



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Mohamed Boudiaf - M'sila

Faculté Des Sciences

Domaine : Sciences De La Matière

Département Chimie

Filière : Chimie

OPTION : chimie pharmaceutique



N°.....

Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master
Académique

Intitulé

**Screening phytochimique et dosage des polyphénols et
flavonoïdes de deux variétés de la propolis d'Algérie :
« Incorporation dans une crème cosmétique »**

PAR :

- Benamer Mazeya

- Magri Naama

Devant le jury composé de :

Président : Dr. Mohamadi Sabrina Université de M'sila

Rapporteur : Dr. Benaiche Ghania Université de M'sila

Examineur : Dr. Bouchelouche Kenza Université de M'sila

Année universitaire : 2024/2025



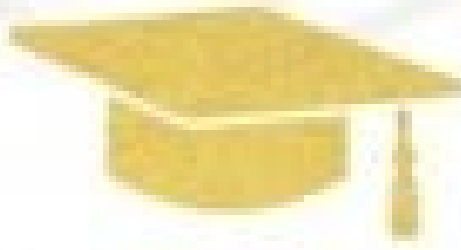
Remerciements

Nous tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à Allah, le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous remercie sincèrement mon encadrante, Dr. Benaïche Ghania, pour sa disponibilité, ses précieux conseils, son soutien constant et sa bienveillance tout au long de cette recherche. Sa rigueur scientifique et son accompagnement ont été d'une grande aide dans la réalisation de ce mémoire.

Nous tiens également à adresser mes remerciements aux membres du jury, pour le temps qu'ils ont consacré à l'évaluation de ce travail et pour leurs remarques constructives qui contribueront à son amélioration.

Enfin, Nous remercie chaleureusement toutes les personnes qui m'ont soutenu, encouragé et aidé, que ce soit sur le plan scientifique, matériel ou moral, notamment mes collègues, ma famille et mes amis. Leur présence et leur soutien ont été essentiels dans cette aventure.



Dédicace

Nous dédions ce mémoire à nos chers parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien constant et leurs sacrifices qui nous ont toujours encouragé à aller de l'avant.

À toutes nos familles, pour leur présence réconfortante et leurs encouragements tout au long de notre parcours.

A mon cher frère Chihab eddine, et toute la famille Megri, pour toutes leurs efforts.

À nos amis, pour leur amitié sincère, leur compréhension et leur motivation dans les moments difficiles.

Enfin, à nos collègues, pour leur collaboration, leur esprit d'équipe et les échanges enrichissants qui ont contribué à la réussite de ce travail.

À vous tous, nous vous adressons toute notre gratitude et notre affection.



Résumé

Cette étude exhaustive a permis de caractériser deux variétés de propolis algériennes, révélant des différences significatives dans leur composition et leur activité biologique. Les principaux résultats chiffrés montrent que la propolis d'Alger présente une teneur élevée en polyphénols (215 mg EAG/g) et en flavonoïdes (93 mg EQ/g), ainsi qu'une activité antioxydante exceptionnelle ($IC_{50} = 20 \mu\text{g/mL}$). À l'inverse, la propolis d'Ouled Hamach, bien que moins concentrée en polyphénols (182 mg EAG/g) et flavonoïdes (35 QE/g), affiche une activité antioxydante très respectable ($IC_{50} = 35 \mu\text{g/mL}$). Les rendements d'extraction varient considérablement, avec 27% pour Alger contre 17,33% pour Ouled Hamach, soit une différence relative de 56%. Les tests d'activité antioxydante confirment l'excellente performance des deux échantillons, les classant parmi les propolis les plus actives documentées. Ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses en cosmétologie, nutraceutique et recherche pharmaceutique, tout en soulignant la nécessité d'études complémentaires pour optimiser les protocoles d'extraction et explorer les synergies entre composés bioactifs.

Mots clés: Propolis algérienne, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

ملخص

كشفت هذه الدراسة الشاملة عن خصائص نوعين من البروبوليس الجزائري، حيث أظهرت اختلافات كبيرة في تركيبها ونشاطها البيولوجي. أظهرت النتائج الكمية الرئيسية أن بروليس الجزائر يحتوي على نسبة عالية من البوليفينولات (215 مغ/EAG غ (والفلافونويدات/93mg EQ غ)، بالإضافة إلى نشاط مضاد للأكسدة استثنائي (IC₅₀ = 20 ميكروغرام/مل). (في المقابل، بروليس أولاد حناش، رغم انخفاض تركيز البوليفينولات (182 مغ/EAG غ (والفلافونويدات/35 QE غ)، أظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة محترماً (IC₅₀ = 35 ميكروغرام/مل). (اختلفت مردودات الاستخلاص بشكل كبير، حيث بلغت 27% للجزائر مقابل 17.33% لأولاد حناش، بفارق نسبي قدره 56%. أكدت اختبارات النشاط المضاد للأكسدة الأداء المتميز للعينتين، مما يضعهما بين أكثر أنواع البروبوليس فعالية في الأدبيات العلمية. تفتح هذه النتائج آفاقاً واعدة في مجالات التجميل، التغذية العلاجية، والأبحاث الصيدلانية، مع التأكيد على الحاجة لدراسات إضافية لتحسين بروتوكولات الاستخلاص واستكشاف التفاعلات بين المركبات النشطة بيولوجياً.

الكلمات المفتاحية: البروبوليس الجزائري، بوليفينولات، فلافونويدات، نشاط مضاد للأكسدة

Abstract

This comprehensive study characterized two varieties of Algerian propolis, revealing significant differences in their composition and biological activity. The main quantitative results showed that Algiers propolis has a remarkable content of polyphenols (215 mg GAE/g) and flavonoids (93 mg EQ/g), along with exceptional antioxidant activity ($IC_{50} = 20 \mu\text{g/mL}$). In contrast, Ouled Hamach propolis, while less concentrated in polyphenols (182 mg GAE/g) and flavonoids (35 QE/g), still demonstrated respectable antioxidant activity ($IC_{50} = 35 \mu\text{g/mL}$). Extraction yields varied significantly, with Algiers at 27% compared to 17.33% for Ouled Hamach, a relative difference of 56%. Antioxidant tests confirmed the excellent performance of both samples, classifying them among the most active propolis documented in scientific literature. These findings open promising avenues for applications in cosmetology, nutraceuticals, and pharmaceutical research, while highlighting the need for further studies to optimize extraction protocols and explore synergies between bioactive compounds.

Key words: Algerian propolis, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.

Liste des abréviations

Al : Aluminium.

ATB : Antibiotiques.

DIC : Dénomination commune internationale.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

EAG : Equivalent d'acide Gallique.

EQ : Equivalent de la Quercétine.

NK : Cellules Natural killer.

TGF : Facteur de Croissance Transformant.

TNF : Facteur nécrose tumorale.

VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

DPPH: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

MEOH: méthanol

Liste des tableaux

Tableau 1 : Matériel utilisé.....	22
Tableau 2 : Résultats de screening chimique.....	37
Tableau 3 : Teneur en polyphénols des deux extraits de propolis.....	39
Tableau 4 : Teneur en flavonoïdes des deux extraits de propolis.....	41

Liste des figures

Figure 1: la propolis.....	3
Figure 2 : Spray à l'usage externe a base de propolis.....	5
Figure 3 : recolte de la propolis	7
Figure 4 : Structure des polyphénols.....	4
Figure 5 : structure des acides phénoliques.....	5
Figure 6 : structure des Esters phénoliques dérivés de l'acide cinnamique	7
Figure 7 : Structures chimiques des coumarines	10
Figure 8: Structures chimiques des flavonoïdes.....	13
Figure 9 : La biosynthèse des flavonoïdes.....	15
Figure 10 : échantillon de la propolis de M'sila	23
Figure 11 : Echantillon de la propolis d'Alger	23
Figure 12 : Propolis de M'sila avant et après le broyage	23
Figure 13 : Propolis de Alger avant et après le broyage	24
Figure 14 : Filtration du macérat	25
Figure 15 : Élimination du solvant.....	25
Figure 16 : Protocole de préparation de l'extrait éthanolique par macération...	26
Figure 17 : la crème de propolis	33
Figure 18 : le format final du crème.....	34
Figure 19 : Rendements des extraits éthanoliques de la propolis.....	36
Figure 20 Courbe d'étalonnage d'acide gallique	39
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de quercétine	40
Figure 22 : Courbe de L'activité antioxydante de oulad Hannesh.....	43
Figure 23 : Courbe de L'activité antioxydante d'Alger	44
Figure 24 : pH de la crème	45

Table des matières

<i>Remerciements</i>	I
<i>Dedicace</i>	II
Resume.....	III
ملخص.....	IV
Abstract.....	V
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures	VIII
Table des matieres.....	IX
Introduction.....	1
Chapitre I. Revue bibliographique sur la propolis	1
I.1- definition	3
I.2- historique de la propolis :	3
I.3- origine de la propolis.....	4
I.4- utilisation de la propolis	5
I.5- recolte de la propolis	6
I.6- proprietes physiques.....	7
I.7- composition analytique	8
I.8- composition chimique de la propolis	9
I.9- activite biologique de la propolis	10
Chapitre II. Les polyphenols	3
II.1- generalites:	3
II.2- acides et esters phenoliques	4
II.3- les coumarines.....	9
II -4- les flavonoïdes	13
II -5- analyse spectral des composes phenoliques	17
II -6- l'activite antioxydant des polyphenols :	20
Chapitre III : materiels et methodes	21
III.1- materiel et methodes	22
Echantillonnage.....	22
III.2- methodes.....	23
III.2.1- PREPARATION DES EXTRAITS	23

III.2.2- SECHAGE ET STOCKAGE DES EXTRAITS	25
III.2.3. PREPARATION DES SOLUTIONS POUR LES DOSAGES.....	26
III.2.4- DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX (METHODE FOLIN-CIOCALTEU).....	27
III.2.5. EVALUATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT	28
III. 2.6. LE SCREENING CHIMIQUE	31
III.2.7- DEFINITION DE LA CREME.....	33
Chapitre IV : resultats et discussion.....	35
IV.1. Rendement des extraits bruts	36
IV.2. Le screening chimique	37
IV.3. Etude quantitative	38
IV.3.1. DOSAGE POLYPHENOL	38
IV.3.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES	40
IV.4. Resultats de l'activite antioxydante.....	41
IV.4.1. TEST AU DPPH.....	41
IV.4.2. COURBES D'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	43
IV.5. Ph de la creme :	45
Conclusion	47
References bibliographiques :.....	48

Introduction

Introduction

La propolis est une substance résineuse récoltée par les abeilles à partir des bourgeons et de l'écorce des arbres. Utilisée depuis l'Antiquité pour ses nombreuses vertus thérapeutiques, elle est reconnue pour ses propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, cicatrisantes et surtout antioxydantes. Sa richesse en composés bioactifs, notamment les polyphénols et flavonoïdes, en fait un produit naturel d'intérêt croissant dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. (Kuropatnicki, 2013).

L'objectif principal de ce travail est d'étudier la composition chimique des extraits de propolis, en particulier leur teneur en polyphénols et flavonoïdes, ainsi que d'évaluer leur activité antioxydante. Cette étude vise à mieux comprendre le potentiel thérapeutique de la propolis algérienne selon ses origines géographiques.

La problématique centrale repose sur la variabilité de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis en fonction de sa provenance, ce qui soulève la question l'importance et l'activité antioxydante de la propolis.

Nous émettons l'hypothèse que la propolis est riche en composés phénoliques et, par conséquent, elle une activité antioxydante significative.

La démarche adoptée dans ce mémoire s'articule autour de deux parties. La partie théorique présente une revue détaillée de la propolis, couvrant sa définition, son historique, son origine, ses usages traditionnels, ses propriétés physiques, ainsi que sa composition analytique et chimique, avant d'aborder son activité biologique. Ce chapitre inclut également une étude approfondie des polyphénols, de leurs différentes familles (acides phénoliques, coumarines, flavonoïdes) et des méthodes d'analyse spectrale de ces composés.

La second partie expérimentale décrit le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'échantillonnage, la préparation, le séchage et le stockage des extraits, ainsi que les protocoles de dosage des polyphénols totaux (méthode Folin-Ciocalteu), l'évaluation de l'activité antioxydante (test DPPH), le screening chimique et la formulation d'une crème à base de propolis.

Enfin, les résultats obtenus sont présentés et discutés incluant le rendement des extraits, les dosages quantitatifs des polyphénols et flavonoïdes, les résultats des tests antioxydants et le screening chimique, permettant ainsi de mieux comprendre le potentiel bioactif de la propolis étudiée.

Chapitre I. Revue bibliographique sur la propolis

I.1- définition

La propolis (العكبر) est une substance résineuse récoltée par les abeilles (*Apis mellifera*) sur les bourgeons, écorces et feuilles de certains arbres et plantes (comme le peuplier, le pin, le sapin, ou encore le bouleau). Les abeilles mélangent ces résines à leurs sécrétions salivaires et à de la cire pour créer un matériau complexe. Ce mélange est utilisé dans la ruche pour combler les fissures, désinfecter les alvéoles, protéger contre les microbes et renforcer l'étanchéité du nid. (Wagh, 2013).



Figure 1: la propolis (web 1)

I.2- historique de la propolis :

La propolis possède une histoire ancienne et riche, étroitement liée à l'observation des abeilles et à l'usage humain de ce produit naturel. Il y a environ 60 millions d'années, les abeilles domestiques ont commencé à produire la propolis en mélangeant des résines végétales, de la cire, du pollen et leurs propres sécrétions salivaires. Ce matériau leur sert à construire et protéger leur ruche contre les infections.

Les premières traces d'utilisation humaine remontent à la préhistoire, avec des pétroglyphes datant de 13 000 ans avant J.-C. montrant la récolte de miel sauvage. L'apiculture s'est développée lorsque l'homme a commencé à élever des abeilles dans des troncs d'arbres évidés.

Dans l'Égypte ancienne, la propolis était déjà utilisée pour ses propriétés conservatrices, notamment pour embaumer les momies. Le papyrus Ebers, un des plus anciens traités médicaux (vers 1500 av. J.-C.), mentionne ses vertus. Les Grecs anciens ont donné son nom à la propolis, dérivé du grec « pro » (devant) et « polis » (ville), en référence à son rôle protecteur à l'entrée de la ruche. Hippocrate recommandait la propolis pour soigner blessures et ulcères. Aristote et Plin l'Ancien ont également décrit ses usages médicaux et son importance dans la ruche.

Dans la mythologie romaine, la propolis est associée à la déesse Melissa, transformée en abeille par Jupiter pour produire cette substance miraculeuse. Au Moyen Âge, son usage en médecine officielle a décliné, mais elle a survécu dans la médecine populaire, notamment en Europe de l'Est où elle était surnommée « la pénicilline russe ».

La Renaissance a vu un regain d'intérêt pour la propolis, utilisée dans des onguents et pommades. Au XIXe siècle, les scientifiques ont commencé à étudier ses propriétés de manière plus rigoureuse. (Kuropatnicki, 2013).

I.3- Origine de la propolis

La propolis trouve son origine dans l'interaction entre les abeilles et leur environnement végétal. Cette substance résineuse est produite par les abeilles à partir de résines récoltées sur les bourgeons, troncs et écorces de certains arbres tels que le peuplier, le pin, le hêtre ou encore le marronnier d'Inde. Ces résines sont mélangées à des sécrétions salivaires et de la cire par les abeilles pour former un matériau complexe utilisé dans la ruche. La composition de la propolis varie en fonction des plantes locales et des conditions géographiques, ce qui explique les différences dans ses propriétés biologiques selon les régions.

