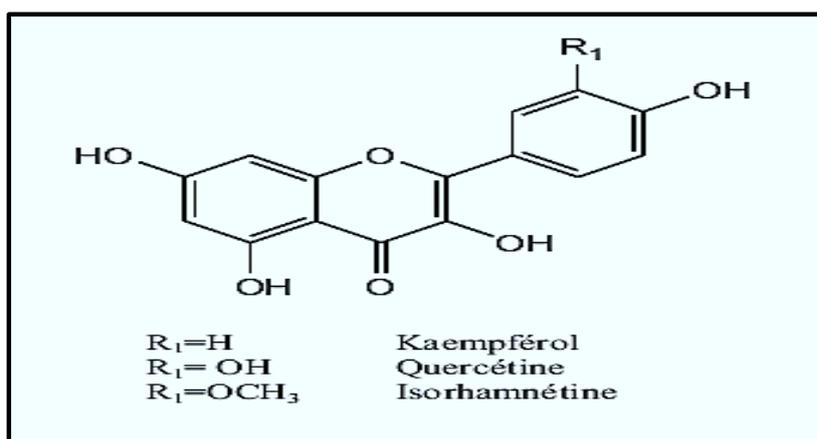


Figure I-11 : Des exemples des structures chimiques des flavonols [7].

### II.1.B.a.3. Flavanones

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> et par la présence d'un centre de chiralité en C<sub>2</sub>. Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hésperitine dans l'orange [6].

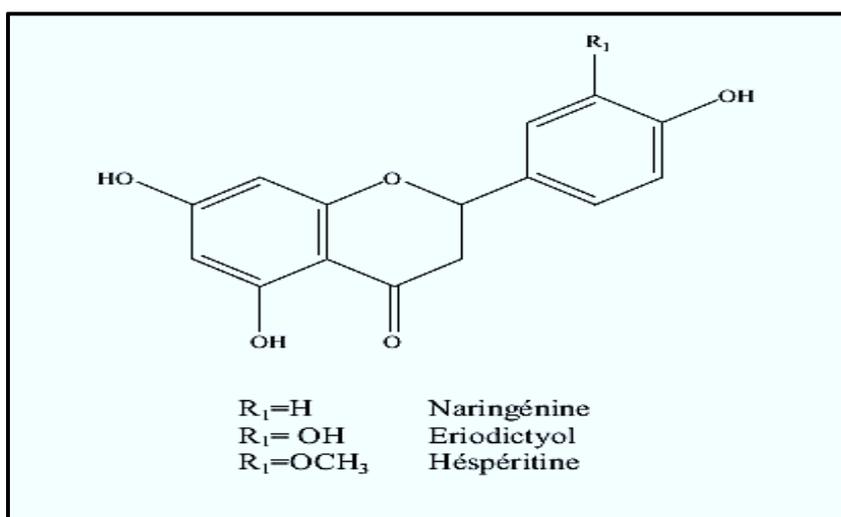


Figure I-12 : Des exemples des structures chimiques des flavanones [7].

#### II.1.B.a.4. Flavanols ou flavan-3-ols

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C<sub>3</sub> et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle (OH) en C<sub>4</sub>. Cette classe regroupe les diverses catéchines (catéchine, épicatechine, épicatechine gallate, gallocatéchine gallate, gallocatéchine) ainsi que les proanthocyanidines [7, 12].

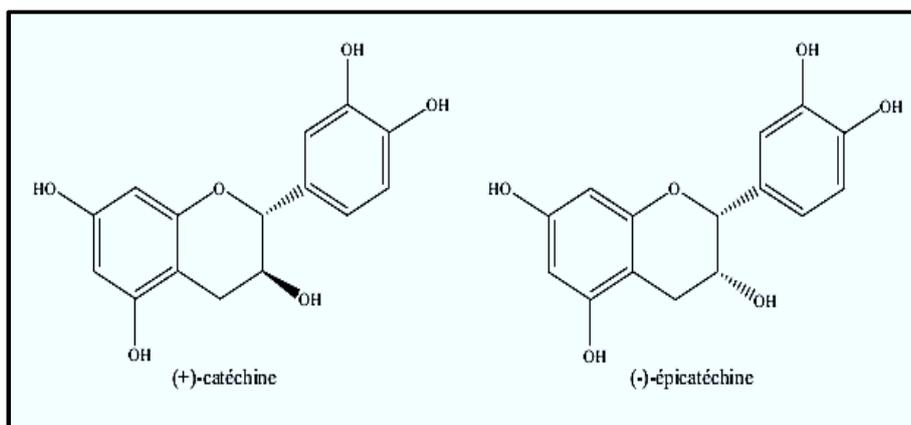


Figure I-13 : Deux exemples des structures chimiques des flavan-3-ols [7].

#### II.1.B.a.5. Chalcones

Les chalcones et par défaut les dihydrochalcones sont uniques au sein de la famille des flavonoïdes. Dépourvus du cycle C central, les deux cycles A et B sont reliés par une chaîne tricarbonée cétonique  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturée (saturée dans le cas des dihydrochalcones). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées [14].

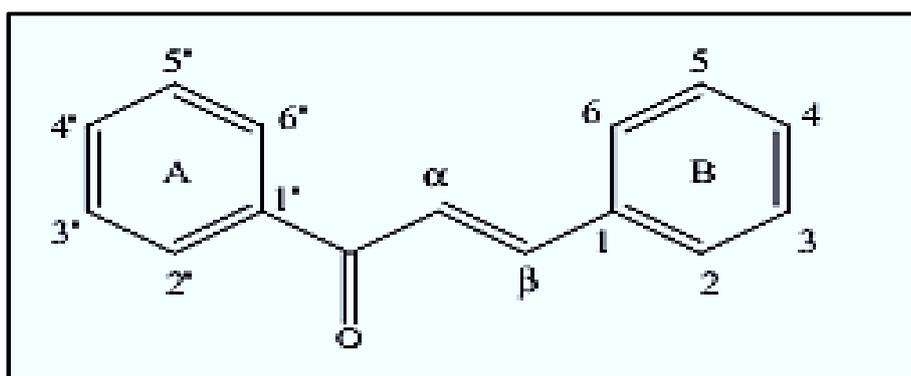


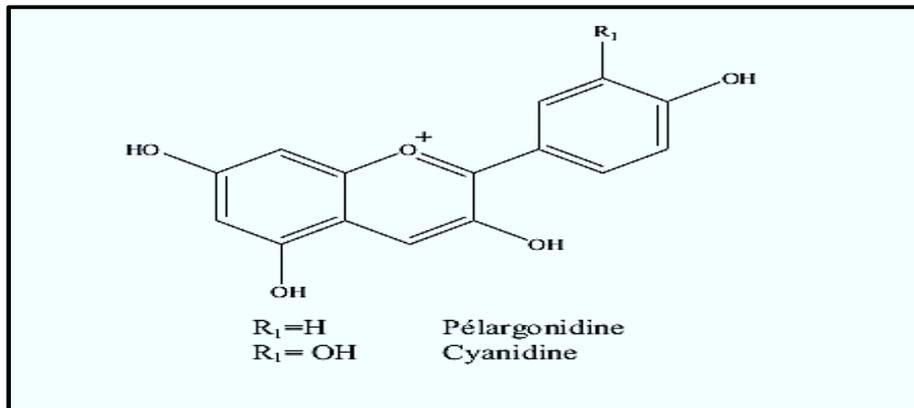
Figure I-14 : Numérotation du squelette chalcone [13].

#### II.1.B.a.6. Anthocyanidines

Les anthocyanidines sont toujours hydroxylées en C<sub>3</sub>, elles se caractérisent par l'absence du groupe hydroxyle en C<sub>4</sub>. Ils sont responsable des couleurs rouges, violettes et bleues dans

les fruits, les légumes, les fleurs et les graines, mais aussi jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes et dans la dispersion des graines.

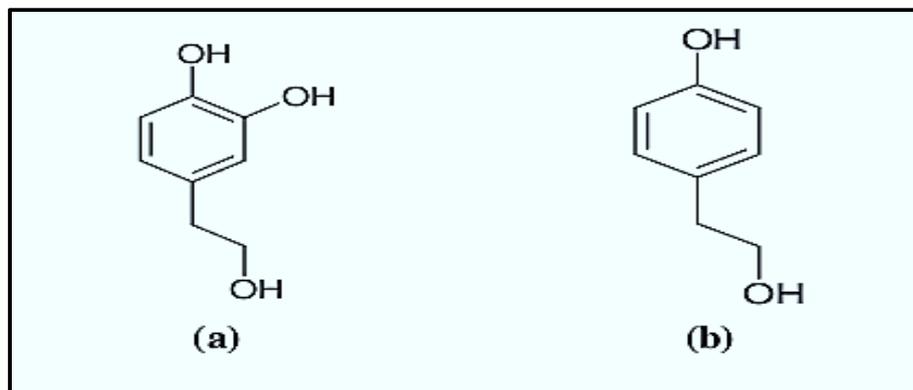
Les anthocyanidines les plus abondants sont : la pélagonidine, la cyanidine et la péonidine [1 , 7].



**Figure I-15 :** Deux exemples des structures chimiques des anthocyanidines [7].

### II.1.C. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe [6].



**Figure I-16 :** Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b) [6].

### II.2. Polyphénols complexes (tannins)

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes (tannins condensés) et les dicotylédones (tannins hydrolysables). Ces composés ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités [3].

## II.2.A. Classification et structure

Il existe deux grands groupes de tannins : Les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Ils se différencient par leur structure et leur origine biogénétique.

### II.2.A.1. Tannins hydrolysables

Il se compose de deux sous-groupes qui sont les tannins «galliques» et les tannins «ellagiques». Ce sont des esters d'un sucre ou d'un polyol apparenté et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols. Les acides phénols en question sont l'acide gallique (à droite) et l'acide ellagique (à gauche) :

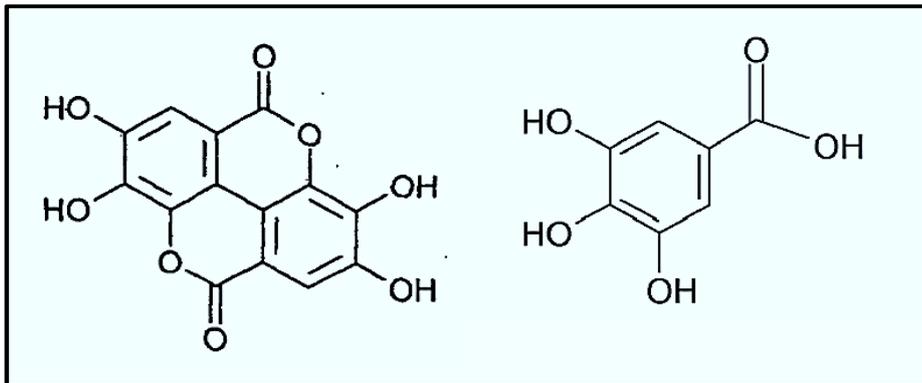


Figure I-17 : Deux exemples des structures chimiques des tannins hydrolysables [15].

### II.2.A.2. Tannins condensés

Ce sont des polymères flavaniques constitués d'unité flavan-3-ols, également appelée catéchine ou épicatechine. Ces unités sont liées entre elles par des liaisons carbone-carbone ou des liaisons carbone-oxygène [15].

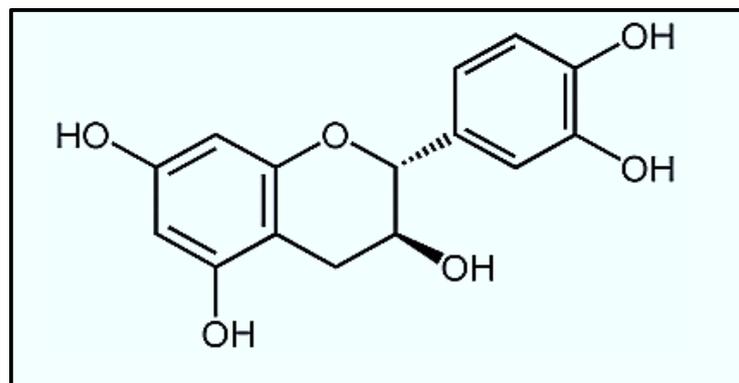


Figure I-18 : La structure chimique des tannins condensés [15].

### III. Les antioxydants

#### III.1. Radicaux libres

##### III.1.A. Définition

Les radicaux libres comprennent toute espèce moléculaire pouvant exister seule et contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe, c'est à dire un électron célibataire. C'est la présence d'un électron célibataire confère à ces molécules une grande instabilité (elles ne respectent pas la règle de l'octet) [16].

##### III.1.B. Nature des radicaux libres

##### III.1.B.a. Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

L'oxygène doit sa grande réactivité à sa structure particulière. En effet, il possède deux électrons célibataires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme [17].

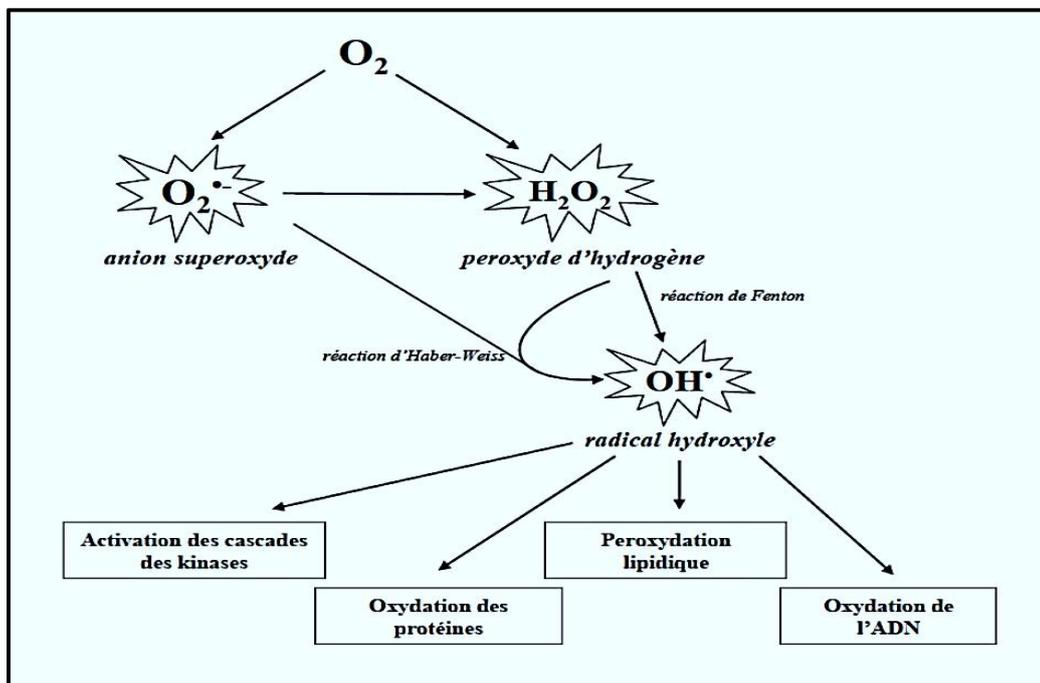


Figure I-19 : Schéma des différentes formes des radicaux libres [18].

