

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
المكتبة
رقم الجرد : 2835.....

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière: Sciences Biologiques

Option : Sciences Pharmacologiques

Thème

*Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antalgique
de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel*

Membres de Jury

Présidente: Dr. Hassiba ROUIBAH

Examinatrice: Dr. Hanane BOUTENNOUN

Encadrante: Dr. Nada ZABAIYOU

Présenté par

Manel BOUHANIKA

Wissam FITA

Zohra KAKA

Année Universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :.....

Dédicaces

Avec ma gratitude, je dédie ce travail à :

Mes très chers parents, qui ont consacré leur vie pour bâtir la mienne, qui ont toujours été là pour mes joies ainsi que pour mes peines. C'est avec émotion que je leurs exprime toute mon affection, mon admiration et mon profond respect. J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

*A ma chère **maman Daouia** qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ni sacrifices, ni privations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.*

*A mon cher **papa Seddik** qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

*A mes très chères sœurs **Sabrin, Hayet et Chahra Zad** que j'aime énormément qui m'ont toujours protégée et chouchoutée.*

*A ma belle-sœur : **Meriem.***

*A mes très chers frères : **Haroun, Ali, Radouin et Fateh**, qui m'ont toujours soutenu, encouragé et poussé à donner le meilleur de moi-même.*

*A mon chéri **Hamza** qui était toujours à mes côtés et qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager: Jamais de simples mots ne me permettront de t'exprimer mes remerciements.*

*A mes belles petites : **Sondos, Sirine, Hanine, Rouia et Lodjein.***

*A mes petits garçons : **Souhib, Baraa, Abd ElRahmen, Abd ElBarie, Mouad , Mohamed taki Adin et jaouad.***

*A tous mes amis et collègues **Ahlem, Lamia, Hassiba, karima** et tous les autres que j'ai connu et ceux qui m'ont connus, qu'ils soient proches ou loin d'ici.*

*Et une spéciale dédicace à ma chérie, à ma chère meilleure amie **Lynda** que Allah la garde en bonne santé et lui offre un bonheur éternel.*

*À tous mes collègues d'étude, depuis la période primaire jusqu'à la période universitaire surtout mes trinômes **Wissam et Zohra** en souvenirs de très bons moments passés ensemble. Je suis très heureuse d'avoir partagé cette expérience avec vous.*

*A l'ensemble de la promotion Pharmacologie Expérimentale 2018/2019, en particulier **Aida, Amira, Ilham, Houda, kanza et Sara.***

Manel

Dédicaces

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail :

*A ma mère **Djamila**, pour ton soutien, tes encouragements et ta patience en moi plus que je ne le faisais, pour ta compréhension et tes prières, pour tes efforts et sacrifices afin que je puisse mener à bien mes études.*

*À mon père **Said**, qu'il soit fier et trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*A ma chère sœur **Ibtissem**, que j'ai toujours trouvée à mes côtés.*

*A mon très cher frère **Houssam** qui m'a toujours soutenu, encouragé et poussé à donner le meilleur de moi-même.*

*A mon petit frère **Youcef**.*

*Mes très chers amies (es) **Fatima, Fadila, Salma et Meriem**.*

*A mes amies avec qui j'ai vécu les bons et pires moments de ma vie **Manel et Zohra** et à tous ceux qui ont une place dans mon cœur.*

*Et une spéciale dédicace a mes chéries, mes chères meilleures amies **Sadjia et Faiza** que Allah les garde en bonne santé et leurs offre un bonheur éternel. Je suis très heureuse d'avoir partagé cette expérience avec elles.*

*Ainsi que tous mes oncles et tantes, cousins et cousines et toute la famille **Fita et Kenioua***

A toute la promotion Science Sharmacologiques 2018-2019.

Wissam

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Mes très chers Parents, pour leur sacrifice et leur encouragement

*A ma mère **Zahia** pour son soutien tout au long de mes études .*

*À mon père **Ahcen**, qu'il soit fier et trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*A ma très chère sœur **Lamia** et mes cinq frères que je trouve toujours à mes côtés **Walid, Rabeh, Mohamed, Aissa et Yasser** que j'aime énormément.*

*A mon petit garçon : **Anis***

*A mon chéri **Massoud** qui était toujours à mes côtés et qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager: jamais de simples mots ne me permettront de t'exprimer mes remerciements.*

A toute la famille : oncles et tantes, cousins et cousines et surtout mes très chers grand parents.

*A tous mes amies et collègues **Ibtisem, Yasmine, Chahra, Fouziya**, et tous les autres que j'ai connus et ceux qui m'ont connus, qu'ils soient proches ou loin d'ici.*

*Mes amies avec qui j'ai vécu les bons et pires moments de ma vie **Manel et Wissam** et à tous ceux qui ont une place dans mon cœur.*

A l'ensemble de la promotion Sciences Pharmacologiques 2018-2019 pour les souvenirs et les très bons moments que nous avons passés ensemble.

Zohra

Remerciements

D'abord, nous remercions Allah le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail et qui nous a toujours guidé vers le bon chemin.

*Notre première pensée va tout naturellement à notre encadrante, **Dr. Nada ZABAIYOU** qui nous a fait l'honneur de veiller et diriger ce travail. Nous avons le privilège d'être encadrées et orientées par elle, d'apprécier ses qualités et ses valeurs. Nous avons la remercie pour la confiance qu'elle a placée en nous durant cette période de recherche. Nous lui témoignons notre gratitude pour ses conseils qui nous ont été très utiles et qui nous le seront toujours. Il est, à nos avis, difficile de trouver une aussi bonne directrice de mémoire tant d'un point de vue scientifique que d'un point de vue humain. Son sérieux, sa gentillesse, ses compétences et son savoir nous ont énormément marqués. Ce travail est donc pour nous, l'occasion de lui témoigner, nos profondes gratitude pour ses aides et sa disponibilité. Puisse-t-elle, enfin, trouver à travers ces quelques lignes l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes ses qualités humaines et scientifiques. Merci Notre encadrante.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury **Dr. Hanane BOUTENNOUN** et **Dr. Hassiba ROUIBAH** pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous remercions aussi tous les collègues et l'équipe qui nous a accompagnés dans le laboratoire, en particulier nous tenons à remercier profondément **Mokhtar** et **Wahiba**, ingénieurs du laboratoire de pédagogie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour l'attention qu'ils ont porté à ce travail et leur disponibilité.*

*Un grand merci à tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Jijel surtout **Dr. Tarek KHANOUF**, **Dr. safia HBILA** et **Dr. Asma CHERBAL**.*

Sommaire

Introduction	01
Rappels bibliographiques	
1. La propolis.....	04
1.1. Définition.....	04
1.2. Types et composition de la propolis.....	04
1.3. Propriétés biologiques de la propolis.....	06
1.3.1. Activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire.....	06
1.3.2. Activité antioxydant.....	07
1.3.3. Activité immunmodulatrice.....	07
1.3.4. Activité cardioprotectrice.....	08
1.3.5. Activité antiproliférative.....	08
2. L'inflammation et la douleur.....	09
2.1. L'inflammation.....	09
2.1.1. Définition.....	09
2.1.1.1. L'inflammation aiguë.....	09
2.1.1.2. L'inflammation chronique.....	09
2.1.2. Mécanisme de la réponse inflammatoire.....	10
2.1.3. Les anti-inflammatoires.....	11
2.1.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes.....	11
2.1.3.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	12
2.1.3.3. Les anti-inflammatoires naturels.....	13
2.2. La douleur.....	13
2.2.1. Types de douleur.....	14
2.2.1.1. La douleur nociceptive.....	14

2.2.1.2. La douleur neuropathique.....	14
2.2.1.3. La douleur psychogène.....	14
2.2.3. Mécanisme et chemin de la douleur.....	14
2.2.4. Les antalgiques.....	15
2.2.4.1. Les antalgiques opiacés (morphiniques).....	16
2.2.4.2. Les antalgiques non morphiniques.....	16
2.2.4.3. Les antalgiques naturels.....	17
2.3. La propolis, un anti-inflammatoire et antalgique.....	18
Matériel et méthodes	20
1. Extraction et préparation de la propolis.....	20
2. Animaux et conditions d'élevage.....	20
3. Dosages des polyphénols totaux.....	20
4. Dosage des flavonoïdes.....	21
5. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	21
5.1. Test de dénaturation des protéines (BSA).....	21
5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges.....	22
5.2.1. Préparation de la suspension des globules rouges.....	22
5.2.2. Hémolysé induite par solution hypotonique.....	22
5.3. Pouvoir inhibiteur des protéases.....	23
5.4. Test de l'induction de l'œdème plantaire chez la souris.....	23
6. Etude de l'activité antalgique.....	24
6.1. Writhing test (Induction de la douleur par l'acide acétique).....	24
6.2. Test d'irritation par le formaldéhyde (formole).....	25
7. Etude statistique.....	26
Résultats	28
1. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la propolis.....	28

2. L'extrait éthanolique de la propolis induit l'inhibition de la dénaturation protéique.....	28
3. L'extrait éthanolique de la propolis inhibe l'hémolyse des globules rouges.....	29
4. L'extrait éthanolique de la propolis induit une inhibition de l'activité des protéases.....	30
5. L'extrait éthanolique de propolis inhibe l'œdème induit par la carragénine chez la souris.....	31
6. L'extrait éthanolique de la propolis possède une activité inhibitrice des torsions induites par l'injection d'acide acétique chez la souris.....	34
7. L'extrait éthanolique de la propolis possède un effet antalgique contre l'irritation induite par le formaldéhyde.....	36
Discussion.....	39
Conclusion et perspectives.....	48
Annexes.....	50
Références bibliographiques.....	52

Liste des figures

Fig.1 : Collecte et fabrication de la propolis par les ouvrières butineuses.....	04
Fig.2 : Activation des voies inflammatoires induite par TLR.....	11
Fig.3 : Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	12
Fig.4 : Stimulation des nocicepteurs par les algogènes.....	15
Fig.5 : Pourcentages d'inhibitions de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de propolis et du diclofénac de sodium.....	29
Fig.6 : Inhibition de l'hémolyse des globules rouges traités par l'extrait éthanolique de la propolis et le diclofénac de sodium.....	30
Fig.7 : Inhibition de l'action de la protéase (trypsine) par l'extrait éthanolique de propolis et le diclofénac de sodium.....	31
Fig.8 : Activité anti-inflammatoire de l'EEP exprimée en pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par l'injection de la carragénine.....	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la propolis.....	28
Tableau 2 : Pourcentage d'augmentation de la patte arrière droite des souris après injection de la carragénine.....	32
Tableau 3 : Effet antalgique de l'indométacine et de l'extrait éthanolique de la propolis contre les crampes abdominales et les torsions induites par l'acide acétique chez la souris Wistar.....	35
Tableau 4 : Effets de l'extrait éthanolique de la propolis et de l'indométacine (25 mg/kg) sur la douleur induite par l'injection du formaldéhyde chez les souris Wistar.....	36

Liste des abréviations

AA	: Acide arachidonique
AINS	: Anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS	: Anti-inflammatoire stéroïdien
AlCl₃	: Trichlorure d'aluminium.
ARN	: Acide ribonucléique
BSA	: Albumine de sérum bovin
COX	: Cyclooxygénase
CXCL1 / KC	: Chimiochine dérivée de CXCL1 / kératinocyte
CXCL2 / MIP-2	: Protéine CXCL2 / monocyte-inhibitrice-2
GC	: Glucocorticoïde
IL	: Interleukine
INF-α	: Interférons- α
IP	: Intrapériténiale
JAK-STAT	: And Janus kinase-signal transducer and activator of transcription
LT	: Lymphocyte T
MAPK	: Mitogen-activated protein kinase
Na₂CO₃	: Carbonate de sodium
NF-κB	: Nuclear factor kappa-B
PGE	: Prostaglandine
TLR	: Toll-like receptors
TNF	: Tumor necrosis factor
PBS	: Phosphate buffered saline

Introduction

Introduction

L'inflammation est le moyen physiologique par lequel l'organisme est protégé contre plusieurs agents comme les allergènes, les infections, les produits chimiques et de nombreux autres stimuli. Bien que l'inflammation soit un mécanisme de protection, de nombreux médiateurs et événements inflammatoires peuvent initier, maintenir et aggraver de nombreuses maladies (Patnaik et al., 2011).

L'inflammation est généralement caractérisée par des événements réguliers, tels que la rougeur, le gonflement, la chaleur et la douleur. Le processus d'inflammation implique plusieurs mécanismes et conduit à la libération de médiateurs inflammatoires qui sont des substances chimiques puissantes présentes dans les tissus corporels, telles que les prostaglandines, les leucotriènes, les prostacyclines, les lymphokines, l'histamine et les chimiokines (interféron- α (IFN- α), l'IFN- γ , les interleukine (IL)-1, IL-8, 5-hydroxytryptamine (5-HT) et facteur de nécrose tumorale α (TNF- α)) (Dzoyem et al., 2017).

La douleur est un système d'alerte qui informe le corps de la survenue de lésions tissulaires. Dans la physiopathologie de la douleur, plusieurs actions biologiques sont impliquées, notamment l'activation des récepteurs nociceptifs et l'enzyme cyclooxygénase 2 (COX-2) (Silva et al., 2017).

Dans la plupart des cas, la genèse de la douleur est inflammatoire, quelle que soit son étiologie. Avec l'élucidation du rôle des cytokines inflammatoires, il existe maintenant une compréhension claire des voies par lesquelles de nombreux médicaments anti-inflammatoires peuvent soulager l'inflammation et la douleur (Maroon et al., 2010).

De nos jours, les médicaments anti-inflammatoires synthétiques dominent le marché, mais la toxicité qu'ils entraînent ne peut pas être exclue. De nombreux médicaments (anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et corticostéroïdes) ont été mis au point, mais leurs études de profil d'innocuité ont montré qu'aucun d'entre eux n'était clairement sans danger et ces molécules présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation à long terme (Rahmani et al., 2016).

En raison des effets secondaires importants des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens, il existe un intérêt croissant pour les composés naturels et leurs dérivés qui sont utilisés depuis des siècles pour réduire la douleur et l'inflammation et agissent en inhibant les

voies inflammatoires de la même manière que les anti-inflammatoires synthétiques (Maroon et al., 2010).

La propolis, également appelée colle d'abeille, est une matrice naturelle complexe synthétisée par les abeilles à partir de produits recueillis des bourgeons d'arbres, des sucs, des résines, des mucilages et d'autres sources végétales. Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé la propolis dans différents domaines, principalement la médecine traditionnelle. De nos jours, le développement des recherches sur la propolis est principalement lié au développement de méthodes chimiques et analytiques permettant d'analyser sa composition chimique (Zabaiou et al., 2017).

Au niveau du laboratoire de Toxicologie Moléculaire de l'université de Jijel, la propolis de Jijel a été largement étudiée pour ses effets antioxydants, antibactériens et antiprolifératifs (Benguedouar et al., 2016) mais elle n'a jamais été étudiée pour ses activités anti-inflammatoires et antalgiques.

Le but de ce travail est donc d'étudier l'effet anti-inflammatoire et l'effet antalgique de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel *in vitro* et *in vivo* sur des modèles animaux d'inflammation et de douleur chez les souris Wistar albinos.

Rappels
bibliographiques

1. La propolis

1.1. Définition

La propolis est une substance résineuse fortement adhésive ayant une couleur variant du jaune verdâtre au brun foncé, fabriquée par les abeilles à partir de leurs propres sécrétions et des résines collectées à partir de diverses sources végétales (Figure 1) (Hudnall et Phoenix, 2007; Mok-RyeonAhn et al., 2015 ; Amini-Sarteshnizi et al.,2015).

Le mot propolis vient du grec: «pro» = devant, «polis» = ville. La signification "devant la ville" convient bien au rôle protecteur de la propolis pour la ruche. Un autre nom de la propolis est la colle d'abeille.

La propolis est utilisée par les abeilles pour sceller les trous dans leurs ruches afin d'empêcher l'entrée des courants d'air, de protéger la ruche contre les envahisseurs externes et de momifier les carcasses des prédateurs (Hudnall et Phoenix, 2007 ; Righi et al., 2011).



Fig.1 Collecte et fabrication de la propolis par les ouvrières butineuses (Simone-Finstrom et Spivak, 2010).

1.2. Types et composition de la propolis

Différents types de propolis ont été mis en évidence et ceci en fonction de divers facteurs tels que l'origine géographique, les sources végétales et le moment de la récolte (Machado et al., 2016).

Les types de propolis les plus courants sont la propolis tempérée, la propolis tropicale, la propolis méditerranéenne et la propolis pacifique (Bankova, 2005). La propolis de la zone

tempérée est généralement appelée propolis du peuplier car elle est principalement produite à partir du bourgeon du *Populus* (Popova et al., 2004).

Au Brésil, grand producteur de propolis, la propolis la plus répandue est la propolis verte de *Baccharis dracunculifolia*. Elle est riche en phénylpropanoïdes prénylés, en triterpénoïdes, en acides chlorogénique et en acide benzoïque (Adne A Righi et al., 2011).

La propolis brune est dérivée de l'espèce *Copaifera* et contient principalement des flavonoïdes et des terpènes (Sawaya et al., 2006). En outre, la propolis rouge brésilienne de l'état d'Alagoas (nord-est Brésil) obtenue de *Dalbergia ecastophyllum* est riche en isoflavonoïdes, en benzophénones prénylées et en époxyde de naphtoquinone (Trusheva et al., 2006; Piccinelli et al., 2011).

La propolis rouge mexicaine contient principalement des flavanones, des isoflavanes et des ptérocarpanes (Righi et al., 2011).

Les études menées sur la propolis ont montré que sa composition chimique diffère en fonction du climat, de la diversité végétale de la zone de collecte et des espèces d'abeilles et joue un rôle important sur ses propriétés thérapeutiques (de Mendonça et al., 2015 ; Zabaïou et al., 2017). Hudnall et Phoenix (Hudnall et Phoenix, 2007) ont montré que la propolis est constituée d'environ 11-18 % de résines, 77-87 % de cire, 4-5 % de polyphénols et 0-5 % autres matériaux.

