

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITÉ DE SAAD DAHLEB BLIDA 1**

Faculté de technologie

Département de Génie des Procédés

Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention du

diplôme de Master

Option : Pharmacie Industrielle

L'optimisation de la formulation d'un complément alimentaire à  
base de propolis

**Réalisé par le binôme :**

Regue Farah

Ghemaid Nassima

**Encadré par :**

Zermane Faiza

Cheknane Ben amar

**2022/2023**

# Remerciements

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements pour le rôle crucial qu'a tenu notre promotrice Docteur Zermane Faiza pour l'accomplissement de ce projet. Son expertise, son encadrement et ses conseils avisés ont été d'une valeur inestimable tout au long de ce parcours académique. Son dévouement, son soutien et sa disponibilité ont grandement contribué à la réussite de notre travail de recherche.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers notre co-promoteur, Docteur Cheknane Ben Amar, pour sa précieuse contribution et son soutien dans l'avancement de notre mémoire. Son expertise complémentaire et ses suggestions pertinentes ont enrichi notre travail et ont été d'une grande aide pour atteindre nos objectifs.

Nous sommes également honorés d'avoir eu l'opportunité de travailler avec notre cher collègue Ouahib Brahim, et nous sommes reconnaissantes pour son investissement exceptionnel à notre projet. Sa participation active et ses compétences ont véritablement fait la différence dans ce travail.

Nous aimerions également adresser nos remerciements à Madame Guellour, Monsieur Boutoumi, Madame Laribi, Madame Ait Mesbah, ainsi qu'à tous nos professeurs du département Génie des Procédés pour leur savoir et leur participation dans le développement de ce projet.

Enfin, nous tenons à témoigner notre reconnaissance envers l'ensemble des collaborateurs de l'entreprise Biopharm et du laboratoire "Chimie physique des interfaces des matériaux appliqués à l'environnement". Leur esprit d'équipe, leur support mutuel et leur ambiance de travail conviviale ont créé un cadre stimulant et propice à l'épanouissement de nos recherches.

## ***Dédicaces***

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tout ceux qui me sont chers ;*

*A mon cher père, dont l'amour, le soutien et les encouragements constants ont été une source inépuisable d'inspiration. Ta présence bienveillante, tes conseils éclairés et ton dévouement sans faille ont été des piliers essentiels dans ma vie et dans la réalisation de ce mémoire. Je suis profondément reconnaissante pour les valeurs que tu m'as transmises, ton soutien inconditionnel et ta confiance en moi.*

*A ma chère mère, dont l'amour inconditionnel, la bienveillance et le soutien sans faille ont été mes sources de force et de motivation. Je suis profondément reconnaissante pour tes sacrifices, ta patience et ton dévouement à mon égard. Tu m'as toujours soutenue dans mes aspirations, m'encourageant à poursuivre mes rêves avec confiance et détermination.*

*Que ce travail traduit ma gratitude, ma reconnaissance et mon affection Je vous remercie d'avoir été toujours à mes côtés  
Je vous aime très fort,*

*A mon grand frère Karim , Et à Mon petit frère Abdou ;  
Vous comptez énormément pour moi, je vous aime et je vous souhaite tout le succès et le bonheur du monde,*

*A toute ma grande famille, mes tantes , mes oncles, mes cousins et cousines Et en particulier ma chères tante Naima ;  
Et mes adorables cousines khouloud et chahinez ;*

*A farah mon binôme et ma chère amie, avec qui j'ai partagé ce travail et qui m'a soutenue et encouragée pendant tous les moments difficiles vécus ;*

*A ma chère amie Fatiha pour son soutien et sa présence tout long de mon travail*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à ma chère amie Amina pour son soutien, Merci d'avoir été là pour moi .*

*Enfin, Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers moi-même pour avoir cru en moi et en mes capacités .*

***NASSIMA***

## ***Dédicaces***

*Je tiens à dédier ces mots empreints de gratitude et d'affection : À ma mère, tu as été ma source d'inspiration et ma guide. Ton amour, ta sagesse et tes encouragements inépuisables m'ont donné la force et la confiance nécessaires pour persévérer dans mes efforts. Je te suis infiniment reconnaissante pour tout ce que tu as sacrifié et investi pour mon bonheur et ma réussite.*

*A mon père, ta bienveillance, ton soutien inconditionnel et ta sagesse ont été mes repères tout au long de mon parcours. Je te suis profondément reconnaissante pour ta présence rassurante et tes conseils avisés. À ma sœur bien-aimée et mon frère attentionné, vos encouragements sincères et votre amour inconditionnel m'ont donné la force de surmonter les obstacles et de viser l'excellence. Je suis honorée d'avoir des personnes aussi merveilleuses dans ma vie.*

*À ma tante bienveillante, tu es une source d'inspiration et de soutien constant. Merci d'avoir été à mes côtés pendant les moments difficiles. À mes collègues Kamel, Yousäira, Meriem, Nihel, Lamia, Mustapha et Mohamed votre participation, votre amitié et votre gentillesse ont été d'une valeur inestimable. Vos encouragements, vos idées et votre soutien mutuel ont contribué à mon épanouissement professionnel et à la réussite de mon travail. Enfin, A ma chère Binôme Nassima, tu as toujours été là pour m'encourager, me pousser à donner le meilleur de moi-même et me rappeler de croire en mes capacités. Ta gentillesse, ton enthousiasme et ta positivité ont illuminé nos journées de travail.*

*tu es devenue bien plus qu'une simple partenaire de travail, tu es devenue une amie précieuse.*

*J'espère que cette collaboration ne s'arrêtera pas ici et que nous pourrons continuer à avancer ensemble vers de nouveaux horizons.*

***Farah***

## ملخص

تهدف هذه الأطروحة لتحسين صياغة المكمل الغذائي المستند إلى البروبوليس الخام. الهدف هو تطوير صياغة فعالة وطبيعية بالكامل. تشمل الخطوة الأولى من الدراسة التوصل إلى توصيف شامل للبروبوليس الخام لتقييم خصائصه. تم تطوير صيغتين من خلال تغيير نسب البروبوليس الخام وإضافة المواد الأخرى مثل النبرون ونشا الأرز و سوربيتول ومالتودكسترين. تم دراسة هذه المزيجات لتقييم توافقها واستقرارها. تم تقييم الخصائص البيولوجية للبروبوليس الخام و الصياغات النهائية، بما في ذلك النشاطات المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والمضادة للميكروبات. أظهرت النتائج آثارًا واعدة، مما يؤكد إمكانات البروبوليس الخام كعنصر فعال في المكمل الغذائي. تم إجراء تحليلات صيدلانية على أقراص الصيغة النهائية، بما في ذلك اختبارات الذوبان لتقييم إطلاق المكونات الفعالة. أكدت النتائج جودة وأداء الأقراص المصنوعة.

الكلمات الرئيسية: مكمل غذائي، بروبوليس خام، صياغة، توصيف، نشاطات بيولوجية، تحاليل صيدلانية.

# Abstract

This thesis aims to optimize the formulation of a propolis-based dietary supplement that is 100% organic. The objective is to develop an effective and completely natural formulation. The first step of the study involves a comprehensive characterization of raw propolis to assess its properties. Two formulations were developed by varying the proportions of raw propolis and adding excipients such as buckthorn, rice starch, sorbitol, and maltodextrin. The resulting mixtures were studied to evaluate their compatibility and stability. The biological activities of raw propolis and the final formulations were evaluated, including antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities. The results showed promising effects, demonstrating the potential of raw propolis as an active ingredient in the dietary supplement. Pharmacotechnical analyses were conducted on the tablets of the final formulation, including dissolution tests to assess the release of active ingredients. The results confirmed the quality and performance of the formulated tablets.

Keywords: dietary supplement, raw propolis, formulation, characterization, biological activities, pharmacotechnical analyses.

# Résumé

Ce mémoire de fin d'étude vise à optimiser la formulation d'un complément alimentaire à base de propolis brute, l'objectif est de développer une formulation efficace et entièrement naturelle.

La première étape de l'étude consiste en la caractérisation approfondie de la propolis brute, afin d'évaluer ses propriétés, les deux formulations ont été développées en variant les proportions de propolis brute et en ajoutant les excipients tels que le nerprun, l'amidon de riz, le sorbitol et la maltodextrine. Les mélanges ainsi obtenus ont été étudiés pour évaluer leur compatibilité et leur stabilité, les activités biologiques de la propolis brute et des formulations finales ont été évaluées. Les résultats ont montré des effets prometteurs, démontrant le potentiel de la propolis brute en tant que principe actif dans le complément alimentaire, des analyses pharmaco techniques ont été réalisées sur les comprimés de la formulation finale, notamment des tests de dissolution pour évaluer la libération des principes actifs.

Les résultats ont confirmé la qualité et la performance des comprimés.

Mots-clés : complément alimentaire, propolis brute, formulation, caractérisation, activités biologiques, analyses pharmacotechniques.

## LISTES DES FIGURES

<b>Figure I.1:</b> Récolte de la propolis.....	5
<b>Figure I.2 :</b> Propolis grattée des cadres.....	6
<b>Figure I.3:</b> Composition de la propolis.....	7
<b>Figure I.4:</b> Structure chimique de flavonoïdes.....	10
<b>Figure I. 5:</b> Structure chimique de l'acide benzoïque .....	11
<b>Figure I.6 :</b> Structure chimique de l'acide cinnamique.....	11
<b>Figure I.7 :</b> Les différentes catégories de comprimés spéciaux.....	19
<b>Figure II.1 :</b> La propolis brute.....	31
<b>Figure II.2 :</b> Le Nerprun (Rhamnus alaternus).....	33
<b>Figure II.3 :</b> Les étapes de fabrication.....	44
<b>Figure II.4 :</b> la granulation.....	46
<b>Figure II.5 :</b> Réaction de réduction du radical libre DPPH.....	55
<b>Figure III .1 :</b> Distribution granulométrique [Essai 1].....	60
<b>Figure III .2.</b> Distribution granulométrique [Essai 2].....	60
<b>Figure III .3.</b> Distribution granulométrique [Essai 3].....	61
<b>Figure III .4.</b> Distribution granulométrique [Essai 8].....	61
<b>Figure III .5.</b> Distribution granulométrique [Essai 9].....	61
<b>Figure III .6 :</b> Distribution granulométrique [Essai 12].....	61
<b>Figure III .7.</b> Distribution granulométrique [Essai 13].....	62
<b>Figure III .8.</b> Distribution granulométrique [Essai 14].....	62
<b>Figure III .9.</b> Distribution granulométrique [Essai 1].....	62
<b>Figure III .10.</b> Distribution granulométrique [Essai 2].....	62
<b>Figure III .11.</b> Distribution granulométrique [Essai 3].....	63
<b>Figure III .12.</b> Distribution granulométrique [Essai 8].....	63
<b>Figure III .13.</b> Distribution granulométrique [Essai 9].....	63
<b>Figure III .14.</b> Distribution granulométrique [Essai 12].....	63
<b>Figure III.15.</b> Distribution granulométrique [Essai 13].....	63
<b>Figure III .16.</b> Distribution granulométrique [Essai 14].....	63
<b>Figure III.17 :</b> la solubilité de la propolis dans les différents solvants.....	69
<b>Figure III.18 :</b> Spectre IR de la Propolis brute.....	70
<b>Figure III.19 :</b> Spectre UV-Vis de la propolis brute .....	71
<b>Figure III.20 :</b> spectre IR de la formulation .....	74



<b>Figure.III.21</b> : spectre IR de la propolis brute .....	75
<b>Figure.III.22</b> : échantillon avant incubation et après incubation.....	76
<b>Figure.III.23</b> : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de la propolis.....	77
<b>Figure.III.24</b> : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations du Nerprun.....	78
<b>Figure III.25</b> :Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de la formulation à différents dosages.....	78
<b>Figure III.26</b> : Histogramme présentant les valeurs des concentrations inhibitrices de la propolis de nerprun et des deux formulations.....	79
<b>Figure III.27</b> :Histogramme présentant les pourcentages d'inhibition de la propolis brute, le Nerprun, la première formulation, la deuxième formulation et le Diclofénac.....	82
<b>Figure III.28</b> : Zone d'inhibition de la propolis brute contre <i>staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> respectivement.....	84
<b>Figure III.29</b> :Zone d'inhibition de la première formulation contre <i>staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> respectivement.....	84
<b>Figure III.30</b> :Zone d'inhibition de la deuxième formulation contre <i>staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> respectivement.....	84
<b>Figure III.31</b> :cinétique de dissolution des comprimés dans le milieu pH=6.8.....	85
<b>Figure III.32</b> : cinétique de dissolution des comprimés dans le milieu pH=4.5.....	85
<b>Figure III.33</b> :cinétique de dissolution des comprimés dans le milieu pH=1.2.....	88

## LISTES DES TABLEAUX

<b>Tableau I.1:</b> Composition globale de la propolis.....	8
<b>Tableau I.2 :</b> Les sucres alcooliques de la propolis.....	12
<b>Tableau I.3 :</b> Principales étapes des méthodes de fabrication de comprimés.....	23
<b>Tableau II.1 :</b> Les caractéristiques physico-chimiques de la propolis brute.....	32
<b>Tableau II.2 :</b> Les caractéristiques physico-chimiques de l'amidon de riz.....	34
<b>Tableau II.3 :</b> Les caractéristiques physico-chimiques du sorbitol.....	35
<b>Tableau II.4 :</b> Les caractéristiques physico-chimiques de la maltodextrine.....	36
<b>Tableau II.5 :</b> Matrice d'expériences en variables centrées et réduites de la première formulation .....	38
<b>Tableau II.6 :</b> Matrice d'expériences en variables centrées et réduites de la deuxième formulation .....	39
<b>Tableau II.7 :</b> les différents équipements de la fabrication.....	40
<b>Tableau II.8 :</b> les différents équipements utilisés pour la caractérisation.....	41
<b>Tableau II.9 :</b> Indice de Carr.....	48
<b>Tableau II.10:</b> Les conditions opératoires du test de dissolution.....	59
<b>tableau III.1.</b> les valeurs du D50 et Dmoy de la première formulation .....	64
<b>tableau III.2.</b> les valeurs du D50 et Dmoy de la deuxième formulation .....	65
<b>Tableau III.3 :</b> Résultats pharmaco-techniques de la première formulation .....	66
<b>Tableau III.4 :</b> Résultats pharmaco-techniques de la deuxième formulation .....	67
<b>Tableau III.5 :</b> Matrice d'optimum de la première formulation.....	68
<b>Tableau III.6 :</b> Matrice d'optimum de la deuxième formulation.....	68
<b>Tableau III.7 :</b> La solubilité de la propolis dans les différents solvants .....	69
<b>Tableau III.8 :</b> Résultats du test phytochimique .....	72
<b>Tableau III.9 :</b> Les valeurs d'IC50 des différents composés à tester.....	79
<b>Tableau III.10 :</b> Le pourcentage d'inhibition de chaque échantillon.....	81
<b>Tableau III.11:</b> Résultat de l'activité antibactérienne de la propolis brute et les deux formulations.....	83
<b>Tableau III.12:</b> Les résultats du contrôle pharmacotechnique de la première formulation...	86
<b>Tableau III.13 :</b> Les résultats du contrôle pharmaco-technique de la deuxième formulation	86

## **Introduction générale :**

*« Quand rien d'autre n'aide : Essayez la puissance de l'abeille » ... Paul Enders.*

La nature nous offre une importante variété des substances naturelles thérapeutiques (naturopathie) dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections. L'Apithérapie, méthode de soins naturels définie comme l'art de trait par l'abeille, est l'une des alternatives les plus anciennes et qui ensuite un regain d'intérêt certain pour ses différents vertus découverte, ce qui implique une bonne connaissance de l'abeille si en veut bénéficier de ces propriétés médicales [1].

Avec la découverte des bienfaits des produits de la ruche pour la science moderne, de nombreux praticiens médicaux s'intéressent à l'Apithérapie, et aux produits de l'abeille : miel, gelée royale, pollen, venin d'abeille et bien que la propolis comme produits de composition.

La propolis est l'un de premier de la liste, elle est l'un des rares remèdes à avoir prouvé son efficacité ce qui a fait sa popularité à travers les âges. Non seulement elle a passé l'épreuve du temps, mais elle bénéficie d'un regain d'intérêt aujourd'hui, grâce à ces propriétés à large spectre.

Ce produit de composition très variable présente des propriétés bénéfiques, vu son action inhibitrice ou destructrice se manifestant sur certains micro-organismes ou leurs toxines, son effet bio-actif à action polyvalente sur l'homme et l'animal. Cela sans générer de toxicité, même prise à forte dose [2].

L'homme a longtemps utilisé la propolis pour pallier ses besoins en matière de santé, et pour la conservation des aliments. Aujourd'hui on constate un regain d'intérêt pour cette matière, avec la découverte de ses propriétés pharmaceutiques, anti-oxydantes, antivirales, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, ou encore anti-tumorales (cancéreuses).