##### III.1.B.a.1. Ion superoxyde : $O_2^{\bullet-}$

L'ion superoxyde résulte de la réduction de la molécule de dioxygène triplet : cette dernière accepte un électron qui vient alors se positionner sur une orbitale antiliante  $\pi^*$  [16].

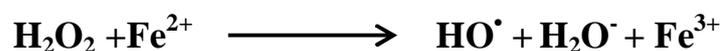
L'ion superoxyde  $O_2^{\bullet -}$  est un dérivé très réactif de l'oxygène, relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme, mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives [17].

### III.1.B.a.2. Radical libre hydroxyle : $HO^{\bullet}$

Le radical hydroxyle  $HO^{\bullet}$  est un radical libre extrêmement oxydant. Quelques soient les conditions expérimentales in vitro, son potentiel redox  $E^{\circ}$  a des valeurs toujours très hautes et fortement positives; c'est le radical de l'oxygène le plus réactif connu [16].

Le radical libre hydroxyle  $HO^{\bullet}$  est très réactif. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé de l'ion superoxyde [17]. Il est formé par [11]:

*La réaction de Fenton :*



*La réaction d' Haber-Weiss :*



### III.1.B.a.3. Le radical hydroperoxyde $HO_2^{\bullet}$

C'est la forme protonée de l'anion superoxyde. L'anion superoxyde est en équilibre constant avec le radical perhydroxyle ( $HO_2^{\bullet}$ ) qui est beaucoup plus oxydant que lui. L'anion superoxyde peut être alors transformé soit spontanément, soit par le superoxyde dismutase en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).

### III.1.B.b. Espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène.

Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs.

Nous citerons, par exemple les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques.

Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ERO générant des molécules réactives et nocives [17].

## **III.2. Antioxydants**

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydo-réduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices.

Les antioxydants sont capables de stopper ou retarder ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres et annihilant ainsi leur action. Ces propriétés se trouvent beaucoup dans la famille des thiols et des phénols.

### **III.2.A. Définition**

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Le corps produit des antioxydants, et on le trouve également dans plusieurs aliments. Ils permettent, également de faire en sorte que les produits alimentaires conservent leur goût et leur couleur demeurent longtemps comestibles [4].

### **III.2.B. Classification des antioxydants**

#### **III.2.B.a. Antioxydants synthétiques**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétra butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques.

En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomaux du foie et des organes extra-hépatiques. Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez les rats [19].

#### **III.2.B.b. Substances synergiques**

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent : Les acides lactique, tartrique et ortho phosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre,

dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants [17].

### **III.2.B.c. Antioxydants d'origine végétale**

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces [17].

Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols [4].

## **IV. Polyphénols en tant qu'antioxydants**

Les antioxydants d'origine probablement alimentaire contribuent avec la défense de l'organisation par l'effort d'oxydation et ses conséquences. Pour cette raison, polyphénols, particulièrement abondant dans des produits végétaux, a pu jouer un rôle protecteur significatif.

### **IV.1. Activité antioxydante des polyphénols dans les aliments**

L'auto-oxydation (oxydation non enzymatique par  $O_2$ ) est un des principaux phénomènes de dégradation des lipides polyinsaturés présents dans divers produits alimentaires tels que les huiles végétales et leurs dérivés (margarines). Ce phénomène intervient typiquement au cours des traitements industriels et domestiques : procédés thermiques, conditionnement, stockage et cuisson.

Globalement, ce processus conduit à la formation des produits lipidiques oxydés (aldéhydes, époxydes, hydroperoxydes), à leur tour, réagissent avec d'autres ingrédients alimentaires (vitamines, protéines et autres lipides) en diminuant :

- ❖ Les propriétés organoleptiques des aliments : apparition de saveurs et odeurs désagréables rendant les aliments difficilement acceptables par le consommateur ;
- ❖ La valeur nutritionnelle des aliments : les AGPI sont essentiels à la composition des membranes cellulaires et pourraient exercer une action protectrice contre le développement des maladies cardiovasculaires. Par contre, certains de leurs produits d'oxydation sont oxydants et/ou électrophiles donc potentiellement toxiques.

## IV.2. Pouvoir antioxydant des polyphénols chez les humains

Les effets des polyphénols sur la santé sont indissociables de la notion de biodisponibilité, qui intègre un grand nombre de paramètres comme : l'absorption intestinale, l'excrétion des métabolites dans la lumière intestinale, le métabolisme par la microflore, le métabolisme intestinal et hépatique, les propriétés des métabolites circulants (structures, cinétiques d'apparition et d'élimination, liaison à la sérum albumine et autres protéines du plasma), la captation cellulaire, le métabolisme dans les tissus cibles, la sécrétion biliaire et l'excrétion urinaire [6].

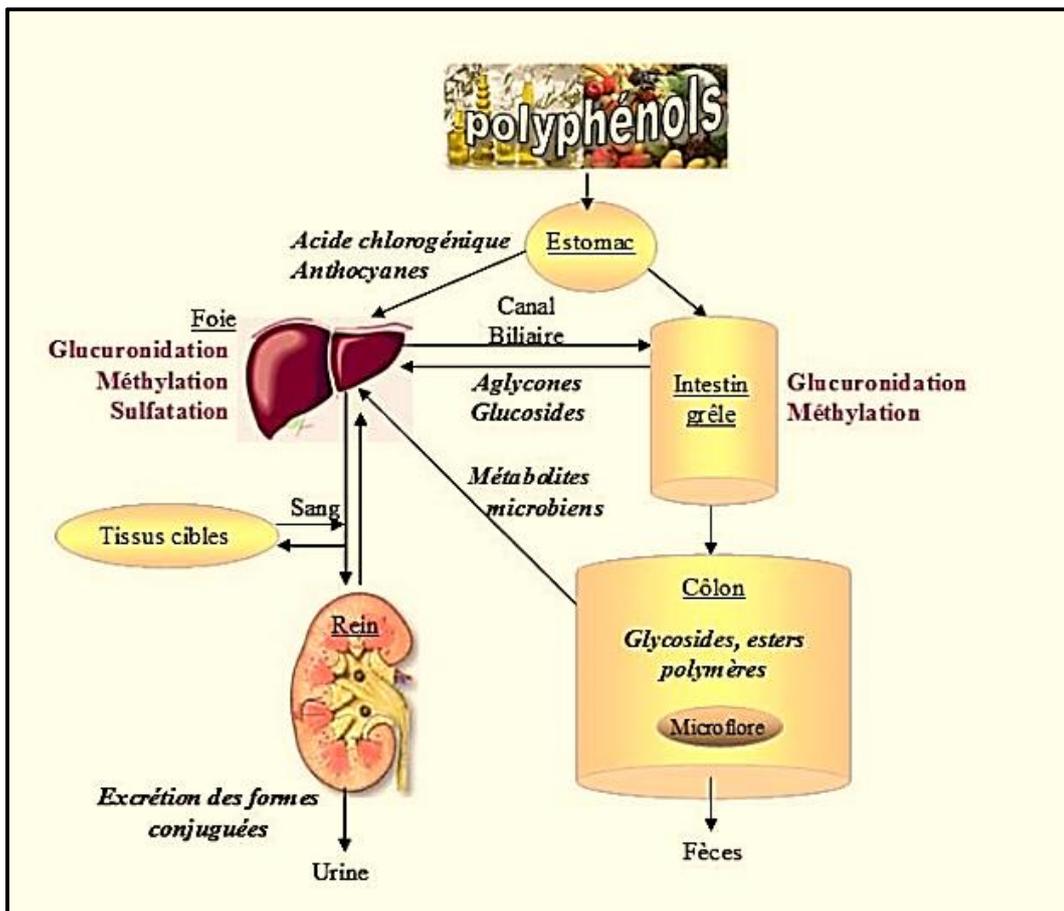


Figure I-20 : Schéma général de biodisponibilité des polyphénols [6].

## IV.3. Mécanismes antioxydants des systèmes phénoliques

Les principaux oxydants dans les milieux biologiques sont les radicaux libres et les métaux de transition. Les polyphénols désactivent les radicaux libres via trois mécanismes :

### IV.3.A. Transfert d'atome d'hydrogène

L'antioxydant phénolique agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène via la rupture homolytique de la liaison O-H.



Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical néfaste, et le radical  $\text{ArO}^\bullet$  (forme oxydée de l'antioxydant). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est moins réactif.

#### IV.3.B. Transfert mono-électronique d'électron

Dans ce mécanisme, un électron est transféré au radical libre  $\text{R}^\bullet$ . L'anion  $\text{R}^-$  et le cation radical  $\text{ArOH}^{+\bullet}$  ainsi formés sont généralement des entités stables.



Le potentiel d'ionisation est le facteur déterminant du pouvoir piègeur d'électrons. Un potentiel bas implique un arrachement facile d'électron et en conséquence une réaction avec le radical libre.

#### IV.3.C. La chélation des métaux de transition

C'est un mécanisme indirect. Il consiste à la chélation des métaux de transition tels que le fer ou le cuivre. Cette chélation sert à empêcher la réaction de Fenton dans les milieux biologiques. Ainsi, en résumé, le schéma illustre les trois mécanismes possibles pouvant intervenir pour expliquer les activités antioxydants des systèmes phénoliques [20].

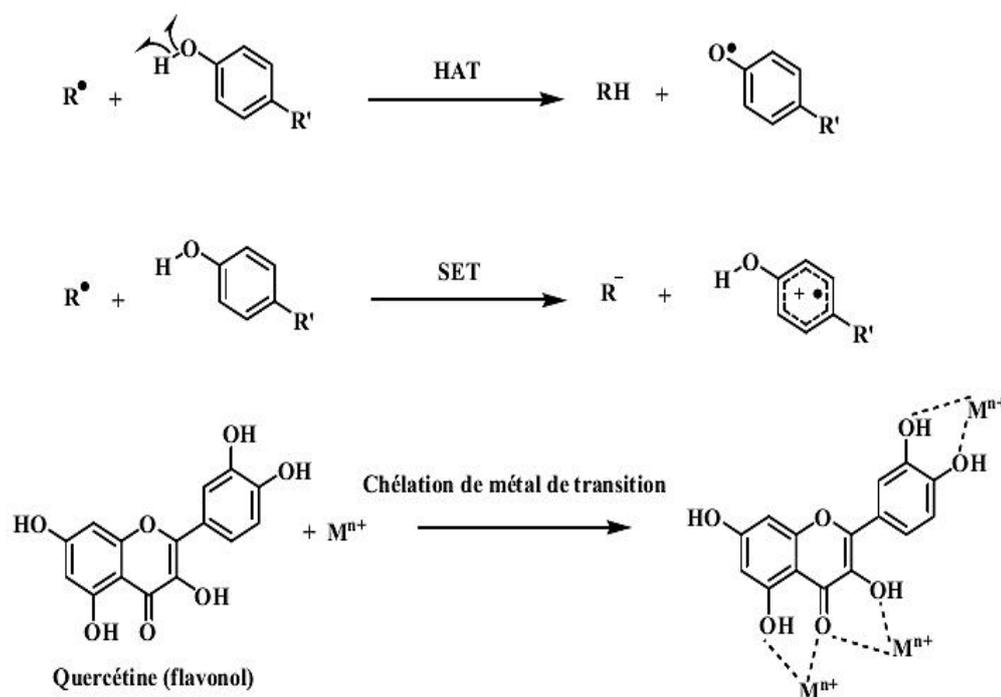


Figure I-21 : Schéma illustre les trois mécanismes [20].

***CHAPITRE II***  
***GENERALITES SUR LA***  
***PROPOLIS***

## **I. Introduction**

La propolis est certainement un produit à ne pas négliger vu son importance comme matière première qui croit de jour en jour surtout dans le domaine de la médecine. Des fois, la question reste à poser : peut-on trouver dans la nature un produit plus extraordinaire que la propolis ? Elle assure la protection du bourgeon de l'arbre, puis protection de la ruche, et enfin la protection de l'homme [21].

Pour la confectionner, l'abeille prélève les résines végétales sécrétées par les bourgeons et les écorce de certains arbres et arbustes [22].

Elle procède avec ses mandibules pour décoller des fragments de ces résines, elle ajoute de la salive sur la résine à récolter et l'étire avec ses mandibules jusqu'à ce que la résine forme un fil avant de rompre [21].

L'abeille dépose son butin dans ses corbeilles pour le ramener à la ruche. En fonction du climat, de la végétation qui entoure la ruche, les espèces végétales cibles diffèrent. Par exemple en Europe et dans les climats tempérés, la cible préférentielle est le peuplier mais l'aulne, le bouleau, le chêne, l'épicéa, le frêne, le marronnier d'Inde et le saule sont aussi visités [22].

La récupération de ce produit est relativement facile. Il suffit de gratter les cadres ou des grilles spéciales placées dans la ruche.

La caractérisation physico-chimique de la propolis est très importante pour l'obtention d'un produit de qualité standardisé, tel que le réclame lemarché. La variété des sources de propolis a, bien évidemment, une influence sur sa composition.

Plus de 150 constituant ont déjà été mis en évidence et identifiés, sans compter les substances insolubles dans les solvants organiques. Cette liste de noms et de formules est cependant encore très incomplète [21].

La propolis possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés biologiques de ce produit. Ces propriétés sont en rapport avec la composition chimique [23].