Selon Amini-Sarteshnizi et al. (Amini-Sarteshnizi et al., 2015) et Righi et al. (Righi et al., 2011), la propolis est composée de 50% de baume végétale et de résine, de 30% de cire, de 10% d'huiles essentielles et aromatiques, de 5 % de pollen et de 5 % d'autres substances.

En Europe et dans les zones tempérées (comme l'Algérie), les constituants principaux de la propolis sont les flavonoïdes et les esters de l'acide phénolique (par exemple, l'ester phénéthylique d'acide caféique (CAPE)), obtenus essentiellement des sommets de peupliers (*Populus nigra*) (Zabaïou et al., 2017).

Kasote et al. (Kasote et al., 2014) ont montré que la propolis dérivée du peuplier est riche en flavonoïdes, en acides aromatiques et les analogues d'esters correspondants (Sawaya et al., 2010).

La Propolis obtenue à partir de la région tropicale contient principalement des dérivés prénylés de l'acide *p*-coumarique, des flavonoïdes, des benzophénones, des lignanes et des

terpènes (Popova et al., 2009). Machado et al. (Machado et al., 2015) ont montré qu'il y a différents types de propolis (rouge, verte et brune), recueillis de différentes régions du Brésil.

1.3. Propriétés biologiques de la propolis

La propolis est un produit naturel de la ruche, possédant plusieurs activités pharmacologiques comme l'activité antimicrobienne, antioxydant, anti-inflammatoire, immunomodulatrice et antitumorale (Salim et al., 2015 ; Watanabe et al., 2016 ; Zabaïou et al., 2017).

1.3.1. Activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire

L'activité antimicrobienne de la propolis est la propriété biologique la plus étudiée (Bogdanov, 2016). La plupart des études ont montré que la propolis est active contre la majorité des bactéries gram-positives. Le degré d'activité dépend du type de propolis et donc de sa composition chimique (Bogdanov, 2016).

Comme tous les autres types de la propolis, la propolis Algérienne possède une bonne activité antimicrobienne surtout contre les bactéries gram-positifs et à moindre degré contre les gram-négatif et cette activité est due principalement aux composés terpéniques (Cardinault et al., 2012).

La propolis agit sur les bactéries par différents mécanismes. Elle peut inhiber la croissance bactérienne par blocage de la division cellulaire, désorganisation du cytoplasme, inhibition de la synthèse protéique ou par inhibition du processus d'adhésion (Cardinault et al., 2012). Certaines études ont montré que la propolis, lorsqu'elle est prise en association avec certains antibiotiques, augmente leur efficacité (streptomycine, ampicilline, gentamycine, cloxacilline...) (Cardinault et al., 2012).

La propolis possède également un effet fongicide sur divers champignons comme *Candida famata*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis* et *Pichia ohmeri* (Watanabe et al., 2011).

Falcao et al. (Falcao et al., 2014) ont montré que la propolis du Portugal est active contre les *Trypanosomas brucei*, parasite responsable de la maladie africaine du sommeil.

1.3.2. Activité antioxydant

Les activités antioxydants de la propolis de diverses origines géographiques, à savoir, l'Argentine, l'Australie, le Brésil, la Bulgarie, le Chili, la Chine (Hebei, Hubei et Zhejiang), la Hongrie, la Nouvelle-Zélande, l'Afrique du Sud, la Thaïlande, l'Ukraine, l'Uruguay, les États-Unis et l'Ouzbékistan ont été étudiées (Ahn et al., 2007). Il a été montré que les extraits éthanoliques de la propolis d'Argentine, d'Australie, de la Chine, de la Hongrie et de la Nouvelle-Zélande possèdent des activités antioxydants relativement fortes. Ce pouvoir antioxydant est directement corrélé aux polyphénols totaux et surtout aux flavonoïdes (Ahn et al., 2007).

Une études comparative entre des échantillons de propolis italienne et russe a montré une composition polyphénolique proche et par conséquent, une activité antioxydant presque similaire (Fabris et al., 2013).

La propolis portugaise est une source importante de polyphénols présentant des propriétés antioxydants très puissantes (Leandro Moreira et al., 2008). Les extraits de propolis provenant des régions de Bornes (nord-est) et de Fundão (centre) au Portugal ont été évalués pour leur capacité à inhiber l'oxydation induite par le dichlorhydrate de 2,20-azobis (2-amidinopropane) (AAPH). Les résultats indiquaient que la propolis portugaise constitue une excellente source d'antioxydants naturels efficaces et d'agents chimio-préventifs (Valente et al., 2011).

Salim et *al.* (Salim et al., 2015) ont montré que l'extrait éthanolique de la propolis administré seul ou associé à la doxorubicine présente des effets antioxydants, antiprolifératifs et apoptotiques plus importants sur les cellules PC3 du cancer de la prostate par rapport au traitement avec doxorubicine seule.

1.3.3. Activité immunomodulatrice

Les antioxydants présents dans la propolis jouent aussi un rôle important dans ses activités immunomodulatrices (Sayed et al., 2009). Une revue générale de Sforcin (Sforcin, 2007), a démontré que tous les types de propolis auraient une activité immunomodulatrice.

La propolis possède une action immunomodulatrice *in vitro* et *in vivo* sur l'ensemble des cellules immunitaires impliquées dans la réponse innée ou acquise. Elle stimule l'action des

macrophages et des cellules NK (*natural killer*) contre les cellules tumorales. Elle augmente la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-8), renforce la coopération entre les lymphocytes CD4 et CD8 et stimule la production d'anticorps par les plasmocytes (Sforzin, 2007; Cardinault et al., 2012).

Fischer et al. (Fischer et al., 2007) ont montré que la propolis augmente la réponse immunitaire cellulaire par l'augmentation de l'expression de l'interféron- γ et l'activation de la production de cytokines.

1.3.4. Activité cardioprotectrice

Plusieurs auteurs ont postulé que les polyphénols de la propolis réduisent le risque des troubles cardiovasculaires et préviennent le développement de plaques d'athérome (Norata et al., 2007; Gorinstein et al., 2011). Ainsi, en tant qu'une source de polyphénols, la propolis représente une stratégie alternative potentielle pour la prévention des maladies cardiovasculaires.

1.3.5. Activité antiproliférative

De nombreuses études *in vitro* ont montré l'effet antiprolifératif de la propolis vis-à-vis d'un très grand nombre de lignées cellulaires tumorales. Dans la grande majorité des cas cet effet résulte d'une induction de l'apoptose. Les différentes molécules de la propolis agissent en induisant l'apoptose soit par la voie intrinsèque ou extrinsèque. L'effet antiprolifératif peut également résulter d'un arrêt du cycle cellulaire par inhibition des cyclines ou par blocage des récepteurs hormonaux (Cardinault et al., 2012 ; Zabaïou et al., 2017).

Plusieurs études *in vitro* ont démontré une action cytotoxique de la propolis sur diverses cellules tumorales. Ce produit naturel peut bloquer différentes voies de signalisation et par conséquent, l'oncogénèse, ce qui entraîne une diminution de la prolifération et de la croissance cellulaire. Elle exerce également un effet contre l'angiogénèse en modulant le microenvironnement tumoral (Araújo et al., 2011; Sawicka et al., 2012; Chan et al., 2013).

Le traitement des lignées cellulaires cancéreuses A549 et HeLa a montré que la propolis présente un effet antiprolifératif d'une manière dose dépendante et ceci après 24h, 48h et 72h de traitement (Kumazawa et al., 2004).

2. L'inflammation et la douleur

2.1. L'inflammation

2.1.1. Définition

L'inflammation se produit généralement lorsque des micro-organismes infectieux tels que les bactéries, les virus ou les champignons envahissent le corps, résident dans les tissus cibles et/ou circulent dans le sang. Une inflammation peut également se produire en réponse à d'autres facteurs tels que les lésions tissulaires, la mort cellulaire, le cancer, l'ischémie et la dégénérescence. La réponse immunitaire innée ainsi que la réponse immunitaire adaptative sont impliquées dans le processus inflammatoire (Azab et al., 2016). De nombreux médiateurs inflammatoires sont synthétisés et sécrétés lors des réponses inflammatoires. Ces médiateurs sont généralement divisés en deux catégories principales: les médiateurs pro et anti-inflammatoires (Libby et al., 2007). L'inflammation se manifeste par quatre signes principaux:

- Rougeur : due à la vasodilatation et l'hyperémie.
- Gonflement : occasionné par l'exsudation de liquide et de protéines plasmatiques dans les tissus, qui est due à une augmentation de la perméabilité membranaire.
- Chaleur : associée à une augmentation du débit sanguin et à une activité cellulaire accrue.
- Douleur : associée à la stimulation de neurones nocicepteurs par des médiateurs chimiques spécifiques (Azab et al., 2016). Elle peut être aiguë ou chronique.

2.1.1.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. La guérison peut être spontanée ou après un traitement et peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (Charles et al., 2010).

2.1.1.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qu'évolue pendant plusieurs mois ou années.

On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques : les inflammations aiguës évoluant en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus, ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même tissu (Nourshargh et al., 2006 ; Charles et al., 2010).

2.1.2. Mécanisme de la réponse inflammatoire

La réponse inflammatoire est une activation coordonnée des voies de signalisation qui régulent les niveaux tissulaires des médiateurs inflammatoires et des cellules inflammatoires présentes dans le sang. C'est la pathogenèse commune dans plusieurs maladies chroniques, comme les maladies cardiovasculaires et intestinales, le diabète, l'arthrose et le cancer (Chen et al., 2018).

Bien que les processus de la réponse inflammatoire dépendent de la nature du stimulus et de sa localisation dans le corps, ils partagent tous un mécanisme commun caractérisé par les étapes suivantes : 1) reconnaissance du stimulus par les récepteurs de surface membranaire, 2) activation des voies de signalisation inflammatoire, 3) Libération des marqueurs de l'inflammation et 4) recrutement des cellules inflammatoires (Chen et al., 2018).

Les stimuli inflammatoires comme les produits microbiens, les cytokines comme l'interleukine-1 β (IL-1 β), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) médient l'inflammation à travers l'interaction avec leur récepteurs spécifiques ; TLRs, le récepteur de IL-1 (IL-1R), le récepteur de IL-6 (IL-6R) et le récepteur de TNF (TNFR) respectivement (Ashley et al., 2012).

L'activation de ces récepteurs déclenche des voies de signalisation importantes comme la voie des MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), la voie NF- κ B (*nuclear factor kappa-B*) et la voie JAK-STAT (*Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*) (Figure 2) qui conduisent *in fine* à la production de médiateurs inflammatoires, et par conséquent un recrutement massif des cellules inflammatoires (Ashley et al., 2012). Ces dernières participent à la réaction inflammatoire par la libération de différents médiateurs et d'enzymes lysosomales surtout dans le cas d'infection bactérienne.

Un autre composant majeur de la réponse inflammatoire est l'acide arachidonique, qui est immédiatement libéré par les membranes cellulaires traumatisées sous l'action de la phospholipase A2. L'acide arachidonique est transformé en prostaglandines et thromboxanes en partie par l'action enzymatique de la cyclooxygénase (COX) de types 1 et 2 (Fitzgerald, 2004). Les prostaglandines agissent comme des hormones localisées de courte durée qui peuvent être libérées par n'importe quelle cellule du corps au cours d'une lésion tissulaire, chimique ou traumatique, et peuvent induire de la fièvre, une inflammation et une douleur, une fois présentes dans l'espace intercellulaire. Les thromboxanes, qui sont également des activateurs hormonaux, peuvent réguler le tonus des vaisseaux sanguins, l'agrégation

plaquettaire et la formation de caillots pour augmenter la réponse inflammatoire (Marron et al., 2010).

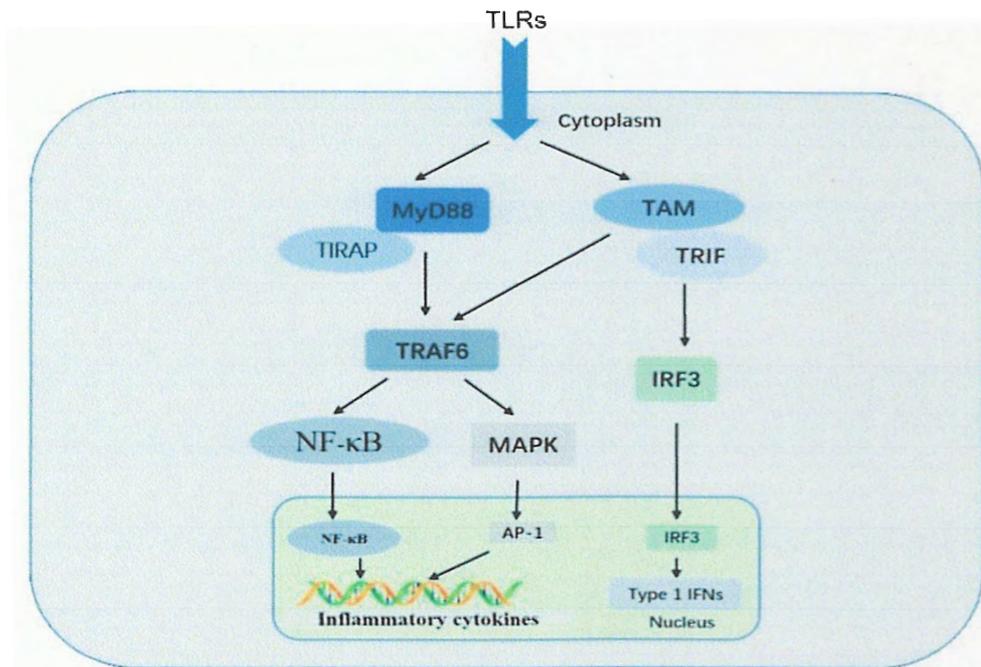


Fig.2 Activation des voies inflammatoires induite par TLR. La signalisation via les TLRs (*Toll-like receptors*) active les cascades de signalisation intracellulaire qui conduisent à la translocation nucléaire de l'AP-1 et du NF-κB ou de l'IRF3, qui régule la réponse inflammatoire (Chen et al., 2018).

2.1.3. Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui peuvent réduire la douleur, l'inflammation et dans certains cas la fièvre, couramment utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires aiguës (Chebira, 2014 ; Franchin et al., 2017).

Les anti-inflammatoires se répartissent en deux classes : les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

2.1.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes

Constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Parmi les anti-inflammatoires stéroïdiens les plus puissants, les glucocorticoïdes, les corticoïdes naturels (cortisol) et les corticoïdes de synthèse (prednisone, prednisolone, la dexaméthasone ou le triamcilone (Kindt et al., 2008). Les glucocorticoïdes (GC) sont des substances dérivées du cholestérol (Chebira, 2014), et sont synthétisées par les glandes surrénales (Maksimovic et al., 2007). Les GC agissent essentiellement sur le métabolisme glucidique et protéique chez

l'individu sain et exercent une puissante activité anti-inflammatoire dans les conditions pathologiques.

Les glucocorticoïdes (GC) sont des hormones lipophiles qui agissent essentiellement au niveau transcriptionnel. Ils induisent une augmentation de la transcription de l'inhibiteur du NF- κ B (IKB). La liaison de cet inhibiteur au NF- κ B induit sa séquestration dans le cytosol et empêche la translocation du NF- κ B vers le noyau et par conséquent, prévient l'activation de nombreux gènes par NF- κ B (Ferradji, 2010).

2.1.3.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont la classe thérapeutique la plus utilisée dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques (Ferradji, 2011). Toutes les molécules de cette classe ont le même mode d'action. Ce sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX) (Webber, 2012 ; Elhenawyet al., 2019). Les Cyclooxygénases (COX) sont présents sous deux formes: COX-1 "constitutive" et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus et COX-2 "inductible" dont la synthèse est stimulée par le TNF α et l'interleukine-1 (Ouédraogo et al., 2012). Les inhibiteurs de la COX2 (COX-2I) empêchent surtout la production de prostaglandine E2 (PGE2) (Figure 3).

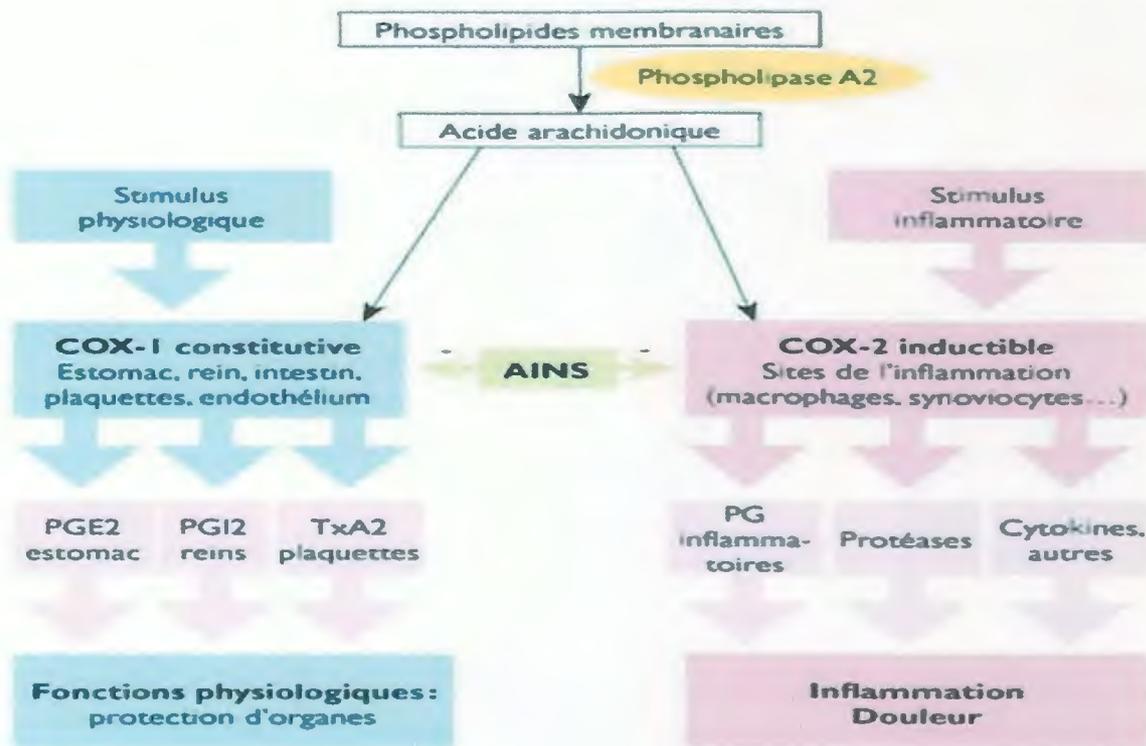


Fig.3 Mécanisme d'action et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens (Mansour, S. 2015).