Historiquement, la propolis a évolué comme un outil essentiel pour la survie des colonies d'abeilles. Apparue il y a environ 50 millions d'années, elle a permis aux abeilles de développer une forme d'immunité sociale. En enduisant l'intérieur de leur nid avec de la propolis, elles créent une barrière antimicrobienne contre les pathogènes tels que bactéries, virus et champignons. Cette substance est également utilisée pour désinfecter les alvéoles avant que la reine n'y pondre ses œufs et pour momifier les intrus morts dans la ruche afin d'éviter leur décomposition et la propagation de maladies.

Dans les climats tempérés, le peuplier constitue souvent la principale source de résines utilisées pour fabriquer la propolis. Cependant, dans d'autres régions du monde, comme le Brésil ou l'Asie, d'autres espèces végétales sont exploitées, ce qui donne lieu à des types spécifiques de propolis (brune, verte ou rouge) aux compositions chimiques distinctes et donc à des propriétés biologiques variées (Cardinault, 2012).

I.4- Utilisation de la propolis

La propolis est utilisée principalement pour ses propriétés antiseptiques, cicatrisantes, anti-inflammatoires et immunostimulantes, avec des applications variées en usage externe et interne (Zullkiflee, et al., 2022) :

a. Usage externe

La propolis brute ou sous forme d'extrait est appliquée sur la peau pour nettoyer et désinfecter les plaies, brûlures superficielles, coupures, escarres, et favoriser la cicatrisation grâce à son effet stimulant sur la régénération des tissus cutanés. Elle est efficace contre diverses affections dermatologiques telles que l'eczéma, l'acné, les verrues, les mycoses (notamment à *Candida albicans*), le psoriasis, l'herpès et le zona. Son pouvoir analgésique aide aussi à apaiser les démangeaisons et les douleurs cutanées. En soins bucco-dentaires, la propolis est utilisée en rince-bouche ou pommade pour traiter la gingivite, les aphtes, les infections des muqueuses, et accélérer la cicatrisation des lésions buccales. Elle est également employée en spray ou gargarisme pour soulager les maux de gorge, pharyngites, laryngites, sinusites, otites et autres infections ORL.



Figure 2 : Spray à l'usage externe a base de propolis (web 2).

b. Usage interne

Par voie orale, la propolis est prise pour renforcer le système immunitaire et prévenir ou combattre les infections virales et bactériennes, notamment des voies respiratoires (rhumes, gripes, bronchites, angines). Elle est recommandée en cure, souvent sous forme d'extrait liquide ou de gélules, avec des doses variant selon les préparations (par exemple 1 g de propolis pure 1 à 3 fois par jour). Elle peut aussi aider

à réduire l'inflammation dans certaines maladies chroniques et soutenir la santé gastro-intestinale en favorisant la cicatrisation des muqueuses gastriques et en régulant le transit.

c. Formes et modes d'application

La propolis se trouve sous forme brute, en poudre, en extrait alcoolique (teinture mère), en spray, pommade, baume, gélules, comprimés, gommes à mâcher ou sirops. En usage externe, elle peut être appliquée pure ou diluée sur une gaze stérile pour les plaies, ou en gouttes sur les zones à traiter (verrues, mycoses, acné). En usage interne, elle est souvent diluée dans du miel ou prise en gélules. Un test cutané préalable est conseillé pour éviter les réactions allergiques (Hossain, et al., 2022)

I.5- Récolte de la propolis

I.5.1- Par l'abeille.

Les abeilles butineuses spécialisées, généralement âgées d'au moins 15 jours, récoltent la propolis en prélevant des résines sur les bourgeons, écorces et feuilles de certains arbres comme le peuplier, le pin ou le sapin. Elles utilisent leurs mandibules pour arracher la résine, qu'elles étirent en filaments avant de la découper. Cette résine est ensuite transportée sous forme de petites pelotes collantes fixées sur leurs pattes arrière jusqu'à la ruche. Pendant le transport et à l'intérieur de la ruche, les abeilles mélangent cette résine avec leurs sécrétions salivaires et de la cire, ce qui transforme la matière première végétale en propolis, une substance malléable et adhésive. Chaque abeille peut collecter environ 10 mg de propolis par vol, et une colonie moyenne produit entre 50 et 300 grammes par an selon la race d'abeilles et les conditions environnementales. La récolte naturelle par les abeilles se concentre souvent en fin d'été et en automne, période où elles renforcent la ruche pour l'hiver en colmatant fissures et interstices

I.5.2- Par l'homme

L'apiculteur récolte la propolis en exploitant le comportement naturel des abeilles qui colmatent les fissures de la ruche avec cette substance. Deux méthodes principales sont utilisées. La première consiste à placer une grille à propolis, fabriquée en plastique, métal ou textile synthétique, sur le dessus des cadres à l'intérieur de la ruche. Les abeilles combent les interstices de cette grille avec de la propolis. Après

plusieurs semaines, la grille est retirée puis placée au congélateur pour durcir la propolis, qui devient cassante et peut alors être facilement détachée en la frappant ou en la grattant. Cette méthode est rapide, peu stressante pour la colonie et permet de récolter entre 100 et 300 grammes par ruche et par an. La seconde méthode est le grattage manuel, où l'apiculteur gratte délicatement la propolis accumulée sur les cadres, les parois et le corps de la ruche à l'aide d'un grattoir spécifique. Bien que plus laborieuse et potentiellement plus perturbante pour les abeilles, cette technique permet de récupérer la propolis présente naturellement dans tous les recoins de la ruche. La récolte doit être réalisée avec précaution, notamment en évitant les périodes froides où la propolis joue un rôle d'isolation pour la colonie. Après la récolte, la propolis est nettoyée pour éliminer les impuretés telles que la cire, le bois ou d'autres débris avant d'être utilisée en apithérapie, cosmétique ou alimentation (Guermah, et al., 2023).



Figure 3 : récolte de la propolis (web 3)

I.6- Propriétés physiques

La propolis est une matière résineuse, collante et visqueuse, de couleur brun verdâtre, produite par les abeilles à partir de résines végétales qu'elles récoltent sur les bourgeons, écorces et feuilles de certains arbres. Elle fond à une température d'environ 64 °C et devient cassante en dessous de 15 °C. Sa masse volumique est d'environ 1,2 g/cm³. Cette substance est composée majoritairement de résines et baumes (50 à 55 %), de cire (30 à 40 %), d'huiles essentielles (5 à 10 %), de pollen (environ 5 %) et d'autres matières diverses. La composition chimique est très complexe, avec plus de 300 composés identifiés, incluant des flavonoïdes, des acides phénoliques, des vitamines, des minéraux et des acides organiques.

La propolis présente une texture malléable et collante à température ambiante, ce qui lui permet d'être utilisée par les abeilles comme un mortier naturel pour colmater les fissures de la ruche. Lorsqu'elle est refroidie, elle devient dure et cassante, facilitant

sa manipulation lors de la récolte. Sa couleur et sa composition varient selon l'origine botanique et géographique, ce qui influence ses propriétés physiques et biologiques.

Parmi ses propriétés physiques, la propolis est également reconnue pour son odeur agréable et sa capacité à protéger la ruche contre les agressions extérieures, notamment grâce à ses qualités antiseptiques naturelles. Sa consistance et son aspect peuvent être des indicateurs de sa qualité, avec une propolis de bonne qualité devant être exempte de contaminants, avoir une faible teneur en cire et en matières insolubles, et contenir une concentration élevée en principes actifs.

I.7- Composition analytique

La composition analytique de la propolis est extrêmement complexe et variable selon son origine botanique, géographique et la saison de récolte. Elle contient plus de 300 composés différents, ce qui en fait un mélange riche en substances bioactives.

En moyenne, la propolis est constituée d'environ 50 à 55 % de résines et baumes, 25 à 35 % de cires et acides gras, 10 % d'huiles essentielles, 5 % de pollen, et 5 % de matières organiques et minérales. Les résines renferment principalement des flavonoïdes, des acides phénoliques et des terpènes, qui sont les principaux responsables des propriétés pharmacologiques de la propolis.

Les flavonoïdes, au nombre d'une quarantaine identifiés, sont les composés les plus abondants et actifs. Ils se répartissent en trois grands groupes : flavanols et flavones (comme la pinocembrine, la chrysin, la galangine, la quercétine), chalcones et dihydrochalcones, et flavanones (dont la pinobanksine et ses dérivés). Ces molécules confèrent à la propolis ses puissantes activités antibactériennes, antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydantes.

Les acides aromatiques, notamment les dérivés de l'acide benzoïque (acide gallique, acide protocatéchique), de l'acide benzaldéhydrique (vanilline, isovanilline) et de l'acide cinnamique (acide caféique, acide férulique, acide p-coumarique), sont également présents en quantité significative. Ces composés phénoliques jouent un rôle important dans les effets biologiques de la propolis.

La propolis contient aussi des esters aromatiques, des terpènes, des alcools aromatiques, des aldéhydes, des cétones, des acides gras (acide palmitique, acide

stéarique, acide oléique), ainsi que des vitamines (B1, B2, B6, C, E, acides nicotinique et folique) et des minéraux (calcium, magnésium, fer, cuivre, zinc, manganèse).

Cette composition chimique riche et diversifiée explique la large gamme d'activités pharmacologiques attribuées à la propolis, notamment ses propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et immunostimulantes. Cependant, la variabilité de sa composition selon les régions et les sources végétales nécessite une standardisation pour garantir son efficacité thérapeutique (Anjum, et al., 2019).

I.8- Composition chimique de la propolis

La composition chimique de la propolis est très complexe et variable selon son origine botanique et géographique, avec plus de 300 composés identifiés. En moyenne, elle est constituée d'environ 50 à 55 % de résines et baumes, qui proviennent des sécrétions végétales récoltées sur l'écorce, les bourgeons et les feuilles d'arbres comme le peuplier, le saule, le chêne ou le marronnier d'Inde. Ces résines contiennent principalement des composés polyphénoliques, notamment des flavonoïdes (flavones, flavanones, chalcones) et des acides phénoliques (acide caféique, acide férulique, acide p-coumarique), responsables des propriétés antioxydantes, antiseptiques, antifongiques et anti-inflammatoires de la propolis.

La cire représente environ 30 à 40 % de la composition, apportant la texture malléable et adhésive à la propolis. Les huiles essentielles, qui constituent 5 à 10 %, contiennent des terpènes et autres composés volatils qui confèrent à la propolis son odeur caractéristique et participent à ses effets antimicrobiens. Le pollen, présent à environ 5 %, ainsi que d'autres matières organiques et minérales (5 %), complètent la composition (Ahangari, et al., 2018).

Parmi les autres composants, on trouve des coumarines, des aldéhydes aromatiques comme la vanilline, des lipides, des acides aminés, des vitamines (B1, B2, B6, C, E, acides nicotinique et folique) et des minéraux (calcium, magnésium, fer, cuivre, zinc, manganèse, nickel, cobalt, vanadium, strontium). Ces éléments contribuent à la richesse nutritionnelle et aux multiples vertus thérapeutiques de la propolis.

La composition chimique varie selon la région et les plantes butinées, ce qui influence la couleur (brune, rouge, jaune, verdâtre), la texture (plus ou moins dure ou collante) et les propriétés biologiques de la propolis. Cette variabilité rend nécessaire une standardisation pour un usage pharmaceutique fiable (Woźniak, et al., 2022).

I.9- Activité biologique de la propolis

I.9.1- Activité antioxydante

L'activité antioxydante de la propolis est principalement liée à sa richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui lui confèrent un fort pouvoir de piégeage des radicaux libres. Ces composés neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) responsables du stress oxydatif, un phénomène impliqué dans le vieillissement cellulaire et de nombreuses maladies chroniques. Plusieurs études, notamment sur la propolis de l'Ouest algérien, ont montré que la capacité antioxydante varie selon la région géographique et la flore locale, reflétant la diversité botanique des sources de résines.

Les tests *in vitro* utilisant des méthodes comme la réduction du radical DPPH ou ABTS ont démontré que les extraits de propolis possèdent une activité antioxydante élevée, parfois supérieure à celle d'antioxydants de référence comme le BHT (butylhydroxytoluène). Par exemple, la propolis de Ghardaïa en Algérie a montré une inhibition de 50 % du radical ABTS à une faible concentration (5,52 mg/l), indiquant un fort pouvoir anti-radicalaire. Cette activité est également confirmée par des études sur d'autres types de propolis, qui soulignent son effet protecteur contre la peroxydation lipidique des membranes cellulaires, notamment des érythrocytes, ce qui limite l'hémolyse oxydative.

L'activité antioxydante de la propolis est attribuée à la synergie entre ses différents composés bioactifs, dont les flavonoïdes (pinocembrine, chrysin, galangine), les acides caféique et férulique, ainsi que l'artepilline C. Ces molécules agissent en interrompant les réactions en chaîne des radicaux libres, protégeant ainsi les lipides, protéines et acides nucléiques des dommages oxydatifs. Cette propriété fait de la propolis un candidat intéressant pour la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif, telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, certains cancers et les troubles inflammatoires (Silva-Carvalho, et al., 2015).

I.9.2- Activité anti-inflammatoire

La propolis agit en réduisant significativement les marqueurs de l'inflammation tels que les cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , IL-6 et TNF-alpha. Des études in vitro ont montré que son effet anti-inflammatoire peut être aussi puissant que certains anti-inflammatoires allopathiques comme le flurbiprofène. Cette action est principalement due à sa richesse en flavonoïdes (galangine, lutéoline, rhamnétine) et en composés phénoliques qui inhibent les enzymes responsables des réactions inflammatoires. La propolis diminue la production de molécules inflammatoires comme les prostaglandines et module la réponse immunitaire, ce qui contribue à soulager les douleurs et les symptômes liés aux inflammations chroniques (arthrite, maladies inflammatoires de l'intestin, affections cutanées). Elle est particulièrement efficace pour apaiser les inflammations des voies respiratoires supérieures, telles que laryngite, amygdalite, trachéite, et peut aussi réduire les rougeurs, irritations et enflures cutanées.

I.9.3- Activité antimicrobienne

La propolis possède un large spectre d'action antimicrobienne, incluant des propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques. Elle est efficace contre des bactéries pathogènes comme les staphylocoques dorés, pneumocoques, streptocoques, ainsi que contre certains virus responsables d'infections respiratoires (grippe, herpès) et des champignons comme *Candida albicans*. Son action antibactérienne est liée à la présence de flavonoïdes et d'acides phénoliques qui perturbent la membrane cellulaire des microbes et inhibent leur croissance. En usage local, la propolis est utilisée pour désinfecter les plaies, traiter les infections buccales (gingivite, aphtes), et lutter contre l'acné en réduisant la prolifération de bactéries responsables des inflammations cutanées. Elle agit aussi comme un antiviral naturel en limitant la réplication virale et en renforçant la réponse immunitaire (Balica, et al., 2021).

Chapitre II. Les polyphénols

II.1- Généralités:

Les polyphénols sont une vaste famille de molécules organiques présentes principalement dans le règne végétal. Ils se caractérisent par la présence d'au moins deux groupes phénoliques (cycles benzéniques portant des fonctions hydroxyles) associés en structures plus ou moins complexes, allant de molécules simples à des polymères de haut poids moléculaire. Ces composés sont des métabolites secondaires des plantes, produits pour se défendre contre diverses agressions.

Les polyphénols regroupent plusieurs classes chimiques, notamment les flavonoïdes (flavones, flavanols, anthocyanidines, isoflavones, flavanones, catéchines), les acides phénoliques (comme l'acide gallique, l'acide caféique), les stilbénoides (exemple : resvératrol), les lignanes, les tanins et d'autres composés phénoliques. Ils sont responsables de nombreuses caractéristiques des végétaux, telles que la couleur, l'arôme, l'amertume ou l'astringence (Rathod, et al., 2023).