Dans le monde entier, de nombreuses études sont consacrées à la propolis, source importante de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes; divers substances de propolis récoltées de différente régions du monde ont été identifiées; dont les acides phénoliques, les flavones, les flavonols et les flavanones marquent leurs présence permanente (éléments standards de la propolis) [3].

Afin de structurer notre travail, nous optons pour le plan suivant, en commençant par une partie théorique qui comprend :

- Généralités sur la propolis.
- Les formes pharmaceutiques.
- Présentation des compléments alimentaires.
- Les travaux réalisés sur la propolis.

une deuxième partie qui consiste aux matériels et méthodes utilisés pour effectuer les différents tests. Cette partie sera suivie par un chapitre qui concerne la présentation des différents résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Nous finalisons par une conclusion générale qui englobe tous les résultats obtenus.

## **I.1. Généralités sur la propolis :**

La propolis est une substance produite par les abeilles, elle constitue un mélange de cire et de matériel botanique comme les bourgeons, les résines végétales. Elle est utilisée par les ouvrières pour colmater les trous et les fissures de leur ruche pour la protéger contre les conditions météorologiques défavorables et comme c'est une substance antiseptique, elle protège ainsi la ruche contre les contaminations bactériennes ainsi que les invasions étrangères [4].

La propolis est une matière première très étudiée et très utilisée de nos jours dans les secteurs alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

### **I.1.1. l'histoire de la propolis :**

Depuis l'antiquité, la propolis était employée comme moyen thérapeutique. Plus tard, les Égyptiens, les Perses, les Grecs, les Romains et même les Incas l'ont utilisée [5].

L'histoire atteste que les Égyptiens l'ont utilisée en médecine ainsi que pour embaumer les morts [6].

Les Romains et les Grecs l'utilisent également comme antiseptique et cicatrisant dans le traitement des plaies [7].

Durant la même période, les Incas employaient la propolis qu'agent anti pyrétique [8].

Les arabes connaissaient aussi la propolis. Abu Ali Ibn Sina (**Avicenne**) a parlé de deux sortes de cire: la cire propre et la cire noire, cette dernière étant probablement la propolis. Il a dit : « par sa forte odeur, elle fait éternuer... » et « Elle a la qualité de faire éliminer les pointes des flèches et des épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement » [9].

Les Géorgiens (ex URSS) l'utilisaient contre les inflammations de la cavité buccale et les caries dentaires [10].

Les ouvrages du Moyen Âge européen décrivent même les préparations médicales à base de propolis pour les traitements des maladies de la sphère ORL et de la respiration. Son activité anesthésiante reconnue permet à cette époque la chirurgie des fentes labiales chez l'enfant.

A la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, la propolis était en plein essor grâce à ses vertus médicinales, employée sous forme d'onguent, d'emplâtre, de lotion ou de fumigation. De nos jours, elle est utilisée surtout en Europe de l'est, au Brésil, en Asie et notamment au Japon [11].

Durant ces trente dernières années, des recherches analytiques, pharmacologiques et cliniques ont été effectuées.

Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire.

Elle est largement utilisée aussi dans la dermatologie et la cosmétique [12].

### **I.1.2. Définition et Etymologie de la propolis :**

La propolis ou colle d'abeille désigne un ensemble de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies sur certaines parties (**bourgeons et écorces essentiellement**) de certains arbres (**bouleaux, peupliers, chênes, saules, conifères etc..**) par les abeilles (**Apis mellifera**) butineuses, qui les rapportent à la ruche et qui les modifient par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (**cire et sécrétions salivaires**) [12].

Le mot Propolis est dérivé du grec dans lequel le morphème « Pro » signifie « devant » ou « à l'entrée de » et le morphème « polis » signifie « communauté » ou « ville », ce qui signifie substance de défense de la ruche [13].

D'où, son utilisation par les abeilles comme un moyen de défense contre les micro-organismes pathogènes, et pour embaumer les intrus qui peuvent entrer dans la ruche en empêchant leur décomposition [14].

Elle est donc responsable de la faible incidence des bactéries et moisissures à l'intérieur de la ruche [15].

### **I.1.3. Récolte de la propolis:**

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par l'abeille puis par l'apiculteur.

#### **A. Récolte de la propolis par les abeilles :**

Le nombre de butineuses, spécialisées dans la récolte des résines et la fabrication de la propolis est relativement restreint au sein d'une colonie d'abeilles [16].

Les ouvrières butineuses localisent la source de résines et triturent celle-ci avec leurs mandibules, les mélangent à d'autres substances de leurs propres sécrétions afin de fabriquer de la propolis. Une fois fabriquée, la propolis est transportée à la ruche dans les cornicules situés dans les pattes postérieures de l'abeille [16].

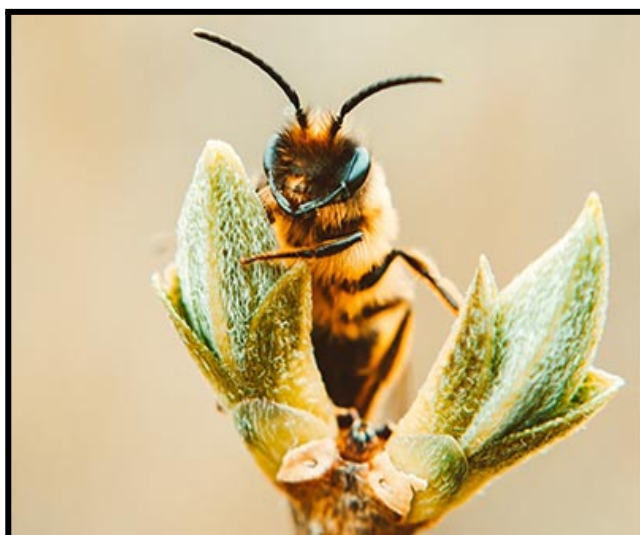
**a) Procédé de la récolte :**

Cette récolte s'effectue schématiquement de la façon suivante :

la butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source, qu'elle attaque alors avec ses mandibules, puis elle détache la particule saisie ;

elle l'entasse dans l'une des corbeilles de ses pattes postérieures (3<sup>ème</sup> paire) à l'aide de ses autres pattes pour accumuler ainsi progressivement une pelote (qui est en général plus petite qu'une pelote de pollen) qu'elle rapportera à la ruche ;

Au retour à la ruche, la butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, soit au trou de vol, soit le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée, opération assez longue qui peut durer d'une à plusieurs heures [17].



**Figure I.1:** Récolte de la propolis.

La quantité de propolis fabriquée dépend de la race d'abeille, de la flore butinée et de la saison. Au sein d'une même race, la quantité de propolis récoltée par les abeilles est de l'ordre de 100 à 300 g par ruche par an [16].

## **B. Récolte de la propolis par l'apiculteur:**

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

Par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence à une température assez basse, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux.

Par des grilles spécialement conçues à cet effet. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité [18].



**Figure I.2 :** Propolis grattée des cadres.

### **I.1.4. Condition de récolte :**

Cette récolte, dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons citer [17]:

**A. facteurs saisonniers :** la récolte a lieu, selon les cas, soit en début de saison, c'est-à-dire au printemps, mais le plus souvent et principalement à la fin de la miellée ou à l'approche de l'automne, au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage ;

**B.facteurs géographiques :** il a été constaté que les ruches situées dans les régions boisées récoltent plus que les ruches de plaines ;

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



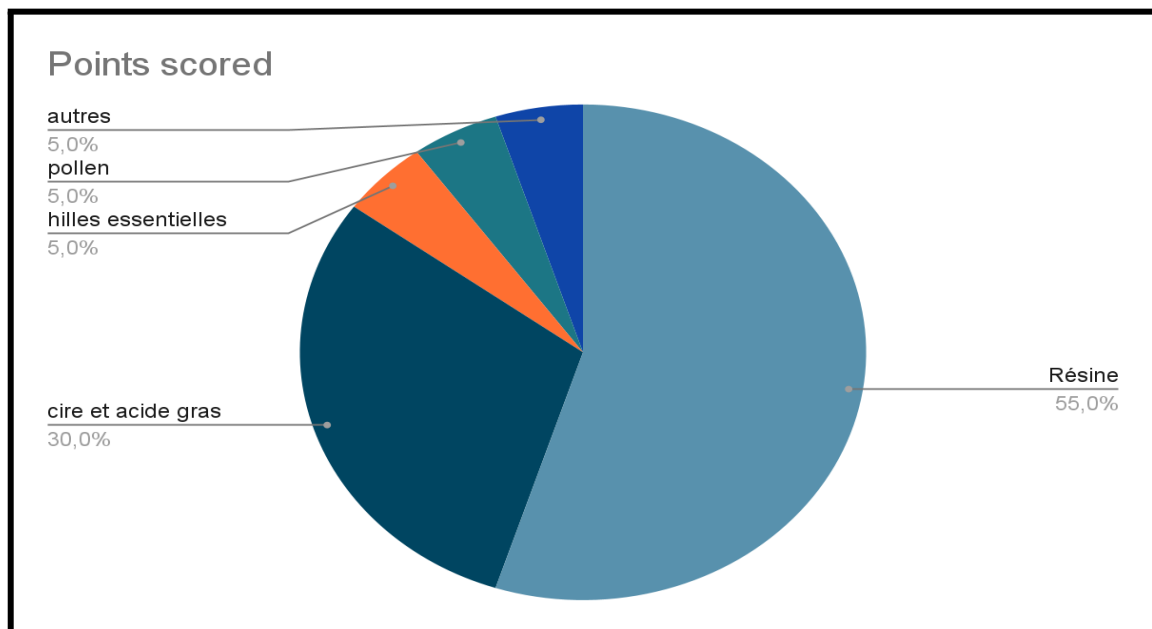
**D. facteurs liés à la race d'abeille :** c'est ainsi qu'il est reconnu que les Caucasiennes et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres.

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

### I.1.5. Composition:

#### A. Composition de la propolis brute :

La propolis est un mélange complexe composé de dérivés végétaux et de composés libérés par les abeilles. La proportion des différentes substances est variable et dépend du lieu et du moment de la collecte [18], mais en général, la propolis brute se compose d'environ 50% de résines, 30% de cires, 10% d'huiles essentielles, 5% de pollen et 5% de divers composés [13] (Figure I.3).



**Figure I.3:** Composition de la propolis.

La connaissance de la propolis a enregistré une évolution importante au fil du temps, en raison des études exhaustives concernant sa composition chimique et ses activités

biologiques. Dans les années 60, on a pensé que, malgré sa complexité, la composition chimique de la propolis était plus ou moins constante. Néanmoins, l'analyse d'un grand nombre d'échantillons provenant de différentes origines géographiques a révélé que la composition chimique de la propolis est très variable et difficile à standardiser. Cette composition dépend de différents facteurs tels que la végétation, la saison et les conditions environnementales du site de la collecte [20].

Il existe donc plus de 300 substances qui composent la propolis [14]. Généralement, les principaux constituants de la propolis sont la résine (baume de composés phénoliques et flavonoïdes ou de leurs esters) et les matières volatiles (les huiles essentielles), qui sont des substances obtenues à partir d'une variété de processus botaniques dans différentes parties des plantes, et de la cire d'abeille [21].

La composition grossière de la propolis rapportée par divers auteurs est indiquée dans le tableau ci-dessous :

**Tableau I.1:** Composition globale de la propolis [22].

<b>Parties de la propolis</b>	<b>Constituants par groupe</b>
<b>Résines et baumes</b>	45-55% Flavonoïdes, acides phénoliques et leurs esters
<b>Cire et acide gras</b>	20-30% Acide cinnamique, acides linoléiques, acides propanoïques.
<b>Huiles essentielles</b>	10% Produits volatils
<b>Pollen</b>	5% Protéines
<b>Autres composés et minéraux</b>	5% 14 minéraux à l'état de traces : Silice, Fe , Zn, (les plus communs) Ag, Cs, Hg, Sb Acide benzoïque et ses esters, vitamines, sucres, cétones, lactones, etc.

## **B. Composition de la propolis purifiée :**

L'origine botanique dont sera issue la propolis constitue le principal facteur responsable de sa composition spécifique. L'autre facteur sera les modifications générées à travers les sécrétions hypo phrygiennes de l'abeille qui vont apporter d'autres éléments spécifiques en plus de certaines transformations (hydrolyse des hétérosides de flavonoïdes en aglycone). Parmi les substances organiques et minérales constituant la propolis on retrouve beaucoup de flavonoïdes et autres dérivés phénoliques ainsi que leurs esters, des dérivés aromatiques volatils, des minéraux (fer, calcium, zinc, cuivre, manganèse) et des vitamines (C, E et du groupe B). La propolis contient également des sucres et des alcools de sucre [23]. Les composés phénoliques (appelés aussi polyphénols) semblent les plus dominants dans la composition de la propolis, en plus se sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis tels que l'activité antibactérienne [24], l'activité antioxydante [25]. D'après des études déjà réalisées, on peut classer les composants de la propolis dans les groupes suivants :

- Les polyphénols et les flavonoïdes ;
- Les acides aromatiques ;
- Les acides aliphatiques ;
- Les esters aromatiques ;
- Les sucres ;
- Les minéraux ;
- Les vitamines et autres composés.

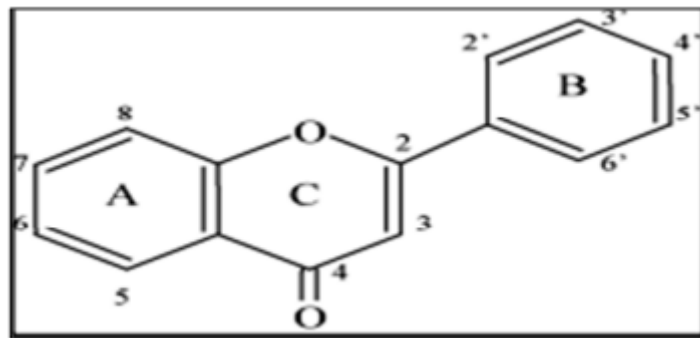
### **a) Polyphénols et flavonoïdes :**

Les polyphénols constituent un groupe important de substances naturelles largement répandues dans le règne végétal. On peut distinguer les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base [26]:

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques) ;
- Les flavonoïdes qui représentent la classe la plus abondante et la plus étudiée ;
- Les tanins et lignines ;
- Les plus rares, les coumarines et les stilbènes.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes (figure I.4) sont des substances organiques les plus abondantes dans la propolis. Ces composés organiques sont responsables des activités biologiques de la propolis et sa capacité de piéger les radicaux libres.

Les flavonoïdes du latin flavus, jaune, sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux. Ce qui confirme la théorie qui dit que la propolis est d'origine végétale. Les flavonoïdes sont répartis en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes.



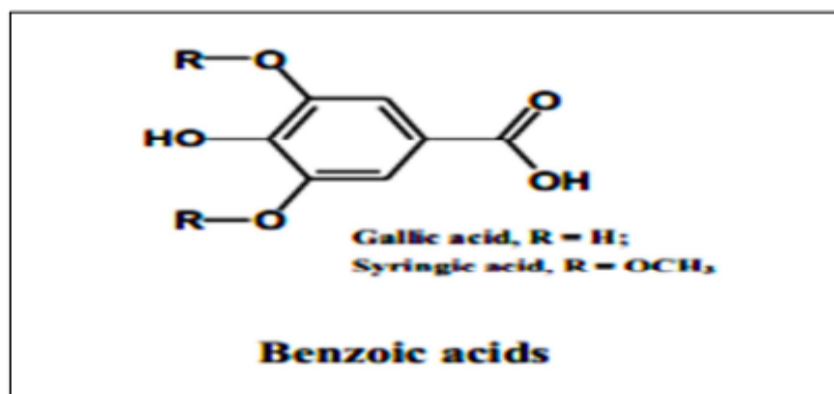
**Figure I.4:** Structure chimique de flavonoïdes.

**b) Acides aliphatiques :**

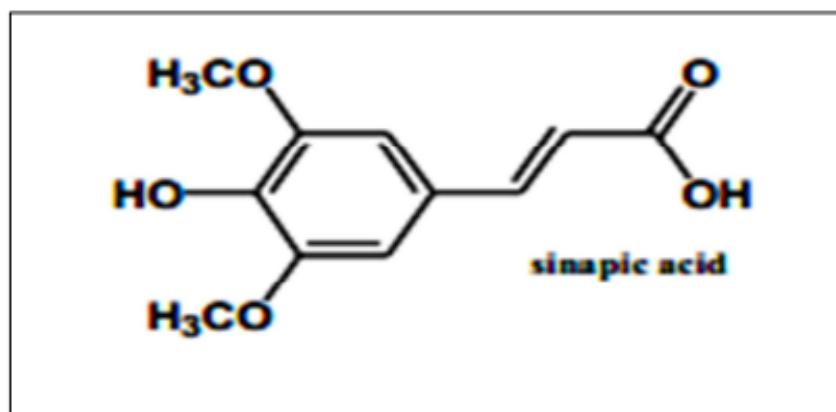
Une propolis de qualité contient dans sa composition chimique en plus des composés phénoliques des acides gras aliphatiques. Parmi ces acides aliphatiques identifiés dans la propolis, on peut citer plus de vingt acides relevés on retrouve l'acide lactique, l'acide maléique, l'acide fumarique, l'acide palmitique, l'acide linoléique...etc [26]. La race d'abeille peut influencer la composition en acide aliphatique de la propolis de même région.