Des études réalisées montrent l'intérêt de la propolis dans le traitement de maladies comme le cancer grâce à certaines substances a activité antitumorale comme les flavonoïdes et à l'action immuno-stimulatrice de celle-ci [24].

## II. Histoire de la propolis

Vous vous en doutez, la propolis existe depuis que l'abeille est apparue sur terre, il y a 50 à 60 millions d'années; et c'est en quelque sorte l'abeille qui a utilisé avant tout le monde les nombreuses propriétés de la propolis [25].

Le mot propolis est d'origine grecque et il signifie "pro" - devant et "polis" - cité, en se référant aux observations des apiculteurs qui voyaient cette résine à l'entrée de la ruche "devant la cité" [26].

Son étymologie viendrait aussi de verbe *propolire* qui signifie « enduire ». En effet, l'abeille enduit l'intérieur de son habitat de cette résine pour protéger des agressions microbiennes [27].

La propolis est un remède naturel utilisé depuis l'Antiquité. Son usage remonte probablement à l'Égypte antique. Les prêtres de l'Égypte antique l'utilisaient sur le plan médical, mais surtout pour l'embaumement des cadavres dans le processus de momification [28].

Cette résine nommée la propolis est utilisée depuis les temps les plus reculés à cause de ces propriétés antibactériennes, immunostimulantes, cicatrisantes, les anciens Grecques l'ont utilisé pour les "suppurations" comme on a découvert dans les anciens livres (Aristote), les Romains ils ont donné à tous les soldats pour soigner les blessures pendant les différentes invasions [26].

Au cours de le I<sup>er</sup> siècle avant JÉSUS CHRIST, le célèbre savant Latin Varron en fait état dans ses travaux ainsi que le poète Virgil dans ses écrits. A Rome, la propolis était très recherchée où elle se vendait plus cher que le miel. Chaque légionnaire Romain en possédait une petite quantité sur lui au moment des compagnes militaire [29].

Au II<sup>ème</sup> siècle, c'est au tour du célèbre médecin grec Galien d'en faire mention dans ses traités et d'en recommander l'usage.

Plus tard, au XI<sup>ème</sup> siècle, le médecin iranien Avicenne note qu'elle « a la qualité de faire éliminer les pointes de flèches et les épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement » [28].

En Amérique centrale, les Incas consommaient la propolis pour faire baisser la fièvre tandis qu'au XI<sup>ème</sup> siècle, connues des Incas chez lesquels elle était utilisée dans le cadre des

---

infections fébriles, elle est retrouvée également dans les livres de médecine de Géorgie à partir du XII<sup>ème</sup> siècle [21 , 25].

En France, c'est au cours des XVIII<sup>ème</sup> et XIX<sup>ème</sup> siècles que l'on fait de nouveau référence à la propolis pour le pansage et le soin des plaies.

De son côté et toujours à cette époque, l'italien Stradivarius utilise la propolis pour vernir ses violons [25].

A la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, la propolis était en plein essor grâce à ses vertus anti-infectieuses, cicatrisantes et anti-inflammatoires, employée sous forme d'onguent, d'emplâtre, de lotion ou de fumigation. De nos jours, elle est utilisée surtout en Europe de l'est, en Asie et notamment au Japon [24].

A la fin de XXI<sup>ème</sup> siècle, un important marché de la propolis existe en Russie et en Allemagne, c'était un remède populaire qui prétendait soigner tous les maux.

On l'employait surtout en usage externe comme anti-infectieux, cicatrisant, adoucissant et anti-inflammatoire sous forme d'onguent d'emplâtre, de lotion et de fumigation.

Lors de la dernière guerre mondiale, la propolis a été expérimentée dans des cliniques Soviétiques.

Les applications de ce fameux produit sont de même très intéressantes dans la médecine vétérinaire empirique pour le traitement des hémorragies et des plaies de toute nature.

Son utilisation donc, sans avoir été permanente, s'est maintenue au fil des siècles et est à nouveau redécouverte de façon relativement récente par de nombreux chercheurs qui s'attachent et s'efforcent progressivement, depuis quelques années, d'expérimenter scientifiquement l'ensemble des données empirique de ce produit [21].

### **III. Définition de la propolis**

La propolis est un ensemble de substances résineuses, gommeuses et balsamiques récoltées par les abeilles sur les bourgeons de certains arbres. De consistance visqueuse, les abeilles peuvent en modifier la composition en apportant certaine de leurs sécrétions et de la cire. Il s'y rajoute aussi beaucoup d'impuretés liées à l'exploitation des ruches par l'apiculteur. La propolis devra donc être purifiée avant son utilisation [30].

#### IV. Origine botanique de la propolis

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'origine botanique de la propolis, en se basant sur leurs observations et dans certains cas en se référant à des connaissances chimiques faibles qui comportent des comparaisons entre échantillons de propolis et matériel végétal [31].

Il existe plusieurs types de propolis qui sont fonction de la zone géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone, de la disponibilité des végétaux pendant la saison et de l'espèce de l'abeille.

Les principales essences d'arbres connues pour être productrices de propolis sont représentées par différents confères (pin, sapin, épicéa) et plusieurs espèces de peupliers (qui semblent la source la plus importante) [27].

**Tableau II-1** : Origine botanique de la propolis [27].

Photos	Nom Français	Nom Anglais	Provenance
	Chêne	Oak	Asie Afrique
	Peuplier	Poplar	Afrique du nord Moyen-Orient Europe
	Bouleau blanc	Birch	Europe du nord Amérique canada
	Orme	Elm	Amérique Europe chine

	<b>Pin</b>	<b>Pine</b>	<b>Amérique du nord</b> <b>Europe du nord</b> <b>Russie</b>
	<b>Marronnier d'inde</b>	<b>Horse chestunt</b>	<b>Europe</b> <b>Turquie</b> <b>Balkans</b>
	<b>Frêne</b>	<b>Ash</b>	<b>Europe du sud</b> <b>Afrique du nord</b>

## V. Origine botanique de la propolis Algérienne

Selon la flore botanique en Algérie soit du pain (*pinussp*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne-liège et chênezeen) qu'on trouve au nord-est du pays, châtaignier, cyprès(*cupressus sp*), casuarina, et le peuplier (*populus sp*).

D'après une étude faite sur la propolis algérienne récoltée dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi Ouzou), nous pouvons conclure que les échantillons analysés ont comme source principale le peuplier (*populusnigra*) avec la participation d'autres espèces. Sauf pour l'échantillon de Tizi-Ouzou, car on remarque l'absence de pinocembrin, pinobanksin, chrysin et galangin [21].

## VI. La récolte de la propolis

### VI.1. Récolte de la propolis par les abeilles

Il semblerait que les abeilles qui récoltent la propolis soient spécialisées dans cet exercice et que celles-ci délaissent toute autre récolte (**Figure II-1**) [32].

Le comportement de récolte par les abeilles a été bien décrit. Le travail se fait en plusieurs étapes :

- La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source, qu'elle attaque alors avec ses mandibules; ensuite, tête redressée, elle se recule afin d'étirer le morceau de résine saisi jusqu'à ce qu'il soit transformé en un fil et que celui-ci se rompe (**Figure II-2**);
- Elle travaille cette résine avec les mandibules et la prélève avec les pattes antérieures;
- Elle la transfère de ses pattes antérieures aux pattes centrales;
- Enfin elle la transfère dans la corbeille située du même côté. Cette séquence se répète jusqu'à ce que la corbeille soit chargée.
- Après, l'abeille peut voler pendant quelques secondes au-dessus de la source de résine, puis atterrir à nouveau pour compléter chaque corbeille [33].

Tout cela prend de sept minutes à une heure en fonction de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons dégager et analyser les plus notables [21].

#### **VI.1.A. L'âge de l'abeille**

Il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis. L'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées, l'âge minimal est de dix-huit jours.

#### **VI.1.B. La race**

La tendance à propoliser dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne (*Apis mellificacaucasia*) et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général d'avantage que les autres, c'est le cas de l'abeille Carniolienne (*Apis mellificacarnica*) et l'abeille Tellienne (*Apis mellifira*). Mais dans de nombreux autres cas, les données d'information en ce qui concerne ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises.

#### **VI.1.C. La saison**

La récolte a lieu, soit, en début de printemps, mais le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche d'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage.

#### **VI.1.D. Le climat (dont la température)**

Les abeilles récolteuses de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C) et en outre, pendant les heures les mieux exposées, à cette chaleur (soit entre 10 et 15h 30h en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires.

### VI.1.E. La géographie

C'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propolisent davantage que les ruches de plaine [21].



**Figure II-1** : La récolte de la propolis par l'abeille [32].



**Figure II-2** : Butineuses de propolis dans la ruche [33].

### VI.2. Récolte de la propolis par l'homme

Plusieurs techniques de récolte existent. On peut différencier la qualité de la propolis en fonction de la technique utilisée [33].

La plus classique est le raclage et le grattage des cadres et des parois de la ruche. Bien que ce n'est pas la meilleure méthode pour avoir de la propolis pure, elle reste néanmoins facile et permet aussi à l'apiculteur de conserver la ruche et les cadres propres et peu collants. Ce qui facilite son travail (**Figure II-3**) [21 , 33].

Cette méthode permet une récolte de propolis qui contient beaucoup d'impuretés comme les morceaux de bois, les pattes ou ailes d'abeilles, de la cire etc. Il faudra alors la purifier avant toute utilisation.

Une autre méthode qui permet de récolter de la propolis contenant moins d'impureté, consiste à utiliser une grille à propolis que nous plaçons en lieu et place du couvre cadre.

Cette grille perforée en plastique souple ou métal va stimuler les abeilles à venir combler ces interstices par de la propolis (**Figure II-4** et **Figure II-5**).

L'apiculteur n'aura alors plus qu'à retirer cette grille une fois remplie de propolis, la placer dans un endroit frais (frigo) de manière à rendre la propolis cassante.

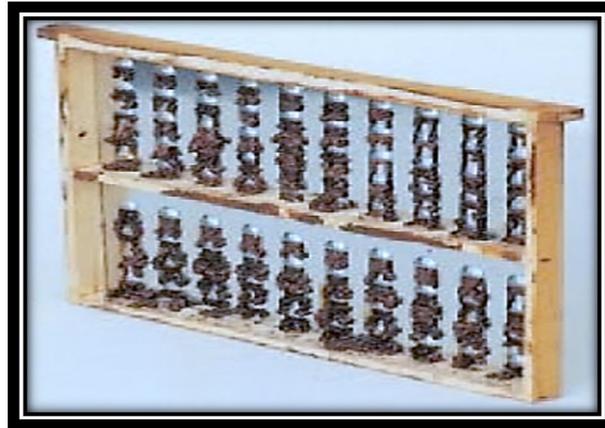
Ainsi par simple torsion de la grille au-dessus d'un récipient ou d'un linge propre, il pourra récupérer la propolis [21].

La quantité que peut récolter un apiculteur par ruche est très variable en fonction des abeilles et de l'environnement. Elle se situe généralement entre 100 et 300 grammes de produit brut par an et par ruche.

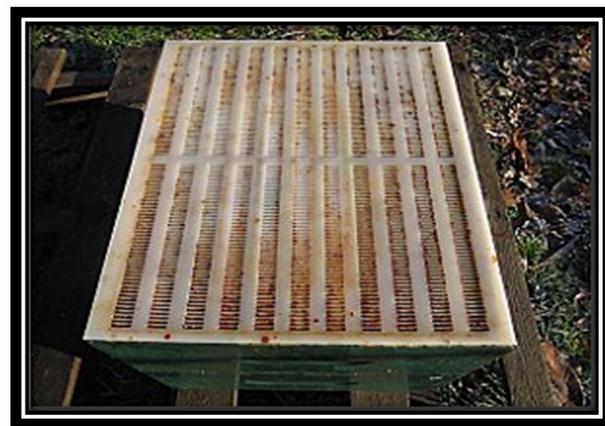
Certaines techniques intensives basées principalement sur une augmentation de la ventilation des ruches permettent avec des abeilles productives d'atteindre 800g/ruche/an [33].



**Figure II-3** : Récolte de la propolis par l'homme au niveau de la ruche [33].



**Figure II-4** : Grille en inox [33]



**Figure II-5** : Grille en plastique [25].



**Figure II-6** : Propolis pure [25].

## VII. Propriétés physico-chimique de la propolis

### VII.1. Propriétés physiques

#### VII.1.A. Caractéristiques organoleptiques

##### VII.1.A.a. Couleur

Elle est très variable selon sa provenance, allant du jaune clair (conifères) au brun très foncé, presque noir en passant par toute une gamme de brun extrêmement riche et étendue (rougeâtre, verdâtre, etc.).



Figure II-7 : Différentes couleurs de propolis [25].

##### VII.1.A.b. Saveur

Saveur souvent âcre et parfois amère.

##### VII.1.A.c. Odeur

Elle a une odeur variable selon son origine. Mais lorsqu'elle est brûlée, elle dégage une odeur très délicate, liée aux résines aromatiques qu'elle contient [28].

### VII.1.B. Consistance

La seule caractéristique physique vraiment utile est sa consistance en fonction de la température. Mais attention, là aussi, ces valeurs varient en fonction de la proportion cire/résine.

- A 15°C la propolis est brillante et cassante (propriété utilisée pour la séparer de la grille); 30°C elle est malléable (utilisation dans la ruche);
- A 40°C elle devient gluante;
- A partir de 70°C elle devient liquide (utilisé pour la séparation de la cire) [34].

## **VII.2. Propriétés chimiques**

### **VII.2.A. La Solubilité**

La propolis d'abeille est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le chloroforme, le benzène, le trichloréthylène...etc. Seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants.

La partie insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen, de débris de cuticule de soie d'abeille...etc [21].

### **VII.2.B. Le Point de fusion**

Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée doucement au bain-marie, elle se divise en 2 parties bien distinctes :

- L'une visqueuse qui tombe au fond.
- L'autre liquide (cire de propolis) qui surnage à la surface et trouve de nombreux usages dans le domaine apicole.

### **VII.2.C. La densité**

La densité de la propolis est de 1,2 (soit supérieure à celle de l'eau) [27].