Sur le plan biologique, les polyphénols sont reconnus pour leur puissant effet antioxydant. Ils neutralisent les radicaux libres, des molécules instables qui provoquent le stress oxydatif, un facteur majeur du vieillissement cellulaire et de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, inflammatoires ou neurodégénératives. Leur consommation régulière, via une alimentation riche en fruits, légumes, thé, vin rouge ou chocolat noir, est associée à des bienfaits pour la santé, notamment la protection des cellules et la modulation des processus inflammatoires.

Historiquement, le terme « polyphénol » a été introduit dans les années 1980 pour remplacer l'ancien terme « tanin végétal ». Depuis, la recherche s'est intensifiée pour mieux comprendre leurs rôles et leurs applications en nutrition, cosmétique et pharmacologie (Bertelli, et al., 2021).

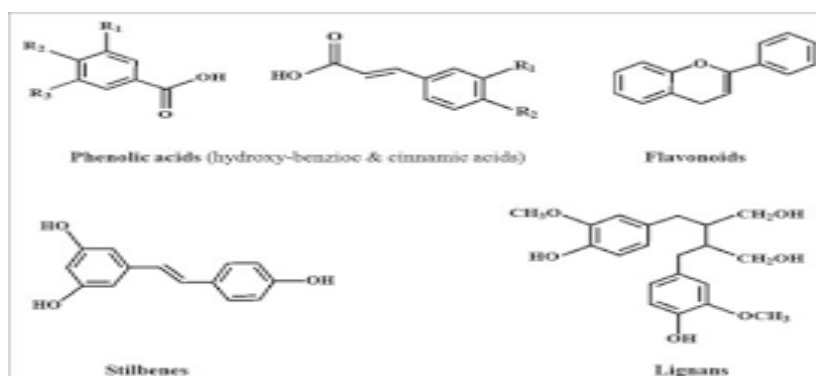


Figure 4 : Structure des polyphénols (Pandey, et al., 2009)

II.2- Acides et esters phénoliques

II.2.1- Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque :

Les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque, appelés acides hydroxybenzoïques, sont des composés organiques caractérisés par un noyau aromatique (cycle benzénique) portant une fonction carboxyle (-COOH) et au moins un groupe hydroxyle (-OH) attaché à ce cycle. Leur structure de base est de type C₆-C₁, ce qui signifie qu'ils possèdent six atomes de carbone dans le cycle aromatique et un groupe carboxyle. Ces acides peuvent exister sous forme libre ou combinée, notamment en esters ou en hétérosides, et sont largement répandus dans le règne végétal.

Parmi les acides hydroxybenzoïques les plus courants, on trouve l'acide salicylique (acide 2-hydroxybenzoïque), connu pour ses propriétés anti-inflammatoires et précurseur de l'aspirine, l'acide gallique, un composant important des tanins, l'acide vanillique, dont l'aldéhyde dérivé, la vanilline, est responsable de l'arôme naturel de la vanille, ainsi que l'acide protocatéchique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide parahydroxybenzoïque. Ces composés peuvent aussi être méthylés ou glycosylés, modifiant ainsi leur solubilité et leur activité biologique.

Ces acides sont présents dans de nombreuses plantes, écorces, fruits, et résines, comme le baume de Tolu qui contient une proportion significative d'acide benzoïque libre, ou encore dans l'écorce de saule, source naturelle d'acide salicylique. Ils jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les agents pathogènes et participent à la formation de composés plus complexes comme les tanins et la lignine.

Sur le plan pharmacologique, les acides hydroxybenzoïques possèdent des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antipyrétiques, antiseptiques et cholérétiques. Ils sont utilisés en médecine traditionnelle et moderne, notamment pour leurs effets sur les douleurs articulaires, les états fébriles, et comme agents antimicrobiens. Par exemple, l'acide salicylique est largement employé en dermatologie pour ses propriétés kératolytiques et anti-inflammatoires (Elie, 2022).

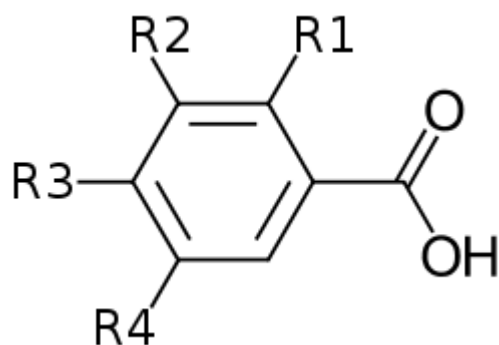


Figure 5 : structure des acides phénoliques

II.2.2- Acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique

Les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique, appelés acides hydroxycinnamiques, sont une classe importante de composés phénoliques naturels présents dans de nombreuses plantes, fruits, légumes, céréales et herbes. Leur structure chimique de base est caractérisée par un noyau aromatique (cycle benzénique) lié à une chaîne latérale comportant un groupe carboxyle, formant un squelette phénylpropanoïde (C6-C3). Cette structure leur confère de puissantes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes.

Parmi les acides hydroxycinnamiques les plus abondants et étudiés figurent l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapique. Ces composés existent souvent sous forme estérifiée, notamment avec l'acide quinique, formant des dérivés appelés acides chlorogéniques, très présents dans le café et certains fruits. Ils peuvent aussi se trouver sous différentes formes isomériques, comme les isomères *cis* et *trans*, qui influencent leur activité biologique.

Les acides hydroxycinnamiques jouent un rôle clé dans la protection des plantes contre les agressions extérieures, notamment les rayons UV, grâce à leur capacité à arrêter les réactions en chaîne des radicaux libres par résonance. Ils participent également à la réticulation des polysaccharides dans la paroi cellulaire végétale, renforçant ainsi la structure des tissus.

Sur le plan biologique, ces acides sont reconnus pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres, protégeant ainsi les cellules du stress oxydatif, un facteur majeur du vieillissement et de nombreuses maladies chroniques. Ils modulent aussi les voies inflammatoires en inhibant des facteurs pro-inflammatoires comme le TNF- α et le NF- κ B, ce qui contribue à réduire l'inflammation chronique. De plus, certains acides

hydroxycinnamiques présentent une activité antimicrobienne contre diverses bactéries et champignons, ce qui en fait des candidats intéressants pour des applications en santé, cosmétique et conservation alimentaire (Ruwizhi, et al., 2020).

II.2.3- Esters phénoliques dérivés de l'acide cinnamique :

Les esters phénoliques dérivés de l'acide cinnamique sont des composés naturels largement présents dans le règne végétal, formés par l'association de l'acide cinnamique avec divers alcools ou molécules phénoliques. L'acide cinnamique lui-même est un acide organique aromatique (C6-C3) caractérisé par un noyau benzénique lié à une chaîne latérale insaturée portant un groupe carboxyle. Ces esters, souvent appelés esters hydroxycinnamiques, jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les agressions extérieures, notamment grâce à leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Parmi les esters les plus connus figurent l'acide chlorogénique, un ester de l'acide caféique et de l'acide quinique, très abondant dans le café, les pommes, les poires et de nombreux fruits. Cet ester est reconnu pour ses effets antioxydants puissants, sa capacité à neutraliser les radicaux libres et à protéger les cellules contre le stress oxydatif. D'autres esters dérivés de l'acide cinnamique incluent des composés liés à l'acide férulique ou à l'acide p-coumarique, qui se retrouvent dans diverses plantes médicinales, céréales, épices (comme la cannelle) et produits apicoles (comme la propolis).

Ces esters présentent une grande diversité structurale, influencée par la nature de l'alcool ou du phénol auquel l'acide cinnamique est lié. Cette diversité conditionne leurs propriétés physicochimiques, leur solubilité et leur activité biologique. Ils sont souvent extraits par des solvants hydro-alcooliques et peuvent subir des transformations enzymatiques ou chimiques dans les plantes, modifiant leur efficacité et leur rôle écologique. (Takao, et al., 2017).

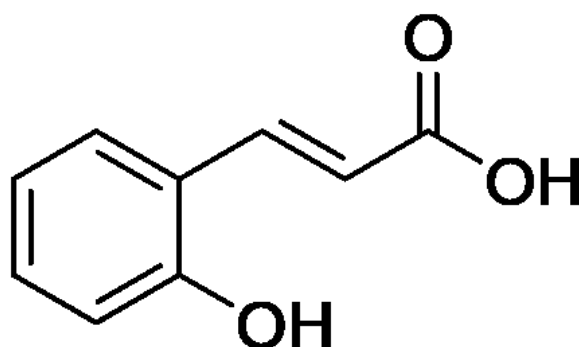


Figure 6 : structure des Esters phénoliques dérivés de l'acide cinnamique

II.2.4- Propriétés physico-chimiques

Les acides et esters phénoliques présentent des propriétés physico-chimiques spécifiques liées à leur structure aromatique et à la présence de groupes fonctionnels hydroxyle (-OH) et carboxyle (-COOH) ou ester. Ces composés sont généralement solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol et l'eau chaude, ainsi que dans les solutions alcalines où ils forment des phénates solubles. Leur solubilité dans l'eau pure est souvent limitée, mais elle augmente avec la présence de groupes hydroxyles supplémentaires ou sous forme d'esters hydrosolubles (Shi, et al., 2022).

Ces composés sont facilement oxydables, surtout en milieu alcalin, ce qui les rend sensibles à la dégradation par l'oxygène et la lumière ultraviolette (UV). Cette oxydation peut entraîner des modifications chimiques, comme la formation de quinones, responsables parfois de changements de couleur (par exemple, le phénol pur devient rose à cause de l'oxydation). En milieu acide ou alcalin, ils peuvent aussi subir des isomérisations, modifiant leur structure et leurs propriétés biologiques.

La température de fusion et d'ébullition des acides et esters phénoliques varie selon leur poids moléculaire et leur structure, mais ils ont généralement des points de fusion modérés (par exemple, le phénol fond à environ 43 °C et bout à 182 °C). Leur masse volumique est proche de 1 g/cm³, et ils possèdent un moment dipolaire significatif dû à la polarité des groupes hydroxyle et carboxyle.

Sur le plan chimique, les phénols sont des acides faibles avec un pKa généralement compris entre 9,5 et 11,5. Leur hydrogène hydroxyle peut être facilement remplacé dans des réactions d'alkylation ou d'acylation, notamment en milieu alcalin où l'ion phénolate est l'espèce réactive. L'estérification directe des phénols par des

acides est lente et limitée, mais les esters phénoliques peuvent être hydrolysés pour libérer les acides phénoliques libres. (Zhang, et al., 2023).

II.2.5- Extraction et propriétés chimiques des acides phénoliques :

L'extraction des acides phénoliques repose sur des méthodes variées visant à isoler ces composés bioactifs des matrices végétales tout en préservant leur intégrité chimique. Les techniques les plus courantes incluent la macération, la décoction, l'extraction par Soxhlet, ainsi que des méthodes plus récentes comme l'extraction assistée par ultrasons ou par décharges électriques de haute tension. Le choix du solvant est crucial : les solvants hydro-alcooliques (mélanges d'éthanol ou de méthanol avec de l'eau) sont généralement préférés car ils offrent un bon compromis entre polarité et efficacité d'extraction, permettant d'extraire une large gamme de composés phénoliques. Par exemple, des solvants à 70 % d'éthanol ou de méthanol donnent souvent les meilleurs rendements, supérieurs à ceux obtenus avec de l'eau pure ou des solvants purs.

L'extraction en milieu alcalin peut améliorer significativement le rendement en composés phénoliques en facilitant la libération des formes liées, notamment les esters et glycosides. Les techniques d'intensification comme l'ultrasonication ou les décharges électriques pulsées permettent de fragmenter les tissus végétaux et d'augmenter la surface de contact entre le solvant et la matière végétale, optimisant ainsi l'extraction. Après extraction, les extraits sont filtrés, souvent à l'aide de filtres sans cendre (type Whatman n°4), puis conservés à basse température et à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation des composés (Šuran, et al., 2021).

Sur le plan chimique, les acides phénoliques sont des composés polaires, faiblement acides, sensibles à l'oxydation et à la lumière. Leur stabilité dépend du pH, de la température et de la présence d'oxygène. Ils possèdent des groupes hydroxyle et carboxyle qui leur confèrent une solubilité variable selon le solvant utilisé. Leur identification et quantification sont souvent réalisées par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à une détection UV ou spectrométrique, permettant de distinguer les différents acides phénoliques et leurs esters (Dai, 2010).

II.3- Les coumarines

II.3.1- Structures chimiques et classification :

Les coumarines sont des composés naturels dont la structure chimique est basée sur un noyau benzo- α -pyrone, résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cinnamique. Ce noyau, appelé aussi 2H-1-benzopyrane-2-one, est constitué d'un cycle benzénique fusionné à un cycle lactone (pyrone). La formule brute de la coumarine simple est $C_9H_6O_2$. Ce noyau de base peut porter différentes substitutions, notamment des groupes hydroxyles (-OH) en positions 6, 7 et 8, qui peuvent être libres ou méthylés, modifiant ainsi les propriétés chimiques et biologiques des coumarines (Annunziata, et al., 2020).

La classification des coumarines se divise principalement en deux grandes catégories :

- **Coumarines simples** : Ce sont les coumarines les plus répandues dans le règne végétal. Elles possèdent uniquement le noyau benzo- α -pyrone avec des substitutions variées. Parmi les exemples courants, on trouve la coumarine elle-même (sans groupe hydroxyle), l'ombelliférone (hydroxyle en position 7), l'hernirine (méthoxy en position 7), l'esculétol (hydroxyles en 6 et 7), le scopolétol (méthoxy en 6, hydroxyle en 7), et le fraxétol (méthoxy en 6, hydroxyles en 7 et 8). Ces composés peuvent exister sous forme libre (génines) ou liés à des sucres (hétérosides).

- **Coumarines complexes** : Elles sont caractérisées par la présence d'un ou plusieurs cycles supplémentaires fusionnés au noyau benzo- α -pyrone.

• **Furanocoumarines (furocoumarines)** : Ces composés possèdent un hétérocycle furane lié au noyau coumarinique. Elles se subdivisent en formes linéaires (6,7-furocoumarines, comme le psoralène) et angulaires (7,8-furocoumarines, comme l'angélicine). Ces molécules sont fréquentes dans les familles Rutaceae et Apiaceae.

• **Pyranocoumarines** : Ces coumarines contiennent un hétérocycle pyrane fusionné au noyau benzo- α -pyrone, souvent sous forme angulaire. Elles sont moins courantes mais présentent des propriétés pharmacologiques intéressantes (Stefanachi, et al., 2018).

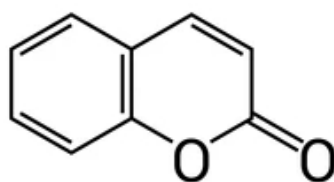


Figure 7 : Structures chimiques des coumarines (web 4)

II.3.2- Aspect botaniques et phytochimiques des coumarines

Les coumarines sont des composés naturels aromatiques caractérisés par un noyau benzo- α -pyrone, issu de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cinnamique. Elles sont principalement présentes chez les dicotylédones, avec une forte concentration dans plusieurs familles botaniques telles que les Rutaceae, Fabaceae, Apiaceae, Oléaceae, Loganiaceae, Solanaceae, Asteraceae et Hippocastanaceae. Ces substances s'accumulent surtout dans les racines, les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés des plantes.