**c) Acides aromatiques :**

La propolis renferme des acides aromatiques (dérivés de l'acide benzoïque et cinnamique) (figure 7, 8) dont le rôle est primordial dans les activités thérapeutiques de la propolis [27].



**Figure I. 5:** Structure chimique de l'acide benzoïque.



**Figure I.6 :** Structure chimique de l'acide cinnamique.

Parmi la famille des acides aromatiques ayant des propriétés diverses, les principales sont l'acide caféique et un de ses dérivés le phénéthyl-caféate (le CAPE) qui ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

#### **d) Esters aromatiques :**

Plusieurs travaux ont été réalisés sur la composition de la propolis en esters aromatiques, ce groupe englobe les catégories suivantes :

- Esters cinnamiques ;
- Esters couramiques ;
- Esters ferulates ;

- Esters caffeates ;
- Esters isoferulates.

**e) Sucres :**

La propolis contient également des sucres et des alcools de sucre [23]. Les polysaccharides comme l'amidon et les mono et disaccharides, le glucose, le fructose, le ribose, le rhamnose, le talose, et le saccharose sont également présents dans la propolis [29]. Les sucres et les sucres alcooliques identifiés dans la propolis sont illustrés dans le tableau I.2 [30]:

**Tableau I.2 :** Les sucres alcooliques de la propolis.

1. Inositol	6. D-glucetole
2. Saccharose	7. D-glucose
3. D-fructose (isomère 1	8. $\alpha$ -D-xylopyranose
4. D-fructose (isomère 2	9. Acide gluconique
5. Sorbose	10. Galactose

**f) Minéraux:**

Des études sur la propolis ont montré que le taux des cendres est compris entre 1.2 à 4.5% de poids frais de la propolis brute, cette dernière est l'un des produits naturels les plus riches en éléments minéraux essentiellement le potassium et le calcium. La propolis contient également des minéraux tels que le magnésium, l'iode, le sodium, le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer [29].

**g) Vitamines et autres composés :**

Pour les vitamines on y retrouve la vitamine A et les vitamines du groupe B dont les vitamines B1, B2, B3, B6, B8, B9, B12, C, E. On retrouve plusieurs autres composés détectés dans la composition de la propolis dont les hydrocarbures aliphatiques et les quiterpènes [29].

## **I.1.6. Caractéristiques physico-chimiques de la propolis :**

### **A. Caractéristiques organoleptiques :**

#### **a) Couleur :**

De couleur très variable selon sa provenance, allant du jaune clair (conifères) au brun très foncé, presque noir en passant par toute une gamme de brun extrême riche et étendue (rougeâtre, verdâtre, etc.) [12].

#### **b) Saveur :**

Âcre, piquante, parfois amère, qui donne une insensibilisation de la muqueuse buccale [31].

#### **c) Odeur :**

Variable selon son origine, en général arôme agréable et douceâtre, mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc.). Si elle est brûlée, elle dégage une odeur d'encens très délicate et très recherchée en rapport avec les résines aromatiques qu'elle contient [32].

### **B. Caractéristiques physiques :**

#### **a) Consistance:**

La propolis est une substance de consistance variable suivant la température :

15 °C, elle est dure et friable.

30 °C, elle est molle et malléable.

Entre 30 °C et 60 °C, elle est coulante et gluante, jusqu'à fondre en moyenne vers 60 -70°C ou plus [33].

**b) Couleur:**

Très variable suivant sa provenance, allant du jaune clair au brun très foncé, presque noir, en passant par toute la gamme des bruns [33].

**c) Saveur:**

Elle est souvent âcre et parfois amère [33].

**d) Odeur:**

Variable selon son origine botanique : en général arôme agréable et douceâtre, mélangé celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc.). Lorsqu'on la brûle, elle dégage une odeur très délicate et très recherchée du fait des résines aromatiques qu'elle contient [33].

**C. Caractéristiques chimiques:**

**a) Solubilité:**

La propolis est insoluble dans l'eau froide. Elle est, en revanche, partiellement soluble dans l'acétone, l'alcool, l'ammoniac, le benzène, le chloroforme, etc. Il importe de noter que la propolis est beaucoup plus soluble dans une solution de soude caustique à 2% [33].

**b) Point de fusion:**

Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée au bain-marie, elle se divise en deux parties : Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient, une partie liquide appelée cire de propolis, qui reste en surface et qui a de nombreux usages dans le domaine apicole [33].

**c) Densité:**

La densité de la propolis est de 1,2 (soit supérieure à celle de l'eau) [33].



### **I.1.7. Propriétés thérapeutiques:**

Un grand nombre de recherches ont été centrées sur les propriétés pharmacologiques et biologiques présents par propolis, la littérature scientifique a rapporté et confirmé bon nombre d'activités santé de la propolis [9].

#### **A. Activité antibactérienne:**

De nombreux chercheurs ont étudié l'activité antibactérienne de la propolis et de ses extraits contre les bactéries de gram positif et de gram négatif. Ils ont trouvé que la propolis avait une activité antibactérienne contre une large gamme de souches à gram positif, mais leur nombre était limité ou aucune activité contre les souches à gram négatif. Parmi les bactéries inhibées, on retrouve des Staphylococcus, des Streptococcus, des Bacilles, des Salmonella, Escherichia coli [9].

#### **B. Activité antivirale:**

Grâce à la présence des flavonoïdes, la propolis est efficace contre le poliovirus, les virus de type Herpès (par des esters de l'acide caféique) et l'adénovirus, et présente aussi une relative efficacité dans la grippe, l'hépatite B ainsi que la zona. Même les propolis ne contenant que très peu de flavonoïdes ont une action antivirale, expliquée par certains composants comme les sesquiterpènes ou les naphtoquinones (constituants actifs des essences végétales) [9].

ont une action antivirale, expliquée par certains composants comme les sesquiterpènes ou les naphtoquinones (constituants actifs des essences végétales) [9].

#### **C. Activité antifongique:**

La propolis exerce une activité fongicide contre les germes appartenant au genre Candida, mais aussi contre les champignons de type Aspergillus et Microsporium ainsi que, contre les levures [9].

#### **D. Activité anti- inflammatoire:**

L'effet anti-inflammatoire de la propolis, proche de l'aspirine, est dose dépendant. Les extraits aqueux donnent de meilleurs résultats. Les flavonoïdes en sont responsables, en inhibant la synthèse de NO et de PG, inducteurs d'inflammation et en supprimant la production de cytokines inflammatoires par les monocytes/ macrophages. Des études ont montré que son action est intéressante dans les trachéites et pharyngites liées à une intubation prolongée pendant une intervention chirurgicale. Les composés terpéniques agissent également dans l'action anti inflammatoire [34].

#### **E. Activité anticancéreuse:**

La propolis et ses composants phénoliques exercent un effet anticancéreux et des propriétés chimio-préventives par mécanisme d'action multiple affectant les voies apoptotiques dans des cellules cancéreuses. L'extrait de la propolis et les polyphénols isolés à partir de propolis ont été capables de sensibiliser les cellules cancéreuses à l'apoptose induite par TRAIL [35].

#### **F. Activité antioxydant:**

D'après les connaissances scientifiques, les antioxydants permettent de prévenir de nombreuses maladies de types dyslipidémie, hypercholestérolémie, diabète voire de cancer. Plusieurs études in vitro ont montré le pouvoir antioxydant de la propolis. La diminution du stress oxydant est due à la présence de polyphénols, de flavonoïdes ainsi que d'acide caféique et d'artépilline C. l'activité antioxydant de la propolis correspond à 70% de celle de la vitamine C [36].

### **I.1.8. Domaine d'application de la propolis :**

#### **A. Par l'abeille:**

Dans la ruche, la propolis est utilisée par les abeilles pour boucher les trous, pour éviter les courants d'air indésirables, pour lisser les parois intérieures, pour imperméabiliser les parois afin d'éviter une humidité excessive et pour protéger l'entrée contre les intrus. C'est leur arme chimique la plus importante pour lutter contre les parasites et les pathogènes. Des études ont

même révélé que la propolis peut jouer un rôle plus subtil dans les mécanismes d'immunité de la colonie. On peut dans une certaine mesure parler d'automédication de la colonie. L'une des particularités d'utilisation de la propolis par l'abeille est de momifier en recouvrant avec cette matière les cadavres des ennemis, qui s'introduisent dans la ruche une fois tués pour éviter leur décomposition et ne sera pas l'origine d'un éventuel développement des microorganismes. Elle contribue aussi au maintien du microclimat et à l'isolation thermique de la ruche [37].

## **B. Par l'homme :**

La propolis est un produit de la ruche largement utilisé par l'homme pour ses vertus antiseptiques et antibiotiques. Elle est notamment exploitée dans plusieurs domaines tels que:

### **a) Utilisation en cosmétique :**

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique [38].

Durant de nombreuses études, les chercheurs se sont basés sur les effets de la propolis dans la régénération et la rénovation des tissus. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications.

### **b) Utilisation en médecine:**

Aujourd'hui, la propolis est utilisée en médecine traditionnelle, en apithérapie, comme l'alicament. De nombreuses études mettent en évidence ses propriétés antibactérienne, antifongique, antivirale, anti-inflammatoire, anti-ulcéreuse, hépatoprotectrice et antitumorale.

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Les problèmes cardio-vasculaires ;
- Diverses infections de l'appareil respiratoire ;
- Soins dentaires ;
- Les ulcères ;
- Les infections des muqueuses et des lésions ;
- Le cancer. Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire [39].

### **c) Utilisation en technologie alimentaire :**

D'après la littérature, certains composants identifiés dans la propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine. Néanmoins, les activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques offrent à la propolis une place de choix dans le domaine de technologie alimentaire avec un effet généralement bénéfique à la santé humaine.

Dans le domaine de technologie alimentaire, la propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture. Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie de l'entreposage en congélation de poissons [12].

#### **I.1.9. Conservation de la propolis :**

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît néanmoins préférable de la garder dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence). De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques. Cependant, pour en obtenir de meilleurs effets et résultats, il vaut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible. Il faut signaler enfin, que la lyophilisation de la propolis (dessiccation obtenue par congélation brutale à basse température, suivie d'une sublimation sous vide, permettant d'obtenir une poudre poreuse qui se conserve indéfiniment sous vide) maintient aussi ses propriétés biologiques [39].

#### **I.2. Les formes pharmaceutiques :**

Le choix de la forme galénique découle de celui de la voie d'administration. Bien que l'éventail des possibilités ne cesse d'augmenter du fait des succès de la recherche galénique en ce domaine, on a presque toujours recours à un nombre limité de formes courantes. Dans la majorité des cas, on se limite à une ou deux alternatives. Pour la voie orale, par exemple, la forme « comprimé » est le plus souvent adoptée et un peu moins fréquemment la forme « gélule ». Ce sont des doses unitaires solides qui ont comme avantages de bien se conserver, de convenir aux traitements ambulatoires et de pouvoir être fabriqués industriellement avec précision et avec de très hauts rendements [40].

### I.2.1. Les formes orales solides :

Les comprimés ont des formes d'aspect variable, souvent arrondie, solide et compacte, formée d'un ou de plusieurs principes actifs et d'excipients. Ils sont généralement obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules. Les comprimés sont destinés à la voie orale ou vaginale. Certains sont avalés ou croqués, d'autres sont dissous ou désagrégés dans de l'eau avant administration, certains, enfin, doivent séjourner dans la bouche pour y libérer la substance active [41].

#### A. Comprimés non enrobés :

Les comprimés non enrobés comprennent des comprimés à couche unique et des comprimés à couches multiples disposées parallèlement ou concentriquement [42].

#### B. Comprimés enrobés :

Les comprimés de cette catégorie ont leur surface recouverte d'une ou plusieurs couches de mélanges de substances diverses telles que : résines naturelles ou synthétiques, polymères, gommes, charges insolubles inactives, sucres, substances plastifiantes, polyols, cires, matières colorantes autorisées. Quand l'enrobage est très mince, il est dit pelliculé [43].

#### C. Comprimés spéciaux :

On distingue plusieurs catégories de comprimés spéciaux :

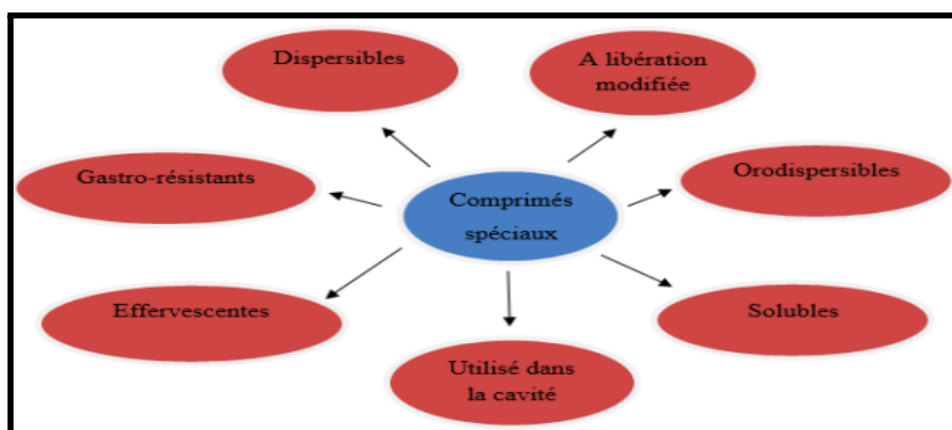


Figure I.7 : Les différentes catégories de comprimés spéciaux.

#### **D. Comprimés effervescents :**

Les comprimés effervescents sont des « comprimés non enrobés contenant généralement des substances acides et des carbonates ou bicarbonates qui réagissent rapidement en présence d'eau en libérant du dioxyde de carbone ». Ils sont destinés à être dissous ou dispersés dans l'eau avant administration [43].

#### **E. Comprimés solubles et comprimés dispersibles :**

Les comprimés solubles ou dispersibles sont des comprimés non enrobés ou des comprimés pelliculés. Ils sont « destinés à être dissous ou dispersés dans de l'eau avant l'administration. La solution ou dispersion obtenue peut être légèrement opalescente en raison de la présence d'excipients ajoutés lors de la fabrication des comprimés »[43].

Les comprimés orodispersibles sont des « comprimés non enrobés destinés à être placés dans la bouche où ils se dispersent rapidement dans la salive avant d'être avalés » [43].

#### **F. Les capsules :**

Les capsules sont des préparations solides constituées d'une enveloppe dure ou molle (à base de gélatine), de forme et de capacité variables, contenant généralement une dose unitaire de PA ». Le contenu des capsules peut être solide, liquide ou de consistance pâteuse.

Les gélules sont des capsules à enveloppe dure.

Les capsules à enveloppe molle sont généralement formées, remplies et fermées au cours d'un même cycle de fabrication [43], plusieurs catégories de capsules peuvent être distinguées :

- les capsules à enveloppe dure ou gélules.
- les capsules à enveloppe molle.
- les capsules gastro résistantes.
- les capsules à libération modifiée.
- les cachets.

##### **a) Capsules dures (gélules)**

Les capsules à enveloppe dure ou gélules comportent une enveloppe constituée de deux parties cylindriques préfabriquées ouvertes à une extrémité et dont le fond est hémisphérique.

Les deux parties s'emboîtent l'une dans l'autre [44]. Le contenu de ces capsules (le principe actif) est généralement sous forme solide (poudres ou granulés).

Dans certains cas, il peut se présenter sous la forme de poudre encapsulée ou de microgranules [44].

#### **b) Capsules molles :**

Les capsules à enveloppe molle comportent une enveloppe plus épaisse que celles des capsules à enveloppe dure [45]. L'enveloppe ne comporte qu'une partie et affecte des formes variées. Généralement, les enveloppes sont formées, remplies et fermées au cours d'un même cycle de fabrication et leur composition peut parfois contenir un principe actif. Dans certains cas, des enveloppes peuvent être préfabriquées pour permettre les préparations extemporanées. Les liquides peuvent être inclus directement ; les solides sont normalement dissous ou dispersés dans une substance auxiliaire appropriée pour obtenir une solution ou une dispersion de consistance plus ou moins pâteuse.

### **I.2.2. Autres formes orales solides :**

#### **A. Poudre :**

Ce sont des préparations constituées de particules solides, libres, sèches et plus ou moins fines, soit en vrac soit en sachet unidose, obtenue par mélange homogène de principes actifs et d'excipients secs préalablement pulvérisés. Elles peuvent être effervescentes [46].

#### **B. Granulés :**

Les granulés sont des préparations constituées de grains solides secs, formant chacun un agrégat de particules de poudres d'une solidité suffisante pour permettre les diverses manipulations. Ils se présentent sous forme de petits grains de grosseur sensiblement uniforme, de forme irrégulière, plus ou moins poreux selon le mode de fabrication. Les granulés sont soit à croquer soit à absorber après dissolution ou mise en suspension dans l'eau [47].