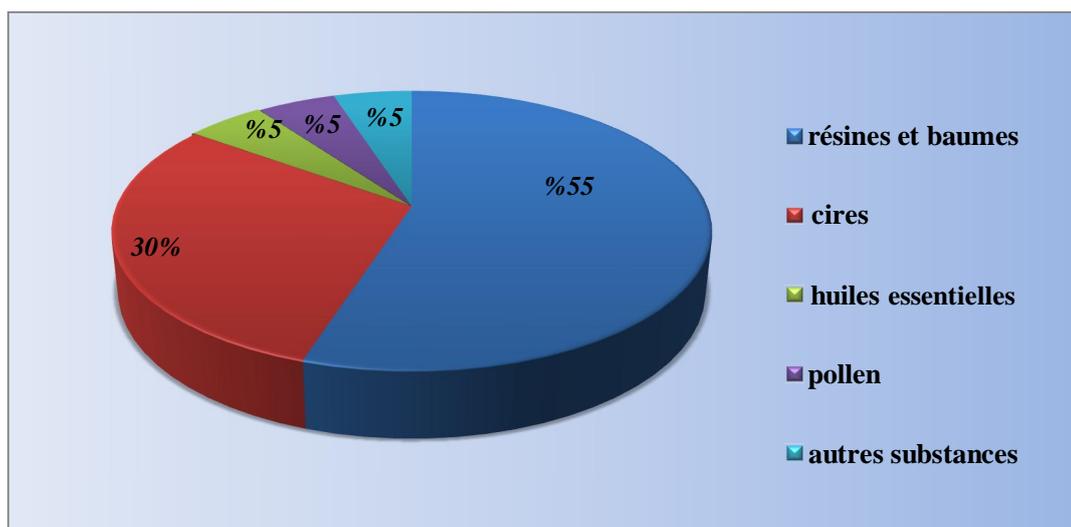
## **VIII. Composition de la propolis**

La composition de la propolis est variable selon la source végétale visitée par les abeilles. On connaît actuellement plus de 300 composants différents de la propolis qui ont été identifiés par les méthodes d'analyse modernes : chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse [27].

La composition chimique de la propolis a éveillé l'intérêt de nombreux chercheurs. Plusieurs travaux ont été effectués sur des propolis de différents pays et ont abouti aux conclusions suivantes : la composition chimique de la propolis varie selon l'origine botanique, l'espèce d'abeille, le temps de la récolte et la zone géographique, mais elle présente tout de même qualitativement de nombreuses substances qui s'y retrouvent de façon constante et relativement stable [23].

D'une manière générale la propolis est contiendrait 50 à 55% de résines et de baumes, 20 à 35% de cires végétales ou de cire d'abeille, 5 à 10% d'huiles essentielles (anéthol et eugénol notamment), 5% de pollen et 5% d'autres substances diverses d'origine organique ou minérale [22].

---



**Figure II-8 :** Composition moyenne de la propolis [2].

La propolis est constituée aussi de plus de 40 flavonoïdes (flavones, flavanones, flavonols, chalcones), de composés phénoliques (acide coumarique, acide acétylsalicylique), d'aldéhydes aromatiques (vanilline, iso vanilline), de composés terpéniques, d'acides gras aliphatiques (acide oléique et stéarique), de sucres, d'acides aminés (arginine, proline), d'oligo-éléments (fer, cuivre, manganèse), de vitamines (vitamine A et vitamines du groupe B) [24].

## IX. Propriétés thérapeutiques de la propolis

La propolis possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés biologiques de ce produit. Malgré des différences de composition entre les propolis, un certain nombre d'activités pharmacologiques et/ou d'effets biologiques communs font consensus [23 , 27].

### IX.1. Activité antimicrobienne

Les activités antimicrobiennes de la propolis sont bien documentées contre différents micro-organismes :

- ❖ Bactéries
- ❖ virus
- ❖ Levure
- ❖ Parasites [27].

**IX.1.A. Action antibactérienne**

Le spectre antibactérien de la propolis est large. Son action est puissante, elle agit en effet sur *Staphylococcus aureus* et SARM, les streptocoques (*Streptococcus mutans* responsable des caries dentaires et *Streptococcus sobrinus*), *Helicobacter pylori* (responsable d'ulcères gastroduodénaux), les microcoques, *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus larvae*, *Proteus vulgaris*, les salmonelles, *Salmonella enterica* Typhi, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*.

Cette activité antibactérienne serait imputable à l'acide cinnamique, aux molécules aromatiques, aux acides dite terpéniques, aux composés phénoliques et aux nombreux flavonoïdes qui composent la propolis et en font le plus actif des produits de la ruche.

Cependant, le mécanisme d'action est encore mal compris. Des chercheurs japonais pensent que l'inhibition de la croissance bactérienne serait due à la destruction de leur paroi empêchant ainsi leur division cellulaire [35].

**IX.1.B. Action antivirale**

L'action de la propolis contre les virus est bien démontrée et ce notamment grâce aux flavonoïdes. Cette activité antivirale a été fortement documentée [27].

En effet, les études ont montré que la propolis et/ou ses constituants étaient efficaces contre de nombreux virus : les poliovirus, les virus de type herpès (dont zona), les adénovirus, le virus de la grippe H1N1, de l'hépatite B et de la stomatite vésiculaire [27 , 30].

L'action sur le virus de l'herpès simplex de type 1 a montré une bonne efficacité en diminuant le titre viral de la peau et du cerveau chez des souris infecté expérimentalement ( $p < 0,05$ ); le taux d'IFN  $\gamma$  était augmenté. Les esters de l'acide caféique seraient également impliqués dans cette action [35].

**IX.1.C. Action antifongique et antimycosique**

La propolis a une activité antifongique importante contre *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Canis* et *Cryptococcus*. Ce sont la galangine, le kaempférol, la pinocembrine et l'acide caféique qui lui confèrent cette activité. Associée à des médicaments antimycosiques, la propolis a de meilleurs effets sur les mycoses de la peau ou des muqueuses [30 , 35].

Elle a des effets antimycosiques, contre les germes appartenant au genre *Candida* et contre les levures. Elle s'est montrée efficace dans l'infection à la *Giardia lamblia* (oxyurose) comme la métronidazole [36].

Il existe cinq constituants de la propolis possédant une activité antifongique significative, il s'agit du pinobanksol-3-acétate, du pinocembrine, de l'acide coumarique et de l'acide caféique [21].

#### **IX.1.D. Action antiparasitaire**

Selon certaines études, la propolis serait efficace contre la plupart des parasites répandus essentiellement les pays tropicaux et subtropicaux, tel que :

- ✚ *Trichomonas* (Trichomose uro-génitale)
- ✚ *Trypanosomacruzi* (maladie de Chagas)
- ✚ *Les leshmania* (Leishmaniose)
- ✚ *Le gardialamblia* (Lambliaose) [27].

#### **IX.2. Propriété antioxydante**

Comme tout produit contenant des phénols et des flavonoïdes, la propolis a une activité antioxydant. L'étude d'extraits aqueux de propolis de Chine le démontre.

Les molécules suivantes: épicatechine, acide p-coumarique, morine, 3,4 diméthoxy-cinnamique, naringénine, acide férulique, acide cinnamique, pinocembrine et chryisine sont les principaux composés phénoliques fonctionnels dans ces extraits. La propolis de peuplier est aussi antioxydant par la présence d'acide caféique et d'artepilline C.

De plus, les extraits aqueux de propolis contiennent une plus grande proportion de molécules antioxydantes que les extraits éthanoliques de propolis [37].

#### **IX.3. Propriété anticancéreux et immuno-modulatrice**

Les propriétés anti-carcinogènes de la propolis ont été démontrées par de nombreuses études sur l'animal. Elles sont dues aux flavonoïdes et à un dérivé de l'acide caféique identifié comme étant un inhibiteur tumoral.

Egalement, des agents cytotoxiques spécifiques des cellules cancéreuses comme l'Artepilline C et le diterpénoïde du clerodane, ce dernier ayant prouvé ses 22 actions dans le traitement du cancer de l'utérus, de par son action antivirale, et dans le cancer du foie [24].

Selon les travaux d'O.Misukami au Japon. Elle augmente la stabilisation des globules rouges et blancs après un mois d'utilisation, elle améliore la qualité de vie des malades. On l'utilise en synergie avec des huiles essentielles de basilic, carotte cultivée, girofle et niaouli [38].

La propolis possède aussi une action immuno-modulatrice grâce au dérivé de l'acide caféique (phényle ester de l'acide caféique ou CAPE) et une action bénéfique a été observée dans le traitement de l'asthme ainsi que dans les cas de cancers du sein et de certains types de leucémie [24].

#### **IX.4. Propriété anti-inflammatoire**

L'effet anti-inflammatoire de la propolis, proche de l'Aspirine, est dose dépendant. L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les flavonoïdes de la propolis lui confère cette action anti-inflammatoire, utile dans les inflammations de la cornée, de la trachée, du pharynx (lors d'intubation prolongée par exemple) ou dans l'arthrite rhumatismale [34 ; 35].

#### **IX.5. Propriété anesthésique**

La propolis possède une action anesthésiante, ceci grâce à l'activité des huiles volatiles de celle-ci. Cette action n'est pas issue d'un mécanisme central comme la morphine et n'a pas d'effets indésirables comme la cocaïne (collapsus, malaises...) [24].

#### **IX.6. Propriété cicatrisant et régénératrice**

La propolis possède un effet stimulant sur le métabolisme cellulaire, la circulation, et la formation du collagène. De plus, elle répare en un temps record l'épiderme abîmé (régénération de tissu) [23].

#### **IX.7. Activité antiallergique**

Principalement due à son activité antioxydant, cependant un flavonoïde, la chrysin, intervient également en inhibant la libération d'histamine par les mastocytes et l'expression de gènes codant pour des cytokines inflammatoires [22].

### **X. Utilisation de la propolis**

Bien qu'il y ait de divers effets attribués aux propolis, beaucoup des rapports sont basés sur des études préliminaires. Des épreuves *d'IFCLINICAL* ont été conduites, elles ont été rarement basés sur un grand nombre de patients ou l'essai rigoureux conçoit tels comme essai

à double anonymat de place. La majorité des études ont été entreprises dans les pays européens.

Le travail et la recherche beaucoup pratiques est également il est fait en Chine, mais l'information difficile à obtenir, en raison de la barrière linguistique. La recherche médicale d'Europe occidentale et nord-américaine a en grande partie ignoré cette source de matériel plus doux.

Plus détaillé des études sont justifiées pour déterminer les avantages potentiels de l'utilisation médicinale des propolis, en particulier pour des applications intestinales, dermatologiques et dentaires [39].

### **X.1. Utilisation de la propolis par les abeilles**

A l'intérieur de la ruche, la propolis sert de mastic de ciment ou de baume. Les abeilles l'emploient pour :

- Assurer une meilleure isolation thermique ;
- Obturer les fissures ;
- Réduire l'ouverture de trou de vol dans les régions à climat froid (**Figure II-9**) ;
- Recouvrir les corps étrangers (souris, cétoines, frelons.....etc.) qu'elles ne peuvent pas évacuer ;
- Réparer les rayons et renforcer les minces parois des alvéoles en l'incorporant à la cire que l'abeille sécrète ;
- Stériliser les alvéoles avant la ponte [21].



**Figure II-9** : Les abeilles réduisent le trou de vol avec de la propolis [21].

## **X.2. Utilisation de la propolis par l'homme**

### **X.2.A. Utilisation traditionnelle**

Propolis a été employée comme agent médicinal depuis des périodes antiques. Il était utilisé dans la médecine folklorique dès 300 AVANT JÉSUS CHRIST pour des buts cosmétiques, ses propriétés anti-inflammatoires, et pour la blessure curatif. Elle a été employée intérieurement et extérieurement, et est censé pour posséder l'antibactérien, antiviral, fongicide, anesthésique local, anti-inflammatoire, immunostimulant, hypotendu, et propriétés cytostatiques [39].

### **X.2.B. Utilisation commerciale**

La propolis brute est collectée par les apiculteurs et vendu aux laboratoires pour faire les différents extraits qui serviront pour la fabrication de diverses gammes de produits [26].

### **X.2.C. Autre utilisation**

La Propolis est également efficace contre des ulcères. Dans une étude clinique impliquant 294 patients, 90% de 108 patients d'ulcère donnés des propolis étaient libres du syndrome pendant deux semaines, comparées seulement à 55% de 186 patients par convention traités. Propolis semble également être efficace dans le traitement de grave acné [39].

## **XI. Forme galénique**

Sous sa forme pure, on la retrouvera en blocs ou fragments, en pâte, en poudre ou en granulés.

Dans d'autres forme telles que les teintures officinales, les extraits mous, les pommades, les comprimés, les ovules, les suppositoires, les gels, les sirops les crèmes, les émulsions, les collyres et les sprays, elle sera transformée lors du conditionnement et/ou en vue d'une meilleure conservation [22].

Nous pouvons aussi trouver la propolis en association avec des produits naturels comme le miel, la gelée royale, différentes plantes médicinales et huiles essentielles [34].

Voici une recette simple pour enrichir une pommade : faire fondre un volume de propolis dans un volume d'huile d'olive chaude ou dans de la vaseline. Cette pommade serait anti-inflammatoire, antibactérienne et analgésique [32].

## **XII. 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 [23].

Différents traitements peuvent être appliqués à la propolis, dans le but d'isoler et garder les éléments solubles de celle-ci, aux propriétés pharmacologiques intéressantes.

### **XII.1. Les teintures**

Réalisées dans l'alcool, ce dernier peut ensuite être évaporé. On élimine alors les cires qui ne sont pas ou peu solubles dans l'alcool. On peut aussi ensuite formuler des solutions aqueuses de propolis.

### **XII.2. Les extraits**

On peut réaliser des extraits mous à partir de la teinture officinale en évaporant partiellement le solvant. Ainsi on concentre les principes actifs et les cires sont absentes puisque éliminées pour former la teinture. En évaporant totalement la teinture, on obtiendra les extraits secs.

### **XII.3. La lyophilisation**

Elle permet une conservation indéfinie sous vide jusqu'à reconstitution [22].

**DEUXIEME PARTIE**

**PARTIE EXPERIMENTALE**

# ***CHAPITRE III***

## ***MATERIEL ET METHODES***

***&***

## ***RESULTATS ET DISCUSSION***

# ***MATERIELS ET METHODES***

## **I. Matériels et méthodes**

### **I.1. Matériel**

#### **I.1.A. Matériel végétal**

L'échantillon de propolis a été récolté au mois d'Aout 2014, nous avons été fournis par un apiculteur de la région Ain Oulmene (wilaya de Sétif). Le poids de la propolis varie entre 15g et 150g. La conservation d'échantillon a été faite à froid.