2.1.3.3. Les anti-inflammatoires naturels

En raison des effets secondaires importants des médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens, les composés naturels tels que les compléments alimentaires et les plantes médicinales, suscitent un intérêt accru et sont utilisés depuis des siècles pour réduire la douleur et l'inflammation. Beaucoup de ces composés naturels agissent en inhibant les voies inflammatoires de la même manière que les AINS. Outre la voie de la COX, de nombreux composés naturels inhibent les voies inflammatoires du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) (Maroon et al., 2010).

Plusieurs articles originaux et revues de synthèse ont rapporté l'effet inhibiteur des produits naturels sur les processus inflammatoires, du moins dans les cas d'inflammation de bas grade. Ces composés comprennent les plantes comestibles (cactus, tomate), les herbes tels que *Potentilla erecta*, les polyphénols végétaux (resvératrol, quercétine), les dérivés de la coumarine, un dérivé d'*Euphorbia* (jolkinolide B), la koumine (alcaloïde de *Gelsemium elegans*) et différents autres plantes et composés intéressants (Latruffe, 2017).

Les mécanismes d'action des molécules naturelles sont différents. Elles peuvent agir à différents niveaux comme la régulation des miARN non codants (Losson et al., 2016), la modulation des histones déacetylases (Fang et al., 2016) et l'inhibition de la COX-2 (Dutartre, 2016).

2.2. La douleur

La douleur est définie comme une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle. La transmission douloureuse est un phénomène complexe, impliquant des mécanismes électrophysiologiques et neurochimiques (den Hoogen et al., 2019). Il existe deux types de douleur ; la douleur aiguë et la douleur chronique. La durée d'évolution est l'élément prépondérant qui permet de distinguer entre les deux (Radat, 2014).

La douleur aiguë décroît généralement lorsqu'un traitement de sa cause est institué. Une douleur chronique est une douleur qui a une durée d'évolution de plus de 3 mois. Elle persiste et devient résistante aux antalgiques usuels; elle représente pour le patient l'essentiel de sa maladie avec un fort retentissement psychologique et social (Laroche, 2014).

2.2.1. Types de douleur

2.2.1.1. La douleur nociceptive

La douleur nociceptive est causée par une activation des neurones primaires afférents appelés nocicepteurs et par un état d'inflammation en réponse à une lésion ou blessure. La douleur postopératoire est un exemple de douleur nociceptive. Elle est limitée dans le temps, souvent aiguë, remplit une fonction biologique, protège, prévient et rarement accompagnée de signes psychologiques (Nehmé, 2006).

2.2.1.2. La douleur neuropathique

Ce sont des douleurs qui peuvent survenir lorsque le système nerveux est lésé dans la partie qui transmet les sensations. Lorsque les fibres nerveuses sensibles sont abîmées, elles sont susceptibles de transmettre des informations erronées et le malade se voit désinformé, il ressent alors des brûlures, des décharges électriques, des démangeaisons, des picotements, des sensations de froid douloureuses et des fourmillements dans des régions du corps qui sont d'apparence normale, pourtant la douleur est bien réelle (Laroche et al., 2008 ; Aarskorg, 2011).

2.2.1.3. La douleur psychogène

Les douleurs psychogènes regroupent toutes les douleurs que l'on ne sait pas classer dans les deux catégories précédentes. Ce sont des douleurs sans lésions apparentes. Leur dimension essentielle semble résider dans le psychisme, avec l'intervention de phénomènes psychologiques amplifiant la sensation douloureuse (Wrobel, 2003).

2.2.3. Mécanisme et chemin de la douleur

Les stimulations thermiques et mécaniques activent directement les nocicepteurs. Les lésions traumatiques, inflammatoires ou ischémiques vont provoquer la libération par les tissus lésés de substances chimiques (Figure 4).

Ces substances pourront, soit activer directement les nocicepteurs et sont dites algogènes (bradykinines, ions potassium, hydrogène, oxyde nitrique, histamine et sérotonine) soit sensibiliser les nocicepteurs à d'autres stimuli (Rabaud et al., 2013). Les prostaglandines et les leucotriènes, jouent un rôle de sensibilisateurs des nocicepteurs agissant sur d'autres substances tel que les peptides impliqués dans la transmission du message douloureux. La

substance P est la plus connue comme neuropeptide (neurotransmetteur) et qui joue un rôle primordial dans la nociception et a une action vasodilatatrice.

Il existe d'autres neuropeptides tel que le peptide associé au gène de la calcitonine (CGRP) et la neurokine (Rabaud et al., 2013).

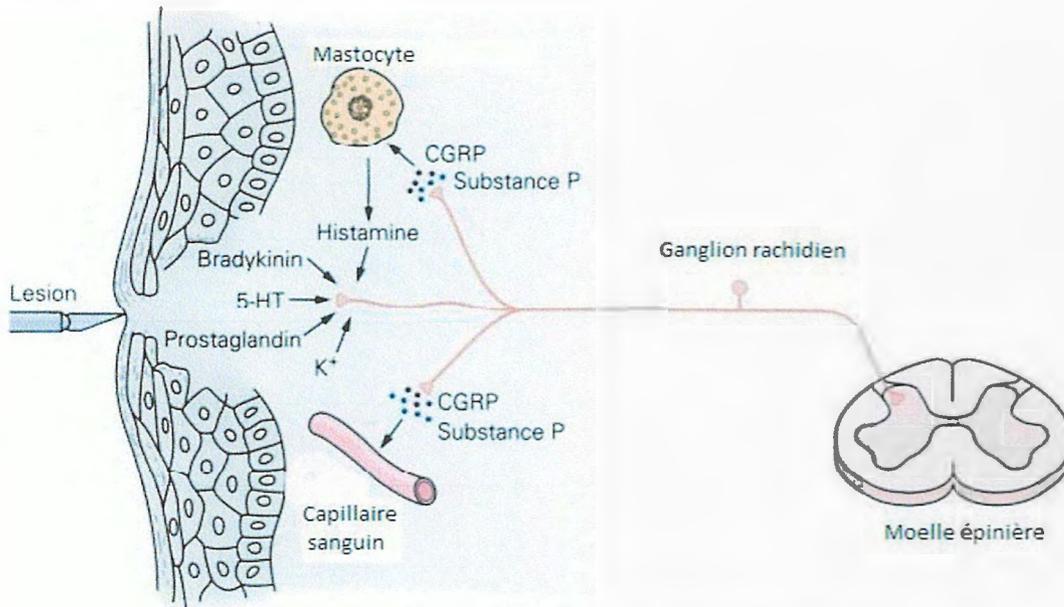


Fig.4 Stimulation des nocicepteurs par les algogènes (Rabaud et al., 2013).

Le chemin de la douleur emprunte celui du réseau neuronal nociceptif, au travers de la moelle épinière et vers le cerveau. La douleur est détectée par des récepteurs de la nociception qui transforment le stimulus en influx nerveux douloureux (Ledhé et al., 2009). L'information détectée par les nocicepteurs est ensuite relayée par des fibres nerveuses qui arrivent au niveau de la moelle épinière par les racines dorsales puis à partir de la substance grise, le message électrique est transmis par les synapses, à un deuxième neurone qui est le neurone spinothalamique. Ce neurone chemine dans la substance blanche de la moelle épinière jusqu'au thalamus.

L'influx nerveux parvient au cerveau par le thalamus et le cortex cérébral, où l'information est intégrée, ce qui engendre la localisation de la douleur (Gaillard, 2014).

2.2.4. Les antalgiques

Un antalgique ou analgésique est un médicament utilisé dans la lutte contre la douleur. Il existe plusieurs sortes d'antalgiques qui sont dispensés en fonction du type de douleurs

rencontrées. Ces derniers sont répartis en 2 classes: les antalgiques opiacés et les antalgiques non opiacés (Monassier 2005).

2.2.4.1. Les antalgiques opiacés (morphiniques)

Les opiacés sont des substances naturelles ou synthétiques dérivées de l'opium. Ce sont des médicaments qui se lient aux récepteurs opioïdes du système nerveux central. Ils sont utilisés en médecine comme antalgiques puissants pour soulager les douleurs sévères ou chroniques (Roulet et al., 2007). Ils sont classés en :

- 1) Peptides opioïdes endogènes produits dans le corps: endorphines, dynorphines et enképhalines.
- 2) Alcaloïdes de l'opium: morphine, codéine et thébaïne.
- 3) Opioïdes semi-synthétiques: héroïne, oxycodone, hydrocodone, dihydrocodéine, hydromorphone, oxymorphone et nicomorphine.
- 4) Opioïdes totalement synthétiques : péthidine ou démérol, méthadone, fentanyl, propoxyphène, pentazocine, buprénorphine, butorphanol, tramadol, etc (Kumar et al., 2010).

2.2.4.2. Les antalgiques non morphiniques

Ce sont les traitements antalgiques simples souvent couplés à une action antipyrétique. Les antalgiques non morphiniques regroupent l'ensemble des médicaments symptomatiques des douleurs dont le mécanisme d'action est indépendant des récepteurs opioïdes (Perrot et al., 2013).

Le paracétamol (acétaminophène) est un analgésique couramment utilisé, associé aux AINS, partageant des propriétés antipyrétiques et analgésiques, et utile pour soulager la douleur légère à modérée. Malgré son utilisation courante, le mécanisme d'action du paracétamol est mal compris. Le paracétamol partage des propriétés avec les AINS d'inhibition de la cyclooxygénase (COX). L'inhibition de l'isoforme centrale COX-3 pourrait être responsable des effets du paracétamol (Smith, 2009 ; Oscier et Milner, 2009).

Les AINS constituent un groupe de composés qui partagent des propriétés anti-inflammatoires, antalgiques, anti-pyrétiques, anti-uricémiques et anti-plaquettaires. Ils

agissent par inhibition du système enzymatique COX, ce qui entraîne une réduction de la douleur inflammatoire, mais également des effets délétères par manque de thromboxane, de prostaglandines et de prostacyclines (Ky et al., 2018).

La découverte d'un nouveau récepteur cible des cannabinoïdes a suscité l'utilisation de nouvelles molécules. Le cannabis est une substance naturelle utilisée sélectivement comme composant actif, le tétrahydrocannabinol (THC). Les cannabinoïdes à usage médicamenteux ont acquis une grande popularité dans la prise en charge de maladies douloureuses chroniques telles que la sclérose en plaques. En dépit des propriétés bénéfiques des cannabinoïdes, il existe un risque connu de dommages psychologiques de 1%, de sorte que l'utilisation médicale de ces médicaments est actuellement limitée (Hebbes et al., 2016).

2.2.4.3. Les antalgiques naturels

Hormis les antalgiques morphiniques, plusieurs plantes médicinales ou dérivés possèdent des effets antalgiques comme l'*Aloevera barbedensis*, utilisée comme gel antalgique pour calmer la douleur dentaire (Amrit et Samir, 2008). Chez le rat Wistar albinos, l'administration par voie orale de *Cissus quadrangularis* a montré un fort effet antalgique, anti-inflammatoire et antipyrétique (Priyanka et Rekha, 2010).

La partie aérienne de *Bunsts longifolia* possède également un effet antalgique ; son extrait méthanolique administré à trois doses différentes aux souris a montré la présence d'un effet hautement significatif par rapport à l'acide salicylique (Ahmad, 1993). L'extrait éthanolique des racines de *Buxus sempervirens* présente un effet antalgique puissant chez les souris comparativement au médicament de référence (Kumar et Akbar, 2010).

L'effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Curcuma alismatifolia* a été également étudié. Son activité analgésique a été évaluée pour ses actions pharmacologiques contre la douleur centrale et périphérique induite par la méthode d'immersion de la queue et le test d'induction de la douleur par l'acide acétique chez les souris. A la dose de 250 et 500 mg/kg, l'extrait entraîne une augmentation significative ($p < 0,05$) du seuil de la douleur étudiée par la méthode d'immersion de la queue et ce, d'une manière dose dépendante. Dans le deuxième test, l'extrait à la dose de 500 mg/kg, a montré une inhibition maximale de 60,5 % ($p < 0,001$) de la douleur par rapport au médicament de référence diclofénac de sodium (75,0 %) (Akter et al., 2008).

2.3. La propolis, un anti-inflammatoire et antalgique

La propolis a été utilisée en médecine traditionnelle pour améliorer la santé et prévenir les maladies inflammatoires (Funakoshi-Tago et al., 2015).

Plusieurs études ont associé différents types de propolis et ses divers constituants avec une activité anti inflammatoire remarquable (Naito et al., 2007). Selon Silva-Carvalho et al. (Silva-Carvalho et al., 2015), l'effet anti-inflammatoire de la propolis est dose-dépendant. Son mécanisme est sensiblement proche de celui de l'aspirine. Cet effet est dû à son action inhibitrice (principalement celle des flavonoïdes qu'elle contient) sur la prostaglandine synthétase, empêchant ainsi la synthèse des prostaglandines, composants responsables de la réaction inflammatoire.

La propolis brésilienne a longtemps été considérée comme une source riche en molécules anti-inflammatoires en raison de sa diversité phytochimique très complexe. Tiveron et al. (Tiveron et al., 2016) ont montré que la propolis du Brésil du Sud, a une activité anti-inflammatoire en diminuant l'activation de NF- κ B et la libération du TNF- α dans les macrophages.

La propolis rouge brésilienne possède également une activité anti-inflammatoire prometteuse dont le mécanisme est la diminution des mécanismes de l'adhérence des leucocytes, de la libération de TNF- α , IL-1 β , CXCL1 / KC et CXCL2 / MIP-2, du Chimiotactisme induit par CXCL2 / MIP-2 et de l'afflux du calcium (Bruno Bueno-Silva et al., 2015).

Les extraits de la propolis verte brésilienne présentent également un important effet anti-inflammatoire mais le mécanisme moléculaire n'a pas été étudié (Kai Wang et al., 2014).

Il a été démontré que la propolis de *Baccharis* supprime les réponses neuro-inflammatoires induites par l'hypoxie par inhibition de l'activation de NF- κ B dans la microglie. L'activation de ces dernières dans les mitochondries est responsable d'une génération accrue de ROS (Wu et al., 2013).

Matériel

&

Méthodes

Matériels et méthodes

Ce travail consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire et antalgique de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel. La partie *in vivo* a été réalisée au niveau de l'animalerie tandis que la partie *in vitro* a été réalisée au niveau du laboratoire de Pharmacologie du Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire à l'université de Jijel.

1. Extraction et préparation de la propolis

La propolis a été collectée de chez des apiculteurs à partir des ruches situées dans la région de Chadia (Kaous) (Latitude N 36.755506, Longitude E 5.807074) à 10 km au Nord Est de la wilaya de Jijel (Algérie) en mois de septembre. Cette propolis est présente sous forme de poudre jaune aromatique qui nous avons dissout dans l'éthanol et nous avons diluée dans l'eau distillée. L'extrait éthanolique de la propolis de Jijel a été préparé au niveau du Laboratoire de Toxicologie Moléculaire de l'université de Jijel par macération dans l'éthanol 95 % avec agitation pendant 15 jours suivie d'une filtration puis évaporation au rotavap (Buchi R300) à 60 °C (Lahouel et al., 2011). L'extrait éthanolique de propolis a été conservé à 4 °C à l'abri de la lumière et de l'humidité. Avant chaque utilisation une solution mère est préparée dans de l'éthanol 1/1000^{ème}.

2. Animaux et conditions d'élevage

Les expérimentations animales ont été réalisées sur des souris femelles Wistar albinos (Institut Pasteur d'Alger) âgés de 45 jours et ayant un poids moyen de 25 g. Les animaux ont été maintenus dans des cages en plastique à une température située entre 20 et 25°C, avec accès libre à l'eau et à la nourriture.

3. Dosages des phénols totaux

La teneur en phénols totaux de l'EEP (extrait éthanolique de la propolis) a été déterminée suivant le protocole décrit par Chan et al. (Chan et al., 2005), en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu, ce dernier est un acide de couleur jaune qui réagit avec les résidus phénoliques afin de former un complexe coloré en bleu.

Un volume de 100 µl de l'extrait éthanolique de propolis a été mélangé avec 500 µl de la solution de Folin-Ciocalteu dilué à 10 %. Après 5 min d'incubation, 400 µl de carbonate de sodium (75 g/l) ont été ajoutés.

L'absorbance a été lue à 735 nm au spectrophotomètre (Specord 50 plus), après incubation pendant 5 min au bain marie à 40 °C. La courbe d'étalonnage a été effectuée avec l'acide

gallique à différentes concentrations (7.812 µg/ml - 250 µg/ml). Les résultats obtenus sont exprimés en (mg) équivalents d'acide gallique par (g) d'EEP.

4. Dosage des flavonoïdes

Le dosage de la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) a été effectué selon la méthode décrite par Djeridane et al. (Djeridane et al., 2006). Elle consiste à mélanger 1 ml d'extrait éthanolique de la propolis avec 1 ml d'AlCl₃ (2 %) puis lire l'absorbance à 430 nm. La teneur en flavonoïdes a été estimée en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec la quercétine à différentes concentrations (0.039 µg/ml - 125 µg/ml).