Botaniquement, les coumarines sont synthétisées dans les feuilles mais se retrouvent majoritairement dans les parties souterraines ou protectrices des plantes. Par exemple, la fève tonka (*Dipteryx odorata*, Fabaceae) est très riche en coumarine, tout comme l'aspérule odorante (*Galium odoratum*) et la flouve odorante (*Anthoxanthum odoratum*). Ces composés jouent un rôle de défense chimique contre les herbivores et participent à la protection des plantes contre les agressions environnementales.

Sur le plan phytochimique, les coumarines sont des solides cristallins blancs ou jaunâtres, souvent amers, avec une odeur rappelant la vanilline ou le foin fraîchement coupé. Elles peuvent être libres (génines) ou sous forme d'hétérosides, comme l'esculoside abondant dans le marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*). Les coumarines simples possèdent souvent des substitutions hydroxyles ou méthoxyles en positions 6 et 7 du noyau benzo- α -pyrone. Elles sont classées en coumarines simples et coumarines complexes, ces dernières comprenant des noyaux furanne ou pyranne fusionnés au noyau principal.

Les coumarines ont des propriétés pharmacologiques variées, notamment anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, immunostimulantes et veinotoniques. Elles sont utilisées en thérapeutique, notamment sous forme d'hétérosides comme l'esculoside, qui améliore la résistance et diminue la perméabilité des capillaires sanguins. Par ailleurs, certaines coumarines peuvent être cytotoxiques, ce qui nécessite une utilisation prudente (Sharifi-Rad, et al., 2021).

II.3.3- Propriétés physico-chimiques

- Les coumarines sont des solides cristallins blancs ou jaunâtres, généralement amers, et peuvent être sublimables.
- Elles ont une faible solubilité dans l'eau froide (environ 1,9 g/l), mais leur solubilité augmente avec la température, atteignant jusqu'à 20 g/l dans l'eau bouillante.
- Elles sont facilement solubles dans les alcools, notamment l'éthanol, ainsi que dans des solvants organiques comme l'éther diéthylique, le chloroforme, la pyridine et d'autres solvants peu polaires.
- Les coumarines sous forme d'hétérosides (liées à des sucres) sont plus solubles dans l'eau et l'alcool que les formes libres (génines).
- Les coumarines hydroxylées présentent une fluorescence bleue intense sous lumière ultraviolette, ce qui facilite leur identification et leur dosage par spectroscopie UV.
- Leur spectre d'absorption UV est spécifique et utilisé comme critère analytique.
- Leur structure chimique repose sur un noyau lactone (benzo- α -pyrone), qui peut s'ouvrir en milieu alcalin pour former des sels solubles, puis se refermer en milieu acide.
- Elles peuvent former des complexes insolubles avec certains métaux lourds, comme le plomb.
- Le point de fusion varie selon les dérivés : la coumarine simple fond vers 72 °C, tandis que certains dérivés hydroxylés ou méthoxylés ont des points de fusion plus élevés (ex. 7-hydroxy-4-méthylcoumarine fond vers 111 °C).

- Ces composés sont stables à température ambiante sous forme solide, mais sensibles à la lumière UV et à l'oxydation, nécessitant un stockage approprié (IARC, 2000).

II.3.4- Biosynthèse

La biosynthèse des coumarines chez les végétaux supérieurs débute à partir de l'acide shikimique, un métabolite clé dans la voie de biosynthèse des composés phénoliques. Ce processus implique la transformation de l'acide shikimique en acide ortho-hydroxycinnamique (acide cis-ortho-hydroxycinnamique), qui subit ensuite une cyclisation lactonique pour former le noyau caractéristique des coumarines, la 1-benzopyran-2-one (ou benzo- α -pyrone). Cette lactonisation est une étape essentielle qui donne naissance à la structure de base des coumarines simples.

Les coumarines peuvent ensuite être modifiées par substitution en positions 6, 7 ou 8 du noyau benzopyran par des groupes hydroxyle (-OH) ou méthoxy (-OCH₃), donnant lieu à une grande diversité de composés comme l'ombelliférone, l'esculétine ou le fraxétol. Certaines coumarines existent aussi sous forme d'hétérosides, où un ou plusieurs sucres sont liés à la molécule aglycone, comme l'esculine.

Par ailleurs, la biosynthèse des coumarines complexes, notamment les furocoumarines (ou furanocoumarines), implique l'ajout d'un noyau furane fusionné au noyau coumarinique. Ces composés, tels que le psoralène ou l'angélicine, sont également issus de la voie de l'acide shikimique et jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les pathogènes et les herbivores.

La production de coumarines est souvent localisée dans les feuilles, mais ces composés s'accumulent principalement dans les racines, les écorces et les tissus âgés ou lésés. Ils interviennent dans la protection chimique des plantes, agissant comme phytoalexines et contribuant à la résistance aux agressions extérieures (Vismans, et al., 2022).

II.4- Les flavonoïdes

II.4.1- Structures chimiques

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique de base caractérisée par un squelette à 15 atomes de carbone, organisé selon la séquence C6-C3-C6. Cette structure comprend deux cycles benzéniques (appelés A et B) reliés par une chaîne à trois carbones qui forme souvent un troisième cycle hétérocyclique à oxygène, appelé cycle C ou pyrone.

Le noyau central est donc un système benzopyrone (chromène ou chroménone), où le cycle A est un cycle benzénique fusionné à un cycle pyrone, et le cycle B est un autre cycle benzénique attaché en position 2 ou 3 du cycle C selon les sous-classes. Selon le degré d'oxydation et la nature des substituants sur le cycle C et les cycles aromatiques, les flavonoïdes se classent en plusieurs grandes familles (Safe, et al., 2021).

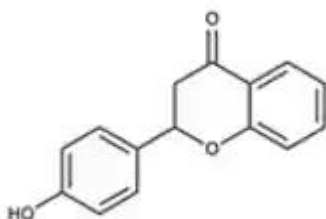


Figure 8: Structures chimiques des flavonoïdes (web 5)

II.4.2- Sources des flavonoïdes :

Les flavonoïdes se trouvent naturellement dans une grande variété de sources végétales, notamment :

- **Fruits** : pommes, raisins rouges et noirs, baies (myrtilles, fraises, framboises, mûres, cassis), agrumes (oranges, citrons, pamplemousses, mandarines), cerises, abricots, prunes, grenades.
- **Légumes** : oignons, choux, épinards, poivrons, tomates, céleri, brocoli, laitue, artichauts, pois, haricots, pois chiches.

- **Légumineuses** : soja et ses dérivés (tofu, tempeh, lait de soja), lentilles, fèves, trèfle rouge.
- **Boissons** : thé vert et noir (riche en catéchines et épigallocatechine gallate), vin rouge (anthocyanes, flavanols), bière, cacao et chocolat noir (flavanols, catéchines).
- **Herbes aromatiques et épices** : persil, thym, romarin, origan, curcuma, cannelle, céleri.
- **Fruits à coque et graines** : noix, noisettes, amandes, graines de lin, graines de chia.
- **Autres sources** : miel (selon les fleurs butinées), feuilles et fleurs de plantes médicinales comme la passiflore, l'aubépine, la reine des prés, le millepertuis, le cassis.

Chaque classe de flavonoïdes est plus abondante dans certains aliments : par exemple, les flavanones dans les agrumes, les flavonols dans le thé, les pommes et les oignons, les anthocyanes dans les baies rouges et violettes, et les isoflavones dans le soja et les légumineuses (Panche, et al., 2016).

II.4.3- Biosynthèse

La biosynthèse des flavonoïdes a lieu principalement dans les chloroplastes des cellules végétales. Elle commence avec la phénylalanine, un acide aminé issu de la voie de l'acide shikimique, qui est convertie en acide cinnamique puis en acide p-coumaroyl-CoA, précurseur clé des flavonoïdes. La chalcone synthase catalyse la condensation d'une molécule d'acide p-coumaroyl-CoA avec trois molécules de malonyl-CoA, formant une chalcone, précurseur commun des flavonoïdes. Cette chalcone est ensuite isomérisée en flavanone par la chalcone isomérase. À partir de la flavanone, différentes enzymes spécifiques produisent les diverses classes de flavonoïdes, telles que les flavones, flavonols, flavanols, anthocyanidines et proanthocyanidines. Ces molécules subissent ensuite des modifications enzymatiques (hydroxylation, méthylation, glycosylation) qui diversifient leur structure et fonction. Enfin, les flavonoïdes migrent vers les vacuoles où ils sont stockés, contribuant à la coloration des organes végétaux et à la protection contre les stress environnementaux comme les UV et les pathogènes (Falcone, 2012, Liga, et al., 2023).

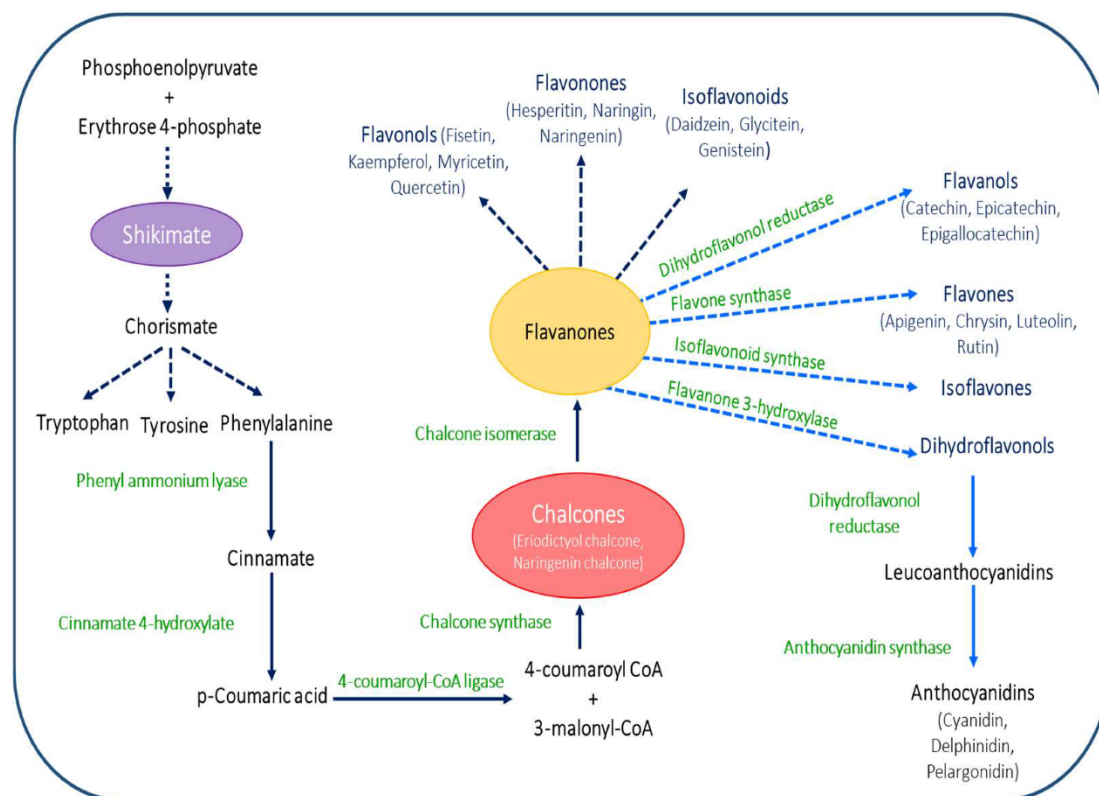


Figure 9 : La biosynthèse des flavonoïdes (web 6)

II.4.4- La substitution de squelette flavonique

II.4.4.1- La O –substitution :

La O-substitution du squelette flavonique correspond aux modifications chimiques qui affectent les groupes hydroxyle (-OH) présents sur les cycles aromatiques du noyau flavonoïde, principalement sur les cycles A, B et parfois sur le cycle C (Wang, et al., 2024).

a. Hydroxylation :

Les groupes hydroxyles en positions 5 et 7 du cycle A sont considérés comme originels, présents avant la formation complète du noyau flavonique. L'hydroxyle en position 4' sur le cycle B est apporté par le précurseur p-coumaroyl. D'autres hydroxyles dits « extras » peuvent se trouver en positions 6, 8 (cycle A) et 3', 5' (cycle B). Ces hydroxyles influencent fortement les propriétés antioxydantes et la réactivité des flavonoïdes.

b. Méthoxylation :

C'est la méthylation des groupes hydroxyles, qu'ils soient originels ou additionnels. La méthoxylation modifie la polarité et la lipophilie des flavonoïdes, affectant leur solubilité et leur activité biologique. Par exemple, la corymbosine est un flavonoïde méthoxylé extrait de certaines espèces végétales.

c. O-glycosylation :

Cette substitution consiste en la fixation d'un ou plusieurs sucres sur un groupe hydroxyle, généralement en position 7 pour les flavones et flavanones, et en position 3 pour les flavonols. La liaison se fait entre un OH phénolique et un OH alcoolique d'un sucre (glucose, rhamnose, xylose, etc.). La glycosylation augmente la solubilité dans l'eau, facilite le stockage dans les vacuoles et diminue la réactivité des aglycones.

II.4.4.2- La C –substitution

La C-substitution du squelette flavonique concerne les modifications chimiques qui interviennent directement sur le cycle hétérocyclique C du noyau flavonoïde, notamment sur les positions des atomes de carbone de cette chaîne à trois carbones reliant les deux cycles benzéniques A et B. Ces substitutions influencent le degré d'oxydation, la saturation et la nature des groupes fonctionnels présents sur le cycle C, ce qui détermine en grande partie la classification des flavonoïdes et leurs propriétés chimiques.

II.4.4.3- La C- méthylation

- La **C-méthylation** consiste en l'addition d'un groupe méthyle (-CH₃) directement lié à un atome de carbone du noyau flavonique par une liaison carbone-carbone (C-C), contrairement à la O-méthylation qui concerne les groupes hydroxyles (-OH).
- Cette substitution se produit principalement sur le cycle A, en positions C-6 ou C-8, parfois en C-3 ou C-4, selon le flavonoïde concerné.
- La C-méthylation modifie la polarité et la lipophilie de la molécule, souvent en augmentant sa stabilité et sa résistance à la dégradation enzymatique.
- Elle influence aussi les propriétés biologiques des flavonoïdes, notamment leur activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne.

- La liaison méthyle-carbone est formée enzymatiquement par des méthyltransférases spécifiques qui utilisent le S-adénosylméthionine (SAM) comme donneur de groupe méthyle.

II.4.4.4- La C-glycosylation

- La **C-glycosylation** est une substitution où un sucre est lié directement à un atome de carbone du squelette flavonique par une liaison carbone-carbone (C–C), contrairement à la O-glycosylation où le sucre est lié à un groupe hydroxyle par une liaison carbone-oxygène (C–O).
- Cette liaison C–C confère une plus grande stabilité chimique et enzymatique aux flavonoïdes glycosylés, les rendant moins susceptibles à l'hydrolyse.
- Les positions les plus fréquentes de C-glycosylation sont C-6 et C-8 du cycle A.
- Les sucres impliqués sont souvent le glucose, le xylose ou d'autres monosaccharides.
- La C-glycosylation est catalysée par des enzymes spécifiques appelées C-glycosyltransférases.

II.5- Analyse spectral des composés phénoliques

II.5.1- Les méthodes de séparation et de purification

II.5.1.1- Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne est une technique classique de séparation qui repose sur l'adsorption des composés sur un support solide, tel que la silice, l'alumine ou des résines échangeuses d'ions. L'échantillon est déposé au sommet de la colonne, puis élué à l'aide d'un ou plusieurs solvants dont la polarité est progressivement augmentée.