La récolte a été effectuée par le raclage des cadres (cette méthode permet d'obtenir une propolis de mauvaise qualité "trop d'impuretés" contrairement à la récolte en utilisant des grilles de la propolis).

#### **I.1.B. Matériel et équipement**

##### **I.1.B.a. Équipements**

- Spectrophotomètre UV/ visible ;
- Etuve ;
- Balance analytique de précision ;
- Agitateur secoueur vortex de tube pour laboratoire ;
- Spatule métallique ;
- Capsules en verre.

##### **I.1.B.b. Verreries et matériel en plastique**

- Flacon de Laboratoire 1000ml ;
- Erlenmeyer de 500ml, 1000ml ;
- Fiole de 50ml, 100ml, 200ml, 500ml, 1000ml ;
- Becher de 20ml, 50ml, 250ml, 500ml ;
- Entonnoir ;
- Tubes à essais ;
- Micropipette 500 $\mu$ l et 1000 $\mu$ l ;
- Papier filtre Whatman n° 01.

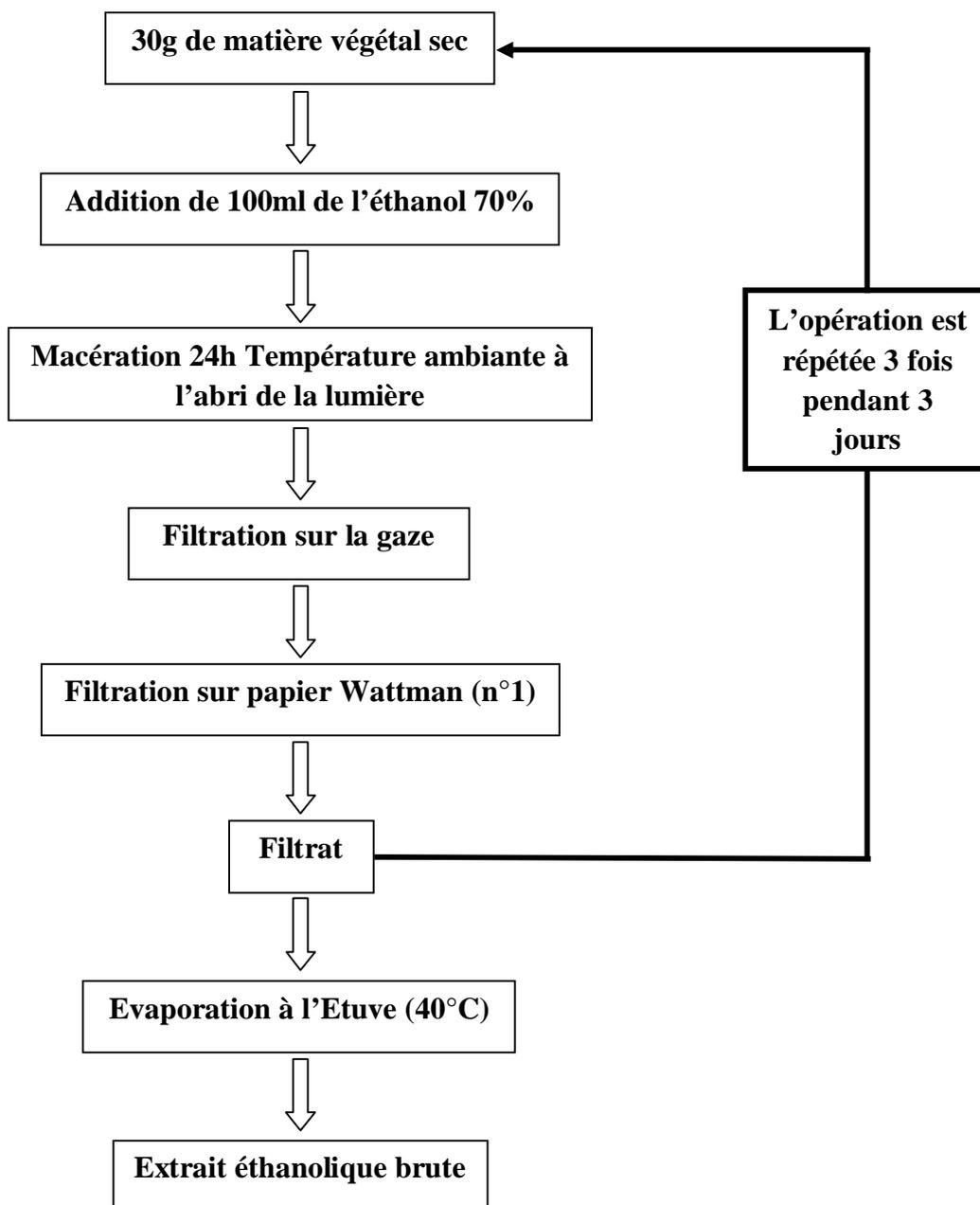
**I.1.C. Produits chimiques**

- Ethanol 70% ;
- Méthanol ;
- L'eau distillée ;
- Le réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Acide Gallique ;
- Carbonate de Sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7.5% ;
- Carbonate de Calcium  $\text{CaCO}_3$  ;
- Solution Chlorure d'Aluminium  $\text{AlCl}_3$  ;
- Quercetine ;
- DPPH.

**II. Extraction****II.1. Extraction par le solvant**

L'extraction a été effectuée à température ambiante et à l'abri de la lumière, par macération de 30g de la matière végétale dans 100ml du éthanol en solution (70%). cette macération est répétée 3 fois en renouvelant le solvant chaque 24h. Après une filtration sur papier Whatman n°01.

Les extraits ont été séchés dans un étuve à température de 40°C pendant 3 jours jusqu'on obtient un extrait brute [40].



**Figure III-1** : Protocole de préparation de l'extrait éthanologique par macération.

## II.2. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la propolis brute soumise à l'extraction selon la relation suivante:

$$\% \text{ Rendement} = \frac{M_F}{M_I} \times 100$$

Tel que :  $M_F$ : la masse finale de l'extrait obtenu.

$M_I$ : la masse initiale de la propolis brute.

## III. Analyse chimique

### III.1. Dosage des polyphénols totaux

#### III.1.A. Principe

Le réactif de Folin-ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolibdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765nm [40].

#### III.1.B. Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode [41] avec quelques modifications (**Figure III-2**).

##### ❖ Préparation de la gamme d'étalonnage:

- ✚ Peser 10mg d'acide gallique;
- ✚ Les dissoudre dans 10ml d'éthanol, soit une solution (S1) avec une concentration de 1mg/ml;
- ✚ Diluer la solution mère comme suit : volume totale 500 $\mu$ l (**Tableau III-1**) [1].

**Tableau III-1** : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

Concentration [ $\mu\text{g/ml}$ ]	10	20	40	60	80	100	120	140
$V_{\text{MS}}$ ( $\mu\text{l}$ )	5	10	20	30	40	50	60	70
$V_{\text{ED}}$ ( $\mu\text{l}$ )	495	490	480	470	460	450	440	430

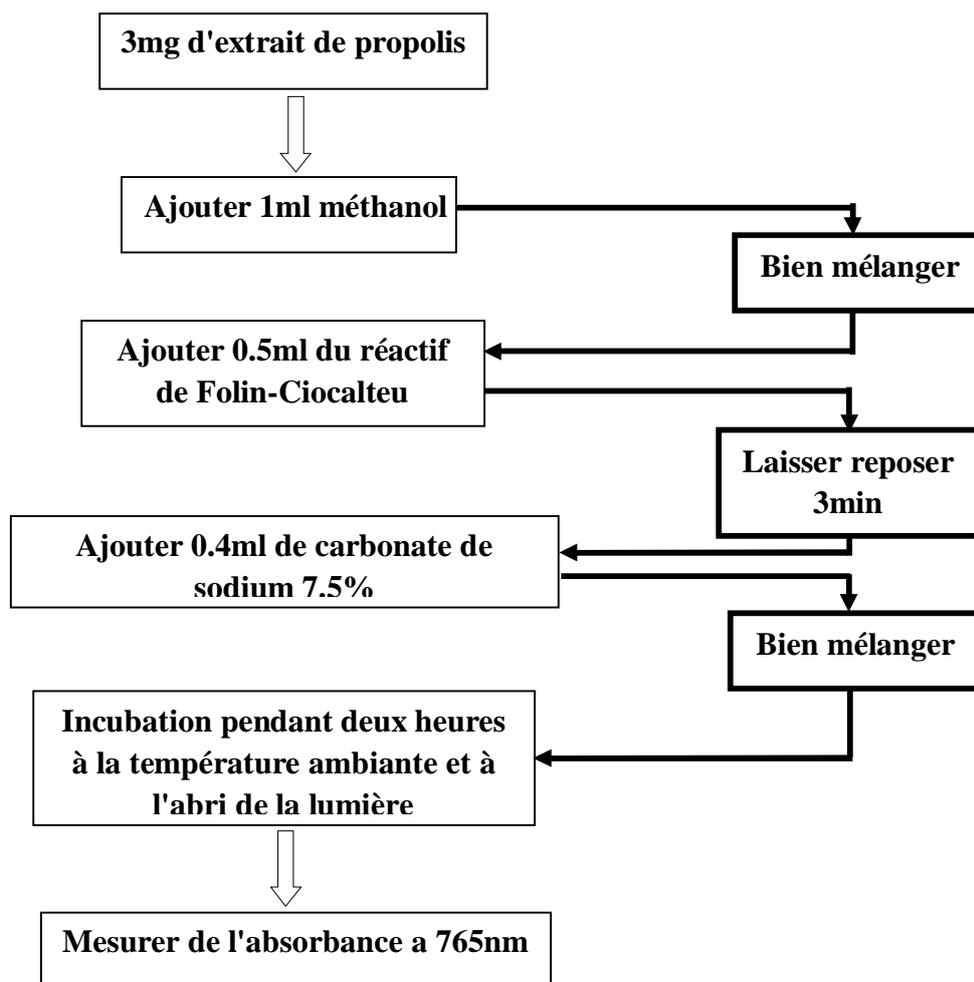
❖ **Traçage de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique:**

- Prélever 0.5ml de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais ;
- Ajouter 0.5ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans l'eau distillée (v/v) dans chaque tube;
- Agiter vigoureusement puis laisser agir 4min, ajouter 0.4ml de carbonate de sodium à 7.5%;
- Laisser incuber pendant deux heures à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le blanc est représenté par 0,5ml d'eau distillée additionné de 0.5ml de Folin-Ciocalteu et 0.4 ml de carbonate de sodium à 7.5%, toutes les mesures sont réalisées en triplicate.

La lecture des absorbances est faite à 765nm, après agitation et repos de deux heures. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage [1].

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait éthanoïque de la propolis est illustré dans la figure suivante :



**Figure III-2 :** Organigramme représentant le dosage des polyphénols totaux.

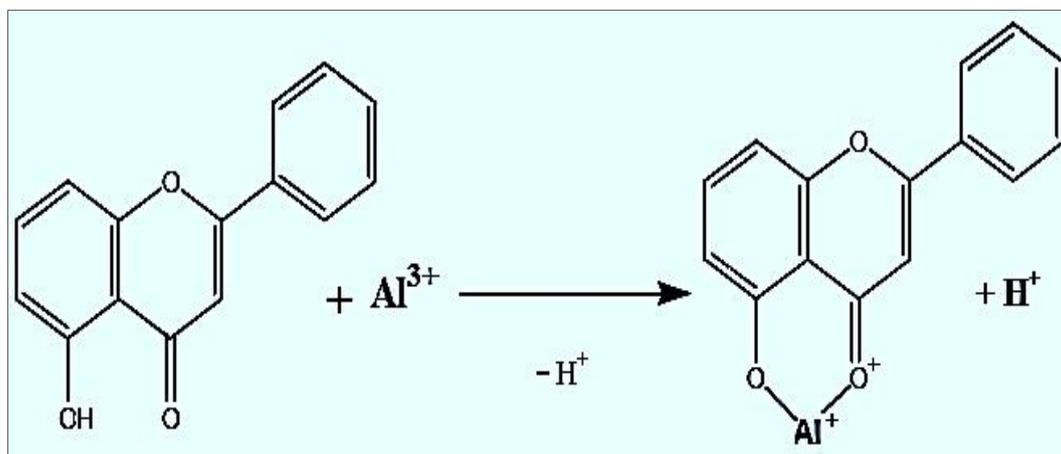
La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $Y = aX + b$ ) réalisée par l'extrait d'étalon "acide gallique" à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par 1g de propolis brut ( $\mu\text{g}$  EAG/g propolis brute) [41].

## III.2. Dosage des flavonoïdes totaux

### III.2.A. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Ils forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium).

Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. La formule du complexe entre le chlorure d'Aluminium et un composé phénolique O-hydroxy carbonylé est présentée comme suite [42]:



**Figure III-3:** Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes [4].

### III.2.B. Mode opératoire

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans l'extrait éthanolique de la propolis est réalisée par la méthode [43] avec quelques modifications (**Figure III-4**).

#### ❖ Préparation de la gamme d'étalonnage

Peser 2,5mg de quercétine.

- ✚ Les dissoudre dans 1ml de méthanol, soit une solution (S2);
- ✚ Diluer la solution mère dans une fiole qu'on complète à 50ml de méthanol, ce qui donne une concentration de  $50\mu\text{g}/\text{ml}$ ;
- ✚ Le volume total est de 5ml [4].

La préparation de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes est illustrée dans le tableau suivant :

**Tableau III-2:** Préparation des dilutions de quercétine pour la réalisation de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux.