### **I.2.3. Les formes orales liquides :**

Les préparations liquides pour usage oral sont habituellement des solutions, émulsions ou suspensions contenant un ou plusieurs principes actifs dans un véhicule approprié : certains liquides pour administration orale peuvent consister en des principes actifs utilisés tels quels [48].

Les avantages de forme orale liquide sont : le principe actif est déjà dissout, un fractionnement possible pour les formes multi-unitaires. Les inconvénients principaux sont : altération du principe actif par les sécrétions gastro-intestinales, l'absorption est variable et la biodisponibilité est variable selon les patients [49].

### **I.2.4. Les méthodes de fabrication des comprimés :**

Les comprimés sont des formes pharmaceutiques orales préparées par la compression d'une formulation contenant un principe actif et des excipients sélectionnés pour améliorer les propriétés du produit [49].

Pour qu'une formulation pharmaceutique soit transformée en comprimé, il est nécessaire que les ingrédients aient certaines caractéristiques physiques à l'image d'un bon écoulement, d'une bonne cohésion et d'une bonne lubrification [50].

Comme la plupart des matériaux n'ont pas toutes ces propriétés, des méthodes de fabrication ont été conçues pour impartir ces caractéristiques aux matériaux à comprimer.

Il existe trois méthodes de fabrication de comprimés, la granulation humide, la granulation sèche et la compression directe [50].

La première étape en commun à toutes les méthodes de fabrication est le mélange du principe actif avec un ou plusieurs excipients [50].

Les procédés de granulation humide et sèche ont été explicitement conçus pour améliorer l'écoulement et la compressibilité des poudres [48].

Lorsque la formulation obtient les propriétés d'écoulement et de compressibilité désirées, les ingrédients sont pressés pour produire ainsi les comprimés.

Cette dernière étape est connue sous le nom de compression directe [48].

Chaque méthode a ses propres avantages et désavantages, applications spécifiques et restrictions particulières. La compression directe est la méthode de fabrication la plus simple. La granulation humide est la plus utilisée dans le domaine pharmaceutique. L'application de



la granulation sèche est limitée aux situations où ni la granulation humide ou la compression directe ne peuvent être utilisées [48].

Le tableau I.3 ci-dessous résume les principales étapes des différentes méthodes de fabrication des comprimés.

**Tableau I.3** : Principales étapes des méthodes de fabrication de comprimés.

<b>Granulation humide</b>	<b>Granulation sèche</b>	<b>Compression directe</b>
Mélange du principe actif et d'excipients	Mélange du principe actif et d'excipients	Mélange du principe actif et d'excipients
Mélange humide des ingrédients	Pré-compression	Tamisage
Granulation	Moulinage	Compression
Séchage	Tamisage	
Moulinage	Compression	
Tamisage		
Compression		

#### **A. La granulation humide :**

Est la méthode d'élaboration de comprimés la plus ancienne et la plus couramment utilisée [48]. Elle est une méthode laborieuse avec plusieurs étapes de fabrication et par conséquent les coûts de production sont élevés [50]. La procédé de granulation humide prétend transformer les particules petites et irrégulières en particules plus grandes et homogènes appelées granules en utilisant l'humidité et la chaleur (séchage) durant le processus.

Ces granules sont de forme sphérique coulant librement et facilitant la compression du produit [51].

Cette méthode permet de modifier les propriétés physiques de certains médicaments avec des problèmes d'écoulement et de compressibilité, ce qui facilite leur compression [52].

D'autres avantages de la granulation humide sont l'incorporation de façon homogène de divers ingrédients et l'obtention de bonnes propriétés d'écoulement.

Cette méthode prévient aussi la ségrégation des composants et engendrant une augmentation de la résistance mécanique des comprimés fabriqués [53].

Le principal désavantage de cette méthode est le coût élevé de production dû aux nombreuses étapes impliquées, au temps, à l'équipement, à l'énergie et aux espaces requis [48].

### **B. La granulation sèche :**

Est un procédé continu où la taille des particules est augmentée, mais contrairement à la granulation humide la chaleur et l'humidité ne sont pas utilisées [54].

Cette méthode est employée lorsque la compression directe n'est pas possible due aux mauvaises propriétés de la formulation et quand la granulation humide ne peut pas être utilisée, en raison d'un principe actif sensible à l'humidité ou à la chaleur [48].

La granulation sèche est un procédé qui réside en la création d'agglomérats appelés lingots, qui sont désintégrés par la suite.

On obtient alors un granulé plus uniforme que l'initial qui pourra être comprimé très facilement. À titre d'exemple, la granulation sèche a été utilisée pour la formulation de l'aspirine et certains produits effervescents [55].

Le principal avantage de cette méthode est la réduction du nombre d'équipement et des espaces requis ainsi que la diminution des coûts de production et du temps du procédé. Cependant, la granulation sèche présente quelques désavantages comme une quantité élevée de matériel à recycler et des risques de ségrégation des composants [48].

### **C. La compression directe :**

Le terme compression directe est utilisé pour définir le procédé par lequel un mélange de principe actif et d'excipients est pressé pour former des comprimés sans avoir besoin d'un pré traitement de granulation [56].

Cette méthode a été développée à partir des années 50 grâce à la découverte de nouveaux excipients avec des propriétés particulières dont le lactose séché par vaporisation, la cellulose microcristalline ainsi que l'amidon [48].

La compression directe présente plusieurs avantages, l'économie est l'avantage le plus évident de cette méthode.

Il est possible de réduire le temps du processus ainsi que les coûts de production en réduisant les étapes du procédé, les équipements requis et la consommation d'énergie [48].

Un autre avantage est l'élimination de problèmes dus au chauffage et à l'humidité, surtout si le principe actif est sensible à ces paramètres [48].

En conséquence, cette méthode peut améliorer la stabilité physique du produit.

Finalement, la compression directe est suggérée pour la fabrication de médicaments à libération rapide car elle permet d'optimiser la désintégration de comprimés [48].

### **I.3. Présentation des compléments alimentaires :**

#### **I.3.1. Définition des compléments alimentaires :**

Les compléments alimentaires sont définis comme : « un produit destiné à être ingéré en complément de l'alimentation courante afin de pallier une insuffisance réelle ou supposée des apports alimentaires journaliers ».

On entend ainsi par complément alimentaire : « toute substance ou produit transformé, partiellement transformé ou non transformé ; dont le but est de compléter le régime alimentaire normal. Elle constitue une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seul ou combiné».

Ainsi, on reste dans le cadre de l'alimentation par le terme nutritionnel.

Mais ce principe d'effet physiologique caractérise cette catégorie des compléments alimentaires à l'inverse des médicaments qui ont une action pharmacologique.

En effet, un produit qui entretient des fonctions physiologiques normales par un effet nutritionnel est dit à effet physiologique, contrairement à un produit qui corrige des dysfonctions physiologiques, c'est-à-dire des pathologies, qui est dit à effet pharmacologique ou thérapeutique.

Les compléments alimentaires maintiennent un état d'équilibre ou d'homéostasie alors que le médicament le restaure [57].

Les CAs contiennent des ingrédients naturels comme les plantes médicinales, vitamines et minéraux, produits de la ruche, probiotiques, huiles essentielles...

### **I.3.2. Formes de compléments alimentaires :**

#### **A. Sous forme solide [58]:**

**a) Capsule :** Elle est souvent utilisée pour les plantes et les huiles (huile de foie de morue, huile de bourrache).

La substance active se désagrège rapidement.

**b) Comprimé :** Cette forme de complément alimentaire est très intéressante, car certains comprimés présentent des spécificités adaptées au mode de dispersion des substances actives : à avaler, à dissoudre dans de l'eau, à laisser fondre dans la bouche ou encore à croquer, sont les options proposées par ce type de complément alimentaire.

**c) Capsule molle :** À l'image des gélules, elle permet de masquer un goût et une odeur désagréable pour le consommateur, la capsule est plus facile à avaler par rapport aux gélules grâce à la composition de l'enveloppe associant la gélatine.

#### **B. Sous forme liquide :**

Se retrouve usuellement sous forme de solutions buvables : ampoules, gouttes et sirop.

**a) Ampoule buvable ou goutte (flacon doseur) :** C'est un contenant en verre qui renferme la substance active sous forme d'une solution liquide concentrée.

**b) Gouttes :** La forme goutte présentée dans un flacon doseur permet d'adapter la dose administrée à l'âge et/au poids.

**c) Sirop :** Le sirop est une forme liquide épaisse, voire visqueuse, à base de glucose ou fructose glycérine et végétale.

**d) Boissons :** À l'image des boissons énergisantes, les boissons multivitaminées ou les boissons minceur sont notamment une nouvelle tendance pour les jeunes consommateurs.

**e) Stick-pack :** Il s'agit d'un article de conditionnement primaire unidose, formé à partir d'une seule bobine de fil complexe, conformé autour de la canne d'alimentation du procédé de conditionnement, soudé en bas et en haut de la dose. Il peut contenir une poudre, un liquide mais également une forme pâteuse [58].

### **I.3.3. Catégorie des compléments alimentaires :**

Selon la réglementation, les compléments alimentaires sont uniquement des acides aminés, acides gras, enzymes, minéraux, oligo-éléments, plantes, probiotiques, vitamines, antioxydants.

#### **A. Acides aminés :**

Il existe une vingtaine indispensable à l'être humain, parmi eux, citant l'arginine, l'ornithine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'isoleucine, la leucine, la lysine ou le tryptophane. Chacun d'entre eux possède des propriétés bien spécifiques. Certains sont « anti fatigues », d'autres apaisants, d'autres encore améliorent les capacités cérébrales ou musculaires, sont des antioxydants ou raffermissent les tissus (peau), ce sont aussi des précurseurs de nos hormones [59].

#### **B. Acides gras :**

Les acides gras Oméga 3, comme les acides gras oméga 6, sont des acides gras poly-insaturés. Ils sont dits essentiels car non synthétisés par l'organisme. Dans notre alimentation, les Oméga 3 sont surtout apportés par certaines huiles végétales (lin, soja) et les huiles de poissons. Les oméga 6 se trouvent notamment dans les huiles d'onagre, de bourrache ou encore dans la spiruline [60].

#### **C. Enzymes :**

Les enzymes sont importantes pour le bon fonctionnement de l'organisme. Pour résumer, disant que ce sont des protéines qui accélèrent les réactions chimiques de l'organisme. L'enzyme se fixe sur une substance (appelée « substrat ») et la transforme en éléments

utilisables « produit ». Son rôle est vital. Il existe des milliers d'enzymes, dont sans doute de très nombreuses encore inconnues [61].

#### **D. Minéraux :**

Ce sont des éléments présents en faible quantité dans l'organisme, mais absolument indispensables à la vie, tout comme les vitamines. Les plus connus sont le calcium ( $\text{Ca}^{+2}$ ), le sodium ( $\text{Na}^{+}$ ), le potassium et le magnésium ( $\text{K}^{+}$  et  $\text{Mg}^{+2}$ ) [62].

#### **E. Oligo-éléments :**

Encore des minéraux, mais dont l'organisme héberge des teneurs encore plus infimes à l'état de « trace ». Leur carence conduit à des graves troubles, Les plus connus sont le fer, le zinc, le cuivre, l'iode, le sélénium ou le chrome [63].

#### **F. Plantes ou extraits de plantes :**

On peut extraire des végétaux de très nombreuses familles d'éléments : des carotènes, des flavonoïdes, des phyto-œstrogènes, des quinones, des mucilages, des glucosides, des phytostérols, et des saponines. Tous sont des phyto-nutriments. Citant par exemple les extraits de Ginseng, de Chrysantellum, de Millepertuis. Ils sont purifiés et standardisés dans le meilleur des cas, c'est-à-dire qu'on retrouve toujours le même taux de principe actif dans le produit fini, un point primordial pour garantir l'efficacité [63].

#### **G. Probiotiques :**

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité adéquate, exercent des effets bénéfiques pour la santé. Il s'agit notamment des bactéries productrices d'acide lactique (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) ou des certaines levures (*Ex. Saccharomyces boulardii*). Ils sont principalement employés pour rééquilibrer les flores intestinales et vaginales, ou encore pour stimuler l'immunité [64] .

## **H. Vitamines :**

Les vitamines ne sont pas synthétisées par notre organisme (à l'exception de la vitamine D), on les retrouve dans notre alimentation. Les industriels les extraient à partir des aliments et les concentrent sous différentes formes pharmaceutiques (comprimés, gélules, solutions buvables) [65] .

## **I. Antioxydants :**

Certaines vitamines, certains enzymes et d'autres nutriments sont des antioxydants. Ils s'opposent à l'oxydation de cellules, qui engendrent des radicaux libres impliqués dans de nombreuses affections. En cas de maladie, les antioxydants sont requis à dose parfois importante, sous forme de compléments alimentaires. Ils améliorent alors les troubles, voire peuvent les guérir dans certains cas. Par ailleurs, ils permettent également de mieux supporter les traitements classiques et d'en limiter les effets secondaires [61] .

### **1.3.4. Processus de fabrication d'un complément alimentaire :**

Des ingrédients sélectionnés sont intégrés en mélange et présentés sous forme galénique : comprimé, gélule, infusion, etc. Le processus de fabrication passe par les étapes suivantes :

Dans la première étape, c'est la sélection rigoureuse des ingrédients : vitamines, minéraux, plantes et substances innovantes ; aussi bien que le contrôle de chaque matière première. Ensuite dans la deuxième étape c'est le mélange et la fabrication pour les différentes formes : la forme solide (comprimés, gélules), la forme semi-liquide (capsules, sirop, gouttes), et en forme d'infusion des différentes parties des plantes. Cette étape passe également par le contrôle de la qualité intermédiaire du mélange.

Dans la prochaine étape c'est la mise sous emballage du complément alimentaire puis le contrôle de la qualité avec mise sous quarantaine systématique avant la commercialisation. La traçabilité de chaque complément alimentaire, est obtenue grâce à son numéro de lot et la mention d'une date limite de consommation.

Une déclaration doit être faite auprès de la Direction Générale de la Concurrence de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF), préalablement à toute commercialisation.

Le processus de fabrication est précis et il y a un contrôle de qualité à tous les niveaux. À la fin, la mise sur le marché si allégation approuvée [66].

#### **I.4. Les travaux réalisés sur la propolis :**

La propolis a fait l'objet de nombreux travaux de recherche et d'études dans divers domaines. Voici quelques exemples des travaux réalisés sur la propolis :

**A. Activité antimicrobienne :** Plusieurs études ont examiné l'activité antimicrobienne de la propolis contre diverses bactéries, champignons et virus. Les chercheurs ont évalué les effets de la propolis sur la croissance microbienne et son potentiel en tant qu'agent antimicrobien alternatif [67].

**B. Propriétés antioxydantes :** La propolis a montré des propriétés antioxydantes en raison de la présence de composés phénoliques. Ces études ont exploré les capacités de la propolis à neutraliser les radicaux libres et à protéger les cellules contre le stress oxydatif [67].

**C. Activité anti-inflammatoire :** Des recherches ont été menées pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de la propolis, en particulier en ce qui concerne les maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite, la colite ulcéreuse et la dermatite [67].

**D. Effets sur le système immunitaire :** Certains travaux ont étudié les effets de la propolis sur le système immunitaire, en examinant ses propriétés immunomodulatrices et son potentiel à renforcer les défenses de l'organisme contre les infections [67].

**E. Activité anticancéreuse :** Des études préliminaires ont suggéré que certains composés présents dans la propolis pourraient avoir une activité anticancéreuse, en inhibant la croissance tumorale et en induisant l'apoptose (mort cellulaire programmée) dans les cellules cancéreuses [67].

**F. Effets sur la cicatrisation des plaies :** La propolis a été étudiée pour ses effets sur la cicatrisation des plaies, en raison de ses propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Des recherches ont exploré son utilisation potentielle dans le traitement des plaies chroniques et des ulcères cutanés [67].



## **Chapitre II : Matériels et Méthodes.**

### **II.1. Introduction :**

L'objectif de cette étude est d'optimiser la formulation d'un complément alimentaire à base de propolis en utilisant des techniques de formulation avancées. Différentes formulations ont été préparées en variant les concentrations d'excipients tels que l'amidon de riz, le sorbitol et la maltodextrine.

Dans cette partie nous présentons l'ensemble de matériels et méthodes utilisés pour la préparation et la formulation de notre complément alimentaire. Une série de caractérisations a été effectuée afin d'identifier les substances actives relatives à l'action de la propolis.

### **II.2. Matières premières utilisés :**

#### **II.2.1. le principe actif (la propolis brute) :**

Le principe actif utilisé dans la formulation est la propolis .

La propolis est une substance naturelle qui est récoltée par les abeilles à partir de différents végétaux .

La propolis utilisée dans ce compléments alimentaire a été récoltée en Algérie dans la région de Mitidja et fournie par un apiculteur local .