Cette méthode permet de séparer les composés phénoliques en fonction de leur polarité et de leur affinité avec la phase stationnaire. Elle est souvent utilisée pour la purification préliminaire ou semi-préparative des extraits végétaux. Parmi ses avantages, on compte sa simplicité, son coût modéré et la possibilité de traiter de gros volumes d'échantillons. Cependant, cette technique présente des limites, notamment une résolution moins fine que les méthodes chromatographiques modernes et un temps d'analyse plus long. (Pan, et al., 2023).

II.5.1.2- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode rapide et simple, utilisée pour la séparation qualitative et semi-quantitative des composés phénoliques. L'échantillon est appliqué sur une plaque recouverte d'une fine couche d'adsorbant, généralement de la silice ou de l'alumine. La plaque est ensuite placée dans une cuve contenant un solvant ou un mélange de solvants qui migre par capillarité, entraînant la séparation des composés. Les substances se séparent selon leur affinité avec la phase stationnaire et leur solubilité dans la phase mobile.

Cette technique permet d'obtenir un profil chromatographique sous forme de taches colorées ou fluorescentes sous lumière UV, utile pour le contrôle qualité, le suivi d'extraction ou la comparaison d'échantillons. La CCM peut également être utilisée en mode semi-préparatif pour isoler des composés en petite quantité (Santiago, et al., 2013).

II.5.1.3- Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est la technique de référence pour la séparation, l'identification et la quantification des composés phénoliques. Elle utilise une colonne chromatographique remplie de particules très fines, comme de la silice modifiée ou des phases stationnaires spécifiques, et une pompe haute pression pour faire circuler le solvant. Cette méthode permet une séparation rapide, efficace et reproductible des composés, même dans des mélanges complexes. Couplée à des détecteurs UV-Visible, diode array (DAD) ou spectrométrie de masse (MS), elle offre une analyse qualitative et quantitative précise.

L'HPLC est particulièrement adaptée à l'analyse des extraits végétaux, permettant d'identifier des flavonoïdes, acides phénoliques, stilbènes, coumarines, et autres composés. Elle permet aussi l'isolement semi-préparatif de composés pour des études structurales ou pharmacologiques (Hameedat, et al., 2022).

II.5.2- Méthodes d'analyse structurelle

II.5.2.1- Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Visible est une méthode couramment utilisée pour analyser les composés phénoliques grâce à leur capacité à absorber la lumière dans la gamme ultraviolet et visible. Cette absorption est liée aux cycles aromatiques hydroxylés présents dans ces molécules. Chaque famille de composés phénoliques

présente des longueurs d'onde d'absorption caractéristiques, ce qui permet leur détection et leur quantification. Couplée à la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec détecteur à barrette de diodes (DAD), cette technique fournit des spectres d'absorption précis, facilitant l'identification des composés (Leong, et al., 2018).

II.5.2.2- Spectroscopie Infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est utilisée pour identifier les groupes fonctionnels des composés phénoliques, notamment les groupes hydroxyle, carbonyle et aromatiques. En mesurant l'absorption des vibrations moléculaires dans l'infrarouge, cette technique permet de caractériser la structure chimique des molécules. Elle est souvent employée pour confirmer la présence de fonctions spécifiques et pour différencier les types de composés phénoliques dans un extrait (Mokari, et al., 2023).

II.5.2.3- Spectrométrie de Masse (MS)

La spectrométrie de masse est une technique puissante pour déterminer la masse moléculaire des composés phénoliques et pour obtenir des informations sur leur structure par fragmentation. Couplée à la chromatographie liquide ou gazeuse, elle permet une identification précise des aglycones et de leurs dérivés glycosylés. Les méthodes d'ionisation douce récentes améliorent la détection des composés sensibles, facilitant l'analyse qualitative et quantitative dans des mélanges complexes (Garg, et al., 2024).

II.5.2.4- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La RMN est une méthode essentielle pour élucider la structure détaillée des composés phénoliques. Les spectres de RMN du proton (^1H) et du carbone (^{13}C) fournissent des informations sur l'environnement chimique des atomes dans la molécule, permettant de déterminer la position des substituants et la nature des liaisons. Cette technique nécessite des composés purifiés en quantité suffisante et est particulièrement utile pour l'identification de nouveaux composés phénoliques (Markley, 2018).

II.6- L'activité Antioxydant des polyphénols :

L'activité antioxydante des polyphénols repose sur leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à réduire le stress oxydatif, un facteur clé dans le développement de nombreuses maladies chroniques. Présents notamment dans des plantes comme l'origan et le thym, les polyphénols possèdent une forte activité antiradicalaire, mesurée par des tests tels que le DPPH ; par exemple, l'extrait d'*Origanum vulgare* montre une inhibition des radicaux libres jusqu'à 81,5 %, bien supérieure à celle du thym. Cette activité est liée à leur richesse en polyphénols et flavonoïdes, qui agissent comme donneurs d'électrons ou d'hydrogène pour stabiliser les radicaux libres.

Au niveau cellulaire, ils protègent contre les dommages oxydatifs en piégeant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS), en chélatant les ions métalliques catalyseurs de réactions oxydatives, et en régénérant d'autres antioxydants naturels comme les vitamines C et E, contribuant ainsi à la prévention des maladies cardiovasculaires en empêchant l'oxydation des LDL, un facteur majeur d'athérosclérose.

De plus, les polyphénols exercent un effet neuroprotecteur en modulant des voies de signalisation cellulaires (PPAR, Nrf2, STAT, MAPK) impliquées dans la réponse au stress oxydatif et à l'inflammation, réduisant le risque de maladies neurodégénératives comme Alzheimer. Ils possèdent également des propriétés anti-inflammatoires en inhibant les voies moléculaires activées par le stress oxydatif, diminuant la production de médiateurs inflammatoires.

Différentes classes de polyphénols, notamment les flavonoïdes, sont reconnues comme les meilleurs piègeurs de radicaux libres parmi les composés phénoliques, ce qui explique leur rôle central dans l'activité antioxydante des extraits végétaux, confirmée par plusieurs méthodes *in vitro* (DPPH, FRAP, CAT) évaluant leur capacité à réduire ou neutraliser les radicaux libres (Stagos, 2019).

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1- Matériel et méthodes

Notre travail expérimental a été effectué au niveau des laboratoires de chimie et au niveau du laboratoire de recherche des sciences à l'université M'sila. Le but est une analyse quantitative et qualitative des molécules bioactives et l'étude de leur activité antioxydante.

Tableau 1 : Matériel utilisé

Catégorie	Matériel
Solvants organiques	Méthanol à 70 % (MeOH), Eau distillée, Chloroforme, Acide sulfurique
Réactifs chimiques	Réactif de Folin–Ciocalteu (dosage des composés phénoliques), Ammoniaque (NH ₃), Réactif de Dragendorff (détection des alcaloïdes)
Sels	Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃), Trichlorure d'aluminium (AlCl ₃)
Standards spectrophotométriques	Acide gallique (standard pour les composés phénoliques), Quercétine (standard pour les flavonoïdes)
Autres produits chimiques	Hydroxyde de sodium (NaOH), Chlorure de fer (III) (FeCl ₃), Acide chlorhydrique (HCl)
Instruments utilisés	Agitateur vortex, Bain-marie, Réfrigérateur, Balance de précision, Étuve, Évaporateur rotatif, Plaque chauffante agitatrice, Spectrophotomètre UV-Visible (SHIMADZU UV-1800)
Les excipients	propolis cire d'abille huile d'olive glucérine végétale eau floral de romarin eau distille goutte huile esentielle

Échantillonnage

Deux échantillons de propolis brute ont été fournis par deux apiculteurs issus de régions géographiques différentes :

- Premier échantillon : Wilaya de M'sila (Ouled Hannash)



Figure 10 : échantillon de la propolis de M'sila

- Deuxième échantillon : Wilaya d'Alger



Figure 11 : Echantillon de la propolis d'Alger

III.2- Méthodes

III.2.1- Préparation des extraits

III.2.1.1 Séchage et broyage

Les échantillons de propolis ont été conservés dans un réfrigérateur

Après congélation, la propolis a été broyée mécaniquement jusqu'à obtenir une poudre fine, qui a ensuite été stockée dans un flacon en verre jusqu'à utilisation.



Figure 12 : Propolis de M'sila avant et après le broyage



Figure 13 : Propolis de Alger avant et après le broyage

III.2.1.2. Extraction

L'extraction vise à transformer la matière première en un extrait concentré en molécules chimiques actives. Elle utilise des solvants organiques pour améliorer le rendement

La méthode employée est une macération hydroalcoolique réalisée à température ambiante et à l'abri de la lumière.

- 45 g de chaque échantillon de propolis ont été macérés dans 175 ml de solution de méthanol à 70 % d'eau distillée, jusqu'à saturation.
- Les macérats ont été soumis à une agitation continue pendant 24 heures pour favoriser l'extraction. (Ribera, 1972)

Macération répétée et filtration

- La macération est réalisée trois fois pour chaque échantillon de propolis.
- Après chaque période de macération, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre ordinaire afin d'éliminer les résidus solides.
- Le solvant est renouvelé à chaque fois pour améliorer le rendement d'extraction des composés bioactifs.



Figure 14 : Filtration du macérat

III.2.1.3. Élimination du solvant

- Le solvant contenu dans le macérat filtré est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, réglé à une température de 40 °C.
- Cette étape permet de concentrer les extraits en éliminant le méthanol et l'eau, sans dégrader les composés thermosensibles. (Ribera, 1972)

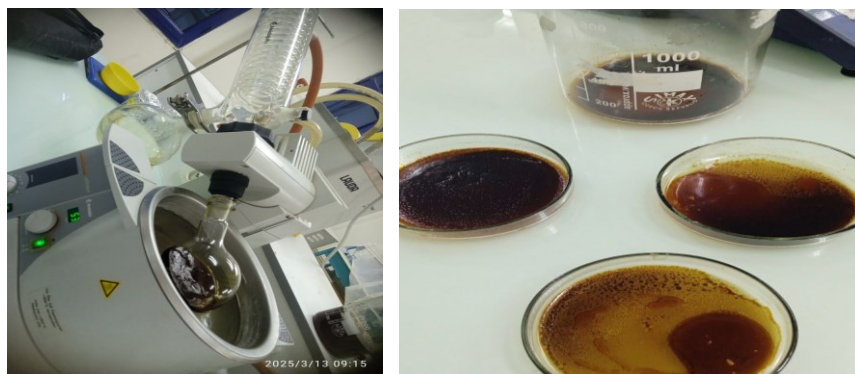


Figure 15 : Élimination du solvant

III.2.2- Séchage et stockage des extraits

- Les extraits concentrés sont récupérés dans des boîtes de Pétri stériles en verre.
- Ils sont ensuite séchés dans une étuve à 40 °C pour éliminer toute trace résiduelle de solvant.
- Les extraits secs sont conservés dans de petits flacons en verre, hermétiquement fermés, jusqu'à leur utilisation pour les analyses ultérieures. (Boisard, 2014)

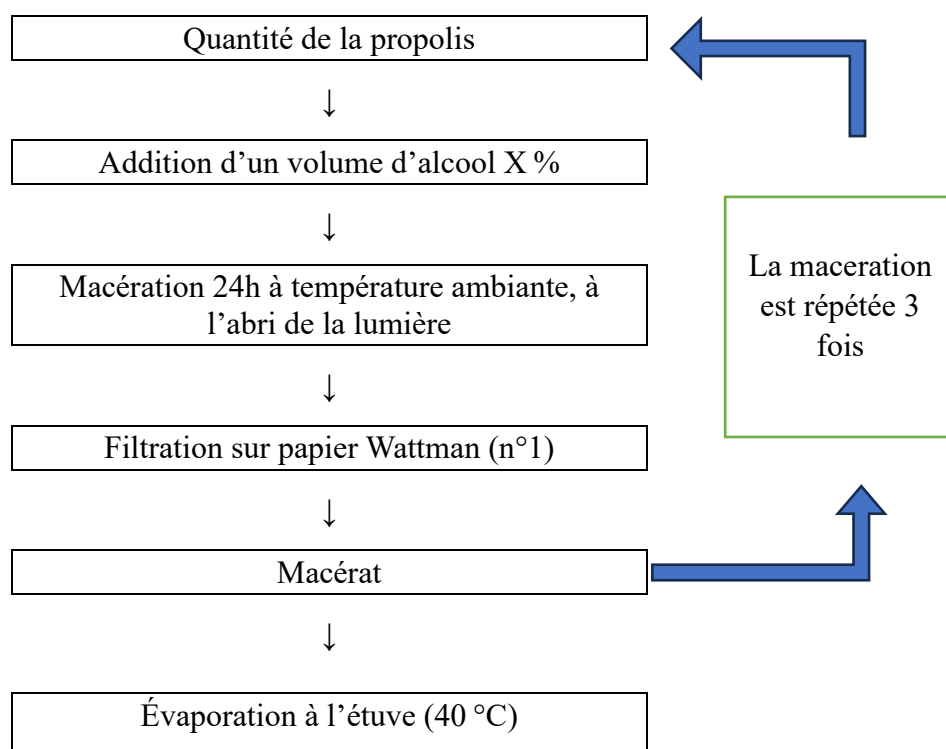


Figure 16 : Protocole de préparation de l'extrait éthanolique par macération

Calcul du rendement d'extraction

- Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage, calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P}{Pf} \cdot 100$$

Où : P : poids d'extrait sec exprimé en gramme

Pf : poids de la plante sèche exprimé en gramme

- Ce calcul permet d'évaluer l'efficacité de la méthode d'extraction utilisée. (Boisard, 2014)

III.2.3. Préparation des solutions pour les dosages

- Solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 % :** 7,5 g de Na_2CO_3 sont dissous dans 100 mL d'eau distillée.
- Solution d'extrait de propolis :** 1 mg d'extrait sec est dissous dans 1 mL de méthanol pour obtenir une solution mère.

- **Réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois** : 2 mL de solution concentrée de FCR (2M) sont complétés à 20 mL avec de l'eau distillée.

III.2.4- Dosage des polyphénols totaux (méthode Folin-Ciocalteu)

III.2.4.1- Principe

La méthode Folin-Ciocalteu repose sur la capacité des composés phénoliques à réduire un mélange d'acides phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) et phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) contenu dans le réactif de Folin-Ciocalteu. Lors de cette réaction, les composés phénoliques sont oxydés, tandis que les ions molybdène et tungstène sont réduits, formant un complexe bleu de molybdate et tungstate réduit. Cette coloration bleue est proportionnelle à la quantité totale de composés phénoliques présents dans l'échantillon. Elle est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 765 nm. (Blaise, et al., 2021).

III.2.4.2- Protocole expérimental :

- 400 μ L de la solution d'extrait sont mélangés avec 2 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1:10) et 1,5 mL de carbonate de sodium (7,5 %).
- Le mélange est incubé pendant 2 heures à l'obscurité pour permettre la réaction.
- L'absorbance est ensuite mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.
- Un blanc est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol, pour corriger l'absorbance de fond.

III.2.4.3- Calcul de la teneur en polyphénols totaux :

- La concentration en polyphénols totaux des extraits est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.
- Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

III.2.4.4- Gamme d'étalonnage avec l'acide gallique :

- 5 mg d'acide gallique sont dissous dans 25 mL de méthanol pour obtenir une solution mère (0,2 mg/mL).
- Des dilutions successives sont préparées dans des tubes à essai.