Les résultats ont été exprimés en (mg) de quercétine équivalents par (g) de l'extrait.

5. Etude de l'activité anti-inflammatoire

5.1. Test de dénaturation des protéines (BSA)

Le pouvoir d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'extrait éthanolique de propolis a été mesuré par la méthode décrite par Gunathilake et al. (Gunathilake et al., 2018) avec quelques modifications (Température 70°C à la place de 58°C).

Le mélange réactionnel contient 2,5 ml du PBS (pH 6.4), 450 µl de solution de BSA 1% et 50 µl de l'extrait éthanolique de propolis à différentes concentrations (100 µg/ml, 250 µg/ml et 500 µg/ml).

Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 15 min puis réincubé à 70 °C pendant 5 min. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance a été lue à 600 nm. Un contrôle a été préparé dans les mêmes conditions. Le diclofénac de sodium a été utilisé comme contrôle positif (médicament de référence) préparé dans les mêmes conditions.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance de l'échantillon (test).

5.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges

5.2.1. Préparation de la suspension des globules rouges

Le test de l'étude de la stabilisation de la membrane des globules rouges a été réalisé selon la méthode de Sharma et al. (Sharma et al., 2018).

Le sang a été prélevé à partir d'un lapin. Le sang recueilli a été mélangé à un volume égal de solution d'Alsever stérilisée (2 % de glucose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5 % d'acide citrique et 0,42 % de chlorure de sodium dans de l'eau distillée). Le sang a été centrifugé à 3000 rpm / 10 min et les cellules récupérées ont été lavées trois fois avec une solution iso-saline (NaCl 0,9 %, pH 7,2). Le volume du sang récupéré a été ensuite reconstitué sous forme de suspension à 10 % (v/v) avec de la solution iso-saline.

5.2.2. Hémolysé induite par solution hypotonique

Le mélange réactionnel contient 0.5 ml d'extrait éthanolique de propolis (100, 250 et 500 µg/ml), 1 ml du tampon phosphate (0,15 M ; pH 7,4) et 2 ml d'une solution hyposaline (NaCl 0,42 %). 0.5 ml de la suspension des globules rouges (10 %) a été rajouté à chaque tube, suivi d'une incubation à 56 °C pendant 30 min. Par la suite, les tubes sont centrifugés à 2500 rpm /10 min. Le surnageant a été récupéré et l'absorbance lue à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle a été préparé dans les mêmes conditions avec une solution isosaline.

Le diclofénac de sodium est utilisé comme molécule de référence, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : absorbance de l'échantillon (test).

5.3. Pouvoir inhibiteur des protéases

L'activité inhibitrice des protéases de l'extrait éthanolique de la propolis a été réalisée selon la méthode décrite par Gunathilake (Gunathilake et al., 2018).

Le mélange réactionnel contient 1 ml de Tris-Hcl (20 mM; pH 7,4), 0,06 mg de trypsine et 1 ml de l'échantillon à différentes concentrations (31.25 ; 62.5 ; 125 ; 250 ; 500 µg/ml). Après 5 min d'incubation à 37 °C, 1ml de caséine (0.8 %) a été ajouté.

Le mélange a été incubé de nouveau pendant 20 min à 37 °C. À la fin de l'incubation, 2 ml de l'acide perchlorique (70 %) ont été ajoutés pour terminer la réaction. Les tubes ont été centrifugés 3000 rpm / 15 min et l'absorbance du surnageant a été lue à 210 nm. Un contrôle a été préparé dans les mêmes conditions. Le diclofénac de sodium a été préparé dans les mêmes conditions et utilisé comme molécule de référence (contrôle positif).

Le pourcentage d'inhibition de l'activité des protéases a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{Ac} - \text{At} / \text{Ac}) \times 100$$

Ac : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance de l'échantillon (test).

5.4. Test de l'induction de l'œdème plantaire chez la souris

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de la propolis, un modèle d'inflammation aiguë a été utilisé (Winter et al., 1962), basé sur l'injection sous cutanée dans la patte arrière droite de la souris, d'une solution de carragénine préparée dans une solution de NaCl (0.9 %). Les souris doivent être privées d'aliment 12h avant le test et de l'eau durant toute la durée du test.

Un effectif de 24 souris a été réparti en 04 lots de 06 souris chacun. 45 min avant l'injection de la solution de carragénine 1 % (100 µl), toutes les souris ont été traitées par gavage (250 µl) selon ce qui suit :

- **Le lot 1 témoin (contrôle négatif)** : Les souris de ce lot reçoivent de l'eau physiologique (NaCl à 0,9 %).

- **Le lot 2 standard (contrôle positif):** Les souris de ce lot reçoivent un anti-inflammatoires de référence qui est diclofénac de sodium à une dose de 50 mg/Kg préparé dans le NaCl à 0,9 %.
- **Le lot 3 test (Extrait) :** Les souris reçoivent l'extrait éthanolique de la propolis à une dose de 12,5 mg/Kg préparé dans le NaCl à 0,9 %.
- **Le lot 4 test (Extrait) :** Les souris reçoivent l'extrait éthanolique de la propolis à une dose de 25 mg/Kg préparé dans le NaCl à 0,9 %.

A l'aide d'un pied à coulisse, le volume de la patte arrière droite de la souris a été mesuré avant l'induction de l'œdème puis après l'injection de la carragénine chaque 1h durant 4 h. Le pourcentage d'augmentation de la taille de la patte a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'augmentation de volume de la patte} = [(T_{t1} - T_{t0}) / T_{t0}] \times 100$$

T_{t0} : Taille initiale de la patte (Avant traitement).

T_{t1} : Taille de la patte après traitement.

L'activité anti-inflammatoire a été estimée par la détermination des pourcentages d'inhibition de l'œdème, calculés suivant la formule (Akhtar et al., 2016) :

$$\% \text{ d'inhibition de l'œdème} = [(T_c - T_t) / T_c] \times 100$$

T_c : Taille de la patte des souris contrôles.

T_t : Taille de la patte des souris traitées (extraits éthanoliques de propolis ou diclofénac de sodium).

6. Etude de l'activité antalgique

Au cours de ce travail, deux méthodes différentes d'induction de la douleur ont été utilisées. Il s'agit d'induire la douleur chez la souris par injection d'une substance irritante: l'acide acétique ou le formaldéhyde.

6.1. Writhing test (Induction de la douleur par l'acide acétique)

Cette méthode a été utilisée pour induire la douleur par l'injection de l'acide acétique chez les souris (Gupta et al., 2015).

L'effet analgésique des extraits éthanolique de la propolis a été évalué en suivant le nombre de contorsions abdominales induites par l'injection intra-péritonéale de l'acide acétique.

L'injection intra-péritonéale de l'acide acétique chez la souris provoque un syndrome douloureux qui se traduit par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale (spasmes), qui peuvent être réduites par un produit antispasmodique.

Des lots de 06 souris ont été constitués. Le lot témoin a reçu de l'eau distillée, par contre les autres lots ont reçu l'extrait éthanolique de propolis (25 mg/kg) ou l'indométacine (25 mg/kg). 30 minutes après l'administration des extraits par gavage gastrique, les animaux ont reçu de l'acide acétique (0,6 %) par voie intra-péritonéale.

Cinq minutes après l'injection de l'acide acétique, le nombre de contorsions a été compté chez chaque souris durant 15 minutes. L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \left(1 - \frac{Wt}{Wb}\right) \times 100$$

Wb : Représente la moyenne du nombre de contorsions des souris du lot témoin.

Wt : Représente la moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.



6.2. Test d'irritation par le formaldéhyde (formole)

La méthode utilisée est la même que celle décrite par Dubuisson et Dennis (Dubuisson et Dennis, 1977).

L'injection du formaldéhyde sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure d'une souris entraîne l'apparition d'un syndrome douloureux. Les souris sont placées dans une enceinte qui permet d'observer la patte traitée. Elles sont réparties en 3 lots de 6 souris :

- Un lot traité par l'eau distillée.
- Un lot traité par l'extrait éthanolique de propolis à 25 mg/ml.
- Un lot traité par indométacine à 25 mg/kg.

Les souris reçoivent ces traitements (250 µl) par voie oral, 30 minutes avant l'injection d'une solution de formaldéhyde 2,5% (20 µl) sous le coussinet plantaire de la patte arrière droite. Les souris sont ensuite placées en observation.

L'effet anti nociceptif est déterminé suivant le nombre de léchages et d'étirements de pattes des souris durant les deux phases du syndrome douloureux : la première phase de 0 à 5 minutes et la seconde de 15 à 30 minutes avec une période intermédiaire de 10 minutes.

7. Etude statistique

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8 par le test-*t* de Student pour l'ensemble des expériences et le test ANOVA suivi du test de Tukey pour le test de l'œdème induit par la carragénine.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Résultats

1. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la propolis

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel a été effectuée par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de propolis (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 0.0063x - 0.0303$, $R^2 = 0.9978$) (Annexe 1). La teneur en constituants phénoliques totaux de l'extrait éthanolique de la propolis a été trouvée égale à $247.46 \pm 0,009$ mg équivalent d'acide gallique par g de propolis.

La teneur en flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de propolis (mg EQ/g) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y = 0.003x - 0.0002$, $R^2 = 0.9997$) (Annexe 2). La teneur a été estimée à $199.33 \pm 0,02$ mg équivalent de quercétine par g de propolis.

Les teneurs en polyphénols (mg équivalent d'acide gallique/ g de propolis) et en flavonoïdes (mg EQ/g de Propolis) sont illustrées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la propolis (moyenne \pm SD).

	Polyphénols	Flavonoïdes
Teneur	$247.46 \pm 0,009$ mg EAG/g de propolis	$199.33 \pm 0,02$ mg EQ/g de propolis

2. Inhibition de la dénaturation protéique

L'étude du pouvoir inhibiteur de la dénaturation protéique a été réalisée en utilisant la BSA comme protéine. Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de la propolis et du diclofénac de sodium (100, 250 et 500 μ g/ml) sont présentés dans la figure 5.

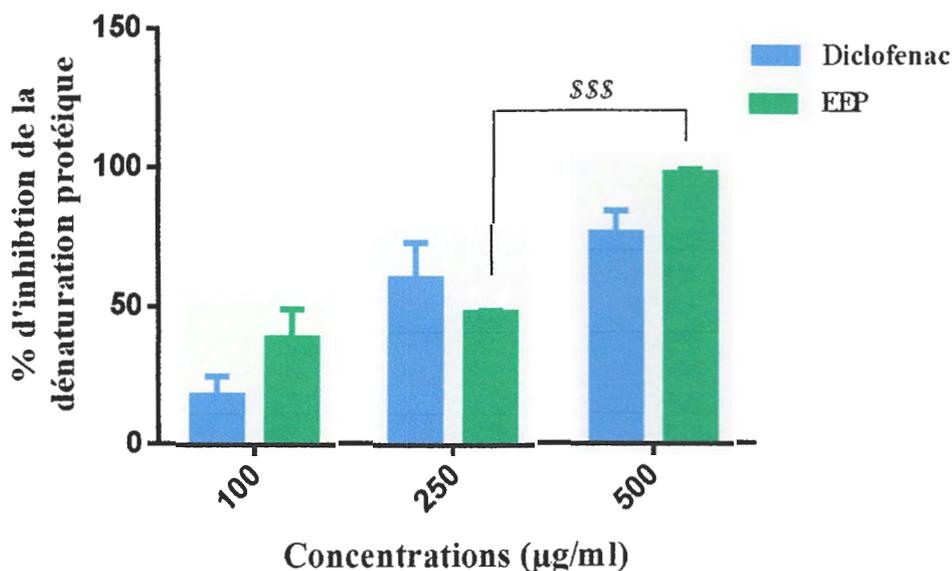


Fig. 5 : Pourcentages d'inhibitions de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de propolis et du diclofénac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml). N=3, Test-t de Student, \$\$\$ p<0,001.

D'après l'histogramme présenté dans la figure 5, on observe que l'inhibition (%) de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de la propolis (100, 250 et 500 µg/ml) est concentration dépendante et varie entre $38,60 \pm 2,5$ % et $97,64 \pm 1$ %. Une augmentation significative $p < 0,001$ de l'inhibition a été enregistrée en augmentant la concentration de 250 µg/ml à 500 µg/ml. L'extrait éthanolique de la propolis présente un fort pouvoir d'inhibition de la dénaturation au même degré que le diclofénac de sodium où, à la concentration de 500 µg/ml, l'inhibition est presque totale égale à $97,64 \pm 1$ %.

3. Inhibition de l'hémolyse des globules rouges

Les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges par l'extrait éthanolique de la propolis et le diclofénac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml) sont présentés dans la figure 6.

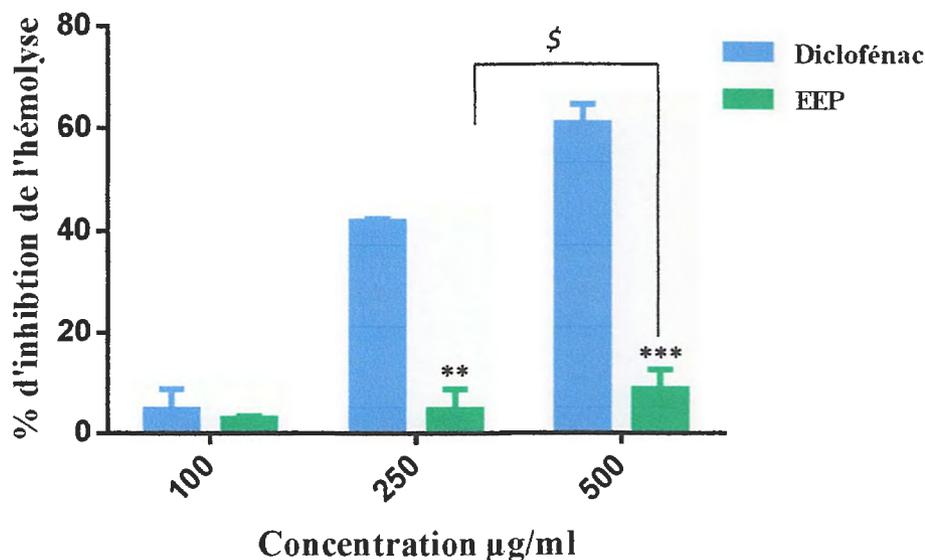


Fig. 6 : Inhibition de l'hémolyse des globules rouges traités par l'extrait éthanolique de la propolis et le diclofénac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml). N=3, Test-t de Student ** $p < 0,01$; * $P < 0,001$; \$ $p < 0,05$. La comparaison entre le Diclofénac et la propolis et entre les différents concentrations de la propolis.**

Les résultats présentés dans la figure 6 montrent que l'extrait éthanolique de la propolis est capable d'inhiber l'hémolyse des globules rouges d'une manière concentration dépendante ($p < 0,05$) et atteint un taux maximal de $8,69 \pm 2,72\%$ à la concentration de 500 µg/ml. Ce taux est très faible comparativement au diclofénac de sodium qui atteint un pourcentage de $60,85 \pm 2,63 \%$ avec la même concentration ($p < 0,001$).

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre donc que l'extrait éthanolique de propolis possède une faible activité de stabilisation des membranes des globules rouges par inhibition de l'hémolyse.

4. Inhibition de l'activité des protéases

Les résultats de cette expérience ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition de la protéase (Trypsine) exercée par l'extrait éthanolique de propolis et le diclofénac de sodium à différentes concentrations et sont présentés dans la figure 7.

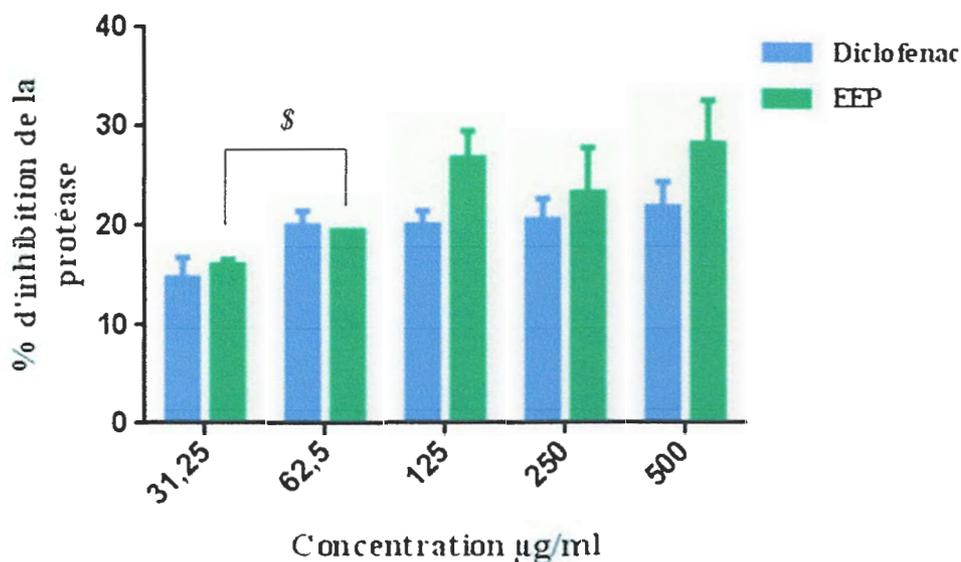


Fig. 7 : Inhibition de l'action de la protéase (trypsine) par l'extrait éthanolique de propolis et le diclofénac de sodium (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/ml). N=3, Test-t de Student, \$ $p < 0,05$. La comparaison est faite entre la différente concentration de la propolis, et entre le Diclofénac et la propolis (ns : non significative).