**Figure II.1 :** La propolis brute.

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques physico-chimiques de la propolis brute :

**Tableau II.1** : Les caractéristiques physico-chimiques de la propolis brute.

<b>Etat physique</b>	solide à température ambiante .c'est une résine collante et visqueuse
<b>Apparence</b>	brun-vert ou brun-rougeâtre
<b>odeur</b>	odeur résineuse aromatique et légèrement sucrée .
<b>solubilité</b>	partiellement soluble dans l'eau et totalement soluble dans l'éthanol, le méthanol, l'acétone et le chloroforme .
<b>stabilité chimique</b>	stable sur le plan chimique
<b>la masse molaire</b>	la propolis a une masse molaire moyenne d'environ 300 à 500 g/mol
<b>la masse volumique</b>	la propolis a une masse volumique moyenne d'environ 1,1 a 1,2 g/cm <sup>3</sup>
<b>le point de fusion</b>	la propolis a une point de fusion compris entre 60 et 80 °C

### II.2.2. Les excipients :

#### A. Le Nerprun (*Rhamnus alaternus*) :

Le nerprun, également connu sous le nom scientifique *Rhamnus*, est un genre de plantes appartenant à la famille des Rhamnacées [67]. Il englobe plusieurs espèces d'arbustes ou d'arbres à feuilles caduques ou persistantes, répartis dans différentes régions du monde [68].



**Figure II.2 :** Le Nerprun (*Rhamnus alaternus*) .

Le nerprun se caractérise par des feuilles simples, alternes ou opposées, souvent dentées, et des fleurs petites et discrètes qui peuvent être regroupées en grappes ou en cymes. Les fleurs donnent généralement naissance à des fruits charnus, souvent de couleur rouge ou noire, qui contiennent une ou plusieurs graines [69].

**a) La composition chimique et biochimique de *Rhamnus alaternus* :**

La plante de *Rhamnus alaternus* est caractérisée par une richesse de substances phénoliques spécialement les tanins, les anthraquinones tel que l'émodin, chrysophanol, alaternin et physcion qui sont les quatre anthraquinones aglycones isolés des parties aériennes de *Rhamnus alaternus*.

Elle contient aussi des flavonoïdes glycosylés tel que kaempferol 3-O-Bisorhamninoside, rhamnocitrin 3-O-B-isorhamninoside et rhamnetin-3- O-B-isorhamninoside, et des flavonoïdes aglycones comme le kaempférol, quercétine et l'apigénine.

Elle est aussi riche en flavones hétérosides et coumarines.

La pulpe de *R. alaternus* est composée principalement d'eau (68%), de minéraux, de lipides, de protéines et de fibres (cellulose, hémicellulose et lignine) [70].

## B. L'amidon de riz :

L'amidon de riz est un polysaccharide complexe composé principalement d'amylose et d'amylopectine, qui sont des polymères de glucose.

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques physico-chimiques de l'amidon de riz :

**Tableau II.2 :** les caractéristiques physico-chimiques de l'amidon de riz.

<b>Etat physique</b>	poudre blanche très fine .
<b>Formule chimique</b>	$(C_6H_{10}O_5)_n$
<b>Odeur</b>	inodore .
<b>Solubilité</b>	Insoluble dans l'eau à froid, mais peut être dispersé dans l'eau chaude pour former une solution colloïdale .
<b>La masse volumique</b>	Sa masse volumique est égale à 1,5 g/cm <sup>3</sup>
<b>La masse molaire</b>	la masse molaire moyenne d'environ 162 000 g/m .l
<b>Le point de fusion</b>	256 °C .

## C. sorbitol :

Le sorbitol est un excipient couramment utilisé dans les médicaments pour ses propriétés édulcorantes, de conservation et pour aider à maintenir la texture et la stabilité de certains produits. Il peut également être utilisé comme agent de remplissage ou de dilution dans les comprimés et les capsules.

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques physico-chimiques du sorbitol :

**Tableau II.3** : Les caractéristiques physico-chimiques du sorbitol.

<b>Etat physique</b>	un solide cristallin blanc
<b>Formule chimique</b>	C6H14O6
<b>Odeur</b>	inodore
<b>Solubilité</b>	soluble dans l'eau et légèrement soluble dans les solvants organique
<b>La masse molaire</b>	182,17 g/ml
<b>La densité</b>	1,49 g/ cm <sup>3</sup>
<b>La température de fusion</b>	fond à environ 95-98 °C
<b>La stabilité</b>	stable dans des conditions normales de température et de pression

#### **D. maltodextrine :**

La maltodextrine ou malto-oligosaccharides résulte de l'hydrolyse d'un amidon (maïs, blé, pois) ou d'une fécule (pomme de terre). Elle se compose de divers sucres comme le glucose et le maltose dans des proportions variables dépendant du degré de l'hydrolyse.

La maltodextrine est utilisée dans les formulations de comprimés en tant que liant et diluant dans les procédés de compression directe et de granulation ou d'agglomération par voie humide.

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques physico-chimiques de la maltodextrine :

**Tableau II.4 :** Les caractéristiques physico-chimiques de la maltodextrine.

<b>Etat physique</b>	poudre blanche très fines
<b>Formule chimique</b>	$(C_6H_{10}O_5)_n$
<b>Odeur</b>	inodore
<b>solubilité</b>	soluble dans l'eau
<b>la masse molaire</b>	entre 500 et 2000 g/mol
<b>température de fusion</b>	240 °C

### II.3. Les méthodes utilisées :

En plus des méthodes classiques d'optimisation mathématique qui permettent de trouver le maximum ou le minimum d'une fonction préétablie et de déterminer sa nature géométrique, il existe des méthodes d'optimisation basées sur l'exploitation de la surface de réponse à l'aide de plans expérimentaux. Ces méthodes se divisent en deux approches distinctes :

- Les méthodes directes ou d'expérimentation successive cherchent à s'approcher le plus rapidement possible de l'optimum. Elles sont simples à mettre en œuvre et l'optimisation progresse simultanément avec l'expérimentation.
- Les méthodes indirectes utilisent des plans d'expériences pour déterminer la surface de réponse, à partir de laquelle l'optimum sera déterminé.

#### II.3.1. Construction de la matrice d'expérience :

Pour construire la matrice d'expériences, nous avons utilisé le logiciel 'MODDE 6.0' afin d'obtenir une matrice expérimentale pour deux formulations. Nous avons pris en compte plusieurs facteurs et leurs intervalles de variation, à savoir :

- A. **Pour la première formulation** : La propolis brute [60-70%], Le Nerprun (Rhamnus alaternus) [20-30%], L'amidon de riz [5-10%], Le sorbitol [2-5%] et la maltodextrine [3-6%].

Étant donné l'objectif de cette recherche, les réponses considérées sont : l'écoulement (s), le tassement et l'indice de Carr IC (%). La stratégie de planification expérimentale la plus appropriée est l'étude de surface de réponses. La matrice d'expériences utilisée pour cette stratégie est de type D-Optimal.

Le tableau ci-dessous présente la matrice d'expérience obtenue pour la première formulation :

**Tableau II.6 :** Matrice d'expériences en variables centrées et réduites de la formulation 1.

Run order	Propolis %	Nerprun %	l'amidon de riz %	sorbitol %	maltodextrine %
1	1	0	-1	0	0.5
2	1	0	-1	1	0.5
3	1	0	1	0	0.5
4	1	0	-1	0	0.5
5	1	0	-1	-1	0.5
6	1	0	0	-1	0.5
7	1	0	-1	1	0.5
8	1	0	0	0	0.5
9	1	0	1	-1	0.5
10	1	0	-1	-1	0.5
11	1	0	-1	-1	0.5
12	1	0	-1	-1	0.5
13	1	0	-1	0	0.5
14	1	0	0	-1	0.5
15	1	0	0	-1	0.5
16	1	0	-1	0	0.5
17	1	0	-1	1	0.5

B. **pour la deuxième formulation :** La propolis brute [40-50%], Le Nerprun (Rhamnus alaternus) [40-50%], L'amidon de riz [5-10%], Le sorbitol [2-5%] et la maltodextrine [3-6%].



Le tableau ci-dessous présente la matrice d'expérience obtenue pour la deuxième formulation.

**Tableau II.6 :** Matrice d'expériences en variables centrées et réduites de la formulation 2.

<b>Run order</b>	<b>Propolis %</b>	<b>Nerprun %</b>	<b>l'amidon de riz %</b>	<b>sorbitol %</b>	<b>maltodextrine %</b>
1	1	1	-1	0	0.5
2	1	1	-1	1	0.5
3	1	1	1	0	0.5
4	1	1	-1	0	0.5
5	1	1	-1	-1	0.5
6	1	1	0	-1	0.5
7	1	1	-1	1	0.5
8	1	1	0	0	0.5
9	1	1	1	-1	0.5
10	1	1	-1	-1	0.5
11	1	1	-1	-1	0.5
12	1	1	-1	-1	0.5
13	1	1	-1	0	0.5
14	1	1	0	-1	0.5
15	1	1	0	-1	0.5
16	1	1	-1	0	0.5
17	1	1	-1	1	0.5

#### II.4. Matériels et équipements :

Les équipements utilisés dans notre partie pratique se trouvent au niveau des laboratoires de recherche de l'université de Blida et au niveau des laboratoires du département de Génie des Procédés de l'université de Blida. Ce sont principalement :

- Matériel pour la première étape de la formulation.
- Équipements lourds pour la caractérisation et le contrôle de nos différents produits .

##### II.4.1. Matériels utilisés pour la formulation :

Le tableau ci-dessous résume les différents équipements de la fabrication :

**Tableau II.7 :** les différents équipements de la fabrication.

Appareillage	Marque	Utilité
<b>Balance électronique</b>	KERN ALS 220-4N	la pesée des matières premières .
<b>Broyeur</b>	Nima NM-8300	broyage de la propolis .
<b>Hachoir</b>	CHEFF	la granulation
<b>étuve</b>	Memmert	le séchage de la matière premières et pour le séchage des grains .
<b>comprimeuse automatique à l'échelle pilote</b>	ED.FROGERAIS	La compression

##### II.4.2. Équipements de caractérisation et contrôle :

le tableau ci-dessous résume les différents équipements utilisés pour la caractérisation de la matière première ainsi que le produit fini:

**Tableau II.8 :** les différents équipements utilisés pour la caractérisation.

<b>Appareillage</b>	<b>Marque</b>	<b>Utilité</b>
<b>UV-visible</b>	SHIMADZU , UV-VIS spectrophotometer	L'analyse quantitative du produit
<b>FTIR</b>	SHIMADZU FTIR-8900	L'analyse qualitative du produit
<b>Tamis superposé</b>	RETSCH AS 200	L'analyse granulométrique des particules micrométriques
<b>Le volumétre de tassage</b>	ERWEKA	mesurer la densité apparente de la poudre
<b>Entonnoir normalisé</b>	Flodex	mesurer la capacité d'écoulement de la poudre
<b>Friabilimètre</b>	ERWEKA	mesurer de la résistance d'un comprimé
<b>Duromètre</b>	ELECTROLAB	mesurer la dureté du comprimé
<b>Balance de précision</b>	SHIMADZU	mesurer la masse et le dosage du comprimé
<b>Appareil de dissolution</b>	ERWEKA	dissolution des comprimés

## **II.5. Les étapes de fabrication :**

### **II.5.1. Introduction :**

Le broyage de la propolis peut être un processus délicat en raison de sa texture collante. Afin de faciliter ce processus et d'éviter le collage de la propolis, l'utilisation d'additifs peut être nécessaire. Traditionnellement, le caroubier a été utilisé comme additif pour faciliter le

broyage de la propolis. Le caroubier contient une gomme naturelle appelée gomme de caroube, qui agit comme un lubrifiant et réduit le collage de la propolis pendant le broyage. Cependant, dans notre cas, nous avons choisi d'utiliser le nerprun comme alternative pour faciliter le broyage de la propolis.

Le nerprun présente des propriétés similaires à celles du caroubier en termes de lubrification. Il contient des composés naturels qui peuvent réduire la friction et empêcher la propolis de coller pendant le processus de broyage. Cette approche peut être efficace pour obtenir une consistance plus fine et homogène de la propolis broyée.

Le choix d'utiliser le nerprun comme lubrifiant peut être basé sur plusieurs facteurs, tels que la disponibilité de la plante, son coût, sa compatibilité avec la propolis, ainsi que des considérations pratiques.

### **II.5.2. Préparation de la poudre de Nerprun :**

Avant de procéder au broyage de la propolis brute avec le nerprun, nous avons effectué les étapes suivantes :

- **Préparation du nerprun** : Nous avons commencé par broyage du le nerprun à l'aide d'un broyeur de marque Nima NM-8300 pour obtenir une texture fine et homogène. Il faut s'assurer que le nerprun utilisé est propre et de bonne qualité.
- **Séchage du nerprun** : Après le broyage, nous avons placé le nerprun dans une étuve préchauffée à une température de 100°C pendant 24h. Cette étape de séchage permet d'éliminer toute l'humidité résiduelle qui pourrait influencer le broyage ultérieur.

### **II.5.3. Préparation de la poudre de propolis :**

#### **A. purification :**

Cette étape consiste à enlever toutes les impuretés et les corps étrangers tels que les tiges de bois, ailes et corps d'abeille, petits vers blancs secs afin de garantir la pureté du matériau.

## **B. Le broyage :**

Nous avons procédé à l'étape du broyage à froid (le froid évitant à la propolis de s'agglomérer et coller sur les parois du broyeur), dans laquelle la propolis brute a été broyée avec la poudre de Nerprun.

## **C. Tamisage :**

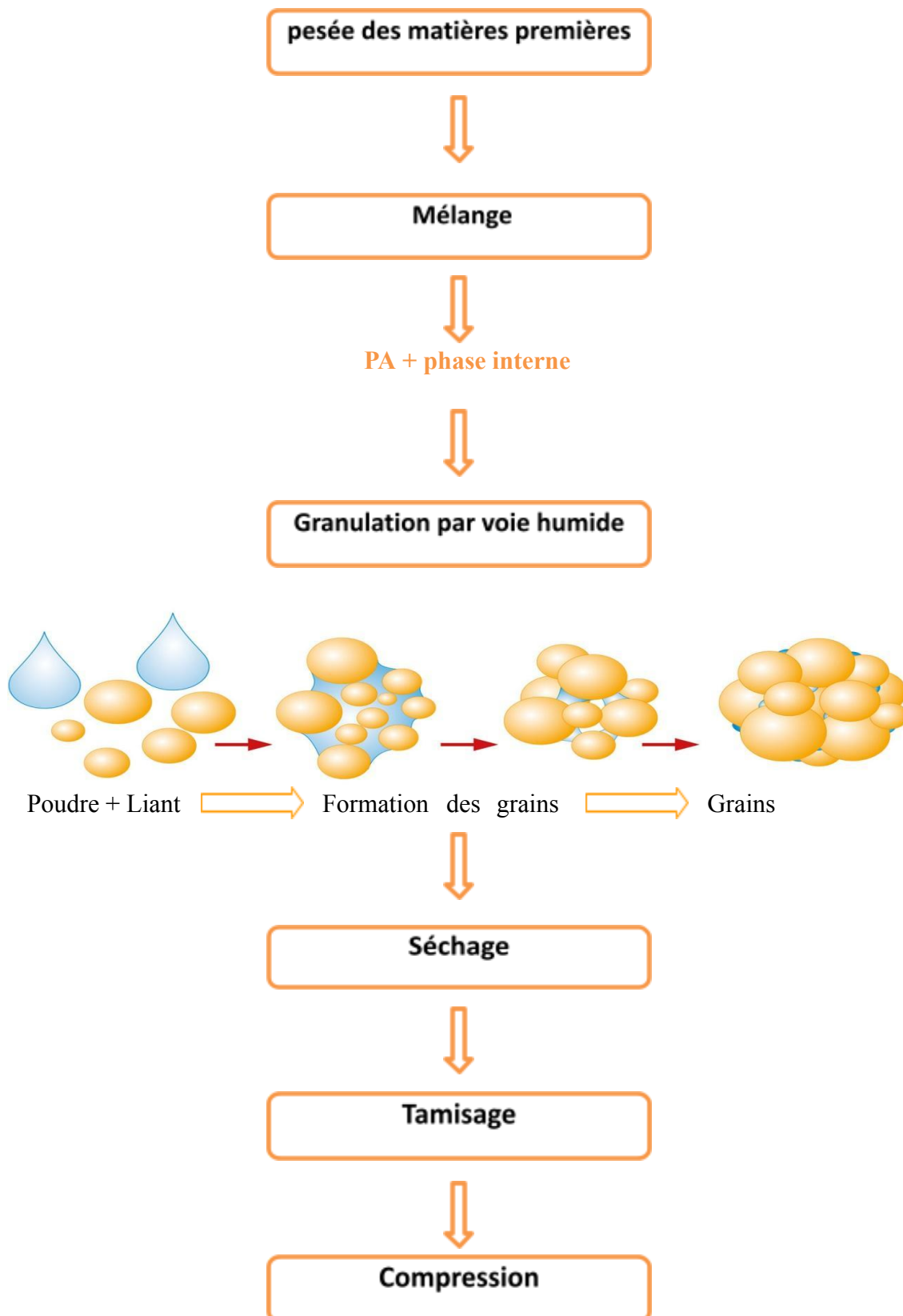
Après l'étape de broyage, le mélange propolis-nerprun a été tamisé en utilisant un tamis de marque RETSCH AS 200 qui a permis d'améliorer la granulométrie de la poudre, garantissant une distribution uniforme des particules.