- Chaque dilution est traitée selon le même protocole que les extraits (400 μ L + FCR + Na_2CO_3).
- Après incubation, l'absorbance est mesurée à 765 nm.
- Une courbe d'étalonnage est établie à partir des absorbances mesurées. (MAAMRI, 2008)

III.2.5. Évaluation du pouvoir antioxydant

III.2.5.1- Test DPPH

a. Principe :

Le test au DPPH repose sur la capacité du radical libre stable 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), caractérisé par sa couleur violette intense due à la délocalisation de son électron, à réagir avec des composés donneurs d'électrons ou d'atomes d'hydrogène tels que les amines, phénols ou acides. Lorsqu'un antioxydant est ajouté à une solution de DPPH, il réduit ce radical en 1,1-diphényl-2-(2,4,6-trinitrophényl)hydrazine (DPPH₂), entraînant une décoloration de violet à jaune pâle. Ce changement de couleur, lié à la perte du radical libre, est mesuré par spectrophotométrie, généralement à une longueur d'onde proche de 515 nm, et reflète la capacité antioxydante de l'échantillon testé. Plus la décoloration est importante, plus le pouvoir antiradicalaire est élevé (SIRIVIBULKOVIT, 2018).

b. Préparation du DPPH :

- Dissoudre 4 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol.
- Conserver la solution à -20 °C, à l'abri de la lumière.
- L'absorbance initiale est ajustée à environ 0,5 à 490 nm dans le spectrophotomètre.

c. Protocole du test DPPH

1. Préparation des échantillons

2,5 mL de différentes concentrations de chaque échantillon à tester sont déposés dans des tubes à essai.

2. Ajout du radical DPPH

À chaque tube contenant l'échantillon, on ajoute 2,5 mL d'une solution méthanolique de DPPH.

3. Préparation du contrôle négatif (blanc): En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1 mL de méthanol avec 1 mL de la solution méthanolique de DPPH.

4. Incubation

Les tubes sont incubés à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes pour permettre la réaction.

5. Mesure de l'absorbance

Après incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

6. Calcul du pourcentage d'inhibition (activité antioxydante, AA%)

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, calculé selon la formule suivante :

$$\%AA = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{extrait}}}{\text{Abs}_{\text{contrôle}}} \right] \times 100 \text{ (MAAMRI, 2008)}$$

d. Préparation des solutions mères d'extraits :

- Dissoudre 100 mg de chaque extrait dans 100 mL de méthanol absolu (concentration 4 mg/mL).

III.2.5.5- Dosage des flavonoïdes

a. Principe

Le principe du dosage des flavonoïdes repose sur la formation d'un complexe stable entre les flavonoïdes présents dans l'échantillon et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Les flavonoïdes, qui possèdent des groupes hydroxyles libres en position spécifique (notamment en position 5), forment avec l' AlCl_3 un complexe coloré jaunâtre par chélation des atomes d'oxygène. Cette réaction provoque une augmentation de l'absorbance mesurée spectrophotométriquement, généralement à 430 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes, ce qui permet leur quantification en comparant les absorbances des échantillons à une courbe d'étalonnage réalisée avec un standard connu, souvent la quercétine. (Blaise, et al., 2021)

b. Mode opératoire**Préparation de la solution mère de quercétine :**

- Dissoudre 10 mg de quercétine dans 1 mL de méthanol (100 µg/mL).
- Préparer des dilutions à partir de cette solution mère dans un volume final de 2 mL.

c. Réaction avec AlCl₃ :

- Dans un tube à essai, mélanger 1 mL de solution d'AlCl₃ avec 1 mL de chaque dilution de quercétine ou extrait.
- Agiter puis incuber 10 minutes à température ambiante, à l'obscurité.
- Mesurer l'absorbance à 430 nm.

Contrôle (blanc) :

- Préparer un blanc en remplaçant l'extrait par le solvant (méthanol).

Mesures:

- Toutes les mesures sont réalisées en triplicat pour assurer la reproductibilité.

Variante du mode opératoire pour le dosage des flavonoïdes

- Dissoudre 5 mg de quercétine dans 5 mL de méthanol pour préparer la solution mère.
- Préparer une solution d'AlCl₃ en dissolvant 1 g dans 50 mL de méthanol.
- Dans un tube à essai, ajouter 200 µL de solution d'AlCl₃ à 3 mL de chaque dilution de quercétine.
- Après agitation et incubation 10 minutes à l'obscurité, mesurer l'absorbance à 430 nm.
- Les résultats sont exprimés en équivalent quercétine via une courbe d'étalonnage.

III.2.6. Le screening chimique

Le screening chimique (ou screening phytochimique) est un ensemble de tests qualitatifs réalisés sur des extraits végétaux afin de détecter la présence ou l'absence de différents groupes de composés bioactifs, tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponosides, terpènes, et autres métabolites secondaires. Ces tests reposent généralement sur des réactions chimiques spécifiques qui provoquent des changements de couleur, la formation de précipités, de mousse ou d'autres phénomènes visibles, permettant ainsi d'identifier rapidement les classes de composés présents dans un extrait. Le screening est une étape préliminaire essentielle pour orienter les analyses plus approfondies, comme la chromatographie ou la spectrométrie, et pour évaluer le potentiel pharmacologique ou biologique des plantes étudiées (Boudjema et al., 2021).

III.2.6.1. Teste alcaloïde

1. Préparation de l'extrait

Peser précisément 1 g d'extrait sec ou de poudre végétale. Dissoudre cette quantité dans 5 mL de méthanol (MeOH) afin d'obtenir une solution homogène, prête à être utilisée pour le test.

2. Préparation de la plaque CCM

Utiliser une petite plaque de chromatographie sur couche mince (CCM) en gel de silice. Avant utilisation, activer la plaque en la chauffant à 110 °C pendant 3 à 5 minutes pour améliorer la qualité de la séparation. À l'aide d'une micropipette, déposer environ 10 µL de la solution d'extrait sur la ligne de base, située à environ 1 cm du bord inférieur de la plaque. Laisser ensuite sécher ce dépôt à l'air libre ou à l'aide d'un sèche-cheveux.

3. Révélation des alcaloïdes

Vaporiser la plaque sèche avec quelques gouttes du réactif de Dragendorff, un iodobismuthate de potassium spécifique aux alcaloïdes. Observer l'apparition de taches colorées allant du jaune pâle à l'orange, ce qui indique la présence d'alcaloïdes dans les zones correspondantes de la plaque.

4. Test qualitatif en solution (optionnel)

Ajouter quelques gouttes d'ammoniaque diluée à la solution d'extrait pour alcaliniser le milieu. Puis, ajouter quelques gouttes du réactif de Dragendorff. L'apparition d'une coloration jaune pâle ou la formation d'un précipité confirme la présence d'alcaloïdes dans l'échantillon testé (Kancherla, et al., 2019).

III.2.6.2. Teste tanin

1. Prélever 1 mL d'extrait aqueux de la propolis (ou autre extrait végétal).
2. Ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution de FeCl_3 diluée à 1 %.
3. Observer la coloration qui apparaît :
 - Une couleur bleu-noir ou brun noir indique la présence de tanins galliques.
 - Une couleur bleu-vert ou brun verdâtre indique la présence de tanins catéchiques. (Belkacem, et al., 2022).

III.2.6.3. Teste des terpènes

1. Dissoudre l'extrait dans 2 mL de chloroforme.
2. Transférer la solution dans un tube à essai.
3. Ajouter lentement 3 mL d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) en veillant à ce que la réaction se fasse à froid (sans chauffage).
4. Observer la formation d'un anneau coloré à l'interface :
 - Un anneau rouge brunâtre ou violet apparaît.
 - La couche surnageante peut prendre une coloration verte ou violette. (BENAÏSSA, 2011)

III.2.6.3. Teste des flavonoïdes

1. Dissoudre une petite quantité de l'extrait dans 5 mL de méthanol.
2. Ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré à la solution.
3. Ajouter environ 0,5 g de copeaux de magnésium.
4. Observer la réaction pendant 1 à 2 minutes. (Gouegoui, et al., 2018)

Teste des saponosides

- Diluer une petite quantité d'extrait dans de l'eau distillée.
- Agiter vigoureusement la solution pendant environ 15 à 30 secondes.
- Observer la formation d'une mousse persistante (qui dure généralement plus de 10 minutes).
- La présence d'une mousse stable et abondante indique la présence de saponosides. .(Gouegoui, et al., 2018)

III.2.7- Définition de la crème

La crème de propolis est un produit cosmétique naturel fabriqué à partir de la propolis, une substance résineuse récoltée par les abeilles à partir des bourgeons d'arbres, mélangée à de la cire et du pollen. Riche en vitamines (A, B), antioxydants, oligo-éléments et flavonoïdes, elle possède des propriétés anti-inflammatoires, cicatrisantes et antibactériennes. Cette crème est particulièrement reconnue pour régénérer les peaux sensibilisées, apaiser les rougeurs, favoriser la guérison des lésions cutanées, et est bénéfique pour les peaux à problèmes comme l'acné, le psoriasis ou l'eczéma. (El-Sakhawy, et al., 2023).



Figure 17 : la crème de propolis

Formulation de la crème de propolis**Formulation**

propolis	1,5g
cire d'abille.....	2,5g
huile d'olive	3ml
glucérine végétale	3g
eau floral de romarin.....	3ml
eau distille.....	17ml

goutte huile esentielle**Mode opératoire de crème**

1- Introduire la phase aqueuse (eau floral de romarin, eau distille. et glycérine) dans un bécher en verre, et la phase huileuse dans un autre bécher identique.

2- placer les deux béchers, avec leur phase respective, dans un bain marie à 80°C.

3- Lorsque les deux phases ont atteint la température de 75°, verser la phase huileuse goutte à goutte

dans la phase aqueuse sous agitation, et maintenir le mélange dans bain marie pendant 5min

4- agiter jusqu'à obtention d'une masse homogène.

5- Retirer la préparation de bain marie et laisser à l'air libre afin de permettre son refroidissement

progressif finalement on obtient une crème homogène



Figure 18 : le format final du crème

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1- Rendement des extraits bruts

L'extraction des substances bioactives de la propolis est effectuée par macération dans de l'éthanol. Ce procédé permet d'obtenir un extrait visqueux de couleur marron, appelé « extrait éthanolique de propolis », dont le rendement est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse initiale de propolis brute.

A partir de 14.76 grammes de propolis de M'sila (Prop1) et de 10.43 grammes de celle de Algérie (Prop2), le rendement a été déterminé. Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique. Les rendements d'extractions de la propolis par l'méthanol sont présentés dans la figure suivante :

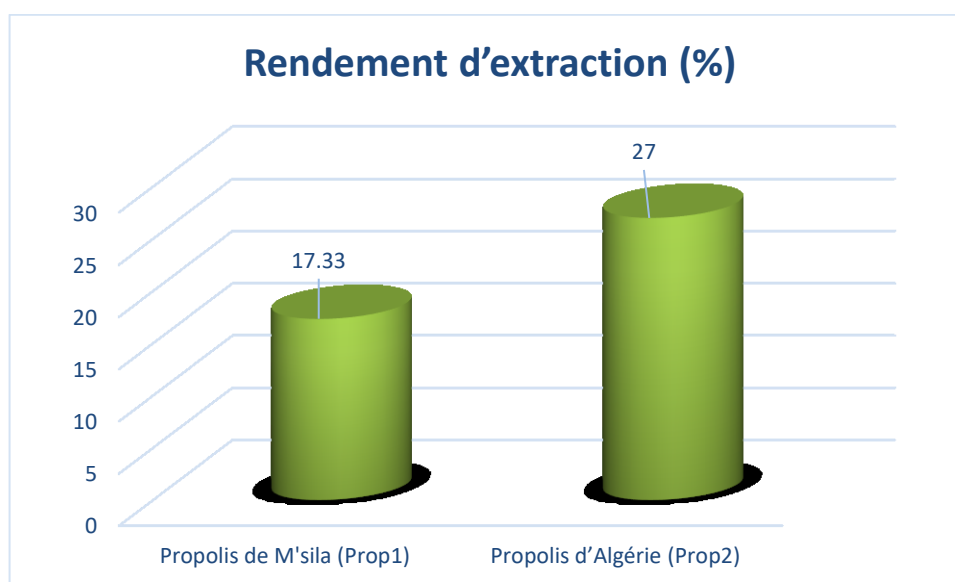


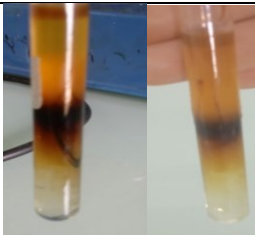
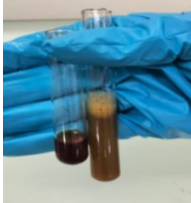
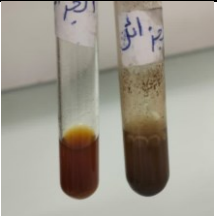
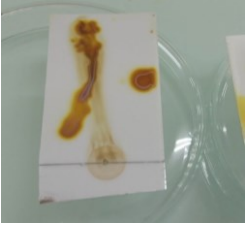
Figure 19 : Rendements des extraits éthanoliques de la propolis


Le rendement d'extraction montre que la propolis d'Alger (Prop2) présente un rendement supérieur (27 %) comparé à celle de M'sila (Prop1) avec 17,33 %. Cette différence reflète une extraction plus efficace des composés solubles dans l'échantillon d'Alger, ce qui peut être lié à la composition chimique spécifique et aux conditions environnementales propres à chaque région. Un rendement plus élevé suggère également une concentration plus importante en métabolites secondaires, tels que les polyphénols et flavonoïdes, renforçant ainsi le potentiel antioxydant et thérapeutique de la propolis d'Alger

IV.2- Le screening chimique

Le screening chimique a permis de détecter la présence de métabolites secondaires dans les extraits de propolis étudiés. Cette détection s'appuie sur des tests qualitatifs physico-chimiques spécifiques, fondés sur des réactions de solubilité, de précipitation et de coloration des constituants. Ces tests ont été appliqués aux deux extraits de propolis afin de confirmer la présence ou l'absence de certains composés bioactifs. Les résultats, obtenus selon les protocoles décrits précédemment, sont regroupés dans un tableau récapitulatif qui synthétise les observations issues des tests phytochimiques réalisés sur ces extraits.

Tableau 2 : Résultats de screening chimique

	Propolis Alger	Propolis Oulad Hannesh	
Flavonoïdes	+++	+++	
Saponosides	+++	-	
Tanins	+	+	
Alcaloïdes	+++	++	

Terpénoïdes –	+	+	
---------------	---	---	---

Le screening chimique des extraits de propolis d'Alger et d'Oulad Hannesh révèle une richesse en métabolites secondaires, notamment une forte présence de flavonoïdes, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes. Les saponosides sont uniquement détectés dans l'extrait d'Alger, suggérant une différence liée à l'origine géographique ou botanique. Les tanins, bien que présents en faible quantité dans les deux extraits, contribuent aussi à l'activité antioxydante. Les alcaloïdes, abondants dans l'extrait d'Alger et modérés dans celui d'Oulad Hannesh, sont connus pour leurs effets pharmacologiques variés. Enfin, les terpènes et triterpènes, présents en faible quantité, apportent des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Cette diversité chimique reflète la spécificité des sources végétales locales et explique les variations potentielles d'activité biologique entre les extraits.

IV.3- Etude quantitative

L'étude quantitative des extraits bruts de propolis visait à déterminer la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes à l'aide de dosages spectrophotométriques.

La principale raison du choix de ces substances réside dans leur prédominance dans la composition de la propolis, ainsi que dans leur rôle majeur en tant que composés responsables des activités biologiques de la propolis, notamment ses propriétés antibactériennes, antivirales et antioxydantes

IV.3.1- Dosage polyphénol

Les polyphénols totaux ont été quantifiés selon la méthode de Folin-Ciocalteu, en utilisant l'acide gallique comme étalon. L'absorbance des échantillons a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm. Une courbe d'étalonnage a été établie à partir d'une série de solutions d'acide gallique de concentrations variées, dont l'absorbance a été analysée pour calibrer la mesure.