Concentration [ $\mu\text{g/ml}$ ]	1	2	5	7	10	15	20	40
$V_{\text{sm}}$ (ml)	0.1	0.2	0.5	0.7	1	1.5	2	4
$V_{\text{Me.OH}}$ (ml)	4.1	4.8	4.5	4.3	4	3.5	3	1

#### ❖ Traçage de la courbe d'étalonnage de la Quercétine

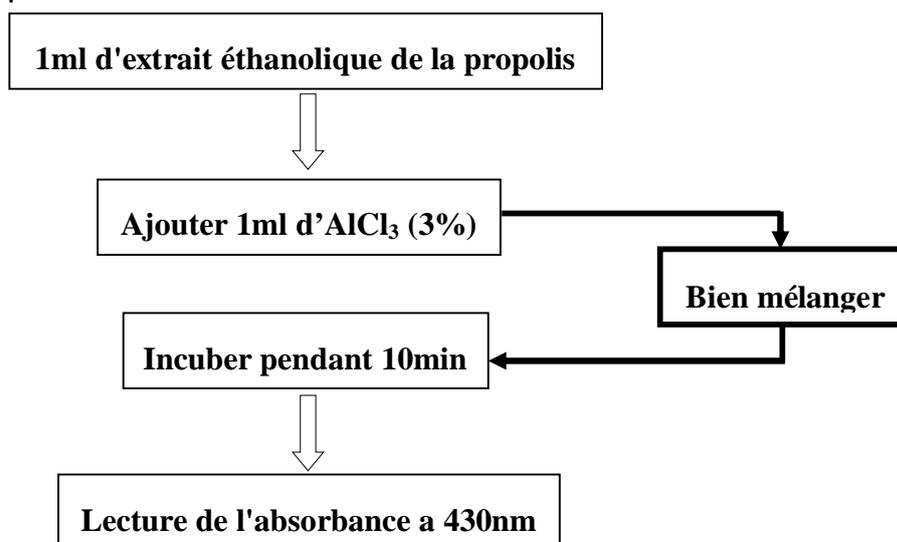
- Mettre 1ml de chaque dilution d'échantillon dans des tubes à essais;
- Ajouter 1ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2%;
- Laisser incuber pendant 10min à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le blanc est représenté par 1ml de chaque [C] à laquelle on ajoute 1ml de méthanol, toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

La lecture des absorbances est faite à 430nm, après agitation et repos de 10min. La concentration en composés flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard d'étalonnage.

La quantité de flavonoïdes contenue dans l'extrait de propolis est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec quercétine [4].

Le dosage des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique de la propolis est représenté dans la figure suivante :



**Figure III-4 :** Organigramme représentant le dosage des flavonoïdes dans l'extrait de propolis.

La courbe d'étalonnage ( $Y = aX + b$ ) obtenue avec la quercétine a différentes concentrations des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par un gramme de propolis brute ( $\mu\text{g EQ/g propolis brute}$ ) [4].

### III.3. Activité antioxydant

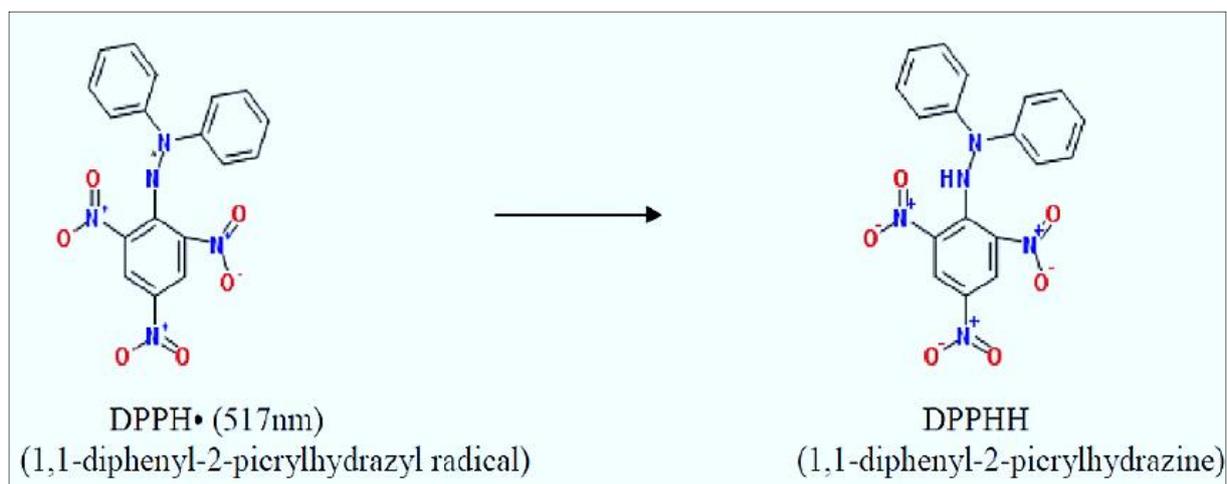
#### III.3.A. Test au DPPH

##### III.3.A.a. Principe

Le 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) est défini comme radical libre stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption.

Il réagit avec des groupements amines, les phénols, les acides, les composés hydro-aromatiques, etc. Cette propriété est largement recommandée et utilisé dans la pratique analytique.

Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (1,1-diphényl-2-(2,4,6- trinitrophenyl) hydrazine (DPPH<sub>2</sub>) avec la perte de la couleur violette et apparition d'une couleur jaune pâle résiduelle due à la présence de groupement picryl selon la réaction suivante [44].



**Figure III-5 :** Réduction du radical libre DPPH\* en DPPH.

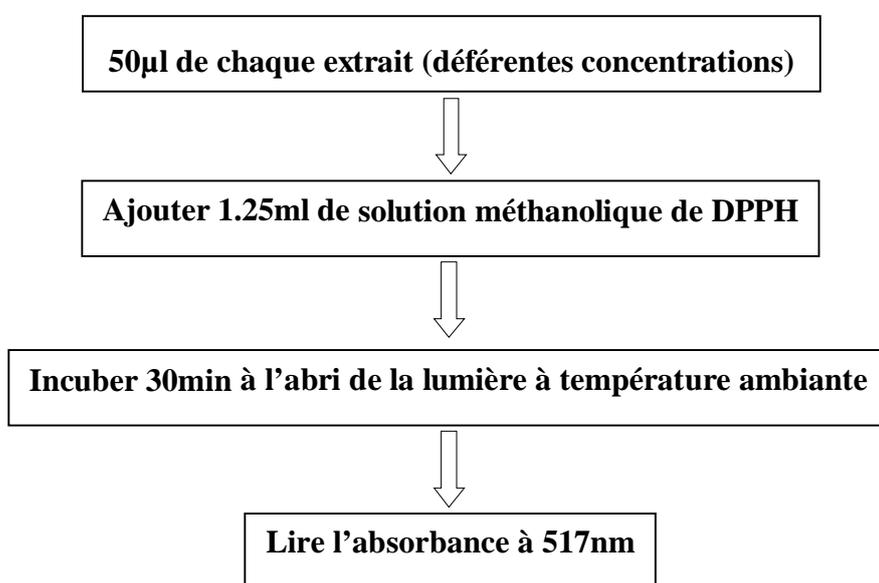
### III.3.A.b. Mode opératoire

Une solution méthanolique de 0,004% de DPPH est mélangée avec différentes concentrations des extraits de propolis, mettre 50µl de chaque dilution de ces extraits dans un tube à essai, ajouter 1,25ml de solution méthanolique de DPPH, puis laisser incuber 30min à l'abri de la lumière à température ambiante.

Lire l'absorbance à 517nm contre un blanc qui contient de méthanol pur.

Répéter les mêmes opérations, en remplaçant l'extrait de propolis par le BHT (contrôle positif). Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Les différentes étapes de test DPPH est illustré dans la figure suivante :



**Figure III-6 :** Organigramme représentant les étapes de test DPPH.

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = \frac{(\text{Abs Control} - \text{Abs Extrait})}{\text{Abs Extrait}} \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de l' $EC_{50}$ , sachant que l' $EC_{50}$  est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH<sup>•</sup> [44].

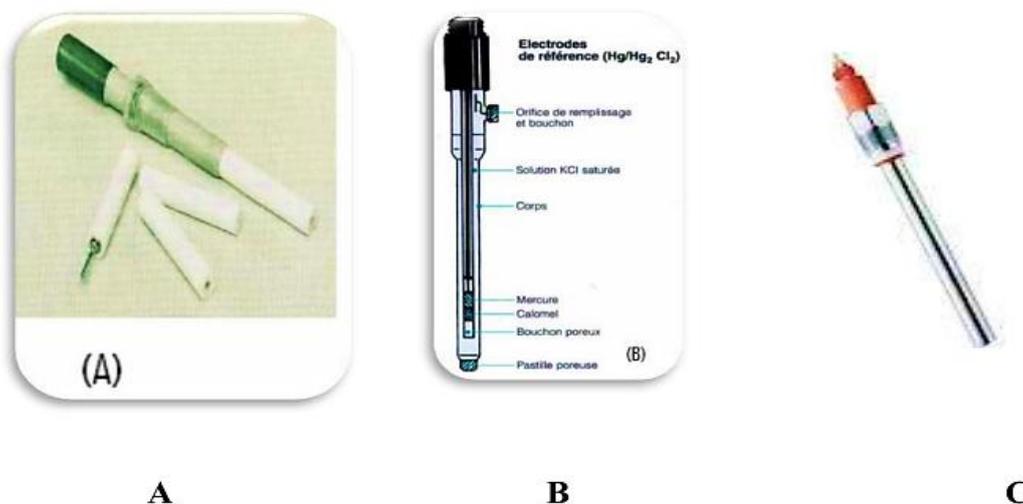
### III.3.B. La méthode électrochimique

La voltamétrie est une méthode d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation (réaction d'oxydoréductions) des composés présents en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques), dont certains simultanément, et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés [45].

#### III.3.B.a. L'équipement

##### III.3.B.a.1. Matériels utilisés

- Potentiostat galvanostat ZRA GAMRY reference 3000.
- Electrodes :
  - Deux électrodes composant le circuit d'électrolyse :
    - ✓ électrode de travail : où s'effectue la réaction redox, est une microélectrode de carbone vitreux de surface de  $0.7\text{mm}^2$  attaché à une tige, lavé avant chaque enregistrement avec l'acétone et nettoyé par papier abrasif.
    - ✓ Electrode auxiliaire : est une électrode de platine.
  - Une électrode de référence : électrode de calomel saturé de KCl ( $E_{ECS}$ ).



**Figure III-7:** Les électrodes utilisées dans cette étude: (A) électrode de travail en carbone vitreux, (B) électrode de référence au calomel saturée, (C) contre-électrodes en platine.

**III.3.B.a.2. Solutions**

- KCl / NaCl (0.1M).
- Extrait de propolis (500mg/ml).



**Figure III-8:** Potentiostat galvanostat ZRA GAMRY reference 3000.

**Conditions Opérateur**

Toutes les verreries utilisées en électrochimie doivent être aussi propres que possible. Les solvants et les réactifs utilisés pour la préparation des solutions doivent être aussi purs que possible.

**III.B.b. Mode opératoire**

Avant de commencer l'étude de nos produits nous avons précisé le domaine d'activité d'électrolyte support [-2000 ; 400mv] avec une vitesse de balayage 50mv/s.

On réalise le test d'électrochimie avec les solutions suivantes :

- Solution de NaCl saturée d'O<sub>2</sub> et dans ce cas la concentration d'O<sub>2</sub> initial est 7,23mg/l.
- Solution de NaCl + Extrait de propolis (500mg/ml).

# ***RESULTATS ET DISCUSSION***

## I. Extraction

L'extraction des substances bioactives de la propolis est réalisée par macération dans l'éthanol. Cette extraction a permis d'obtenir un extrait visqueux de couleur marron appelé "extrait éthanolique de propolis" exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la propolis brute.

Le rendement de l'extrait éthanolique de la propolis a été estimé à 14.03%. Ce dernier est dû aux techniques d'extraction utilisées et à la composition chimique d'extrait brute.

## II. Résultats de l'étude quantitative

L'étude quantitative des extraits bruts de la propolis, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que ces derniers semblent les plus dominants dans la composition de la propolis, en plus ce sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis tels que l'activité antibactérienne, antivirale et antioxydant.

### II.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard et l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765nm.

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

$$Y = 0.0086x + 0.07 \text{ sachant que } R^2 = 0,9981$$

La quantité des polyphénols a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par un gramme de propolis brute ( $\mu\text{g EAG/g propolis brute}$ ).

#### ❖ Courbe d'étalonnage des polyphénols

La gamme d'acide gallique est tracée pour des concentrations comprises entre 10 et 140 $\mu\text{g /ml}$  (**figure III-9**).

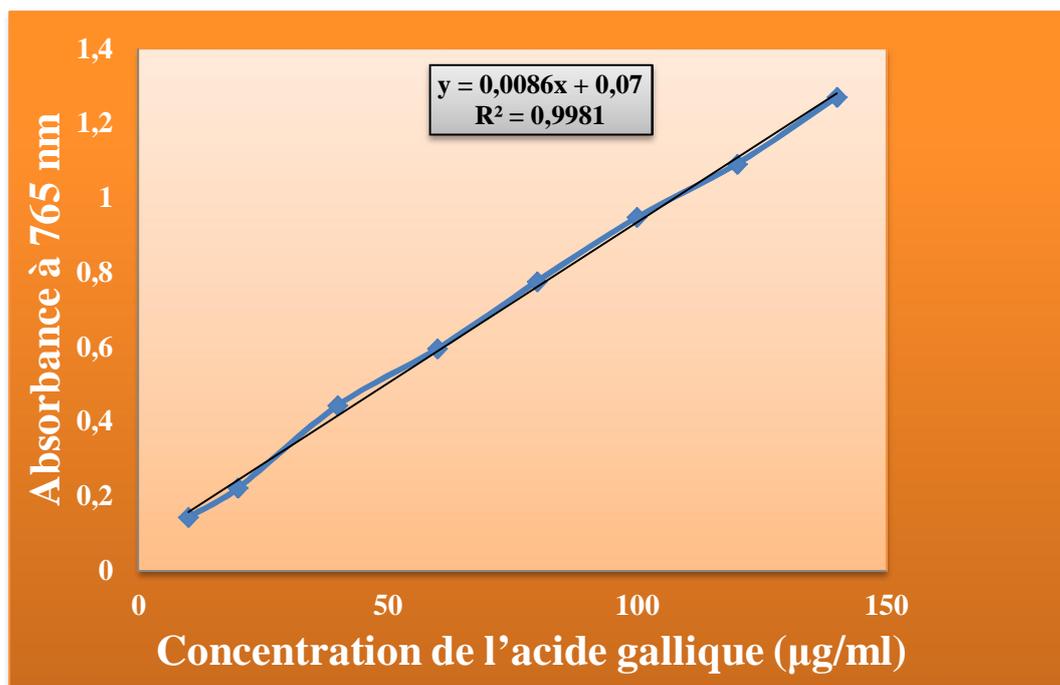


Figure III-9 : Droite d'étalonnage des polyphénols totaux d'extrait.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux est :  $62.519 \pm 3.58 \mu\text{g}$  d'équivalent d'acide Gallique par gramme de propolis brute ( $\mu\text{g}$  EAG/ g propolis brute).