Le résultat final de ce processus de broyage de la propolis brute avec l'ajout de nerprun est une poudre de propolis homogène, fine et de qualité, prête à être utilisée dans notre formulation.

## **II.6. L'étape de formulation :**

La formulation de notre complément alimentaire implique plusieurs étapes clés pour créer un produit de haute qualité.

Les différentes étapes de formulation de notre complément alimentaire sont résumées dans l'organigramme suivant , suivies d'une explication détaillée ci-dessous .



**Figure II.3** : Les étapes de formulation.

### **II.6.1. La pesée des matières premières :**

Avant la pesée des matières premières, nous avons vérifié la propreté du local et du matériel. En utilisant une balance de marque KERN, nous avons pesé avec précision les excipients et le principe actif. Chaque sac de pesée a été étiqueté pour une identification claire.

Dans ce projet, nous avons pesé les quantités de matières premières pour 8 formulations au lieu de 17 formulations prévues en raison du manque de matière première .

### **II.6.2. Préparation de la solution de mouillage :**

Avant de procéder à l'étape de granulation, nous devons préparer la solution de mouillage qui est préparé selon le protocole suivant:

Nous avons introduit progressivement la maltodextrine dans 100 ml d'eau purifiée à température ambiante, tout en assurant une agitation continue à l'aide d'un agitateur. La dissolution complète a été obtenue, puis la solution a été laissée en repos pendant 24 heures dans un bécher en verre.

### **II.6.3. Le mélange des poudres :**

Dans le cadre de la production des comprimés, le mélange des poudres revêt une grande importance. Pour chaque essai, nous avons soigneusement mélangé les quantités requises du principe actif (Propolis), du Nerprun, l'amidon de riz et du Sorbitol. Avant le mélange, toutes les poudres ont été préalablement tamisées pendant cinq (05) minutes afin d'assurer une homogénéité optimale. Ce processus de mélange a été réalisé dans un mélangeur dédié.

### **II.6.4. Le mouillage et la granulation :**

Pour réaliser le mouillage et la granulation, nous avons utilisé une méthode spécifique. Tout d'abord, nous avons injecté la solution liante (liquide de mouillage) sur le mélange de poudre préalablement mélangé à l'aide d'une buse de pulvérisation. Cette opération a été effectuée sous agitation pour assurer une répartition uniforme du liquide.

Une fois le mouillage terminé, le mélangeur a continué à fonctionner à la même vitesse pendant quelques minutes supplémentaires. Cela a permis la formation des grains nécessaires pour la granulation.

Il est à noter que, dans notre cas, nous avons réalisé la granulation en utilisant un hachoir de marque DAILY. Cette méthode spécifique nous a permis d'obtenir les résultats souhaités dans le processus de granulation, comme nous montre les figures ci-dessous :



**Figure II.4 :** la granulation.

#### **II.6.5. Le séchage :**

Les granulés sont étalés sur des plateaux pour le séchage dans l'étuve de marque Memmert à une température de 40C° en remuant les granules toutes les deux (2) heures.

Le séchage a pris 24h.

#### **II.6.6. Le calibrage :**

Nous avons transféré les granulés séchés sur une grille d'ouverture de maille de 1,6 mm pour créer des particules de taille uniforme.

#### **II.6.7. La lubrification :**

Après avoir introduit les granulés dans le mélangeur, nous avons ajouté le stéarate de magnésium ensuite nous avons procédé à leur mélange pendant 2 minutes.



### **II.6.8. La compression :**

Les grains sont comprimés avec une presse à comprimer de type Romaco (kilian KTP 180X) équipée d'un poinçon (diamètre 12).

### **II.7. Les contrôles pharmaco-techniques au cours et en fin de fabrication :**

Les différents contrôles sont effectués au cours et en fin de fabrication à savoir :

#### **II.7.1. Contrôles au cours de fabrication :**

##### **A. Test d'écoulement :**

Le test consiste à chronométrer un temps de passage (t) de 100g de poudre à travers un entonnoir normalisé de marque Flodex . Pour chaque poudre, l'essai est réalisé trois fois. D'après les normes de la pharmacopée européenne, le temps doit être inférieur à 10 secondes.  
[71]

##### **B. L'aptitude au tassement :**

Le tassement des poudres représente la capacité des particules à se réarranger spontanément ou sous l'effet d'oscillation mécanique.

Le test décrit par la pharmacopée européenne permet de prévoir l'aptitude de la poudre de se réorganiser après un remplissage dans un conditionnement unitaire ou encore dans la chambre de compression pour les poudres destinées à être comprimé.

Il est réalisé à l'aide d'un voluminomètre de tassement de marque ERWEKA équipé d'une éprouvette de 250 mL.

100g de poudre sont versés dans l'éprouvette, placée sur le plateau du voluméno-mètre. La poudre va subir des tassements ou des chutes sous l'effet des vibrations, les volumes :  $V_0$  (volume en vrac),  $V_{500}$  (volume après 500 tapes),  $V_{1250}$  (volume après 1250 tapes), seront déterminés en lisant directement sur l'éprouvette. Connaissant la masse de la poudre, m, on peut déterminer la masse volumique ( $D=m/V$ ). a partir de ce test, on peut caractériser l'écoulement par :

- L'indice de Carr IC : facteur de compressibilité qui est défini par :

$$IC = (Dt - Dnt / Dt \times 100)$$

**Dt** : densité tassée après 1250 vibrations ( $Dt = m / V 500$ )

**Dnt** : densité non tassée (densité initiale  $Dnt = m / V 0$ )

- Le ratio d'Hausner, RH, définit par  $RH = Dt / Dnt$
- L'aptitude au tassement est définit comme suit :  $V10 - V500$

D'après la pharmacopée européenne, pour un meilleur écoulement des poudres :  $IC < 18$  et  $RH < 1,25$  et  $V10 - V500 < 20\text{mL}$ . [71]

Le tableau ci-dessous présente les différentes valeurs d'indice dicar, mettant en évidence la Coulabilité associée à chaque indice :

**Tableau II.9** : Indice de Carr.

<b>Indice de Carr</b>	<b>Coulabilité</b>
5-11	Excellente
12-17	Bonne
18-22	Acceptable
26-31	Médiocre
35-38	Mauvaise
>38	Très mauvaise

### C. L'analyse granulométrique :

L'analyse granulométrique est une méthode pour mesurer la distribution des tailles de particules dans un échantillon de matériaux, en lien avec leurs propriétés et comportements spécifiques. Le choix de la méthode de mesure dépend de l'application finale envisagée. Le tamisage est une technique couramment utilisée, favorisant des particules homogènes, mais des proportions de fines particules peuvent être souhaitées pour certaines applications. La forme des particules est également importante, pouvant être évaluée visuellement ou à l'aide d'un système optique, et peut varier en termes de régularité, rondeur ou allongement, influençant d'autres propriétés des granulés.

Dans ce contexte, nous avons passé une quantité de 100 grammes de granulés à travers une série de tamis dont les ouvertures de mailles varient entre 200 et 800  $\mu\text{m}$ . Ensuite, nous avons fait fonctionner le dispositif pendant 10 minutes. [71]

### II.7.2. Contrôle pharmaco-techniques en fin de production :

Dans la partie du contrôle pharmaco-**techniques** , nous avons réalisé une série d'analyse afin de contrôler la qualité de notre produit en le comparant aux normes qui existaient déjà dans la pharmacopée européenne.

#### A. Le test de friabilité :

Le test de friabilité des comprimés évalue leur résistance à l'abrasion et aux chocs mécaniques. Les étapes comprennent le chargement des comprimés dans un tambour rotatif, la rotation du tambour pendant un certain temps, le retrait des comprimés, la pesée pour déterminer la perte de masse, et le calcul de la friabilité en pourcentage. Un critère courant d'acceptation est une perte de masse inférieure à 1%. Ce test permet de déterminer la capacité des comprimés à résister aux manipulations sans se désagréger ou se briser facilement.

La calcul de la friabilité en pourcentage :

$$F(\%) = \frac{\text{masse d'échantillon avant essai} - \text{masse d'échantillon après essai}}{\text{masse d'échantillon avant essai}} \times 100$$

## **B. Uniformité de masse :**

L'essai d'uniformité de masse des comprimés vise à vérifier si la répartition du mélange initial de poudre ou de granulés lors de la fabrication a été suffisamment précise et uniforme. Cela garantit une masse identique et une teneur en principe actif cohérente pour tous les comprimés d'un même lot. Le test consiste à prélever un nombre spécifié de comprimés dans le lot et à vérifier si leurs poids individuels se situent dans un intervalle étroit autour du poids moyen. L'échantillon est composé de dix (10) comprimés, et leur poids individuel est mesuré pour déterminer la masse moyenne et l'écart type. Cet essai fait partie des méthodes recommandées par les pharmacopées pour vérifier l'uniformité des comprimés .

## **C. Le test de dureté :**

L'essai de dureté ou de résistance à la rupture des comprimés consiste à exercer une pression constante sur le comprimé jusqu'à ce qu'il se brise, en utilisant un appareil avec deux mâchoires se faisant face. La force exercée au moment de la rupture est mesurée avec une précision d'un newton.

L'essai est effectué sur 10 comprimés conformément aux spécifications de la Pharmacopée Européenne.

Les comprimés sont placés entre les mâchoires de l'appareil, orientés horizontalement, et la force maximale nécessaire pour les casser est mesurée. L'appareil de mesure de la dureté utilisé est de la marque ELECTROLAB.

## **II.8. Les contrôles physico-chimiques pour la caractérisation du PA et des deux formulations :**

### **II.8.1. Test de solubilité :**

On s'intéresse à la détermination qualitative de la solubilité. Pour cela, on prépare une série de tubes à essai, dont chaque tube contient 10 mg de propolis et 10 ml de solvant. Ce test est effectué dans l'eau, l'éthanol, méthanol, l'acétone , chloroforme et l'éther de pétrole Les tests ont été réalisés en même temps et dans les mêmes conditions opératoires.

### **II.8.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :**

L'analyse FTIR mesure l'absorption, la réflexion ou la transmission de la lumière infrarouge par un échantillon. Elle utilise un spectromètre infrarouge qui mesure les variations d'intensité de la lumière infrarouge après son passage à travers un échantillon ou sa réflexion sur celui-ci. Les résultats sont ensuite analysés pour obtenir des informations sur la composition et la structure moléculaire de l'échantillon.

Nous avons réduit en poudre 3g de propolis puis mélanger la poudre avec 20 mg de KBr (bromure de potassium) pour former une pastille ou un disque solide. Cette préparation permet d'obtenir une couche mince et uniforme de l'échantillon, ce qui est essentiel pour l'analyse FTIR.

Une fois l'échantillon préparé et l'instrument calibré, on procède à l'acquisition du spectre. L'échantillon est placé dans le chemin du faisceau infrarouge de l'appareil FTIR. Le spectre est obtenu en mesurant l'absorption de l'échantillon à différentes longueurs d'onde infrarouges. Le spectre FTIR est enregistré dans la plage de longueurs d'onde de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$ , également connue sous le nom de domaine de l'infrarouge moyen.

### **II.8.3. La spectroscopie UV-Visible :**

La spectroscopie UV-Visible est une technique analytique qui permet d'étudier l'interaction entre la lumière et la matière dans la région du spectre ultraviolet (UV) et visible. Elle repose sur la mesure de l'absorption ou de la transmission de la lumière par un échantillon dans cette plage de longueurs d'onde.

La lumière UV-Visible est une partie du spectre électromagnétique qui s'étend approximativement de 10 nm à 800 nm. La spectroscopie UV-Visible utilise des instruments appelés spectrophotomètres UV-Visible pour générer et détecter la lumière dans cette gamme de longueurs d'onde.

En analyse qualitative, par comparaison de notre spectre obtenu avec un spectre de référence, la propolis a été solubilisée dans de l'éthanol, dans lequel on a préparé une concentration de 0.01mg/ml.

#### **II.8.4. Screening phytochimique :**

Il s'agit d'une analyse qualitative utilisant des réactions de coloration et/ou de précipitation sur des extraits préalablement préparés à partir de l'extrait de propolis. L'objectif est de détecter la présence ou l'absence de certains composés chimiques tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les stérols et les triterpènes. Ces tests sont réalisés en utilisant des réactifs spécifiques conformément aux méthodes décrites par Trease et Evans, ainsi que Harborne.

##### **A. Tests phytochimiques :**

###### **a) Flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont détectés selon le protocole suivant :

1 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et quelques milligrammes de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange [72].

###### **b) Les polyphénols :**

La méthode de détection des polyphénols repose sur le protocole suivant :

0.2 ml d'extrait méthanolique de coquille de noix de pacane sont ajoutés à 0.8 ml de la solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7.5%) après agitation 1 ml de la solution de folin-ciocalteu est ajoutée à l'ensemble après 20 min d'incubation à l'obscurité. L'apparition de la couleur bleu confirme la présence des polyphénols [72].

###### **c) Les tanins :**

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à 2 ml de chaque extrait quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) [71].

###### **d) Les saponines :**

la détection des saponines est réalisée en suivant le protocole ci-dessous :

À 5ml de chaque extrait on ajoute 10 ml d'eau distillée, le tout est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Puis, le mélange est laissé au repos pendant 15 min. La persistance de la mousse d'au moins 1 cm pendant 15 min indique la présence des saponines [73].

**e) Les quinones libres :**

Les quinones libres sont détectés selon le protocole suivant :

Sur un volume de chaque extrait quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres [74].

**f) Les terpénoïdes :**

pour détecter les terpénoïdes , on ajoute 5ml de chaque extrait on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré, la formation de deux phases et un couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes [75].

**g) Les alcaloïdes :**

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante :

On ajoute 5 ml d'HCl 1% à 1 ml de chaque extrait, le tout est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes [76].

## **II.9. Les activités biologiques :**

L'objectif de cette étude était d'évaluer les activités biologiques de la propolis et du mélange final de notre formulation de complément alimentaire à base de propolis. Nous avons spécifiquement examiné les effets antioxydants, anti-inflammatoires et antibactériens de la propolis pour déterminer si notre formulation avait amélioré ces propriétés biologiques. Cette évaluation était cruciale pour évaluer l'efficacité de notre complément alimentaire et son potentiel à fournir des bienfaits supplémentaires par rapport à la propolis seule.

### **II.9.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante :**

Pour évaluer l'activité antioxydante de la propolis et du mélange final de notre formulation, nous avons utilisé le test de piégeage du radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl). Cette méthode a été choisie en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de l'efficacité reconnue liée à la stabilité du radical DPPH [77].

Nous avons préparé une gamme de concentrations de propolis brute, de Nerprun et des deux formulations ainsi qu'une substance de référence (acide ascorbique), en effectuant des dilutions en cascade. Pour chaque concentration, nous avons mesuré les densités optiques à 517 nm. Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer des courbes à partir desquelles nous avons pu déterminer le pourcentage de DPPH restant et la valeur de l'IC50.

L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH, à 517 nm, en fonction des concentrations de l'antioxydant ajouté, cette diminution est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H, par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présents dans la molécule ou par une autre espèce radicalaire comme le montre l'équation suivante.[78-79].



#### **A. Le test de piégeage du radical DPPH :**

##### **a) Principe :**

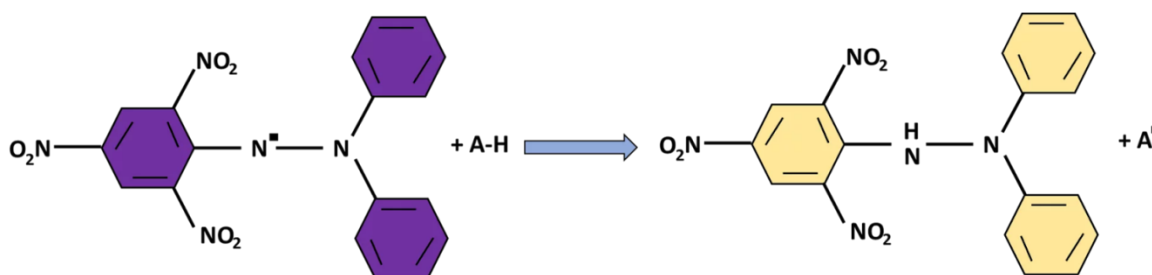
Le test DPPH (diphényl picryl hydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante.

En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule.

La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution[80].



Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée.[81]



**Figure II.5 :** Réaction de réduction du radical libre DPPH.

### b) Détermination des IC50 :

Pour déterminer la capacité antioxydante de nos différents composés, nous avons utilisé les IC50, qui sont des paramètres couramment utilisés pour évaluer l'activité antioxydante. L'IC50 est défini comme la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration initiale des radicaux DPPH de 50%. Une valeur d'IC50 plus faible correspond à une activité antioxydante plus élevée du composé testé.