La courbe présente une relation linéaire entre l'absorbance et les concentrations testées. Les analyses quantitatives ont été réalisées par régression linéaire, donnant l'équation : $y=0,0118x-0,0238$ avec un coefficient de corrélation

élevé $R^2=0,9965$. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait de propolis ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ de propolis).

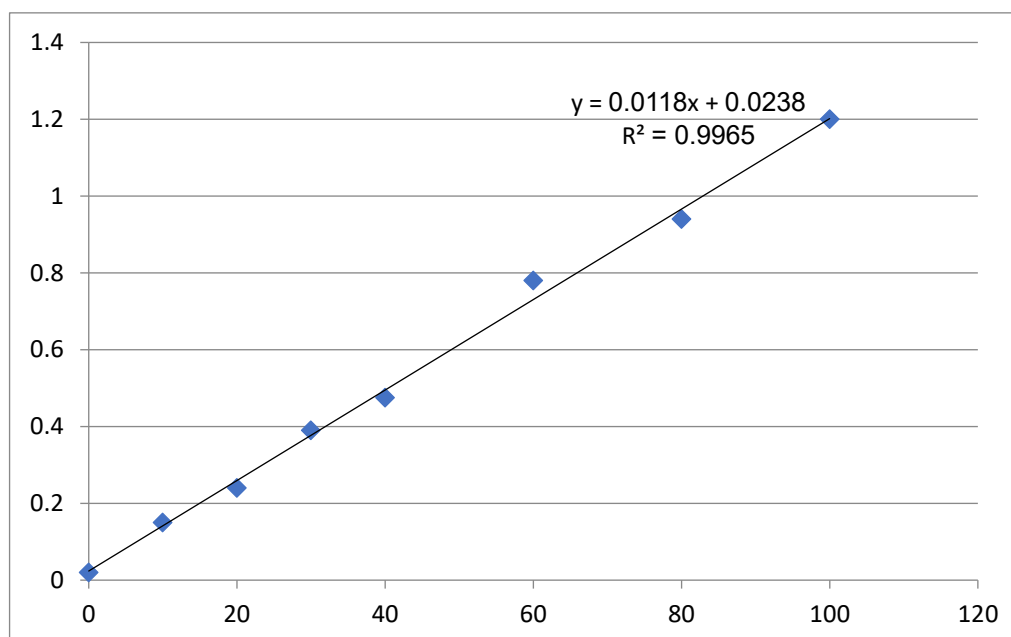


Figure 20 Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Tableau 3 : Teneur en polyphénols des deux extraits de propolis

Échantillons	[C] μg équivalent d'Ac gallique/mg d'extrait
Oulad Hannech	182 $\mu\text{g}/\text{mg}$
Alger	215 $\mu\text{g}/\text{mg}$

Le tableau révèle que l'extrait de propolis d'Alger (Prop2) contient une teneur en polyphénols significativement plus élevée 215 $\mu\text{g}/\text{g}$ équivalent d'acide gallique/mg d'extrait) que celui d'Ouled Hannach (Prop1) avec 182 $\mu\text{g}/\text{g}$. Cette différence souligne une richesse accrue en composés phénoliques dans la propolis d'Alger, ce qui est généralement associé à une meilleure activité antioxydante. Ces résultats confirment l'influence de la provenance géographique sur la composition chimique et le potentiel bioactif des extraits de propolis.

Nos résultats concernant la teneur en polyphénols de la propolis sont proches de ceux rapportés par **Nadji et Loucif-Ayad (2014)** pour la wilaya d'Annaba, avec une valeur de $100,90 \pm 2,72$ mg EAG/g extrait, ce qui confirme une richesse comparable en

composés phénoliques. En revanche, les teneurs mesurées dans d'autres études sur la propolis de Béjaia et Oued-Ghir, comprises entre 15 et 53,51 mg EAG/g, sont inférieures à celles obtenues dans notre étude (Mouhoubi-Tafinine et al., 2016), indiquant une variation régionale significative. Par ailleurs, les teneurs en polyphénols de la propolis française, plus élevées, allant de 200 à 300 mg EAG/g, dépassent largement nos valeurs, illustrant les différences liées aux origines géographiques et aux sources végétales. Ces comparaisons soulignent l'impact majeur de la provenance et des conditions d'extraction sur la composition chimique et le potentiel antioxydant des extraits de propolis.

IV.3.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium, la plus couramment utilisée. Ce procédé repose sur la formation d'un complexe entre les flavonoïdes et les ions aluminium, qui présente une absorbance maximale à 430 nm. Une courbe d'étalonnage est établie à partir d'une série de solutions de quercétine à différentes concentrations, dont l'absorbance est mesurée pour calibrer l'analyse.

La courbe illustre une relation linéaire entre l'absorbance et les concentrations testées. Les analyses quantitatives ont été réalisées par régression linéaire, donnant l'équation $y=0,0123x+0,0383$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0,991$. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait de propolis ($\mu\text{g EQ}/\text{mg d'extrait}$).

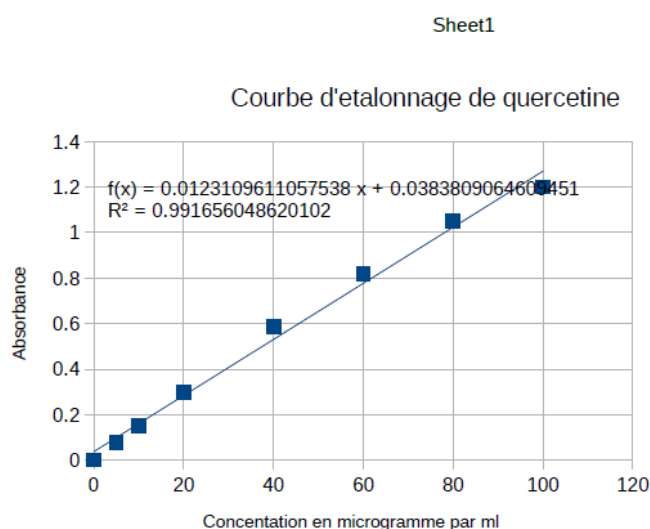


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de quercétine

Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de propolis analysés sont présentés dans le tableau

Tableau 4 : Teneur en flavonoïdes des deux extraits de propolis

Échantillon	[C] μg équivalent de quercétine d'extrait
Propolis Ouled hannach	51.55 $\mu\text{g}/\text{mg}$
Propolis Alger	14.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$

L'analyse de la teneur en flavonoïdes des deux échantillons de propolis révèle une différence significative entre les échantillons étudiés. L'extrait de propolis d'Ouled Hannach présente une concentration élevée en flavonoïdes, avec 51,55 μg équivalent quercétine par millilitre, tandis que celui d'Alger affiche une teneur nettement plus faible, de 14,4 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Cette variation importante souligne l'influence majeure de la provenance géographique sur la composition chimique de la propolis.

Nos résultats montrent une bonne concordance avec ceux de **Belfar et al.** (2015) pour les régions de Mostaganem et Béjaïa, où les teneurs en polyphénols ($28,3 \pm 0,2$ mg EQ/g et $19,6 \pm 0,3$ mg EQ/g) sont proches des nôtres. En revanche, les valeurs élevées rapportées pour Boumerdes et Ghardaïa ($210,9 \pm 0,8$ mg EQ/g et $74,8 \pm 1,0$ mg EQ/g) diffèrent nettement de nos observations, ce qui peut s'expliquer par des variations régionales importantes ou des différences méthodologiques. De même, les teneurs en flavonoïdes totaux mesurées dans la propolis de Sétif et ses environs (111 à 132 μg EQ/mg) ne correspondent pas à nos résultats, soulignant l'influence marquée de la provenance géographique et des conditions locales sur la composition chimique et les propriétés bioactives de la propolis. (**Soltani, 2018**). Ces disparités confirment que la diversité florale et environnementale des régions algériennes joue un rôle clé dans la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits étudiés

IV.4. Résultats de l'activité antioxydante

IV.4.1. Test au DPPH

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) utilisé dans cette étude repose sur la capacité d'une molécule antioxydante à piéger le radical libre stable DPPH, ce qui provoque la décoloration de ce dernier.

Les activités antioxydantes de l'extrait éthanolique de propolis ainsi que du témoin positif BHT ont été évaluées par cette méthode. Les résultats sont présentés sous forme de droites représentant la relation entre la concentration d'extrait et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

L'activité antioxydante des deux extraits provenant d'Ouled Hanash et d'Algérie a été évaluée par la méthode du DPPH. À partir des mesures d'absorbance, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$

À partir des mesures réalisées sur les extraits, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

L'inhibition du radical DPPH augmente proportionnellement à la concentration des extraits, indiquant une activité antioxydante dépendante de la dose. L'extrait d'Ouled Hanash démontre une forte capacité à neutraliser le radical DPPH, atteignant près de 98 % d'inhibition à une concentration de 50 µg/mL. De même, l'extrait d'Alger présente une activité antioxydante élevée, dépassant 100 % d'inhibition à la même concentration, ce qui pourrait s'expliquer par des variations expérimentales ou une très forte capacité antiradicalaire. Ces résultats confirment que l'efficacité antioxydante des extraits est liée à leur concentration, conformément au principe du test DPPH qui mesure la capacité des composés à transférer des atomes d'hydrogène pour réduire le radical libre stable.

IV.4.2. Courbes d'activité antioxydante

a. Oulad Hannech

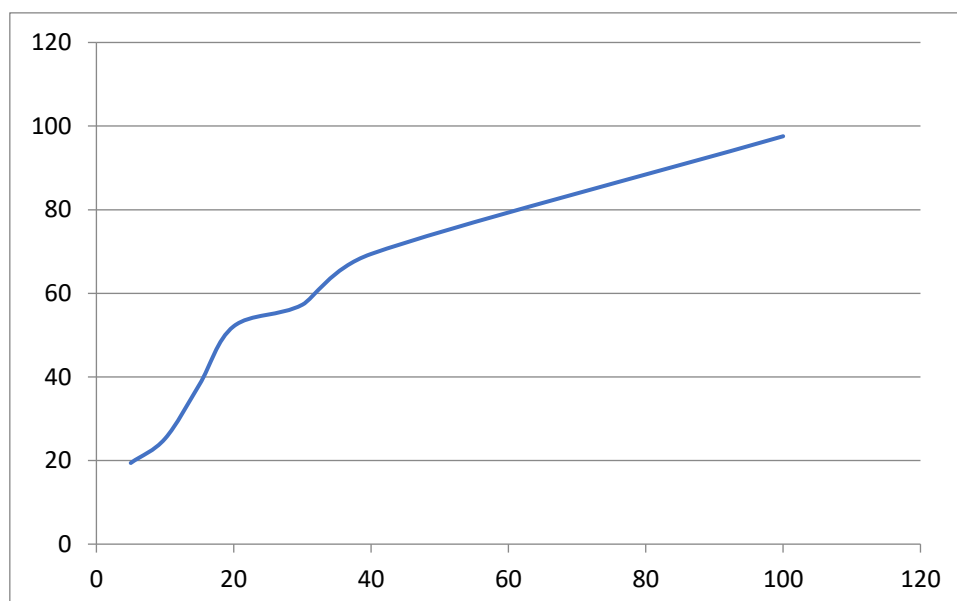


Figure 22 : Courbe de L'activité antioxydante de oulad Hannesh

L'analyse des courbes d'activité antioxydante de l'extract d'Ouled Hannesh révèle une relation complexe entre la concentration et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH. Initialement, l'inhibition varie de manière irrégulière aux faibles concentrations (5 à 20 µg/mL), avec un pic à 25,24 % à 10 µg/mL, suivi d'une baisse à 10,19 % à 20 µg/mL. Cependant, à partir de 30 µg/mL, l'activité antioxydante augmente significativement, atteignant 57,28 %, puis 69,41 % à 40 µg/mL et culminant à 97,57 % à 100 µg/mL. Ce profil montre que l'extract d'Ouled Hannesh possède une capacité antioxydante dose-dépendante, particulièrement marquée aux concentrations plus élevées. Les variations observées aux faibles concentrations pourraient être dues à des interactions complexes des composés présents dans l'extract ou à des limitations expérimentales. Donc, l'extract d'Ouled Hannesh démontre une activité antioxydante significative.

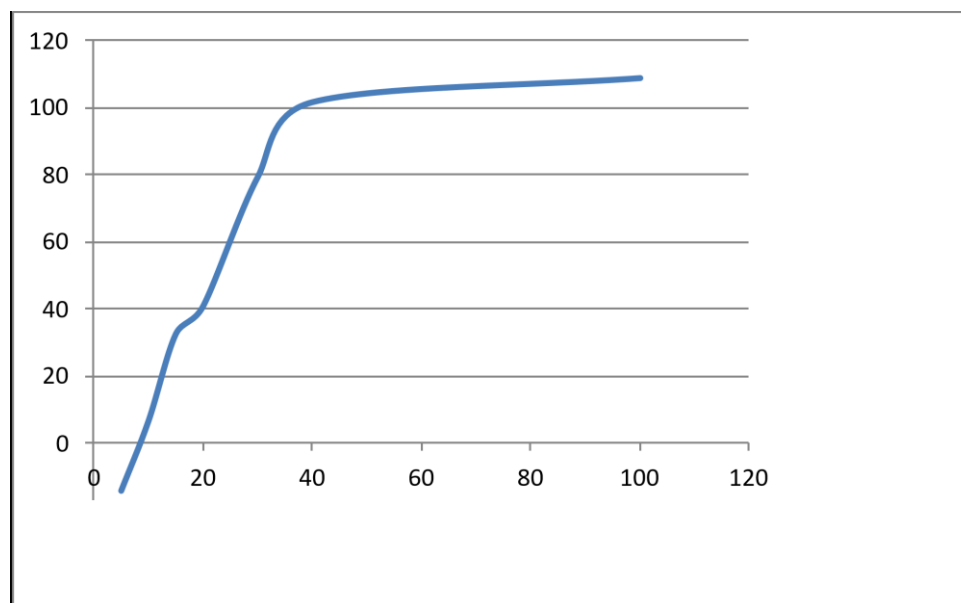


Figure 23 : Courbe de L'activité antioxydante d'Alger

L'analyse de l'activité antioxydante de l'extrait d'Alger, montre une évolution variable du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction des concentrations testées. À faible concentration (5 µg/mL), l'inhibition est négative IC₅₀ = 20 µg/mL), ce qui peut indiquer une interférence expérimentale ou une faible activité antioxydante à ce niveau. À mesure que la concentration augmente, l'inhibition devient positive et croissante, atteignant 6,47 % à 10 µg/mL, puis jusqu'à 32,37 % à 15 µg/mL. Une légère baisse est observée à 20 µg/mL avec 12,23 % d'inhibition, probablement due à une variation expérimentale.

Au-delà de 20 µg/mL, l'activité antioxydante s'accroît fortement, avec 79,13 % d'inhibition à 30 µg/mL, dépassant 100 % à 40 µg/mL et atteignant 108,63 % à 100 µg/mL. Ces résultats indiquent une capacité élevée de l'extrait d'Alger à piéger le radical DPPH, traduisant une forte activité antioxydante dose-dépendante. L'inhibition supérieure à 100 % peut être attribuée à des variations expérimentales ou à un effet synergique des composés phénoliques présents dans l'extrait.

Ainsi, l'extrait d'Alger présente une activité antioxydante significative, particulièrement à partir de 30 µg/mL.