En présence des polyphénols, le complexe Folin-Ciocalteu change sa couleur du jaune au bleue, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à longueur d'onde de 765 nm.

Le résultat du dosage des polyphénols totaux montre que l'extrait éthanolique qui contient une très faible teneur en polyphénols avec :  $62.519 \pm 3.58 \mu\text{g}$  EAG /g propolis brute par rapport aux études faites sur la détermination de la teneur en polyphénols totaux de la propolis Algérienne, on peut citer quelques-unes: 206,11 ( Ecart type : 4.98), 35.77 (Ecart type : 2.25) et 241.26 ( Ecart type :3.25) mg EAG /g de propolis brute respectivement pour Yakouren 2008, Mitidja 2008 et Laghouat [21].

## II.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Trichlorure d'Aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La Quercetine a été utilisé comme étalon et l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430nm.

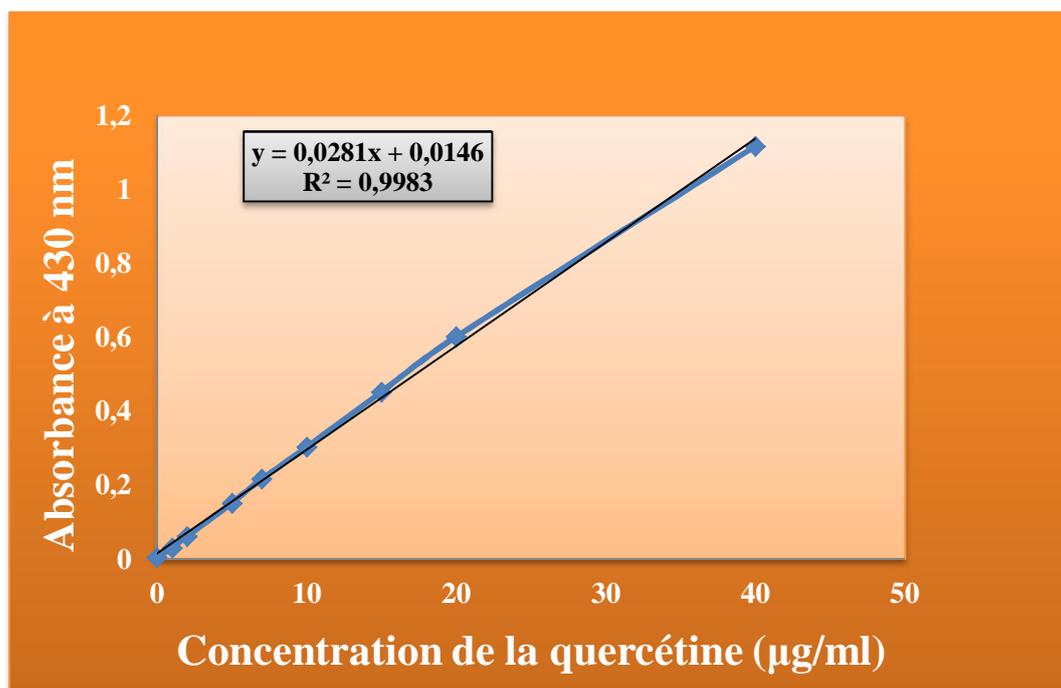
Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

$$Y = 0.0281x + 0,0146 \text{ sachant que } R^2 = 0,9983$$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la Quercétine par un gramme de propolis brute ( $\mu\text{g EQ/g}$  propolis brute).

#### ❖ Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

La gamme de Quercétine est tracée pour des concentrations comprises entre 1 et  $40\mu\text{g/l}$  (figure III-10).



**Figure III-10** : Droite d'étalonnage des flavonoïdes totaux d'extrait.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes est :  $11,224 \pm 0,062\mu\text{g}$  d'équivalent Quercétine par gramme de propolis brute ( $\mu\text{g EQ /g}$  propolis brute).

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de Trichlorure d'Aluminium, celle-ci est la plus employée, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm.

La Quercétine est utilisée comme standard, le résultat du dosage des flavonoïdes est:  $11,224 \pm 0,062\mu\text{g}$  d'équivalent Quercétine par gramme de propolis brute ( $\mu\text{g EQ /g}$  propolis brute).

La teneur en flavonoïdes totale décelée chez la propolis algérienne est de 83.45 (Ecart type : 1.20), 13,33 (Ecart type : 0.5), et 120.35 (Ecart type : 4.05) mg EQ/g de propolis brute respectivement pour les échantillons de Yakouren 2008, Mitidja 2008 et Laghouat. Ces résultats sont très élevés du résultat obtenu dans notre étude [21].

### III. Résultats des tests biologiques

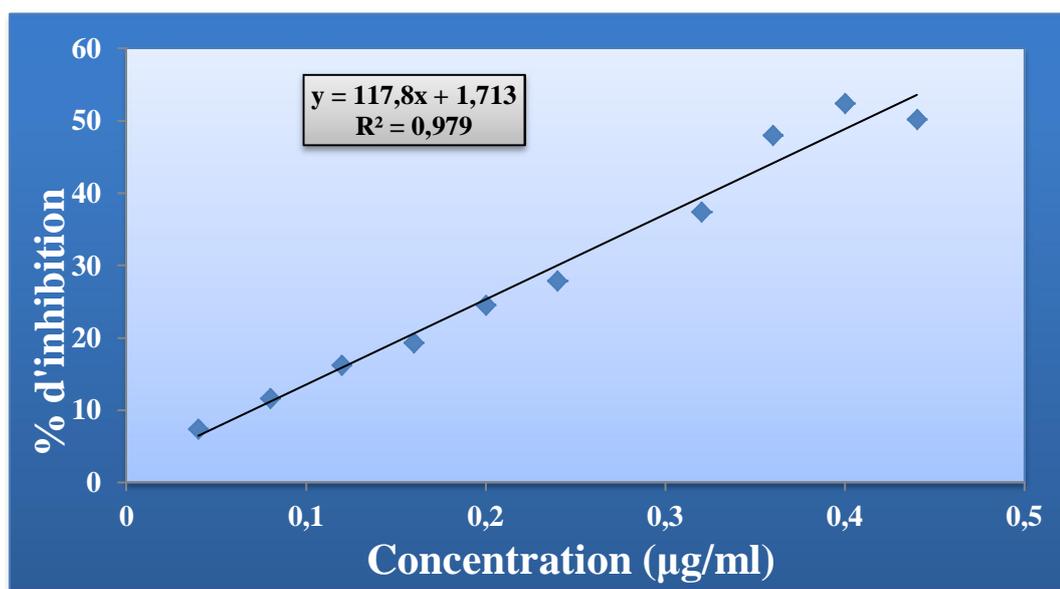
#### III.1. Activité antioxydante

##### III.1.A. Test au DPPH

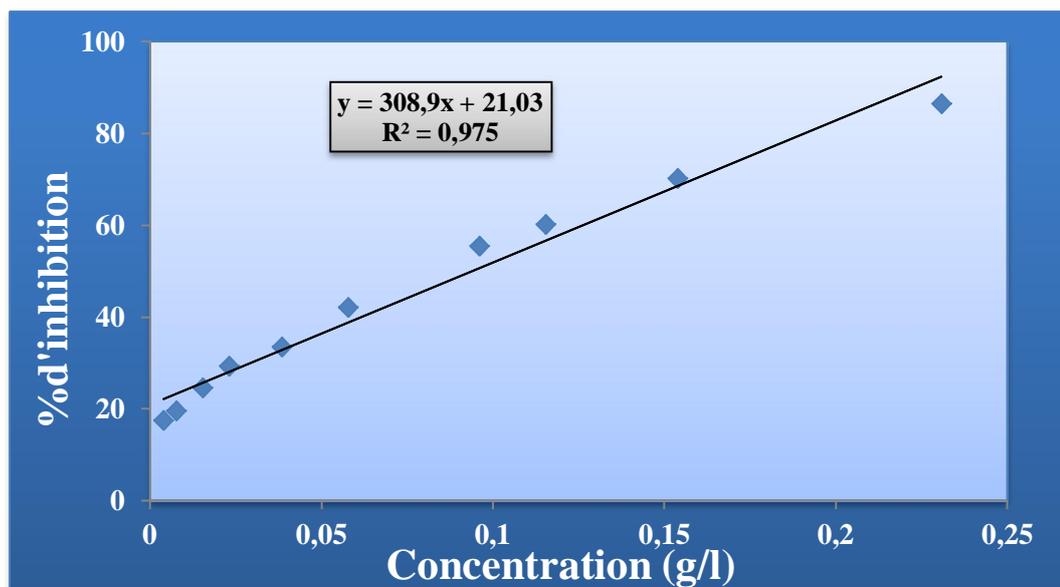
Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) choisi dans cette étude est basé sur le piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule anti-radicalaire, ce qui entraîne la décoloration de ce dernier.

Les activités antioxydants d'extrait éthanolique de propolis et du témoin positif BHT ont été déterminées par la méthode au DPPH.

Les résultats obtenus sont représentés sous forme des droites suivantes :



**Figure III-11** : Activité antioxydante d'extrait éthanolique de propolis.



**Figure III-12 :** Activité antioxydante du BHT.

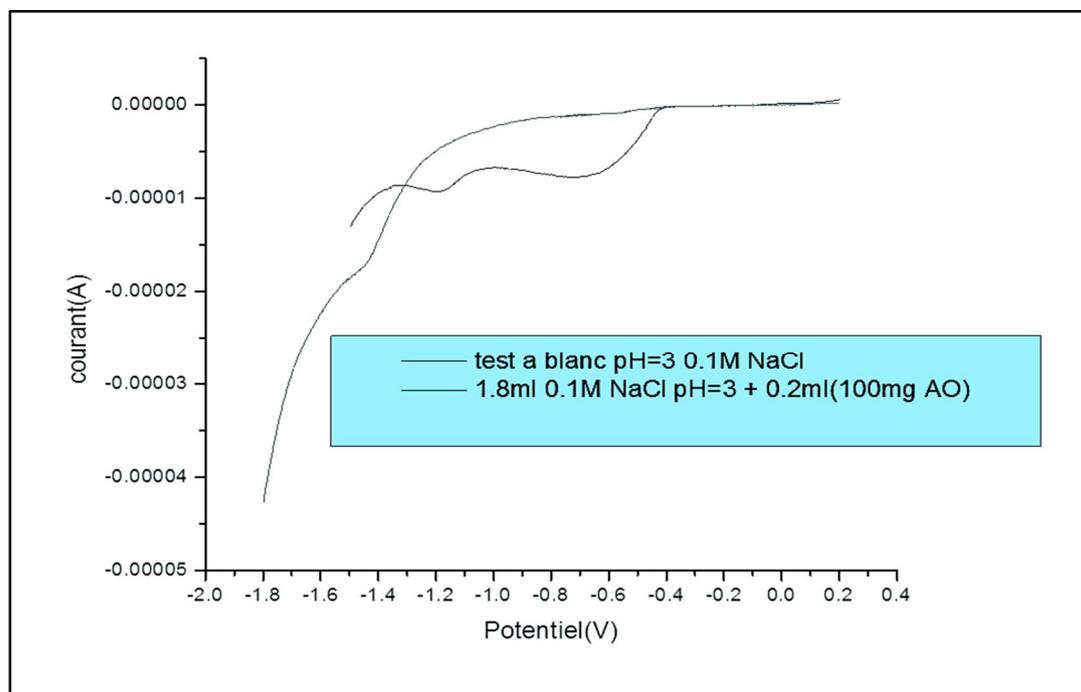
Les figures représentent la variations du pouvoir d'inhibition (PI) en fonction de la concentration de chaque extrait éthanolique de propolis ou témoin positif BHT et on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de ces extraits, nous aidant à calculer le paramètre  $EC_{50}$  ("efficient concentration" représente la concentration de l'inhibiteur pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel) des antioxydants présents dans l'extrait éthanolique de propolis brute exprimés en  $\mu\text{g}$ .

De même, nous avons calculé le  $EC_{50}$  du témoin positif BHT, afin de le comparer avec celui d'extrait éthanolique de propolis, les résultats obtenus à partir de ce test sont : 0.41 et 0.09 $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait éthanolique de propolis et de témoin positif BHT respectivement.

Puisque les valeurs d' $EC_{50}$  présentent les concentrations d'inhibiteurs nécessaires pour balayer 50% des radicaux libres et qui sont inversement proportionnelle à l'activité antioxydante, on remarque que l'extrait éthanolique a un pouvoir antioxydant inferieure au témoin positif BHT.

### III.1.B. La méthode électrochimique

Le tracé de courbe voltampérométrique de solution est représenté par la figure III-13.



**Figure III-13 :** Voltamétrie linéaire d'une solution aqueuse contenant 0.1M de KCl et 500mg/ml de propolis à Vb (Vitesse de balayage) = 50 mV/s sur une électrode de carbone vitreux (ET); électrode de référence (ER); électrode auxiliaire (EA) de platine.

Le domaine d'étude est limité entre -2000 à 400mV pour pouvoir observer le couple redox  $O_2/O_2^-$ . On trace la courbe I-E du côté cathodique en fonction de la vitesse de balayage, jusqu'à l'apparition clair du pic de réduction de l' $O_2$ , ce qui signifie que nous sommes en présence d'un transfert de charge (réaction électrochimique) démontré par une intensité de courant.

Le premier voltamogramme a été obtenu dans une solution saturée en  $O_2$  qui montre l'apparition d'un pic cathodique à -1400mV (courbe noir) attribué à la réduction d' $O_2$ .

Après l'ajout de 500mg/ml de l'extrait et en présence d' $O_2$ ; le courant du pic cathodique diminue (courbe bleu). La diminution de l'intensité de courant lorsqu'on ajoute l'extrait confirme l'inhibition de la réduction de l' $O_2$ .

Ce résultat montre le caractère antioxydant de propolis dans l'extrait.