En d'autres termes, l'IC50 nous donne une mesure de la concentration efficace de l'antioxydant qui est nécessaire pour neutraliser la moitié des radicaux DPPH présents. Une IC50 plus basse indique que le composé possède une forte activité antioxydante, car il atteint une réduction significative des radicaux DPPH à une concentration plus faible.

### c) Mode opératoire :

Le test antioxydant a été réalisé en utilisant la méthode du DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl). Pour cela, 1 ml de chaque solution méthanolique de la propolis brute, de Nerprun et de la formulation en utilisant différentes proportions de la propolis à différentes concentrations (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35 mg/ml) a été ajouté à 3 ml de la solution éthanolique du DPPH (0,04 mg/ml).

Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1 ml de méthanol avec 3 ml de la solution méthanolique de DPPH.

Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance a été effectuée à 517 nm contre un blanc préparé pour chaque concentration. Les

résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%), correspondant à la diminution de l'absorbance par rapport au contrôle négatif.

$$I\% = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les valeurs de l'IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire.

Cette approche permet de quantifier l'activité antioxydante de la propolis et du mélange de la formulation en fonction de leur capacité à réduire le radical DPPH. Plus le pourcentage d'inhibition est élevé, plus l'activité antioxydante est importante .

### **II.9.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :**

Afin d'évaluer l'activité anti inflammatoire de la propolis brute , de nerprun et de la première formulation et de la deuxième formulation , nous avons effectué une étude comparative par la méthode de dénaturation thermique des protéines décrites par Williams et al [82], avec quelques modifications.

Le diclofénac est utilisé comme anti-inflammatoire de référence.

#### **A. Principe de la méthode de dénaturation des BSA :**

Les structures spatiales des protéines (conformation) sont sensibles à l'environnement (chaleur, pH, force ionique, solvants etc.) et changent alors de façon irréversible de forme : dénaturation. L'Albumine Bovine est une protéine de réserve globulaire, soluble dans l'eau. Elle est sensible à l'élévation de la température (coagulation thermique). La formation de ponts disulfures inter ou intramoléculaires au cours du chauffage par échanges irréversibles et la polymérisation désordonnées qui en résultent conduisent à une diminution de sa solubilité. Lors des syndromes inflammatoires, une hypoalbuminémie est aperçue, ce qui suppose sa dénaturation au cours de l'inflammation [83].

#### **B. Méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines :**

L'activité anti inflammatoire in vitro de la propolis brute, du Nerprun et des deux formulations a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines, le diclofénac est utilisé comme anti-inflammatoire de référence.

La méthode consiste a préparé quatre solution :

- **La solution de test (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 ml des différents échantillons avec des concentrations variées (250,500, 1000µg/ml).
- **La solution control test (0,5 ml)** composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillée.
- **La solution contrôle produit (0,5 ml)** composé de 0,45 ml d'eau distillée et 0,05 ml des différents extraits avec des concentrations variées (250, 500, 1000 µg/ml).
- **La solution standard test (0,5 ml)** est composée de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard diclofénac avec des concentrations variées (250, 500, 1000µg/ml).

Les échantillons ont été incubées à 37 °C pendant 20 min, ensuite la température a été augmentée jusqu'à 57 °C pendant 3 min. Après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (PH 6,3) a été ajouté aux solutions .

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

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [100 - (\text{DO de la solution d'essai} - \text{DO de la solution contrôle}) / \text{DO de la solution d'essai}] \times 100$$

### II.9.3. Evaluation de l'activité antibactérienne :

#### A. Préparation des dilutions :

Nous avons préparé les solutions mères pour chaque échantillon (Propolis brute, formulation 1, formulation 2, a concentration de 50 mg /ml, a partir de cette solution mère Nous avons préparé les différentes dilutions (10,8,6,4 mg /ml).

#### B. Préparation du milieu de culture :

Nous avons coulé la gélose Muller -Hinton en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm et nous avons laissé refroidir [84].

### **C. Préparation de l'inoculum :**

A partir des souches pures à étudier (*Esherichia coli* , *Staphylococcus aureus* ) , Nous avons prélevé une ôse de culture et nous l'avons trempée dans un tube contenant 1 ml d'eau physiologique stérile.

A l'aide d'un fil droit, nous avons prélevé une ose à partir de tube a 1 ml de l'eau physiologique, puis nous l'avons dilué dans 5 ml de l'eau physiologique stérile et on a homogénéisé la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm .

### **D. Ensemencement par inondation :**

Nous avons inondé la surface de la gélose par la suspension bactériennes de façon à recouvrir cette dernière avec des mouvements de rotation dans les deux axes par la main .A l'aide d'une pipette pasteur, nous avons aspiré le surplus, puis on a séché pendant 15 minutes a 37°C [85].

### **E. Test de l'antibiogramme: méthode de diffusion en gélose (méthode des puits):**

#### **a. Confection des puits :**

Nous avons réalisé 4 puits dans chaque boîte déjà ensemencée et séchée, puis on a déposé 2 gouttes de la gélose stérile au fond de chaque puits pour boucher la base de ce dernier.

A partir de chaque dilution on a pris 50 µl et on l'a déposé dans chaque puit correspondant.

Il est important d'observer une prédiffusion de l'extrait de 30 minutes à température ambiante avant de porter les boites à l'étuve , ensuite on a incubé à 37°C pendant 24 H .

### **II.10. Test de dissolution :**

Le test de dissolution s'applique aux comprimés. Il permet d'évaluer la quantité de principe actif solubilisé dans un milieu gastro-intestinal artificiel en fonction du temps [86].

L'appareil utilisé pour la réalisation de ce test est constitué de :

- Un récipient cylindrique à fond hémisphérique, d'une capacité de 1 litre.
- Un agitateur constitué par une tige verticale à la partie inférieure de laquelle est fixée une palette ou un panier. La partie supérieure est uniforme, sans oscillation importante.
- Un bain d'eau thermostaté qui permet de maintenir la température du milieu de dissolution à  $37 + 0.5 \text{ C}^\circ$  pendant l'essai.

Les conditions opératoires du teste de dissolution sont présenté dans le tableau II.10 suivant :

Le **tableau II.10**: Les conditions opératoires du test de dissolution.

<b>Nom de l'appareil</b>	ERWEKA
<b>Milieu de dissolution</b>	pH=6.8, pH=4.5, pH=1.2
<b>Vitesse de rotation</b>	100 tours/minute
<b>Température du milieu</b>	37°C
<b>Volume de dissolution</b>	900 ml

Le test de dissolution consiste à placer les comprimés dans les vases de l'appareil de dissolution dans les différents milieux (pH=6,8, pH=4,5, pH=1,2), avec un volume donné (900ml), nous avons réglé la température à 37°C.

Le test de dissolution consiste à suivre l'évolution des quantités de principe actif libérées à chaque heure, au moyen de prélèvement manuels de 5 ml du milieu de dissolution au niveau de chaque vase, puis nous avons fait passer l'échantillon à travers un spectromètre UV qui donne l'absorbance qu'on traduit en % dissout de principe actif. Tout ça en fixant la longueur d'onde qui est égale à 285 nanomètres.

Le calcul des pourcentages de dissolutions a été réalisé en utilisant la formule suivante :

$$d \% = \frac{c}{c_0} \times 100$$

## Chapitre III : Résultats et discussions.

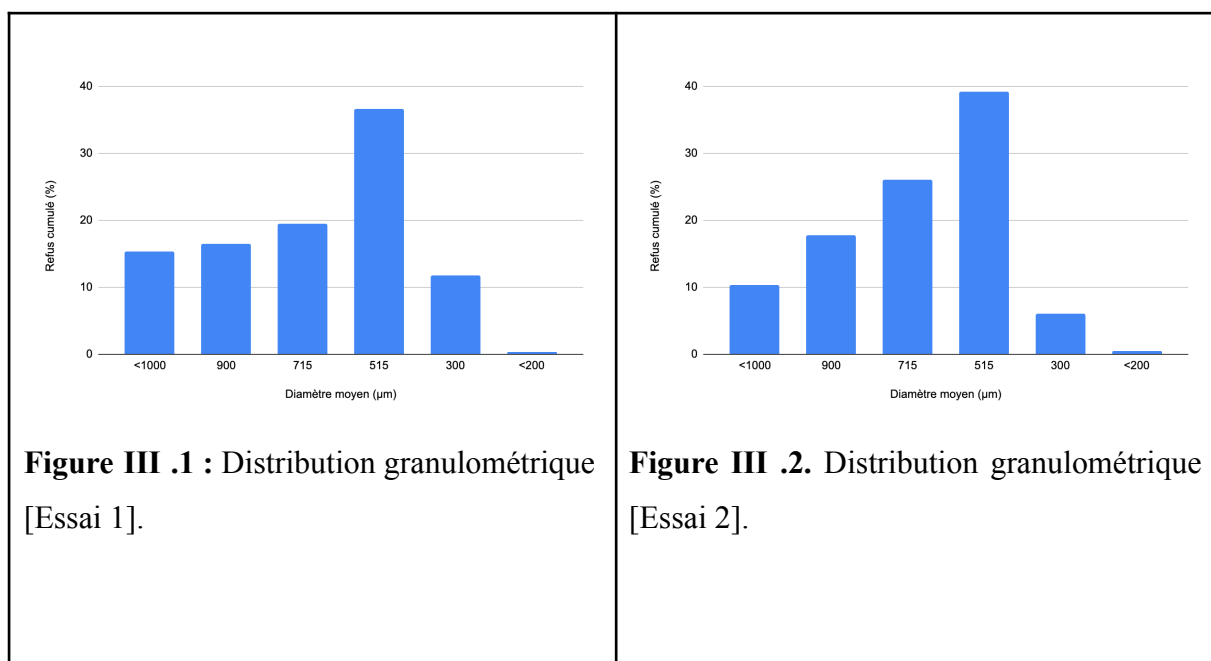
### III.1. Introduction :

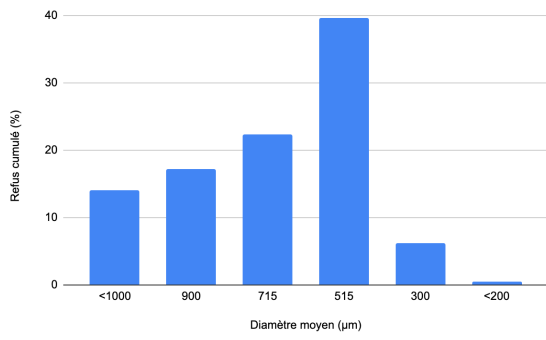
Ce chapitre présente tous les résultats obtenus de la caractérisation de la matière première «Propolis », la caractérisation de la formulation du complément alimentaire à base de propolis et des études physico-chimiques, biologiques et biodisponibilité in vitro.

### III.2. L'analyse granulométrique :

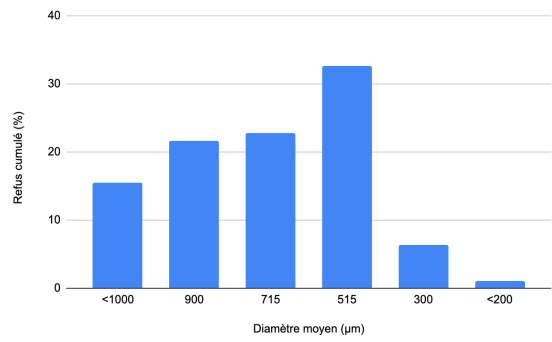
Les résultats de la distribution granulométrique en fonction du diamètre sont donnés dans les histogrammes suivants et présentés sous formes de données en annexes .

Les résultats de l'analyse granulométrique sont présentés sous forme d'histogrammes, illustrant la distribution des tailles de particules de la première formulation :

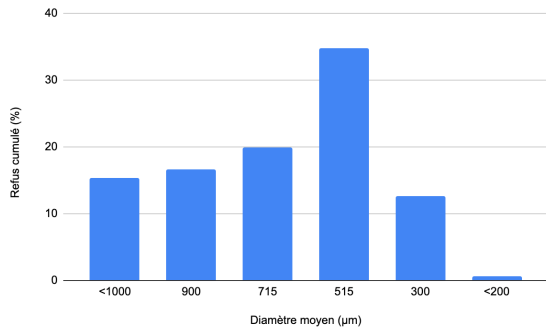




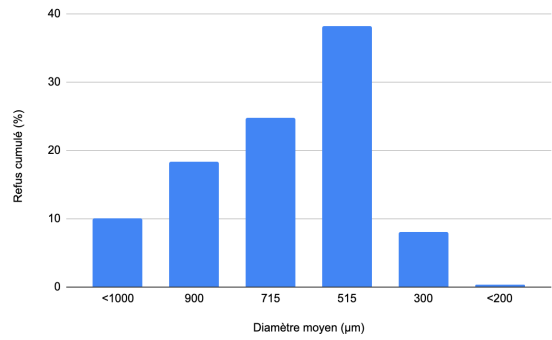
**Figure III .3.** Distribution granulométrique [Essai 3].



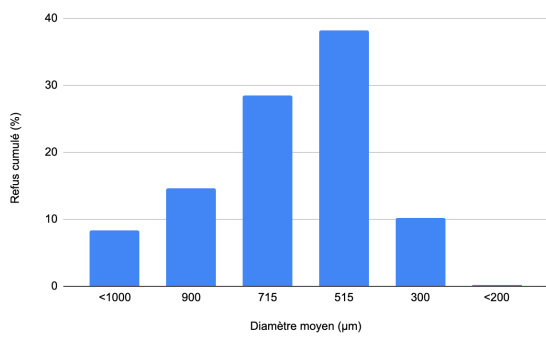
**Figure III .4.** Distribution granulométrique [Essai 8].



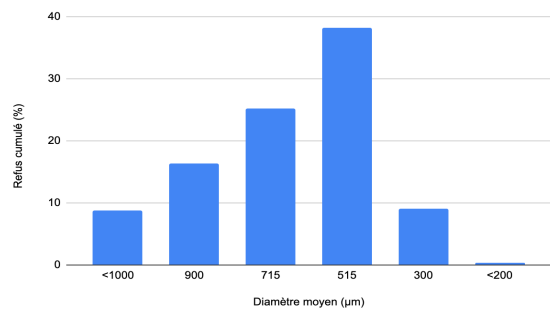
**Figure III .5.** Distribution granulométrique [Essai 9].



**Figure III .6 :** Distribution granulométrique [Essai 12]

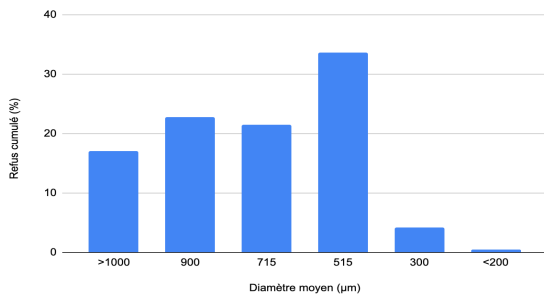


**Figure III .7.** Distribution granulométrique [Essai 13].

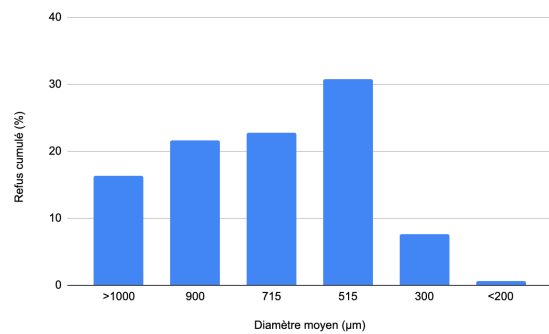


**Figure III .8.** Distribution granulométrique [Essai 14].

Les résultats de l'analyse granulométrique sont présentés sous forme d'histogrammes, illustrant la distribution des tailles de particules de la deuxième formulation :

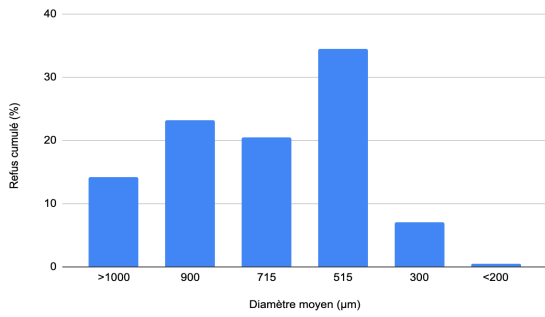


**Figure III .9:**Distribution granulométrique [Essai 1].

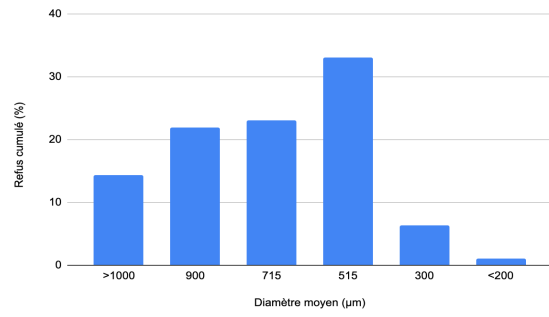


**Figure III .10:**Distribution granulométrique [Essai 2].

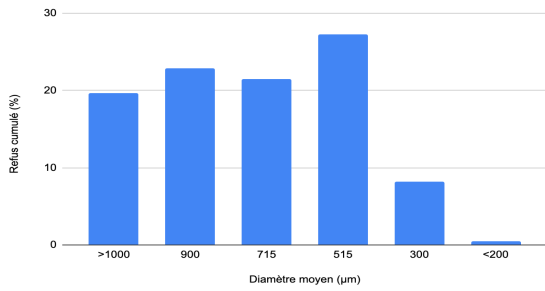




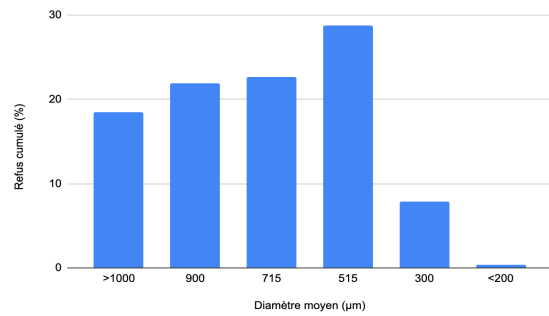
**Figure III .11:**Distribution granulométrique [Essai 3].