Nos résultats confirment les observations de **Benchabane et al. (2020)** qui ont montré que l'activité antioxydante de la propolis algérienne varie selon la région, avec une corrélation forte entre cette activité et la teneur en polyphénols. Comme eux, nous constatons que la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes, influencée par la

végétation locale et les conditions environnementales, est un facteur clé du potentiel antioxydant. De plus, nos données s'alignent avec d'autres études soulignant que la diversité floristique et la race des abeilles modulent la composition chimique de la propolis et donc son efficacité antioxydante.

Ces convergences renforcent l'idée que la propolis algérienne, riche en polyphénols et flavonoïdes, joue un rôle protecteur important contre le stress oxydatif, comme le confirment les multiples méthodes d'évaluation antioxydante utilisées dans la littérature

IV.5. Ph de la crème :

Après mesure, le pH de la crème de propolis formulée à partir des deux échantillons est de 7, ce qui correspond à un pH neutre. Cette valeur de pH, associée à une fabrication conforme aux bonnes pratiques (norme ISO 22716), garantit une crème stable, sûre et efficace, adaptée aux peaux à problèmes et aux peaux sensibles ou sèches.



Figure 24 : pH de la crème

Conclusion

Conclusion

Cette étude exhaustive a permis de caractériser précisément deux variétés de propolis algériennes, révélant des différences significatives dans leur composition et leur activité biologique. Les principaux résultats chiffrés montrent que :

La propolis d'Alger présente une teneur remarquable en polyphénols (215 mg EAG/g) et en flavonoïdes (93 QE/g), accompagnée d'une activité antioxydante exceptionnelle ($IC_{50} = 20 \mu\text{g/mL}$). À l'inverse, la propolis d'Ouled Hamach, bien que moins concentrée en polyphénols (182 mg EAG/g) et flavonoïdes (35 QE/g), démontre néanmoins une activité antioxydante très respectable ($IC_{50} = 35 \mu\text{g/mL}$).

Les rendements d'extraction varient considérablement entre les deux échantillons, avec 27% pour Alger contre seulement 17,33% pour Ouled Hamach, soit une différence relative de 56%. Ces écarts importants soulignent l'influence des facteurs géographiques et environnementaux sur les propriétés de la propolis.

Les tests d'activité antioxydante confirment l'excellente performance des deux échantillons. À la concentration de $50 \mu\text{g/mL}$, la propolis d'Alger atteint 108,63% d'inhibition tandis que celle d'Ouled Hannach se maintient à 97,57%. Ces valeurs, particulièrement la valeur IC_{50} de $20 \mu\text{g/mL}$ pour Alger, classent ces propolis parmi les plus actives documentées dans la littérature scientifique.

Ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses pour des applications ciblées :

- En cosmétologie , en nutraceutique et en recherche pharmaceutique : exploration des mécanismes d'action à l'origine de ces activités

Pour approfondir ces découvertes, des études complémentaires pourraient :

1. Étendre l'analyse à d'autres régions d'Algérie
2. Optimiser les protocoles d'extraction
3. Évaluer la stabilité des composés actifs dans différentes formulations
4. Explorer les synergies entre les différents métabolites secondaires

- En conclusion, cette recherche fournit des données quantitatives solides qui positionnent les propolis algériennes comme des produits naturels d'exception. La variation des propriétés selon l'origine géographique suggère la nécessité d'une approche différenciée pour leur valorisation optimale dans divers domaines d'application.

Références bibliographiques :

Ahangari, Z., Naseri, M., & Vatandoost, F. (2018). Propolis: Chemical Composition and Its Applications in Endodontics. *Iranian endodontic journal*, 13(3), 285–292. <https://doi.org/10.22037/iej.v13i3.20994>

Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M. A., Tahir, M., Ansari, M. J., Ghramh, H. A., Adgaba, N., & Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi journal of biological sciences*, 26(7), 1695–1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>

Annunziata, F., Pinna, C., Dallavalle, S., Tamborini, L., & Pinto, A. (2020). An Overview of Coumarin as a Versatile and Readily Accessible Scaffold with Broad-Ranging Biological Activities. *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4618. <https://doi.org/10.3390/ijms21134618>

Balica, G., Vostinaru, O., Stefanescu, C., Mogosan, C., Iaru, I., Cristina, A., & Pop, C. E. (2021). Potential Role of Propolis in the Prevention and Treatment of Metabolic Diseases. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(5), 883. <https://doi.org/10.3390/plants10050883>

Belfar M L., Lanez T., Rebiai A., Ghiaba Z. (2015): Evaluation of Antioxidant Capacity of Propolis Collected in Various Areas of Algeria Using Electrochemical Techniques, *International Journal of Electrochemical Science* 2015;10.

Belkacem, N.-., Azzi, R.-. and Djaziri, R.-. (2022). Phytochemical Screening, Total Phenolics Contents and in Vitro Antioxidant Activity of *Salvia Officinalis*, *Satureja Calamintha*, *Mentha Pulegium* and *Marrubium Vulgare*. *Phytothérapie*, 20(1-2), 23-28. <https://doi.org/10.3166/phyto-2021-0255>.

BENAISSA, O., (2011). Etudedes métabolismes terpéniqueet flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*. Thèse doctorat.

BENCHABANE Otmanea, HAZZIT Mohameda, BOUSTA Liliana, ABOU Brahimb. (2020). Etude comparée des propriétés anti oxydante et anti microbienne de la propolis de quelques régions d'Algérie. *Algerian Annals of Agronomy – ex. Annales de l'Institut National Agronomique El-Harrach – Vol 32 n° 1 & 2*

Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Bains, G., Cappellucci, G., & Miraldi, E. (2021). Polyphenols: From Theory to Practice. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(11), 2595. <https://doi.org/10.3390/foods10112595>

Blaise, Kouadio & Claude, Kablan & Ahoua, Angora & Constant, Rémi & Konan, Jacques & Raphael, Oussou & Barthélemy, Attioua & Kouamé, Dongui. (2021). Criblage phytochimique, dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, et évaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae) [Phytochemical screening, determination of total polyphenols and flavonoids, and evaluation of the antibacterial activity of leaves of *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae)]. 405-413.

Boisard Séverine. (2014). Caractérisation chimique et valorisation biologique d'extraits de propolis. Sciences pharmaceutiques. Université d'Angers.

Boudjema et al., Journal of Advanced Research in Science and Technology, 2021, 8(1), 1-10.

Cardinault, N., Cayeux, M. O., & Percie du Sert, P. (2012). La propolis : origine, composition et propriétés [Propolis: origin, composition and properties]. *Phytotherapie (Paris, France)*, 10(5), 298–304. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0733-y>

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Elie, Frédéric. (2022). Les phénols et les polyphénols.

El-Sakhawy, M., Salama, A., & Tohamy, H. S. (2023). Applications of propolis-based materials in wound healing. *Archives of dermatological research*, 316(1), 61. <https://doi.org/10.1007/s00403-023-02789-x>

Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P., & Casati, P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*, 3, 222. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00222>

Garg, E., & Zubair, M. (2024). Mass Spectrometer. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Gouegoui Serge Pacome, Bohui & Bohui, Augustin & Adima, Florence & Niamké, Jean & N'guessan, David & Pacôme, Serge & Bohui, Gouegoui & Adima, Augustin & Niamké, Florence & Jean David, N'guessan. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. 46. 50-58.

Guermah, H., Hadjem, S., & Zemihi, H. (2023). Effet de la méthode de récolte sur la production de propolis par l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* en Algérie. *Journal of Apicultural Research*, 62(4), 45–60.

Hameedat, F., Hawamdeh, S., Alnabulsi, S., & Zayed, A. (2022). High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Fluorescence Detection for Quantification of Steroids in Clinical, Pharmaceutical, and Environmental Samples: A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(6), 1807. <https://doi.org/10.3390/molecules27061807>

Hossain, R., Quispe, C., Khan, R. A., Saikat, A. S. M., Ray, P., Ongalbek, D., Yeskaliyeva, B., Jain, D., Smeriglio, A., Trombetta, D., Kiani, R., Kobarfard, F., Mojgani, N., Saffarian, P., Ayatollahi, S. A., Sarkar, C., Islam, M. T., Keriman, D., Uçar, A., Martorell, M., ... Cho, W. C. (2022). Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chinese medicine*, 17(1), 100. <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00651-2>

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Industrial Chemicals. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2000. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 77.) Coumarin. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK390898/>

Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K., & Komaram, R. B. (2019). Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro). *Maedica*, 14(4), 350–356. <https://doi.org/10.26574/maedica.2019.14.4.350>

Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., & Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2013, 964149. <https://doi.org/10.1155/2013/964149>

Leong, Y. S., Ker, P. J., Jamaludin, M. Z., M Nomanbhay, S., Ismail, A., Abdullah, F., Looe, H. M., & Lo, C. K. (2018). UV-Vis Spectroscopy: A New Approach for Assessing the Color Index of Transformer Insulating Oil. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 18(7), 2175. <https://doi.org/10.3390/s18072175>

Liga, S., Paul, C., & Péter, F. (2023). Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(14), 2732. <https://doi.org/10.3390/plants12142732>

MAAMRI Sarah. (2008). 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.

Markley J. L. (2018). View from Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Advances in experimental medicine and biology*, 1105, 19–22. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2200-6_3

Mokari, A., Guo, S., & Bocklitz, T. (2023). Exploring the Steps of Infrared (IR) Spectral Analysis: Pre-Processing, (Classical) Data Modelling, and Deep Learning. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(19), 6886. <https://doi.org/10.3390/molecules28196886>

Mouhoubi-Tafinine Z; Ouchemoukh S; Tamendjari A. (2016): Antioxydant activity of some algerian honey and propolis .*Industrial Crops and Products* ,88,85-90.

Nedji N., Loucif-Ayad W. (2014): Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(6), 433–437.

Pan, P., Svirskis, D., Waterhouse, G. I. N., & Wu, Z. (2023). A simple and reliable isocratic high-performance chromatographic assay for the simultaneous determination of hydrophilic benzophenone-4 and lipophilic octocrylene in

sunscreens. *International journal of cosmetic science*, 45(4), 512–523. <https://doi.org/10.1111/ics.12860>

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>

Pandey, Kanti Bhooshan & Rizvi, Syed Ibrahim. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2. 270-8. 10.4161/oxim.2.5.9498.

Rathod, N. B., Elabed, N., Punia, S., Ozogul, F., Kim, S. K., & Rocha, J. M. (2023). Recent Developments in Polyphenol Applications on Human Health: A Review with Current Knowledge. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(6), 1217. <https://doi.org/10.3390/plants12061217>

Ribera GAYON. *Traité d'oenologie. Sciences et techniques du vin*. Paris: Dunod. 1972.

Ruwizhi, N., & Aderibigbe, B. A. (2020). Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. *International journal of molecular sciences*, 21(16), 5712. <https://doi.org/10.3390/ijms21165712>

Safe, S., Jayaraman, A., Chapkin, R. S., Howard, M., Mohankumar, K., & Shrestha, R. (2021). Flavonoids: structure-function and mechanisms of action and opportunities for drug development. *Toxicological research*, 37(2), 147–162. <https://doi.org/10.1007/s43188-020-00080-z>

Santiago, M., & Strobel, S. (2013). Thin layer chromatography. *Methods in enzymology*, 533, 303–324. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420067-8.00024-6>

Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., López-Jornet, P., Lopez, E. P., Harun, N., Yeskaliyeva, B., Beyatli, A., Sytar, O., Shaheen, S., Sharopov, F., Taheri, Y., Docea, A. O., Calina, D., & Cho, W. C. (2021). Natural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 6492346. <https://doi.org/10.1155/2021/6492346>

Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., & Suleria, H. A. R. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant

activities. *Environmental science and pollution research international*, 29(54), 81112–81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>

Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2015, 206439. <https://doi.org/10.1155/2015/206439>

SIRIVIBULKOVIT, Kitima & NOUANTHAVONG, Souksanh & Sameenoi, Yupaporn. (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences*. 34. 795-800. 10.2116/analsci.18P014.

Soltani E.K., Zerroug M-M. (2018): Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles [ressource textuelle, sauf manuscrits] : cas de la propolis. Thèse de doctorat. Algérie. Université Ferhat Abbas-Setif-1.

Stagos D. (2019). Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.3390/antiox9010019>

Stefanachi, A., Leonetti, F., Pisani, L., Catto, M., & Carotti, A. (2018). Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(2), 250. <https://doi.org/10.3390/molecules23020250>

Šuran, J., Ceganec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Tlak Gajger, I., & Vlainić, J. (2021). Propolis Extract and Its Bioactive Compounds-From Traditional to Modern Extraction Technologies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(10), 2930. <https://doi.org/10.3390/molecules26102930>

Takao, K., Toda, K., Saito, T., & Sugita, Y. (2017). Synthesis of Amide and Ester Derivatives of Cinnamic Acid and Its Analogs: Evaluation of Their Free Radical Scavenging and Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitory Activities. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 65(11), 1020–1027. <https://doi.org/10.1248/cpb.c17-00416>

Vismans, G., van Bentum, S., Spooren, J., Song, Y., Goossens, P., Valls, J., Snoek, B. L., Thiombiano, B., Schilder, M., Dong, L., Bouwmeester, H. J., Pétriacq, P.,

Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M., & Berendsen, R. L. (2022). Coumarin biosynthesis genes are required after foliar pathogen infection for the creation of a microbial soil-borne legacy that primes plants for SA-dependent defenses. *Scientific reports*, 12(1), 22473. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26551-x>

Wagh V. D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences*, 2013, 308249. <https://doi.org/10.1155/2013/308249>

Wang, L., Zhang, L., Liu, R., Xu, Y., Tang, Z., Zhang, C., & Zhang, Z. (2024). Discovery of flavone-derivatives as the new skeleton of transient receptor potential vanilloid 3 channel antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 98, 129577. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2023.129577>

Web1 : <https://img.passeportsante.net/1200x675/2021-05-03/i104332-propolis-ps.jpg>

Web2: <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcSY8YmXdsDqwlelVzGwpXEIW7oczJKhiWx JTA&s>

Web 3: data:image/jpeg;base64,/9j/

Web4: <https://d2u1z1lopyfwlx.cloudfront.net/thumbnails/4c28f929-45cb-56c0-bb98-a3ba066e99aa/ea87596-f96d-554b-b6b6-3f49ba6ea7ca.jpg>

Web5: <https://d2u1z1lopyfwlx.cloudfront.net/thumbnails/a53f4602-dcee-5e49-a895-f0ac33f89f3b/37dfcc0f-6156-535c-836a-d74ec439a7e0.jpg>

Web 6: https://www.mdpi.com/plants/plants-11-03158/article_deploy/html/images/plants-11-03158-g001.png

Woźniak, M., Sip, A., Mrówczyńska, L., Broniarczyk, J., Waśkiewicz, A., & Ratajczak, I. (2022). Biological Activity and Chemical Composition of Propolis from Various Regions of Poland. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(1), 141. <https://doi.org/10.3390/molecules28010141>

Zbadi, R. & Mohti, Hicham & Moussaoui, F.. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Medecine Therapeutique*. 24. 134-141. 10.1684/met.2018.0682.

Zhang, Q., Yang, A., Tan, W., & Yang, W. (2023). Development, Physicochemical Properties, and Antibacterial Activity of Propolis

Microcapsules. *Foods* (Basel, Switzerland), 12(17), 3191.
<https://doi.org/10.3390/foods12173191>

Zullkiflee, N., Taha, H., & Usman, A. (2022). Propolis: Its Role and Efficacy in Human Health and Diseases. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(18), 6120.
<https://doi.org/10.3390/molecules27186120>