A partir des résultats représentés dans l'histogramme du pourcentage d'inhibition de l'action des protéases (figure 7), on observe que l'extrait éthanolique de la propolis possède une activité inhibitrice de l'action de la trypsine plus importante à celle du médicament de référence, le diclofénac de sodium et ce, quel que soit la concentration utilisée (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/ml). Elle atteint une inhibition maximale de $28,21 \pm 3,08$ % par rapport à celle du diclofénac de sodium ($21,79 \pm 1,79$ %) à la concentration de 500 µg/ml.

L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de la propolis augmente d'une manière significative ($p < 0,05$) en augmentant sa concentration de 31,25 µg/ml à 62,5 µg/ml puis son activité devient presque stable.

5. Inhibition de l'œdème induit par la carragénine chez la souris

L'œdème de la patte des souris induit par l'injection de la carragénine est un modèle largement utilisé dans l'inflammation aiguë pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des nouvelles substances (Ouédraogo et al., 2012). L'injection de la carragénine au niveau de la patte droite des souris induit une augmentation de la taille de cette dernière.

Le tableau 2 montre les pourcentages d'augmentation de la taille de la patte induit par la carragénine chez les souris traitées par le véhicule (eau physiologique), le diclofénac de sodium (50 mg/kg) et par l'extrait éthanolique de propolis (12,5 et 25 mg/kg).

Tableau 2 : Pourcentage d'augmentation de la patte arrière droite des souris après injection de la carragénine.

Traitements	Dose (mg/kg)	% d'augmentation du volume de l'œdème			
		1h	2h	3h	4h
Témoin (EP)	-	57.60± 0.1	74.06 ± 0.18	92.35 ± 0.18	87.16 ± 0.21
Diclofénac de sodium	50	66.63 ± 0.09	54.19 ± 0.11 *	58.62 ± 0.12 **	47.6 ± 0.08 ***
EEP	12.5	53.85 ± 0.09	57.35 ± 0.14 *	60.62 ± 0.2 **	45.62 ± 0.06 ***
EEP	25	33.15 ± 0.15 **	25.25 ± 0.26 ***	21.29 ± 0.06 ***	16.1 ± 0.05 ***

Les souris ont été traitées par voie orale avec le véhicule (eau physiologique), le médicament de référence (diclofénac de sodium 50 mg/kg) et l'extrait éthanolique de la propolis (EEP 12,5 mg/kg et 25 mg/kg) 45 min avant l'injection à l'aponévrose plantaire de la carragénine 1% (100 µl). Le pourcentage d'augmentation de la taille de la patte arrière droite a été mesuré pour chaque heure durant 4h. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SD, n=06 souris dans chaque lot. Test ANOVA suivi du test de Tukey ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (comparaison des lots traités avec le lot témoin).

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 2, on observe que chez le lot 1 (témoin) qui a reçu l'eau physiologique à 0.9%, l'injection de la carragénine entraîne une augmentation progressive des pourcentages de l'œdème des pattes des souris à partir de la première heure suivant l'injection, qui atteint sa valeur maximale à la 3^{ème} heure (92.35 ± 0.18 %). A partir de la 4^{ème} h, la taille des pattes des souris témoins commence à diminuer (87,16 ± 0,21 %).

Chez le lot 2 de référence qui a reçu le diclofénac de sodium (50 mg/kg), les résultats obtenus montrent que l'administration de cet anti-inflammatoire provoque une diminution de l'augmentation de la taille de la patte des souris traitées par la carragénine par rapport à celles des souris du lot témoin. Après 4h de traitement par le diclofénac de sodium, l'augmentation

de la taille est de $47,6 \pm 0,08$ %, significativement diminuée ($p < 0,001$) par rapport à celle du lot témoin.

L'administration de la propolis (12,5 mg/kg et 25 mg/kg) aux souris réduit également la taille de la patte comparativement au lot témoin traité avec la carragénine seule. Le taux d'augmentation de la taille des souris traitées avec la propolis à 12,5 mg/kg est du même ordre que celui obtenu avec le diclofénac du sodium alors que les souris traitées avec la propolis 25 mg/kg ne montrent pas une grande augmentation de la taille de leurs pattes. Cette dernière augmente après 1h du traitement et atteint une valeur de $33,15 \pm 0,15$ % puis diminue progressivement dans les 3 heures suivantes pour atteindre un taux d'augmentation de la taille de $16,1 \pm 0,05$ %. Elle présente une diminution significative ($p < 0,001$) comparativement avec celle de la carragénine seule.

A partir de nos résultats, nous avons également calculé le pourcentage d'inhibition de l'œdème par l'extrait éthanolique de propolis (12,5 mg/kg et 25 mg/kg) et par le diclofénac de sodium (50 mg/kg). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 8.

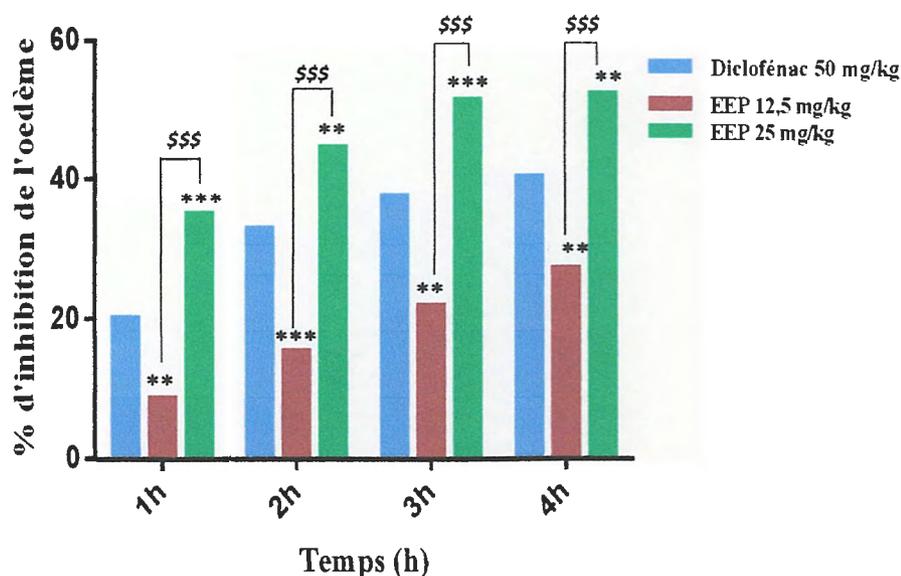


Fig. 8 : Activité anti-inflammatoire de l'EEP exprimée en pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par l'injection de la carragénine. Le véhicule (eau physiologique), le médicament de référence (diclofénac de sodium 50 mg/kg) et l'EEP (12,5 mg/kg et 25 mg/kg) ont été administrés par voie orale 45 min avant l'injection au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte arrière droite des souris d'une solution de carragénine 1% (100 µl) et la taille de la patte a été mesurée avant et chaque 1 h durant 4 h après injection de la carragénine. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD. n= 6. Test ANOVA suivi du test de Tukey, ** $p < 0,01$; * $p < 0,001$,**

\$\$\$ $p < 0,001$. La comparaison est faite entre le Diclofénac et la propolis et entre les différentes concentrations de la propolis

D'après les résultats présentés dans la figure 8, on remarque que l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) possède une activité anti-inflammatoire d'inhibition de l'œdème aux deux doses administrées (12,5 mg/kg et 25 mg/kg) avec des taux plus significatifs ($p < 0,001$) pour la dose de 25 mg/kg par rapport à la dose de 12,5 mg/kg durant toute la durée du traitement. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème de l'EEP est meilleur à celui du diclofénac de sodium. Ceci a été enregistré depuis la première heure suivant l'injection de la carragénine où un pourcentage d'inhibition de $34,98 \pm 0,09$ % a été enregistré, significativement plus élevé ($p < 0,01$) à celui du diclofénac de sodium ($20,01 \pm 0,065$ %).

Le pouvoir inhibiteur exercé par l'EEP (25 mg/kg) augmente chaque heure jusqu'à atteindre une inhibition maximale de $52,27 \pm 0,07$ % à la 4^{ème} heure, significativement plus élevé à celle du diclofénac de sodium ($40,34 \pm 0,035$ %) et de l'EEP (12,5 mg/kg) qui est égale à $27,16 \pm 0,039$ %.

6. L'activité inhibitrice des torsions induites par l'injection d'acide acétique chez la souris

Les expériences ont été réalisées sur un modèle animal en utilisant le test des torsions du corps et des relâchements des pattes arrière des souris induites par l'injection de l'acide acétique. Des lots de souris ont été testés après injection intra-péritonéale d'acide acétique à 0,6 %. Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez la souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales. Les différents groupes ont été administré par voie intra-gastrique ; de l'eau distillée (témoin), l'indométacine à 25 mg/kg (standard) et l'extrait éthanolique de la propolis à 25 mg/kg respectivement. Après 30min nous avons fait l'injection d'acide acétique par voie IP. L'effet antalgique a été évalué par le dénombrement de ces crampes et étirements pendant 15 min après l'injection de l'acide acétique. L'acide acétique provoque dans les premiers instants une agitation des souris, qui se caractérise par des déplacements fréquents. Ces déplacements sont suivis par des torsions du corps et des relâchements des pattes arrière. Ensuite les animaux se blottissent dans un coin et refont des torsions. Les résultats de l'expérience ont été résumés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Effet antalgique de l'indométacine et de l'extrait éthanolique de la propolis contre les crampes abdominales et les torsions induites par l'acide acétique chez la souris Wistar

Lots des souris	Traitement	Nombre de torsion	% d'inhibition
1	Témoin (Eau distillée)	75 ± 10	-
2	EEP 25 mg/kg	1,67 ± 0,67 ***	97.77%
3	L'indométacine 25 mg/kg	1,83 ± 0,83 ***	97.56%

Les valeurs représentent les moyennes du nombre de torsions ± SD, n= 06 souris dans chaque lot. Test-t de Student *** $p < 0,001$ (Comparaison des lots traités par le Diclofénac et EEP avec le lot témoin).

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antalgique contre la douleur induite par l'acide acétique (Tableau 3), nous avons trouvé que l'acide acétique induit un nombre important de crampes et de torsions abdominales moyennes de 75 ± 10, comptabilisés au cours de 15 minutes chez le lot témoin.

Les souris traitées par l'indométacine ont démontré que ce médicament induit une diminution significative ($P < 0.001$) du nombre de torsions et de crampes abdominales induits par l'acide acétique par rapport au lot témoin. Le nombre de torsions et crampes obtenu est de 1.83 ± 0,83 équivalent à un pourcentage d'inhibition de 97.56%.

L'extrait éthanolique de la propolis à la concentration de 25mg/kg réduit le nombre des crampes abdominales et des torsions de façon significative ($P < 0.001$) avec un pourcentage d'inhibition de 97.77 % égal à celui de l'indométacine.

7. L'effet antalgique contre l'irritation induite par le formaldéhyde

Dans ce test les souris ont été traitées avec l'injection du formaldéhyde au niveau de l'aponévrose plantaire de leurs pattes arrière droites. Cette injection induit chez la souris des douleurs et irritations caractérisées par l'augmentation du nombre de léchages et d'étirements

de la patte arrière droite pendant deux phases. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Effets de l'extrait éthanolique de la propolis et de l'indométacine (25 mg/kg) sur la douleur induite par l'injection du formaldéhyde chez les souris Wistar

Traitement	Phase 1		Phase 2	
	Intensité de douleur	Inhibition %	Intensité de douleur	Inhibition %
Témoin (Eau distillée)	29.33 ± 5.35	-	54 ± 10.46	-
Indométacine 25 mg/kg	4.75 ± 1.77 **	83.81	1.6 ± 0.81 ***	97.04
EEP 25 mg/kg	6.5 ± 1.5 **	77.84	5 ± 2.64 **	90.74

Les valeurs représentent les moyennes de l'intensité de la douleur ± SD, n=06 souris.

Test-t de Student ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (Comparaison des lots traités avec le lot témoin).

Les résultats du tableau 3 montrent que l'extrait éthanolique de la propolis inhibe les deux phases de la douleur induite par le formol au même niveau que celui de l'indométacine. Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été enregistrée entre les deux en phase 1 ou en phase 2.

Pendant la phase 1 qui représente la phase aigüe, l'extrait éthanolique de la propolis (25 mg/kg) entraîne une inhibition de 77,84 % du taux de la douleur exprimée chez la souris par le nombre de léchages et d'élévations de la patte ($6,5 \pm 1,5$; $p < 0,01$).

En phase chronique (15-30 min), l'extrait éthanolique de la propolis entraîne une diminution très significative ($p < 0,01$) avec une intensité de $5 \pm 2,64$ du nombre de léchages et étirements comparativement aux souris non traitées (54 ± 10.46).

Discussion

Discussion

L'objectif de notre étude est d'une part, d'étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel *in vitro* et *in vivo* sur un modèle animale induit chez la souris Wistar et d'autre part étudier son effet antalgique aussi sur deux modèles animaux de douleur différents induits chez la souris Wistar. Nous avons également évalué la teneur moyenne dans notre extrait en polyphénols et en flavonoïdes.

Les polyphénols et les flavonoïdes sont des constituants importants qui contribuent à la couleur et à la saveur de la propolis. Ce sont les constituants pharmacologiquement actifs les plus importants de la propolis (Ahmed et al., 2017). Par conséquent, pour évaluer l'activité biologique de la propolis utilisée dans notre travail, la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de cette dernière a été quantifiée.

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. La coloration obtenue est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans l'extrait éthanolique de propolis où l'absorption maximale est de 735 nm (Chan et al., 2005).

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux indiquent que notre propolis contient des concentrations élevées en composés phénoliques (247.46 ± 0.009 mg EAG / g de propolis). Le dosage des flavonoïdes a montré que l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel en est aussi riche (199.33 ± 0.002 mg EQ / g de propolis).

Nous avons remarqué que la teneur en polyphénols est plus importante que celle en flavonoïdes ce qui est tout à fait logique puisque ces derniers constituent une classe des premiers et qui est en accord avec la littérature, où la propolis semble être riche en polyphénols qu'en flavonoïdes (Benhanifia et al., 2013; Rebiai et al., 2014; Ahmed et al., 2017).

Certains auteurs comme Kumazawa et al. (Kumazawa et al., 2004), suggèrent que la teneur en flavonoïdes peut être utilisée comme critère critique pour différencier entre les différents types de propolis. La teneur en flavonoïdes de notre propolis est supérieure à celle indiquée dans plusieurs études (Boufadi et al., 2014; Rebiai et al., 2014; Ahmed et al., 2017). Cette variation est principalement attribuée à la différence dans régions de ces propolis (Kähkönen et al., 1999).

La concentration des polyphénols dans notre échantillon est plus élevée que celles rapportées dans plusieurs études : Benhanifia et al., (Benhanifia et al., 2013) ont montré que la teneur en polyphénols totaux de la propolis de nord-ouest algérien contient une concentration en composés phénoliques égale à 42.89 ± 0.95 mg EAG /g de propolis, et en flavonoïdes égale à 29.63 ± 1.11 mg EQ / g de propolis. Ahmed et al., (Ahmed et al., 2017) ont montré que la propolis de la Malaisie contient une concentration en composés phénoliques = 15.93 ± 0.18 mg EAG /g de propolis, et en flavonoïdes égale à 1.65 ± 0.10 mg EQ / g de propolis. Boufadi et al. (Boufadi et al., 2014) ont montrés que la propolis de Ain Ouassara (Algérie) contient des concentrations en composés phénoliques égale à 55 ± 1 mg EAG /g de propolis, et en flavonoïdes égale à 24 ± 1 mg EQ / g de propolis.

Pour étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel, nous avons réalisé différents tests *in vitro* et *in vivo*. Nous avons tout d'abord étudié son effet sur la dénaturation des protéines par le test de BSA. La dénaturation des protéines comme l'une des causes de l'inflammation a été bien documentée. Un nombre important d'anti-inflammatoires sont connus pour inhiber la dénaturation des protéines (Pungle et al., 2018).

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tertiaire et secondaires sous l'effet d'un stress externe ou d'un composé tel que un acide fort ou une base, d'une concentration en sel inorganique, un solvant organique ou par la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (Marliyah et Ananthi, 2015). Dans l'organisme, la dénaturation des protéines peut être à l'origine de la production d'auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques comme la polyarthrite rhumatoïde (Mizushima et Kobayashi, 1968 ; Chandra et al., 2012). Elle a été utilisée dans le cadre de l'étude des mécanismes de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (Govindappa et al., 2011). Les lésions tissulaires au cours de la vie pourraient être assimilées à la dénaturation des constituants protéiques des cellules ou de la substance intercellulaire. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation d'une protéine signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (Osman et al., 2016). D'après les résultats obtenus, notre EEP a inhibé la dénaturation de la BSA à un taux de 97.64 % égale à celui du diclofénac du sodium.

Plusieurs médicaments anti-inflammatoires ont montré une capacité concentration dépendante pour inhiber la dénaturation des protéines provoquée thermiquement (Grant, 1970). Cette

inhibition était le principal mécanisme d'action des AINS proposé par Mizushima et Kobayashi (Mizushima et Kobayashi, 1968) avant la découverte de leur effet inhibiteur de la cyclooxygénase par Vane (Vane, 1971).

Nous avons également étudié l'effet de l'extrait éthanolique de la propolis sur la stabilisation de la membrane des globules rouges. La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire *in vitro* car elle est analogue à la membrane lysosomale des cellules inflammatoires (Marliyah et Ananthi, 2015). D'après les résultats de cette expérimentation, l'EEP a présenté une stabilisation de la membrane des globules rouges mais, elle est faible par rapport à celle du diclofénac de sodium. Cette stabilisation est concentration dépendante et une stabilisation maximale de 8.69% a été obtenue avec une concentration de 500 µg/ml d'extrait éthanolique de la propolis. La stabilisation du lysosome est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération des constituants lysosomaux des neutrophiles activés lors des infections microbiennes, tels que les enzymes bactéricides et les protéases. L'enzyme lysosomale libérée lors de l'inflammation produit divers troubles cellulaires. L'activité extracellulaire de ces enzymes peut être liée à une inflammation aiguë à chronique (Sree Kumari et al., 2015). Le mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens tel que le diclofénac de sodium est lié principalement à leur capacité d'inhibition de la synthèse de prostaglandines et de thromboxane, en inhibant l'action des deux isoformes de l'enzyme membranaire cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2) (Ahmad et al., 2013). Ces médicaments agissent également soit en inhibant les enzymes lysosomales, soit en stabilisant les membranes lysosomales (Sree Kumari et al., 2015). Pour cela nous avons aussi étudié l'effet de notre extrait éthanolique de la propolis sur l'action des protéases.