# **CONCLUSION GENERALE**

## **CONCLUSION**

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, la propolis d'abeille constitue de véritable usine chimique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être de population.

Notre travail qui est une contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques de la propolis, nous a permis de comprendre que le domaine des produits de la ruche demeure encore un terrain valable de recherches scientifiques.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquelles on attribue des capacités antioxydants.

Dans le présent travail, différents aspects de propolis ont été étudiés : quelques propriétés phytochimique et activités antioxydantes d'extrait brut.

L'extraction de la propolis a permis d'obtenir un rendement 14.03%. Cette valeur est inférieure aux rendements obtenus chez d'autres espèces du même genre, alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols était conséquente.

L'étude de l'activité antioxydante d'extrait éthanolique de la propolis selon le test de piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> avec une concentration efficace EC<sub>50</sub> égale à 0,41µg/ml a montré que cet extrait possède une activité antioxydante importante, et ses résultats sont confirmés par la méthode électrochimique.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1] **Mourad BOUDJOUREF**. Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire de magister. Université Ferhat Abbes-Sétif ; Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ; Département de Biochimie ; Option: Biochimie appliquée. 2011.
- [2] **Nabila BENHAMMOU**. Activité antioxydant des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen ; Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ; des Sciences de la Terre et de l'Univers ; Département de Biologie ; Laboratoire des produits naturels (LAPRONA) ; Option: Substances naturelles, activités biologiques et synthèse. 2012.
- [3] **Abd El Nacer HARRAR**. Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.* Mémoire de magister. Université Ferhat Abbes-Sétif ; Faculté des sciences de la nature et de la vie ; Département de biochimie ; Option: Biochimie et physiologie expérimentale. 2012.
- [4] **Sarah MAAMRI**. Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes ; Faculté des sciences ; Département de biologie ; Option: Biochimie et microbiologie appliquées. 2008.
- [5] **Ahlem MANALLAH**. Appliquée, activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Mémoire de magister. Université Ferhat Abbes-Sétif ; Faculté des sciences de la nature et de la vie ; Département de biochimie ; Option: Biochimie. 2012.
- [6] **Sabiha ACHAT**. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00978529>. Université d'Avignon; Université A. Mira (Bejaia, Algérie). 2014.
- [7] **Chérifa BOUBEKRI**. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Mémoire de doctorat en sciences. Université Mohamed Khider-Biskra ; Faculté des Sciences exactes, des sciences de la nature et de vie ; Département : Sciences de la matière ; Spécialité : Chimie. 2014.

[8] **Nada EL DARRA**. Les composés phénoliques des raisins : étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction. Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur de l'UTC. Université de technologie-Compiègne ; Spécialité : Génie des procédés industriels et développement durable. 2013.

[9] **Asma MEZITI**. Activité antioxydant des extraits des graines de *Nigella sativa*L. Étude in vitro et in vivo. Mémoire de magister en biochimie appliquée. Université El-haj lakhdar-Batna ; Faculté des Sciences ; Département des sciences biologiques ; Option: Molécules bioactives. 2009.

[10] **Souâd AKROUM**. Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse présentée pour l'obtention du grade de doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine ; Faculté des sciences de la nature et de la vie ; Département de biologie animale ; Option : physio-toxicologie. 2011.

[11] **Abdelghafour MARFAK**. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de limoges. Université de LIMOGES ; Ecole doctorale sciences biologie santé ; Faculté de pharmacie ; Spécialité : Biophysique. 2003.

[12] **Jessica TABART**. Optimisation et caractérisation d'un extrait de cassis riche en antioxydants utilisable comme complément alimentaire et étude de ses effets sur la vasorelaxation dépendante de l'endothélium. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences (Biochimie, Biochimie moléculaire et cellulaire, Bio-informatique et modélisation). Université de Liège ; Faculté des sciences ; Académie universitaire Wallonie-Europe ; Département des sciences de la vie ; Laboratoire de biologie moléculaire et de biotechnologie végétale. 2011.

[13] **Ghania YAKHLEF**. Étude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgarisl* et *laurus nobilisl*. Mémoire de magister en biochimie appliquée. Université El-hadj lakhdar-Batna ; Faculté des sciences ; Département de biologie. 2010.

[14] **Bénédicte PORTET**. Recherche bioguידee de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise. Thèse pour obtenir le grade de doctorat de l'université de Toulouse. Université Paul Sabatier Toulouse III ; UFR de pharmacie ; Spécialité : chimie – biologie – santé. 2007.

[15] **Chapitre 8 : Les Tanins.** Pharmacognosie. Faculté de pharmacie de MONASTIR - DCEP 1. 2013 – 2014.

[16] **Benjamin DUBOIS.** Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète: revue bibliographique. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Claude Bernard, Lyon I (Médecine. Pharmacie). 2015.

[17] **Kahina BOUHADJRA.** Étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magister. Université mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou ; Faculté des sciences ; Département de chimie ; Spécialité : Chimie ; Option : Chimie de l'environnement. 2011.

[18] **Q. Favier.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier, France. 2006.

[19] **Khadidja KANOUN.** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydant des extraits de *Myrtus communis L.* (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister en biologie. Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen ; Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. ; Département de biologie ; Laboratoire de produits naturels ; Option : Substances naturelles, activités biologiques et synthèse. 2011.

[20] **Benaissa BOUGUERNE.** Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse pour obtenir le grade de doctorat de l'université de Toulouse ; Université Toulouse III - Paul Sabatier ; Laboratoire de synthèse et propriétés physico-chimique de molécules d'intérêt biologique, CNRS 5068 ; Instituts des maladies métaboliques et cardiovasculaires, INSERM 1048 ; Ecole doctorale : Sciences de la matière ; Spécialité : Chimie-biologie-santé. 2012.

[21] **Fatiha FERHOUM.** 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*). Mémoire de magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes. Faculté des sciences de l'ingénieur ; Département technologie alimentaire ; Laboratoire de recherche de technologie alimentaire ; Option : Technologie alimentaire. 2010.

[22] **Cousin LAURENT.** L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Poitiers ; Faculté de médecine et de pharmacie. 2014.

[23] **Narimane SEGUENI.** Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis. Thèse présentée pour obtenir le diplôme de doctorat en science en pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine ; Faculté des sciences exactes ; Département de chimie ; Option : Chimie pharmaceutique. 2011.

[24] **Mickaël BLANC.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges ; Faculté de médecine et de pharmacie. 2010.

[25] Sources en provenance de ce site : « [http://propolis-propolis.net/propolis antibiotique.html](http://propolis-propolis.net/propolis%20antibiotique.html) » site consulté le 05/03/2016.

[26] **Dr. Stefan Stangaciu.** Recherches sur la propolis. 1998.

[27] **Nader EL Housseini.** Intérêt et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Université de Nantes ; Unité de formation et de recherche d'odontologie. 2013.

[28] **Martha JUMINER.** La propolis verte du Brésil. Mémoire fin de cycle 1'apitherapie. 2009.

[29] **Éric DEBUYSER.** Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nantes. Faculté de pharmacie. 1984.

[30] **Y.DONADIEU.** La propolis. Paris : Dangles. 2008.

[31] **Vassya BANKOVA, Solange DECASTRO, Maria MARCUCCI.** <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00891696>. Propolis: récent avances in chemistry and plant origin. 2000.

[32] Les produits de la ruche, autres que le miel : pollen et propolis. Ecole d'apiculture des ruchers du sud. Luxembourg. 2012.

[33] **Journée de NAMUR.** Journée d'information organisée aux facultés Notre-Dame de la paix à namur place de la justice, auditoire M.03 (faculté de Médecine). Présentation du bilan des activités développées dans le secteur apicole avec l'aide du programme miel de la communauté européenne. 2016.

- [34] la propolis. <http://apiculture-populaire.com/propolis.html>. Site consulté le 20/03/2016
- [35] **Mehdi GHARBI**. Les produits de la ruche : origines-fonctions naturelles-composition-propriétés thérapeutiques apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Campus Vétérinaire de Lyon. 2011.
- [36] **K. GHEDIRA, P. GOETZ, R. LE JEUNE**. Propolis. *Phytothérapie* 7 :100-105. 2009.
- [37] **Jean NICOLAY**. Perspectives d'avenir en apithérapie à l'officine. Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie. Université Angers ; UFR sciences pharmaceutiques et ingénierie de la sante. 2015.
- [38] **Françoise SAUVAGER**. Propolis:« Le super aliment de la ruche ». 2011.
- [39] **Adam Ahmed ISMAIL MOHAMED**. Effect of propolis extracts on khapra beetle *Trogoderma Granarium* (Everts) (Coleoptera: Dermestidae). University of Juba ; B.C.G. (Honneur) Natural resources and environmental studios. 2004.
- [40] **Ribera GAYON**. *Traité d'œnologie. Sciences et techniques du vin*. Paris: Dunod. 1972.
- [41] Li. 2007.
- [42] **Pascal Ribera GAYON**. *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition : Dunod. 1968.
- [43] Bahorun. 1996.
- [44] **Sabah BOUMERFEG**. Propriétés antioxydantes des extraits de *Tamus communis L*, *Carthames cœruleums L* et *Anuga Iva*. Thèse présentée pour obtenir le diplôme de doctorat des sciences. Université Ferhat Abbas-Sétif ; Faculté des Sciences ; Faculté des sciences ; Département de biologie ; Option: Biochimie appliquée. 2010.
- [45] **Boubaker ZAAROUR**. Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Asteracées) et évaluation de leur activité antioxydant. Mémoire présenté pour l'obtention de diplôme de master. Université Kadi Merbah-Ourgla ; Spécialité chimie appliquée. 2012.

## Résumé

La présente étude porte sur la caractérisation physico-chimique de la propolis locale, cette fameuse matière est très précieuse à cause de ses propriétés thérapeutiques qui sont liées directement à sa composition.

Dans un souci de valorisation de ce produit et afin de y attribuer une carte d'identité propre à y, nous avons voulu apporter notre modeste contribution en analysant un échantillon de propolis. La caractérisation physico-chimique et biochimique d'un échantillon de propolis, ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes constituent un point de départ pour cette action.

Par cette caractérisation, que nous estimons un outil indispensable à la constitution d'une base de données sur la propolis locale, les utilisateurs pourront bénéficier d'un support réel qui facilite leurs tâches. L'étude expérimentale montre que la propolis est riche en composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes).

L'extrait est analysé et étudié leur capacité antioxydante par deux différentes méthodes, une basée sur la réactivité de l'extrait avec un radical libre, stable en solution, le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl (DPPH), et l'autre par méthode électrochimique. L'étude a été principalement axée sur l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-radicalaire des composés et extraits vis-à-vis du radical anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ .

A partir de ces résultats, l'efficacité antioxydante *in vitro* du substrat étudié est représentée par un indice  $EC_{50}$  qui correspond ici à la concentration de l'extrait éthanolique de la propolis pour laquelle 50 % de l'anion superoxyde a disparu, dans une même échelle de temps. Dans ce travail l'extrait éthanolique de la propolis possède une capacité antioxydante importante à une concentration efficace ( $EC_{50}$ ) égale à 0.41 µg/ml.

**Mots clés :** *Propolis, Flavonoïdes, Polyphénols, activité antioxydante, électrochimique.*

## Abstract

This study focuses on the physicochemical characterization of the local propolis, this famous material is very valuable because of its therapeutic properties that are directly related to its composition.

For the sake of enhancement of this product and to assign it its own identity card to him, we wanted to make our modest contribution by analyzing a sample of propolis. The physicochemical and biochemical characterization of a sample of propolis, as well as evaluation of their antioxidant activities are a starting point for this action.

By this characterization, which we consider an essential tool for building a database on local propolis, users will benefit from a real support to facilitate their tasks. The experimental study shows that propolis is rich in phenolic compounds (polyphenols and flavonoids).

The extract was analyzed and studied their antioxidant capacity by two different methods, one based on the reactivity of the sample with a stable free radical solution, 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl (DPPH), and another electrochemical method. The study was mainly focused on the *in vitro* evaluation of the anti-radical activity of the compounds and vis-à-vis extracts superoxide anion radical  $O_2^{\bullet-}$ .

From these results, the antioxidant effectiveness of the studied *in vitro* substrate is represented by an  $EC_{50}$  value which corresponds here to the concentration of the ethanolic extract of propolis for which 50 % of the superoxide anion has disappeared, in the same time scale. In this work the ethanolic extract of propolis has significant antioxidant activity at an effective concentration ( $EC_{50}$ ) equal to 0.41 µg / ml.

**Key words:** *Propolis, Flavonoïdes, Polyphenols, antioxidant activity, electrochemical*

## المخلص

يتميز العكبر (propolis) بخصائصه العلاجية الفعالة و التي لها علاقة مباشرة مع مكوناته الكيميائية المتعددة.

لفحص الخصائص الفيزيوكيميائية للعكبر المحلي و تقييمه قمنا بتحليل عينة و ذلك بدراسة الخصائص الفيزيوكيميائية و البيوكيميائية اضافة الى تقييم النشاط المضاد للاكسدة. اعتمادا على هذه الخصائص يمكننا بناء قاعدة بيانات للعكبر المحلي من شأنها تسهيل المهام للمستخدمين. تظهر الدراسة التجريبية أن العكبر غني بمركبات الفينول ( مادة البوليفينول و الفلافونويد ) .

تم تحليل المستخرج و دراسة فعاليته المضادة للاكسدة باستعمال طريقتين مختلفتين, الأولى تركز على نشاطية المستخرج مع الجذور الحرة DPPH, و الأخرى الطريقة الكهروكيميائية. الدراسة تمحورت أساسا على النشاطية المضادة لجذور المركبات و المستخلصات اتجاه الجذر الأيونى  $O_2^{\bullet-}$  من خلال هذه النتائج نستنتج أن الفعالية المضادة للاكسدة ممثلة في المقدار  $EC_{50}$  الذي يوافق تركيز المستخلص الايثانولي للعكبر التي تكسح 50 % من الأيون  $O_2^{\bullet-}$  في نفس السلم الزمني. في هذا العمل المستخلص الايثانولي للعكبر و امتلاكها لنشاطية مضادة للاكسدة 50 تساوي 0.41 مكغ/مل.

**كلمات البحث :** العكبر, الفلافونويد, مضادات الأكسدة, الكهروكيميائية.