La méthode utilisée est basée sur le même principe de la stabilisation de la membrane des globules rouges en utilisant la trypsine comme protéase. D'après les résultats obtenus, l'EEP a une inhibition maximale de protéases de 28.21 ± 3.08 % à la concentration de 500 µg/ml égale à celle du diclofénac du sodium. Cette inhibition indique que l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) est capable d'inhiber les enzymes lysosomales après leur libération au même niveau que le diclofénac pour limiter la réponse inflammatoire des neutrophiles activés, tels que les enzymes bactéricides et les protéases, qui peuvent provoquer une inflammation tissulaire supplémentaire (Sree Kumari *et al.*, 2015).

Woźniak et al., (Woźniak et al., 2019) ont montré que la propolis pollonnaise exerce un effet protecteur vis-à-vis des globules rouges en stabilisant leurs membranes contre les attaques par les radicaux libres.

Afin d'approfondir notre étude sur l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de la propolis, nous avons réalisé une étude *in vivo* basée sur l'injection d'une solution de carragénine au niveau de la patte arrière droite des souris Wistar. L'injection de la carragénine 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite de souris pour provoquer l'œdème a permis d'évaluer l'effet anti-inflammatoire préventif de l'extrait éthanolique de propolis (12,5 mg/kg, 25 mg/kg) en le comparant avec le diclofénac de sodium (50 mg/kg) qui est un anti-inflammatoire non stéroïdien qui agit principalement en inhibant l'action des cyclo-oxygénases (COX).

Le suivi des souris du groupe témoin (NaCl à 0.9 %) et des groupes prétraités (par l'extrait éthanolique de propolis à 12,5 mg/kg et 25 mg/kg et le diclofénac de sodium) pendant les quatre heures qui suivent l'injection de la carragénine, a montré une augmentation de la taille des pattes des souris de tous les lots. Mais cette augmentation a été plus importante dans le lot témoin par rapport aux lots traités. Cela indique bien que la carragénine a induit une réaction inflammatoire par la formation d'un œdème et qu'elle représente un bon modèle pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire.

L'œdème induit par l'injection de la carragénine a été couramment utilisé comme modèle expérimental pour l'induction de l'inflammation aiguë et pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des substances bioactives. La carragénine est un polysaccharide sulfaté extrait à partir des algues (Mujumdar et Misar, 2004 ; Wang et al., 2013) dont le choix est dû au fait qu'elle n'est pas antigénique et ne cause pas des effets systémiques. Elle agit aussi comme pro-inflammatoire par activation de la phospholipase A2 (Yin et al., 2003).

L'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire (Skerget et al., 2005). La réaction inflammatoire a été presque immédiate suite à l'injection de la carragénine qui a provoqué l'apparition de signes classiques d'une inflammation aiguë locale comme la rougeur, la douleur, la chaleur et un œdème chez les quatre groupes expérimentaux.

Le développement de l'œdème induit par la carragénine est un événement diphasique: la première phase est déclenchée suite à la libération de l'histamine, la sérotonine et les quinines

à la première heure favorisant ainsi la vasodilatation qui est à l'origine de la rougeur et la chaleur qui touchent le site de l'inflammation (Amol et kallangouda, 2011 ; Huang et al., 2011). Par contre, la deuxième phase, initiée après la première heure et qui s'étend jusqu'à la quatrième heure, est liée à la libération des prostaglandines (Saini et Singha, 2012 ; Habib et Waheed., 2013) associée à la migration leucocytaire vers la zone enflammée (Ndiaye et al. 2006). Ces médiateurs augmentent la perméabilité des capillaires du site de l'inflammation et l'échappement de l'exsudat de la circulation sanguine vers l'espace interstitiel provoquant un œdème localisé, qui à son tour, détermine ainsi une sensation de douleur (Rousselet et al., 2005). Ce qui explique l'augmentation de la taille des pattes des souris du lot témoin traitées avec de la carragénine seule au cours des 4h de l'expérience.

Par contre, nous avons observé une réduction significative ($p < 0,001$) de la taille des pattes des souris traitées par l'extrait éthanolique de propolis (25 mg/kg) par rapport au groupe traité par le diclofénac de sodium (50 mg/kg) à partir de la première heure, ce qui indique bien que l'extrait a induit une action anti-inflammatoire. Cette réduction par rapport au diclofénac de sodium est représentée par un pourcentage d'inhibition important qui a atteint $52,27 \pm 0,07 \%$ après 4h de traitement.

La douleur est une expérience désagréable causée par des stimuli intenses ou dommageables, a un caractère essentiellement protecteur et peut servir de modalité sensorielle pour indiquer la présence d'une lésion tissulaire. Il existe différents types et causes de douleur, mais tous sont liés à une sensation de malaise physique ou émotionnel qui affecte négativement la routine quotidienne (Zakaria et al., 2018).

Dans cette étude, l'activité antalgique de l'EEP était évaluée à l'aide du test d'induction de la douleur par l'injection de l'acide acétique et du formaldéhyde chez la souris.

L'injection de l'acide acétique (produit algogène) par voie IP induit une douleur périphérique qui résulte d'une lésion tissulaire responsable d'une augmentation de la libération de nombreux médiateurs chimiques tels que : l'histamine, la prostaglandine et la sérotonine, la bradykinine et l'acétylcholine dans le liquide intrapéritonéale, qui vont stimuler les récepteurs nociceptifs situés au niveau péritonéale (Kouakou et al., 2010). Il en résulte une douleur plus tardive et diffuse qui se manifeste chez les souris par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale (Chatter riah et al., 2011).

Dans les conditions expérimentales de notre travail, l'injection d'une dose de 10 ml/kg de l'acide acétique à 0.6 % par voie IP provoque dès les premiers instants une agitation des

souris, qui se caractérise par des déplacements fréquents. Ces déplacements sont suivis des torsions du corps et des relâchements de la patte arrière. Ce qui prouve bien que l'acide acétique a induit une réaction douloureuse exprimée par un étirement des pattes postérieures et une contraction des muscles intercostaux précédents l'apparition des crampes franches.

Le test de l'acide acétique qui représente un test d'évaluation de la douleur par un stimulus chimique est une méthode très sensible et idéale pour la détection de l'activité thérapeutique de plusieurs composés (Sofidiya et al., 2010).

Les différents résultats obtenus dans notre étude démontrent une bonne activité antalgique d'EEP proche de celle du médicament de référence qui est l'indométacine administrée à une dose de 25 mg /kg, ce qui nous laisse suggérer que le mode d'action de l'extrait testé pourrait correspondre à celui de l'indométacine. L'indométhacine est un dérivé de l'acide indole-3-acétique. C'est un anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Ce médicament est principalement utilisé pour le traitement d'affections inflammatoires douloureuses comme la goutte et l'arthrose. Il agit à travers l'inhibition non sélective de la cyclooxygénase-1 (COX-1) et de la cyclooxygénase-2 (COX-2) (Kassab et al., 2018).

Le test au formol est un test valide dans les études antalgiques qui se compose de 2 phases. La première phase (0 - 5 minutes) est caractérisée par des douleurs neurogènes causées par la stimulation directe des nocicepteurs. Nous pensent que la substance p et la bradykinine participe à cette phase. La deuxième phase (20 - 30 minutes) est spécifiée par une douleur inflammatoire, une action dans laquelle certains médiateurs inflammatoires sont supposés être impliqués comme l'histamine, les prostaglandines, la sérotonine et la bradykinine. En réalité, les médicaments à une action centrale préviennent les deux étapes de manière égale, tandis que les médicaments agissant à la périphérie inhibent seulement la deuxième phase. Dans notre étude, l'EEP était capable d'inhiber la douleur dans les deux phases d'une manière significative ($p < 0,01$ et $p < 0,001$ respectivement) au même niveau que l'indométacine utilisée comme médicament de référence. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique de la propolis possède une activité antalgique antinociceptive centrale et périphérique.

Peu d'études *in vitro* et *in vivo* ont été réalisées sur l'effet anti-inflammatoire et antalgique de la propolis. Les seules réalisées montraient toutes que la propolis exerce un effet antalgique et anti-inflammatoire dont la puissance diffère selon le type de propolis étudiée.

Conti et al. (Conti et al., 2016) ont montré que la propolis est capable d'induire l'inhibition de la voie NF- κ B et la production du TNF α , l'IL-6 et l'IL-10 par les cellules dendritiques. Elle est également capable d'inhiber la production des cyclooxygénases et des lipoxygénases et par conséquent, la production des prostaglandines (Araujo et al., 2012).

La production des prostaglandines E2 (PGE2) a été aussi réduite et le pouvoir d'inhibition des cyclooxygénases a été augmenté dans les macrophages J774 traitées avec l'extrait éthanolique de la propolis brésilienne (Rossi et al., 2002).

Paulino et al. (Paulino et al., 2006) ont montré que la propolis verte brésilienne est capable de réduire la douleur induite par injection de formaldéhyde à une ID 50 égale à 13,8 mg/kg. Elle induit également une inhibition de l'œdème induit par l'injection de la carragénine. La transfection dans les cellules HEK293 stimulées par le TNF α d'un gène rapporteur de NF- κ B a montré que cet extrait éthanolique exerce son activité par inhibition de la voie NF- κ B.

Dans leur étude, Parandin et Daroogari (Parandin et Daroogari, 2019), ont étudié l'activité anti-inflammatoire et antalgique de la propolis de l'Iran. 3 doses ont été testées (100, 200 et 400 mg/kg). Les résultats montraient que leur propolis entraîne une inhibition de l'œdème induit par la carragénine, une inhibition des torsions et des crampes abdominales induites par l'acide acétique et aussi les léchages et étirements de pattes dus à l'injection plantaire de formaldéhyde d'une manière dose dépendante $p < 0,05$ (100 mg/kg), $p < 0,01$ (200 mg/kg) et $p < 0,001$ (400 mg/kg).

L'extrait éthanolique de la propolis (EEP) Bulgarienne est capable d'inhiber les crampes abdominales induites par l'acide acétique à une ID₅₀ = $7,4 \pm 0,7$ mg/kg. Dans le test de formaldéhyde, cet EEP à la dose de 100 mg/kg réduit d'une manière significative l'induction des douleurs.

L'extrait éthanolique de la propolis collectée au sud du Brésil a induit une inhibition maximale de $58 \pm 5,5$ % les torsions induites par l'acide acétique lorsqu'il est administré par voie IP à différentes concentrations (1 - 60 mg/kg) et une inhibition maximale de 43,5 % quand il est administré par voie orale (25- 200 mg/kg). Il agit sur les deux phases induites par le formaldéhyde avec une inhibition maximale de 22 ± 5 % et 33 ± 6 % pour la première et la deuxième phase respectivement.

Ces propriétés anti-inflammatoires obtenues peuvent être dues à la présence des composés phénoliques qui ont la capacité d'inhiber les enzymes impliquées dans les processus inflammatoires (Skerget et al., 2005), tel que les flavonoïdes qui sont connus pour inhiber la

prostaglandine synthétase (Kumar et Kumud, 2010). La composition de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel (de la région de Chadia) a été déjà étudiée (Lahouel et al., 2011). L'étude a montré que cet extrait est riche en divers polyphénols principalement les flavonoïdes.

Des études antérieures ont montré que les effets anti-inflammatoires peuvent résulter de la teneur élevée en polyphénols des plantes, en particulier les flavonoïdes. Les études biochimiques sur le mécanisme d'action des flavonoïdes ont montré que ces composés peuvent inhiber une grande variété d'enzymes à l'égard de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation : la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase (Ghedira, 2005).

La libération d'acide arachidonique est étroitement liée à la cyclo-oxygénase et aux systèmes enzymatiques à 5-lipoxygénase (Sowemimo et al., 2013).

Il a été rapporté dans la littérature que certains composés phénoliques (flavonoïdes) sont capable d'inhiber la libération de nombreux médiateurs chimiques impliqués dans la douleur tels que l'histamine, la sérotonine, la bradykinine et les prostaglandines (essentiellement celle de la PGE2 et PGE α) par blocage des enzymes spécifiques notamment les cyclo-oxygénase (COX-1 et COX- 2) impliquées dans la réaction inflammatoire et par conséquent dans la genèse de la nociception (Dubois, 1998 ; Blain et al., 2000 ; Carroll et Simonson, 2005 ; Kouakou-Siransy et al., 2010).

Par exemple, l'acide caféique (CAPE) est capable d'inhiber la voie de signalisation du NF- κ B à travers l'inhibition de l'activation du facteur de transcription NF- κ B dans les lymphocytes T (Wang et al., 2010). Armutcu et al. (Armutcu et al., 2015) ont aussi montré que l'acide caféique (CAPE) agit sur l'activation de la xanthine oxidase, des cyclooxygénases et sur le NF- κ B.

La galangine, un autre polyphénol de la propolis est aussi capable d'inhiber la réponse inflammatoire par inhibition de plusieurs voies de signalisation comme la voie NF- κ B, MAPK, JAK/STAT en agissant sur les différents facteurs de transcription impliqués dans ces voies (Choi et al., 2017).

Conclusion
&
Perspectives

Notre étude a porté sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antalgique d'un extrait éthanolique de la propolis de Jijel et a montré que cet extrait possède une activité anti-inflammatoire considérable et à différents niveaux :

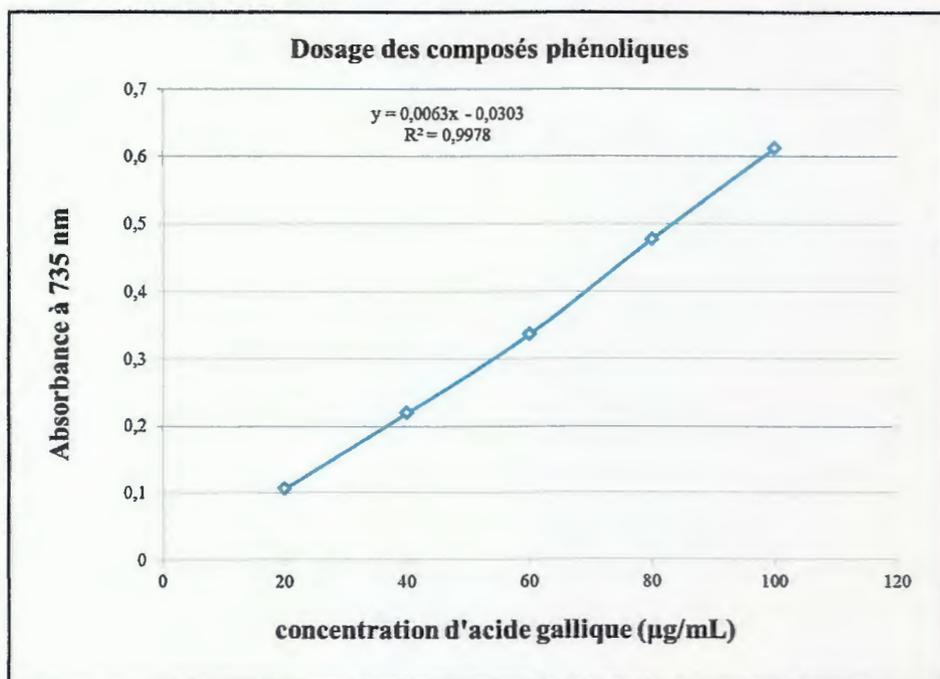
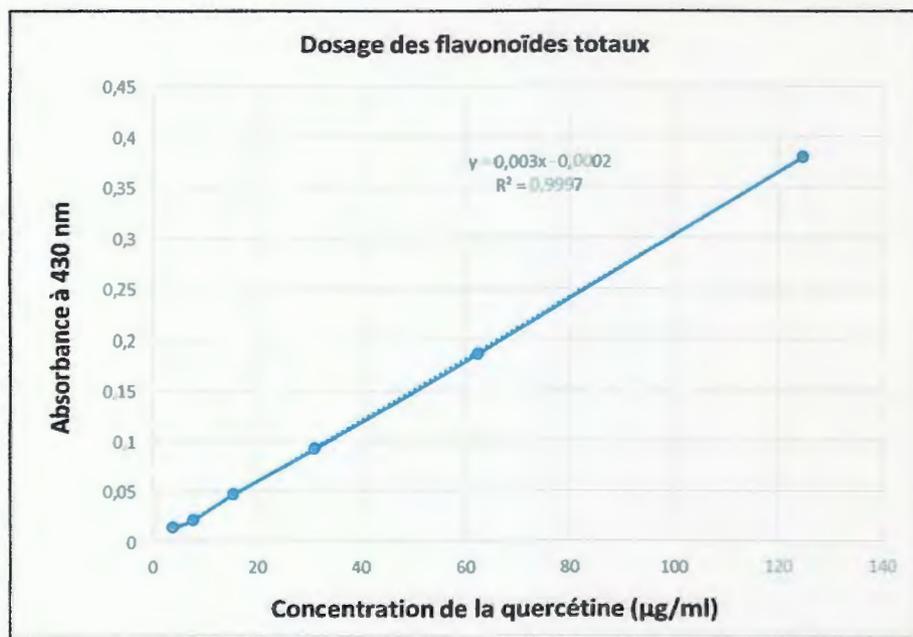
L'inhibition de la dénaturation des protéines et de l'action des protéases avec une faible stabilisation des membranes des globules rouges.

Une forte inhibition de l'œdème induit par l'injection de la carragénine au niveau de la patte arrière droite chez les souris à une dose de 25 mg/kg lorsqu'il est administré en traitement préventif, plus importante même que celle du diclofénac de sodium (50 mg/kg).

Cette étude a permis de montrer également que l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel possède une forte activité antalgique à travers la diminution significative le nombre d'irritations et de léchages induits chez la souris par injection du formaldéhyde et l'inhibition des spasmes chez la souris induits par injection de l'acide acétique.

Notre travail nécessite d'être complétée par l'étude et la détermination des mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse anti-inflammatoire et anti-antalgique de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel et la détermination également de la(les) molécule(s) responsable(s) des effets obtenus.

Annexes

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de quercétine**

*Références
bibliographiques*

Ahmad S.R., (1993). Screening of some Turkish medicinal plants for their analgesic activity. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.*; 6(2): 29-36.

Ahmed R., Tanvir E. M., Hossen M., Afroz R., Ahmmed I., Rumpa N. E., ...& Khalil M. (2017). Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine .*; 107(3) :1-11

Ahn M. R., Kumazawa S., Usui Y., Nakamura J., Matsuka M., Zhu F., & Nakayama T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry.*; 101(4):1383-1392.

Akhtar B., Ashraf M. U. H. A. M. M. A. D., Javeed A. Q. E. E. L., Sharif A., Akhtar M. F., Saleem A. M. M. A. R. A., ...&Murtaza G. H. U. L. A. M. (2016). Analgesic, antipyretic and antiinflammatory activities of *Grewiaasiatica* fruit extracts in albino mice. *Acta Pol Pharm.*; 73 (3): 983-989.

Akter R., Hasan S. R., Siddiqua S. A., Majumder M. M., Hossain M. M., Alam M. A., ... &Ghani A. (2008). Evaluation of Analgesic and Antioxidant Potential of the Leaves of *Curcuma alismatifolia*Gagnep. *Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences.*; 1(1): 3-9.

Amini-Sarteshnizi N., Mobini-Dehkordi M., Khosravi-Farsani S., &Teimori H. (2015).Anticancer activity of ethanolic extract of propolis on AGS cell line. *Journal of HerbMed Pharmacology.*; 4(1):430-481

Ananthi S., Raghavendran H. R. B., Sunil A. G., Gayathri V., Ramakrishnan G., &Vasanthi H. R. (2010). *In vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinariaornata* (Marine Brown Alga). *Food and chemicaltoxicology.*; 48(1): 187-192.

Arab M., Ouaret M., &Ramdane Z. E. (2018). Les parasites d'abeille. *Apis mellifera*intermissa L. ; 13(2) :1-2

Araujo M. A., Libério S. A., Guerra R. N., Ribeiro M. N. S., &Nascimento F. R. (2012). Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis a brief review. *RevistaBrasileira de Farmacognosia.*; 22(1): 208-219.

Araújo M. J. A. M., Mattar N. S., Reis A. S., Serra I. C. P. B., Fialho E. M. S., Assunção A. K. M., ... & Lopes A. S. (2011). Pharmacognostic and acute toxicological evaluation of

Scaptotrigona aff. posticapropolis extract in pre-clinical assays. *Natural product research.*; 25(11): 1037-1046.

Armutcu F., Akyol S., Ustunsoy S., & Turan F. F. (2015). Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. *Experimental and therapeutic medicine.*; 9(5): 1582-1588.

Ashly L. P., & Thirumalisamy S. (2012). Adsorption of hazardous cationic dyes from aqueous solutions onto *Acacia nilotica* L. leaves as an eco friendly adsorbent. *Sustain. Environ. Res.*; 22(2): 113-135.

Azab A., Nassar A., & Azab A. (2016). Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules.*; 21(10) :1-7

Bankova V. (2005). Recent trends and important developments in propolis research. *Evid.-Based Complement Altern Med ECAM.*; 2 (1): 29–32.

Bankova V., Popova M., & Trusheva B. (2014). Propolis volatile compounds chemical diversity and biological activity. *Chemistry Central Journal.*; 8(1) : 28-39

Benguedouar L., Lahouel M., C Gangloff S., Durlach A., Grange F., Bernard P., & Antonicelli F. (2016). Ethanolic extract of Algerian propolis and galangin decreased murine melanoma T. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents).*; 16(9): 1172-1183.

Benhanifia M., Mohamed W. M., Bellik Y., & Benbarek H. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of different propolis samples from north-western Algeria. *International Journal of Food Science & Technology.*; 48(12) : 2521-2527.

Biad M., & Messadi S. (2017). Effet de la propolis sur certains paramètres biochimiques chez des rats mâles à obésité induite par un régime hyper-gras. *Chemistry Central Journal.*; 2(3) :115-132

Blain H., Vuillemin A., Blain A., & Jeandel, C. (2000). Les effets préventifs de l'activité physique chez les personnes âgées. *Presse Med.*; 29(22): 1240-1248.

Bogdanov S. (2012). Propolis biological properties and medical applications. *The propolis book.*; 2(1): 1-10

- Borges K. S., Brassesco M. S., Scrideli C. A., Soares A. E. E., & Tone L. G. (2011). Antiproliferative effects of Tubi-bee propolis in glioblastoma cell lines. *Genetics and Molecular Biology*;34(2): 310-314.
- Bose A., Mondal S., Gupta J. K., Ghosh T., Dash G. K. & Si S. (2007). Analgesic anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*. *Fitoterapia*. ; 78(7-8) : 515-520.
- Boufadi Y., Soubhye J., Riazi A., Rousseau A., Vanhaeverbeek M., Nève J., ... & Van Antwerpen P. (2014). Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts ethyl acetate extracts inhibit myeloperoxidase activity. *International journal of molecular sciences*.; 15(2): 2327-2345.
- Bueno-Silva B., Franchin M., de FreitasAlves C., Denny C., Colón D. F., Cunha T. M., ...&Rosalen P. L. (2016). Main pathways of action of Brazilian red propolis on the modulation of neutrophils migration in the inflammatory process. *Phytomedicine*.;23(13):1583-1590.
- Burns N., & Groves K. (1997). Practice of nursing research. *Philadelphia, PA: WB Saunders company*.;66(6-9):452-460
- Campos J. F., dos Santos U. P., Macorini L. F. B., de Melo A. M. M. F., Balestieri J. B. P., Paredes-Gamero E. J., ... & dos Santos E. L. (2014). Antimicrobial antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Meliponaorbignyi* (Hymenoptera, Apidae). *Food and Chemical Toxicology*.; 65(10): 374-380.
- Cardinault N., Cayeux M. O., & du Sert P. P. (2012). La propolis origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*.; 10(5): 298-304.
- Carroll G. L., & Simonson S. M. (2005).Recent developments in non steroidal anti-inflammatory drugs in cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*.; 41(6):347-354
- Cenić-milošević K. A., Tambur Z., Ivančajić S., Stanojković T., Grozdanić N., Kulišić Z., &Juranić Z. (2014).Antiproliferative effects of *Tanacetipartheni*, *Hypericumperforatum* and propolis on HeLa cells. *Archives of Biological Sciences*.; 66(2): 705-712.

Chan G.C.F., Cheung K.W., &Sze D.M.Y. (2013).The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinical reviews in allergy & immunology.*; 44(3): 262-273.

Chan JA., Krichevsky AM et Kosik KS. (2005). MicroARN-21 est un facteur anti-apoptotique dans les cellules de glioblastome humain. *Cancer research .*; 65 (14): 6029-6033.

Chandra S., Chatterjee P., Dey P., & Bhattacharya S. (2012). Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.*; 2(1): 178-180.

Charles N ; Ward P ; and Gilroy D. (2010). Fundamentals of inflammation. *Cambridge University Press.*;6(2): 2-3.

Chebira M. (2014).Contribution à la mise en évidence de nouveaux anti-inflammatoire par docking moléculaire. *Biochimie moléculaire et santé.* ;62(24) :1136-1148

Chen C. N., Wu, C. L., & Lin J. K. (2007). Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwanese propolis. *Cancer Letters.* ; 245(1-2) : 218-231.

Chen LH, Chien YW, Chang ML, Hou CC, Chan CH, Tang HW et Huang HY (2018). L'extrait d'éthanol à la propolis verte taiwanaise retarde la progression du diabète sucré de type 2 chez les rats traités avec un régime alimentaire streptozotocine / riche en graisses. *Éléments nutritifs .* ; 10 (4) : 503.

Chen Z., Rasul A., Zhao C., Millimouno F. M., Tsuji I., Yamamura T., ... & Li, J. (2013). Antiproliferative and apoptotic effects of pinocembrin in human prostate cancer cells. *Bangladesh Journal of Pharmacology.*; 8(3): 255-262.

Choi J. K., JangY. H., Lee S., Lee S. R., Choi Y. A., Jin M., ...& Kwon T. K. (2017). Chrysin attenuates atopic dermatitis by suppressing inflammation of keratinocytes. *Food and Chemical Toxicology.*;110: 142-150.

Choi M. J., Lee E. J., Park J. S., Kim S. N., Park E. M., & Kim H. S. (2017). Anti-inflammatory mechanism of galangin in lipopolysaccharide-stimulated microglia, Critical role of PPAR- γ signaling pathway. *Biochemical pharmacology.*;144:120-131.

Conti B. J., Santiago K. B., Cardoso E. O., Freire P. P., Carvalho R. F., Golim M. A., &Sforcin J. M. (2016). Propolis modulates mi RNA s involved in TLR-4 pathway, NF- κ B

activation, cytokine production and in the bactericidal activity of human dendritic cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.;68(12): 1604-1612.

da Silva Cunha, I. B., Rodrigues, M. L. T., Meurer, E. C., Bankova, V. S., Marcucci, M. C., Eberlin, M. N., &FranklandSawaya, A. C. H. (2006). Effect of the maceration time on chemical composition of extracts of Brazilian propolis. *Journal of apicultural research*.; 45(3):137-144

de Mendonça I. C. G., de Moraes Porto I. C. C., do Nascimento T. G., de Souza N. S., dos Santos Oliveira J. M., dos Santos Arruda R. E., ... &Barreto F. S. (2015). Brazilian red propolis phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC complementary and alternative medicine*.; 15(1): 357.

Djeridane A., M. Yousfi B. Nadjemi D. Boutassouna P. Stocker et N. Vidal (2006). Activité antioxydante de certains extraits de plantes médicinales algériennes contenant des composés phénoliques. *Chimie alimentaire* . ; 97 (4) : 654-660.

Dubois R. N., Abramson S. B., Crofford L., Gupta R. A., Simon L. S., A. Van De Putte, L. B., &Lipsky, P. E. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease. *The FASEB journal*.; 12(12): 1063-1073.

Dubuisson D., & Dennis S. G. (1977). The formalin test a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*.; 4: 161-174.

Dutartre P. (2016). Inflammasomes and natural ingredients towards new anti-inflammatory agents. *Molecules*.; 21(11): 1492.

Dzoyem J. P., McGaw L. J., Kuete V., &Bakowsky U. (2017).Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* .; 12 (10):239-270).

Elhenawy W., Tsai C. N., &Coombes B. K. (2019). Host-specific adaptive diversification of Crohn's disease-associated adherent-invasive Escherichia coli. *Cell host & microbe*.; 25(2):301-312.

- Fabris S., Bertelle M., Astafyeva O., Gregoris E., Zangrando R., Gambaro A., ...&Stevanato R. (2013). Antioxidant properties and chemical composition relationship of Europeans and Brazilians propolis. *Pharmacology & Pharmacy.*; 4(01): 46.
- Fang W., Lin X., Wang J., Liu Y., Tao H., & Zhou X. (2016).Asperpyrone-type bis-naphtho- γ -pyrones with COX-2-inhibitory activities from marine-derived fungus *Aspergillusniger*. *Molecules,* ; 21(7) : 941.
- Ferradji A. (2010). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus.* ; 20(14) :52-71
- Fischer E &Kazatchkine M. (1993). Rôle du complément dans la réaction inflammatoire. ;24 (4) : 347.
- FitzGerald G. A. (2004). Coxibs and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine.*; 351(17): 1709-1711.
- Franchin M., Freires I. A., Lazarini J. G., Nani B. D., da Cunha M. G., Colón D. F., ... &Rosalen, P. L. (2018). The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. *European journal of medicinal chemistry.*; 153:49-55.
- Friedrich P. (2010). l'élevage des abeilles, *Artimés France.*; 21(5): 22.
- Fu Z. Y., Jin Q. H., Qu Y. L., &Guan L. P. (2019). Chalcone derivatives bearing chromen or benzo [f] chromen moieties: design, synthesis, and evaluations of anti-inflammatory, analgesic, selective COX-2 inhibitory activities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.*;29(15):1909-1912.
- Funakoshi-Tago M., Okamoto K., Izumi R., Tago K., Yanagisawa K., Narukawa Y., ...& Tamura H. (2015). Anti-inflammatory activity of flavonoids in Nepalese propolis is attributed to inhibition of the IL-33 signaling pathway. *International Immunopharmacology.*; 25(1):189-198.
- Gaillard A. (2014). Emotional pain, physical pain Neurobiological mechanisms and treatment. *Annales Méd Psy.* ;172(85) : 104-107.
- Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.*;3(4): 162-169.

- Gomez Estrada H. A., Gonzalez Ruiz K. N., & Domingo Medina J. (2011). Anti-inflammatory activity of natural products. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.*; 10(3): 182-217.
- Govindappa M., & Poojashri M. N. (2011). Antimicrobial, antioxidant and *in vitro* anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy.*; 3(3): 43-51.
- Grant N. H., Alburn H. E., & Kryzanas C. (1970). Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs. *Biochemical pharmacology.*; 19(3): 715-722.
- Gunathilake K. D. P. P., Ranaweera K. K. D. S., & Rupasinghe H. (2018). *In Vitro* Anti-Inflammatory Properties of Selected Green Leafy Vegetables. *Biomedicines.*; 6(4): 107.
- Gupta A. K., Parasar D., Sagar A., Choudhary V., Chopra B. S., Garg R., & Khatri N. (2015). Analgesic and anti-inflammatory properties of gelsolin in acetic acid induced writhing, tail immersion and carrageenan induced paw edema in mice. *PloS one.*; 10(8): 1-10
- Habbes C., 2016. Non-opioid analgesics Pharmacology hatter R.R., Tarhouni S., Kharrat R. (2011). Screening of the anti-inflammatory and analgesic effect of seaweeds from the Mediterranean Sea. *Archs Inst Pasteur Tunis. J HerbMedPharmacol.*; 4(1): 29-34.
- Habib M., & Waheed I. (2013). Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanolic extract. *Journal of ethnopharmacology.*; 145(1): 18-24.
- Henri C. (2012). une vie pour les abeilles, *rue de l'échiquier Paris.*; 4(2): 1-9.
- Huang M. H., Wang B. S., Chiu C. S., Amagaya S., Hsieh W. T., Huang S. S., ... & Huang G. J. (2011). Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii Fructus* extract. *Journal of Ethnopharmacology.*; 135(2): 545-552.
- Hudnall M. (2007). *Brevet Office des brevets et des marques des États-Unis. Journal of Korean medical science.*; 45(12): 123-139
- Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kujala T. S., & Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry.*; 47(10): 3954-3962.

- Kasote D., Suleman T., Chen W., Sandasi M., Viljoen A., & van Vuuren S. (2014). Chemical profiling and chemometric analysis of South African propolis. *Biochemical systematics and ecology.*: 55 (24):156-163.
- Kassab S E. (2018). Indomethacin from Anti-Inflammatory to Anticancer Agent. In *Medicinal ChemistryIntechOpen.*;12(6):32-45
- Kebsa W., Rouibah H., Lahouel M. (2015).Quercetin Protects Liver Cells and Mitochondria Against Doxorubicin Induced Oxidative Stress in Albinos' Rats. *Journal of Biologically Active Products from Nature.*;5(5): 331-338.
- Kerboeuf D., Riou M., &Guegnard F. (2008). Flavonoids and related compounds in parasitic disease control. *Mini reviews in medicinal chemistry.*;8(2): 116-128.
- Kindt T.J., Goldsby R.A., Osborne B.A. (2008).Immunologie.lecours de janiskuby
- Koc A. N., Silici S., Mutlu-Sariguzel F., &Sagdic O. (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology.*; 45(1): 57-61.
- Kouakou S., Kouakou G., Laba I. D., & Brou J. (2010). Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait aqueux des feuilles de *MitracarpusscaberZucc* (Rubiacées), une plante médicinale de Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* ; 4(2) :1-6
- Kouakou-Siransy G., Sahpaz S., Irié-Nguessan G., Datte Y. J., Kablan J., Gressier B., & Bailleul F. (2010). Oxygen species scavenger activities and phenolic contents of four West African plants. *Food Chemistry.*; 118(2): 430-435.
- Kumar B. A., Lakshman K., Jayaveera K. N., Murgan C. V., Kumar P. A., Kumar R. V., & Sridhar S. M. (2010). Pain management in mice using methanol extracts of three plants belongs to family Amaranthaceae. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.*; 3(7): 527-530.
- Kumar M., Shek A., & Akbar Z. (2010). A review on analgesic from natural sources. *Int J Pharm Biol Arch.* ;2(1) : 95-100.
- Kumazawa S., Hamasaka T., & Nakayama T. (2004).Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food chemistry.*; 84(3): 329-339.

- Lahouel M., Boutabet K., Kessa W., Alyane M. et (2011). La fraction polyphénolique de la propolis algérienne protège le rein du rat contre le stress oxydatif aigu induit par la doxorubicine. *Journal indien de néphrologie* ; 21 (2) : 101.
- Laroche F., Doubrere J.F., and Soyeux E. (2008). Vivre avec des douleurs—neuropathiques. Editions Scientifiques L&C. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. ;4(2) : 8
- Laroche F. (2014). Douleur chronique Thérapies comportementales et cognitives. *Annales Médico-Psychologiques . Phytothérapie*. ;172 : 132-135.
- Le Bars D., & Adam F. (2002, April). Nocicepteurs et médiateurs dans la douleur aiguë inflammatoire. In *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* . ;21(4) :315-335.
- Lee I. O., & Jeong Y. S. (2002). Effects of different concentrations of formalin on paw edema and pain behaviors in rats. *Journal of Korean medical science*.; 17(1): 81.
- Libby P. (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev.*; 65 (24): 6-140.
- Losson, H., Schnekenburger, M., Dicato, M., & Diederich, M. (2016). Natural compound histone deacetylase inhibitors (HDACi): synergy with inflammatory signaling pathway modulators and clinical applications in cancer. *Molecules*.;21(11):1608.
- Machado B. A. S., Silva R. P. D., de Abreu Barreto G., Costa S. S., da Silva D. F., Brandao H N., ... & Padilha F. F. (2016). Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. *PLoS One*. ; 11(1) :145-158.
- Mansour S. (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales *Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Assoet Hypericum scabroides- Etude in vivo-*. (2015). In-vitro anti-inflammatory activity of seed extract of Zea Mays (L.). *J Global Bio Sci*. ; 4(5) :2168-2184.
- Maroon JC, Bost JW et Maroon A. (2010). Agents anti-inflammatoires naturels pour soulager la douleur. *Neurologie chirurgicale internationale* . ;2 (1) :6-15

Mendonça A, Abramovic H, Polak T. (2015). Les propriétés chimiques et antioxydant et les activités antimicrobiennes de propolis slovènes. *Chimie et biodiversité.* ; 9 (8) : 1545-1558

Mizushima Y., & Kobayashi M. (1968). Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* ;20(3) : 169-173.

Monassier, L. (2005). Les anti-inflammatoires stéroïdiens. *Pharmacologie Clinique DCEM3.* ;2(1) :11-34

Moraes C. S., Dausch A., Li, H., Rhim J. S., & Park Y. K. (2010). Comparative antiproliferation of human prostate cancer cells by ethanolic extracts of two groups of Brazilian propolis. *Food Science and Technology.*;30(2): 539-543

Moreira L., Dias L. G., Pereira J. A., & Estevinho L. (2008). Antioxydant properties total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical toxicology.*; 46(11): 3482-3485.

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

Mujumdar A. M., & Misar A. V. (2004). Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *Journal of ethnopharmacology.*; 90(1): 11-15.

Naito Y., Yasumuro M., Kondou K., & Ohara N. (2007). Antiinflammatory effect of topically applied propolis extract in carrageenan-induced rat hind paw edema. *Phytotherapy Research An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives.*;21(5):452-456.

Ndiaye M., Gy, S. Y., Dièye A. M., Touré M. T., & Faye B. (2006). evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'*annonareticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm Méd Trad Afr.* ;14 : 179-186.

Nehme C. (2006). La douleur neuropathique : Un défi pour les soignants. *Inf MSC.* ; 2006 : 4

Norata G. D., Marchesi P., Passamonti S., Pirillo A., Violi F., & Catapano A. L. (2007). Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of catechin, caffeic acid and trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice. *Atherosclerosis.*; 191(2): 265-271.

- Nourshargh S., Krombach F., and Dejana E. (2006). The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. *Journal of Leucocyte Biology.*;80:714-718.
- Oršolić N. (2010). A review of propolis antitumor action in vivo and in vitro. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science.*; 2(1): 1-20.
- Oscier C. D., & Milner, Q. J. W. (2009). Peri-operative use of paracetamol. *Anaesthesia.* ;64(1) : 65-72.
- Ouédraogo N., Lompo M., Sawadogo R.W. Tibiri A., Hay A.E., Koudou J., Dijoux M.G., Guissou, I.P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpuserinaceus* Poir. (*Fabaceae*). *Phytothérapie.* ; (10) : 286–292.
- Parandin R., & Daroogari S. (2011). Activités anti-inflammatoires et antinociceptives de l'extrait éthanolique de propolis chez la souris et le rat mâles. *Zahedan Journal de recherche en sciences médicales.* ;(75) :314-327.
- Patnaik A., Kodati D., Pareta S., Patra K., Harwansh R. (2011). *Buchanania lanzan* is a pharmacognostic miracle herb. *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* ; 7(3): 168- 182.
- Paulino N., Teixeira C., Martins R., Scremin A., Dirsch V. M., Vollmar A. M., & Marcucci M. C. (2006). Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a Brazilian green propolis. *Planta Medica.*; 72(10): 899-906.
- Perrot S., Poulain P., Serrie A., Eschalier A., Mick G., Langley P., Pomerantz D., and Ganry H. (2013). Description des prescriptions de traitements pharmacologiques à visée antalgique et de leur observance en France résultats de l'étude épidémiologique *National Health and Wellness Survey* réalisée. ; 14 (3) : 119-130..
- Piccinelli A. L., Mencherini T., Celano R., Mouhoubi Z., Tamendjari A., Aquino R. P., & Rastrelli L. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Algerian propolis. *Journal of agricultural and food chemistry.*; 61(21):5080-5088.

Popova M. P., Chinou I. B., Marekov I. N., & Bankova V. S. (2009). Terpenes with antimicrobial activity from Cretan propolis. *Phytochemistry*.; 70(10): 1262-1271.

Popova M., Bankova V., Butovska D., Petkov V., Nikolova-Damyanova B., Sabatini A. G., ...& Bogdanov S. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis. An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*.; 15(4): 235-240.

Radat F. (2014). Stress et douleur. *Annales Médico-Psychologiques*. ; 172(67) : 108-110

Rahman S., Asgary S., G. Askari M. Keshvari M. Hatamipour M., A. Feizi et A. Sahebkar (2016). Traitement de la curcumine dans les stéatoses hépatiques non alcooliques: Un essai contrôlé par placebo et randomisé. *Phytotherapy Research* .; 30 (9): 1540-1548.

Rebiai A. B. D. E. L. K. E. R. I. M., Lanez T. O. U. H. A. M. I., & Belfar M. L. (2014). Total polyphenol contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis. *Int J PharmPharmSci*. ; 6(1) : 395-400.

Riahi R. C., Tarhouni S., & Kharrat R. (2012). Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. *Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*.; 45(18): 3425-3437

Righi A. A., Alves T. R., Negri G., Marques L. M., Breyer H., & Salatino A. (2011). Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.; 91(13): 2363-2370.

Rimbach G., Fischer A., Schloesser A., Jerz G., Ikuta N., Ishida Y., & Terao K. (2017). Anti-Inflammatory Properties of Brazilian Green Propolis Encapsulated in a γ -Cyclodextrin Complex in Mice Fed a Western-Type Diet. *International journal of molecular sciences*.; 18(6): 1141-1153.

Rossi A., Ligresti A., Longo R., Russo A., Borrelli F., & Sautebin L. (2002). The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine*.; 9(6): 530-535.

Roulet L., Luthy C., Garin N., Di Polina., De Gold L., Zoccatelli D., Escher Imohf M., Desmeules J., and Piguet V. (2007). Rotation des opioïdes de la théorie à la pratique. *Med Suisse*. ; 7(12) : 1400-6

- Rousselet M., Vignaud J. M., Hofman P., & Chatelet F. P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire. *Copyright AFECAP.* ;4(16) : 1-75.
- Sagar M. K., & Upadhyaya K. (2010). Anti-inflammatory activity of root of *Dalbergiasissoo* (Rox. b) in carrageenan-induced paw edema in rats. *Pharmacognosy Journal.*; 2(11): 427-430.
- Saini N. K., & Singha M. (2012). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of methanolic *Tecomariacapensis* leaves extract. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine.*; 2(11): 870-874.
- Salim E. I., Farara K. M., & Maria D. S. (2015). Antitumoral and antioxidant potential of Egyptian propolis against the PC3 prostate cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev.*; 16(17):41-59
- Sawaya A.C., Abdelnur P.V., Eberlin M.N., et al. (2010). Fingerprinting of propolis by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. *Talanta.*; 81(48): 100–8.
- Sawicka D., Car H., Borawska M. H., & Nikliński J. (2012). The anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica et Cytobiologica.* ;50(1): 25-37.
- Sayed SM., Abou El-Ella GA., Wahba NM., El Nisr NA., Raddad K., Abd El Rahman MF., et Abd El Fattah Aamer A. (2009). Défense immunitaire de rats immunisés avec du miel de fenouil, de la propolis et du venin d'abeille contre l'infection induite par le staphylocoque. *Journal of medicinal food.* ; 12 (3) : 569-575.
- Sforcin JM (2007). La propolis et le système immunitaire: un bilan. *Journal of ethnopharmacology.* ; 113 (1): 1-14.
- Sharma LK, Sirdesai NN, Sharma KM et Singh TN. (2018). Etude expérimentale pour examiner les rôles indépendants de la chaux et du ciment sur la stabilisation d'un sol de montagne: une étude comparative. *Applied Clay Science.* ; 152(59) : 183-195..
- Silva R. H., Lima N. D. F. M., Lopes A. J., Vasconcelos C. C., de Mesquita J. W., de Mesquita L. S., ... & Garcia J. (2017). Antinociceptive Activity of *Borreria verticillata*: *In vivo* and *In silico* Studies. *Frontiers in pharmacology.*; 8(3): 283-290.

- Silva-Carvalho R., Miranda-Gonçalves V., Ferreira A. M., Cardoso S. M., Sobral A. J., Almeida-Aguiar C., & Baltazar F. (2014). Antitumoural and antiangiogenic activity of Portuguese propolis *in vitro* and *in vivo* models. *Journal of functional foods*.; 11(9): 160-171.
- Simone-Finstrom M., & Spivak M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*.; 41(3): 295-311.
- Singh A., Malhotra S., & Subban R. (2008). Anti-inflammatory and analgesic agents from Indian medicinal plants. *International journal of integrative biology*.; 3(1): 57-72.
- Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hraš A. R., Simonič M., & Knez Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*.; 89(2): 191-198.
- Smith H. S. (2009). Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. *Pain physician*.; 12(1): 269-280.
- Sofidiya MO, Odukoya OA, Adedapo AA, Mbagwu HOC, Afolayan AJ et FAMILONI OB (2010). Etude des activités anti-inflammatoires et antinociceptives de *Hymenocardia acida* Tul (Hymenocardiaceae). *African Journal of Biotechnology* .; 9 (49): 8454-8459.
- Sowemimo A., Onakoya M., Fageyinbo M. S., & Fadoju T. (2013). Studies on the anti-inflammatory and anti-nociceptive properties of *Blepharismaderaspatensis* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*.; 23(5): 830-835.
- Tan-No K., Nakajima T., Shoji T., Nakagawasai O., Nijima F., Ishikawa M., ... et Tadano T. (2006). Effet anti-inflammatoire de la propolis par l'inhibition de la production d'oxyde nitrique sur l'œdème de la patte de souris induit par la carraghénine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* .; 29 (1) : 96-99.
- Tiveron A. P., Rosalen P. L., Franchin M., Lacerda R. C. C., Bueno-Silva B., Benso B., ... & de Alencar S. M. (2016). Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. *PLoS One*.; 11(11): 165-185.
- Trusheva B., Popova M., Bankova V., Simova S., Marcucci M. C., Miorin P. L., ... & Tsvetkova I. (2006). Bioactive constituents of Brazilian red propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.; 3(2): 249-254.

- Valente M. J., Baltazar A. F., Henrique R., Estevinho L., & Carvalho M. (2011). Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology*.; 49(1): 86-92.
- Van Den Hoogen N. J., de Kort R., Allegaert K. M., Joosten B. A., Simons S. H., Tibboel D., & van den Bosch G. E. (2019). Developmental neurobiology as a guide for pharmacological management of pain in neonates. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. ;8(2):1325-1339
- Vijay P., & Vijayvergia R. (2010). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activity of *Cissus quadrangularis*. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*.; 2(1): 111-118
- Vit P., Huq F., Barth O. M., Campo M., Pérez-Pérez E. M., Tomás-Barberán F. A., & Santos E. L. (2015). Use of propolis in cancer research. *BJMMR*.; 8(2): 88-109.
- Wang K., Zhang J., Ping S., Ma Q., Chen X., Xuan H., ...& Hu F. (2014). Anti-inflammatory effects of ethanol extracts of Chinese propolis and buds from poplar (*Populus canadensis*). *Journal of Ethnopharmacology*.; 155(1): 300-311.
- Watanabe M. A. E., Amarante M. K., Conti B. J., & Sforcin J. M. (2011). Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.; 63(11): 1378-1386.
- Winter CA, Risley EA et Nuss GW. (1962). Œdème induit par la carraghénine dans la patte postérieure du rat comme dosage des anti-inflammatoires. *Actes de la société de biologie expérimentale et de médecine* . ; 111 (3) : 544-547.
- Woźniak M., Mrówczyńska L., Waśkiewicz A., Rogoziński T., & Ratajczak I. (2019). Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Propolis Extracts From Poland. *Natural Product Communications*. ; 14(5) : 193-198
- Wrobel J. (2003). Aspects psychologiques de la douleur chronique. Paris : *Institut UPSA de la douleur*. ;20(6) :155 -160
- Wu G. H., Hu T., Li Z. Y., Huang Z. L & Jiang J. G. (2014). *In vitro* antioxidant activities of the polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) *Sing. Food chemistry*.;148(6): 351-356.

Yin W., Wang T. S., Yin F. Z., &Cai B. C. (2003). Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine and brucine N-oxide extracted from seeds of *Strychnosnux-vomica*. *Journal of ethnopharmacology*. ; 88(2-3) : 205-214.

Zabaiou N., Fouache A., Trousson A., Baron S., Zellagui A., Lahouel M., &Lobaccaro J. M. A. (2017). Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*.;207(4): 214-222.

Zakaria Z. A., Rahim A., Hafiz M., Roosli R. A. J., Sani M., Hijaz M., ...&Ching S. M. (2018). Antinociceptive activity of methanolic extract of *Clinacanthusnutans* leaves: Possible mechanisms of action involved. *Pain Research and Management* . ;7 (10) :1-15



Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antalgique de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel.

Résumé

Le traitement de l'inflammation et de la douleur repose principalement sur l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) mais ces derniers présentent des effets indésirables considérables. Le but de notre travail est d'évaluer l'effet anti-inflammatoire et antalgique de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) de Jijel *in vitro* et *in vivo*. Les résultats montraient que l'EEP possède un effet anti-inflammatoire par : 1) l'inhibition de la dénaturation des protéines et de l'action des protéases au même niveau que le diclofénac du sodium, 2) l'inhibition de 52,27±0,07 % de l'œdème induit par l'injection de la carragénine au niveau de la patte des souris, à une dose à égale à 25 mg/kg administrée par voie orale. Un effet antalgique par 1) l'inhibition de 97,77 % à une dose de 25 mg/kg des torsions et crampes abdominales induites par l'injection IP de l'acide acétique, 2) l'inhibition des léchages et étirement de patte induits par injection au niveau de l'aponévrose plantaire du formaldéhyde à 77,84 % et 90,74 % à la dose de 25 mg/kg en phase 1 et 2 respectivement. Ces résultats montraient que l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel constitue un bon anti-inflammatoire et antalgique naturel.

Mots clés : Propolis, inflammation, douleur, anti-inflammatoire, antalgique.

Abstract

The treatment of inflammation and pain is mainly based on the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), but these drugs have considerable side effects. The aim of our work is to evaluate the anti-inflammatory and analgesic effect ethanolic extract of Jijel propolis (PEE) *in vitro* and *in vivo*. The results showed that PEE has an anti-inflammatory effect by: 1) inhibition of protein denaturation and protease action at the same level as sodium diclofenac, 2) inhibition of 52,27 ± 0.07 % of the paw edema induced by the injection of carrageenan in mice at a dose equal to 25 mg/kg administered orally. An analgesic effect by 1) inhibition of 97.77 % at a dose of 25 mg/kg of abdominal twists and cramps induced by IP injection of acetic acid, 2) inhibition, of induced licking and leg stretching by injection of formaldehyde at the plantar fascia, at 77.84% and 90.74% at the dose of 25 mg/kg of the phase 1 and 2 respectively.

These results showed that the ethanolic extract of Jijel propolis is a good natural anti-inflammatory and analgesic.

Key words: Propolis, inflammation, pain, anti-inflammatory, analgesic.

ملخص

يعتمد علاج الالتهاب والألم بشكل أساسي على استخدام العقاقير المضادة للالتهاب غير الستيرويدية (مضادات الالتهاب غير الستيرويدية)، والتي لها آثار جانبية كبيرة. الهدف من عملنا هو تقييم التأثير المضاد للالتهابات والمسكن للألم للمستخلص الأيثانولي لبروبوليس جيجل في المختبر وفي الجسم الحي. أظهرت النتائج أن المستخلص له تأثير مضاد للالتهاب من خلال :

- 1) تثبيط البروتينات وعمل البروتياز في نفس مستوى ديكلوفيناك الصوديوم.
 - 2) تثبيط تأثير الوذمة الناجمة عن حقن الكاراجينين على مستوى أرجل الفئران بنسبة 52.27 ± 0.07 % التي عولجت ب 25 ملغ / كغ من المستخلص عن طريق الفم . وله تأثير مسكن للألم من خلال :
 - 1) تثبيط 97.77 % من التقلبات والتشنجات البطنية الناتجة عن حقن حمض الخل و الذي يتم معالجته ب 25 مغ / كغ من مستخلص البروبوليس .
 - 2) تثبيط لعق وتمدد الساق بنسبة 77.84 % و 90.74 % في المرحلة 1 و 2 على التوالي، بعد حقن الفورمالدهيد في اللقافة الأخصوية التي تم معالجتها بمستخلص البروبوليس بجرعة 25 ملغ / كغ.
- أظهرت هذه النتائج أن مستخلص الإيثانول من البروبوليس هو مضاد طبيعي للالتهابات ومسكن للألم. الكلمات المفتاحية: المستخلص الإيثانولي للبروبوليس، التهاب، ألم، مضاد الالتهاب، مسكن الألم.