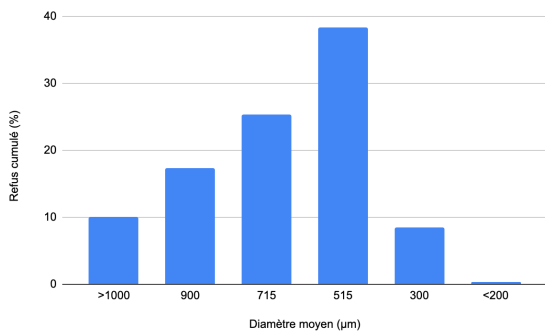
**Figure III .12:**Distribution granulométrique [Essai 8].



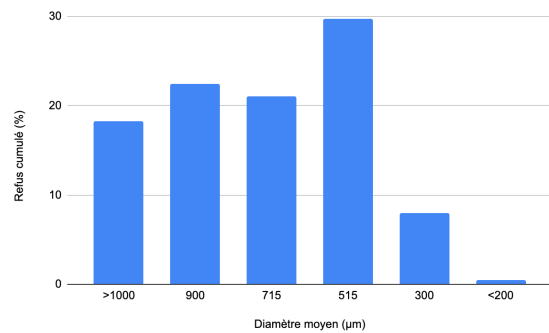
**Figure III .13:**Distribution granulométrique [Essai 9].



**Figure III .14:**Distribution granulométrique [Essai 12].



**Figure III.15:**Distribution granulométrique [Essai 13].



**Figure III .16:**Distribution granulométrique [Essai 14].

Afin de bien interpréter les résultats de l'analyse granulométrique nous avons effectué les calculs des valeurs médianes (D50) et moyennes (Dmoy) pour les différents essais des formulations 1 et 2.

**A. La première formulation :**

Le tableau ci-dessous récapitule les valeurs moyennes Dmoy ainsi que le D50, qui représente le diamètre médian, issus de l'analyse granulométrique de la première formulation.

**Tableau III.1.** les valeurs du D50 et Dmoy de la première formulation.

<b>N° d'essai</b>	<b>D50</b>	<b>Dmoy</b>
<b>1</b>	584.337	665.44
<b>2</b>	595	671.63
<b>3</b>	587.31	679
<b>8</b>	597.16	701.62
<b>9</b>	483.67	623.78
<b>12</b>	593.72	666.13
<b>13</b>	600.45	646.11
<b>14</b>	591.92	650.95

**B. La deuxième formulation :**

Le tableau présenté ci-dessous résume les valeurs moyennes (Dmoy) ainsi que le D50, qui correspond au diamètre médian, obtenus à partir de l'analyse granulométrique de la première formulation.

**tableau III.2.** les valeurs du D50 et Dmoy de la deuxième formulation.

<b>N° d'essai</b>	<b>D50</b>	<b>Dmoy</b>
<b>1</b>	592.941	719.29
<b>2</b>	600.17	552.15
<b>3</b>	589.54	698.24
<b>8</b>	597.13	698.67
<b>9</b>	603.22	722.34
<b>12</b>	603.01	716.39
<b>13</b>	594.74	661.51
<b>14</b>	597.94	713.351

En analysant les résultats des deux tableaux précédents (tableau III.1. et tableau III.2.) , nous constatons que les valeurs de D50 et Dmoy pour chaque essai pour les deux formulations ne sont pas exactement les mêmes, mais elles sont très similaires. Par conséquent, nous pouvons conclure que notre distribution est homogène et monomodale, ce qui signifie qu'elle est uniforme et qu'elle présente une seule mode ou pic de fréquence.

### **III.3. Résultats de la pharmaco-technique:**

Les tableaux ci-dessous présentent les résultats des tests pharmaco-techniques obtenus à partir des différentes séries d'essais, offrant ainsi un aperçu détaillé des caractéristiques et des performances des formulations étudiées.

#### **A. La première formulation :**

Le tableau ci-dessous présente les résultats des tests pharmacotechniques obtenus à partir de la première formulation .

**Tableau III.3 : Résultats pharmaco-techniques de la première formulation.**

<b>N° d'essai</b>	<b>Ecoulement (s)</b>	<b>Tassement (ml)</b>	<b>IC (%)</b>
<b>1</b>	6.31	10	14.22
<b>2</b>	11.20	17	13.56
<b>3</b>	10.32	10	16.44
<b>8</b>	7.41	7	15.21
<b>9</b>	3.11	5	6.25
<b>12</b>	3.78	6	6.69
<b>13</b>	4.15	10	17.6
<b>14</b>	4.66	11	17.2
<b>Norme</b>	<b>&lt; 10</b>	<b>&lt; 20</b>	<b>&lt; 18</b>

En observant les résultats obtenus des différents essais, qui sont résumés dans le tableau ci-dessus (Tableau III.3), il est possible de commenter comme suite :

**B. La deuxième formulation :**

Le tableau ci-dessous présente les résultats des tests pharmacotechniques obtenus à partir de la deuxième formulation .

**Tableau III.4 : Résultats pharmaco-techniques de la deuxième formulation.**

<b>N° d'essai</b>	<b>Ecoulement (s)</b>	<b>Tassement (ml)</b>	<b>IC (%)</b>
<b>1</b>	7.11	11.5	16.10
<b>2</b>	9.90	18	14.62
<b>3</b>	9.80	11	17.22
<b>8</b>	7.21	16	15.46
<b>9</b>	4.02	6	6.23
<b>12</b>	4.81	7	6.71
<b>13</b>	5.12	10	17.61
<b>14</b>	4.60	15	17.4
<b>Norme</b>	<b>&lt; 10</b>	<b>&lt; 20</b>	<b>&lt; 18</b>

En se basant sur les résultats granulométriques obtenus sur les grains des différents essais, il est possible de faire les commentaires suivants :

-L'écoulement des grains issus des différents essais est bon étant donné qu'ils s'écoulent presque tous en moins de 10 secondes.

-Quand à leur aptitude au tassement, pour tous les essais, les valeurs trouvées ne dépassent pas 20 ml, et leurs indices de Carr sont tous inférieurs à 18%.

#### **III.4. Détermination de l'optimum :**

L'objectif de cette étape est d'identifier une formulation optimale en se basant principalement sur les résultats de l'analyse granulométrique et les résultats pharmaco-techniques.

Les résultats de l'analyse granulométrique ont confirmé l'homogénéité des huit formules, ce qui suggère qu'elles sont optimales du point de vue de l'uniformité des particules.

En ce qui concerne l'écoulement et le tassement, nous avons obtenu des résultats variés, les formules (9,12,13,14) ont donné des résultats plus souhaitables et plus conformes selon les normes.

la neuvième formule est l'essai le plus rapproché de l'optimum donc on obtient notre essai optimum pour nos deux formulations qui est présenté comme suit dans le tableau III.5 et III.6 ci-

dessous :

**-Pour la première formulation :**

Le tableau ci-dessous présente la matrice d'optimum de la première formulation :

**Tableau III.5 :** Matrice d'optimum de la première formulation.

<b>Propolis brute (%)</b>	<b>Nerprun (%)</b>	<b>Amidon de riz (%)</b>	<b>Sorbitol (%)</b>	<b>Maltodextrine (%)</b>
1	0	1	-1	0.5

**-Pour la deuxième formulation :**

Le tableau ci-dessous présente la matrice d'optimum de la première formulation :

**Tableau III.6 :** Matrice d'optimum de la deuxième formulation.

<b>Propolis brute (%)</b>	<b>Nerprun (%)</b>	<b>Amidon de riz (%)</b>	<b>Sorbitol (%)</b>	<b>Maltodextrine (%)</b>
1	1	1	-1	0.5

**III.5. Caractérisation de la propolis brute :**

**III.5.1. Test de solubilité :**

Le test de solubilité de la propolis est utilisé pour évaluer la capacité de la propolis à se dissoudre dans différents solvants. Ce test de solubilité permet d'orienter le choix des

solvants appropriés pour extraire les composés actifs de la propolis, il est basé sur l'utilisation de différents solvants pour voir dans lesquels la propolis est soluble .

Le tableau ci-dessous illustre les résultats du test de solubilité effectué à 60°C :

**Tableau III.7** : la solubilité de la propolis dans les différents solvants .

solvant	Eau	Acétone	Hexane	Acétate d'éthyle	éthanol
Solubilité	–	–	+	++	+++



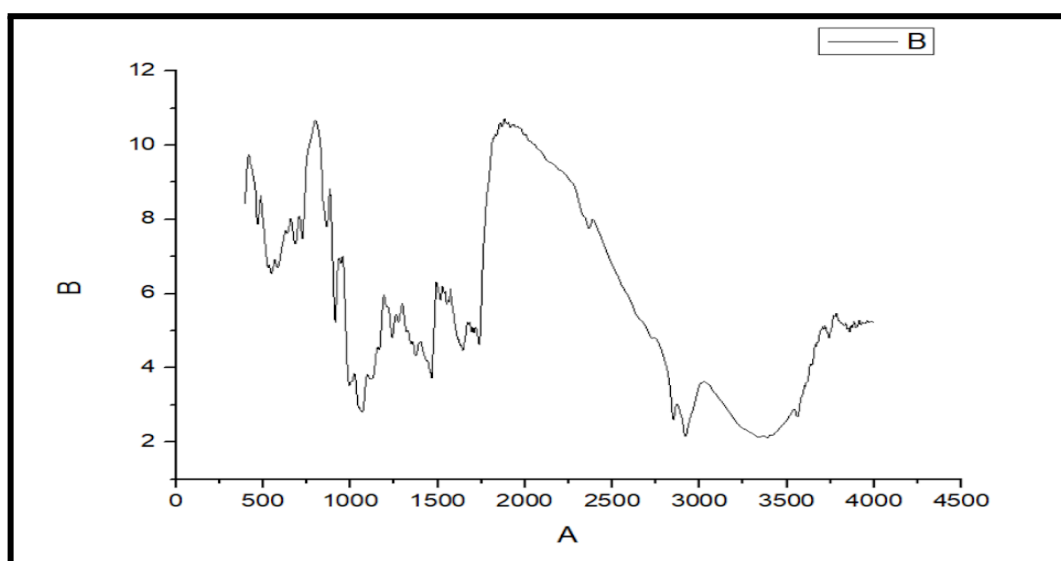
**Figure III.17** : la solubilité de la propolis dans les différents solvants.

Le test de solubilité de la propolis en utilisant différents solvants a révélé des résultats intéressants. La propolis s'est révélée soluble dans les solvants organiques polaires et insoluble dans les solvants apolaires comme l'eau.

### III.5.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :

Le spectre FTIR de la propolis brute reflète sa composition chimique globale. Il représente une tâche exigeante en raison d'un grand nombre de composés organiques divers et correspondants les vibrations moléculaires qui peuvent y être observées .Ces composés jouent un rôle important dans la formulation.

Néanmoins, il est possible de distinguer les signaux qui sont très spécifiques pour un composé organique particulier sur la base des données bibliographiques complètes sur la composition chimique de la propolis, ainsi que diverses sources de données spectrales FTIR. Un large pic à  $3336\text{ cm}^{-1}$  c'est-à-dire lié au groupe O – H des composés phénoliques. Les pics caractéristiques des vibrations C – H du CH<sub>2</sub> et du CH<sub>3</sub> aliphatique a été observé vers  $2920\text{ cm}^{-1}$ . De plus, des pics de  $1647\text{ cm}^{-1}$  peuvent être connectés à l'étirement de la vibration des liaisons C = O du biomolécules trouvées dans la propolis. La vibration d'étirement asymétrique C – O des esters liés aux acides aliphatiques à longue chaîne est observée à  $1164\text{ cm}^{-1}$ . Le pic dans la gamme de  $1068\text{ cm}^{-1}$  est en raison de l'extension d'anneau aromatique d'enceinte cyclique. Enfin, une absorption moyenne à  $700\text{ cm}^{-1}$  culmine en raison du basculement du CH<sub>2</sub> des hydrocarbures provenant de cire d'abeille. Comme le montre la Figure ci-dessous, d'autres bandes d'absorption d'intensité moyenne et faible sont attribuées aux vibrations de divers groupes fonctionnels de phénols, de flavonoïdes et d'hydrocarbures, dont certains se chevauchent.

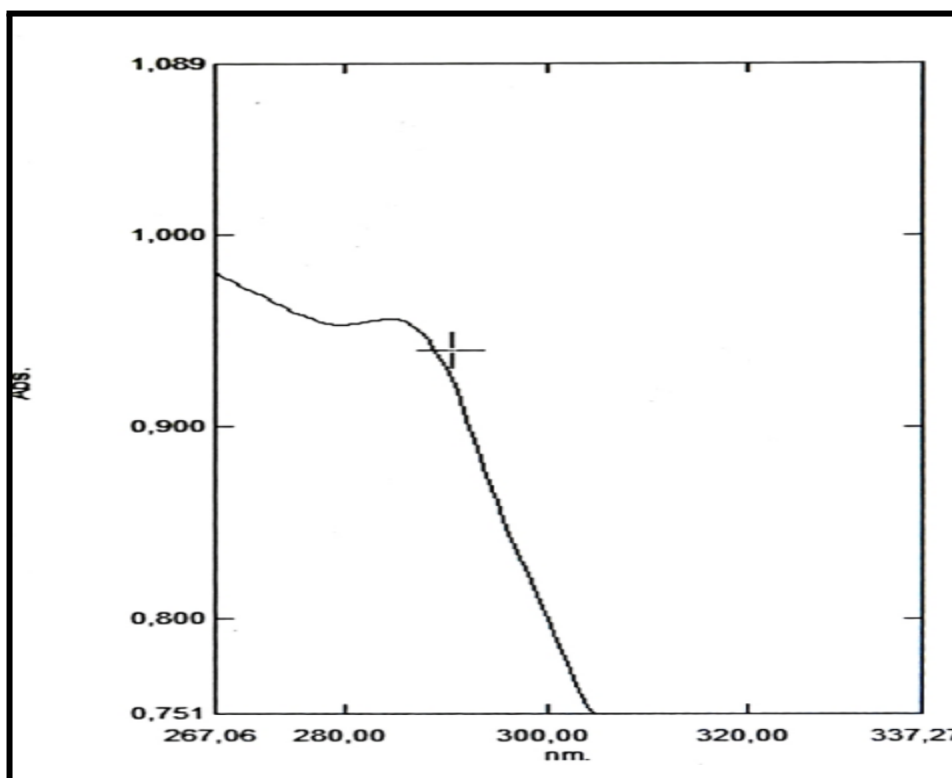


**Figure III.18** : Spectre IR de la Propolis brute.

### III.5.3. La spectroscopie UV-Visible :

Pour déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale de l'extrait de propolis dissous dans l'éthanol, une analyse spectrale a été réalisée en effectuant un balayage dans la plage de 200 nm à 400 nm.





**Figure III.19 :** Spectre UV-Vis de la propolis brute.




La Figure III.19 présente le spectre d'absorption UV-Vis de l'extrait de propolis dans l'éthanol . Dans ce spectre, une bande d'absorption maximale est observée à une longueur d'onde  $\lambda_{max} = 285 \text{ nm}$ , ce qui est cohérent avec les références bibliographiques[87].

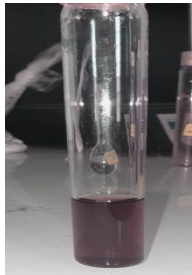



Ces résultats indiquent que l'UV-Vis peut être utilisé comme un outil de caractérisation qualitative de l'extrait de propolis, permettant de déterminer sa longueur d'onde d'absorption maximale et de mieux comprendre les propriétés de cette substance active.

#### **III.5.4. screening par phytochimique :**

Le tableau ci-dessous présente les résultats du screening phytochimique de la propolis brute, mettant en évidence les différents composés et constituants identifiés lors de l'analyse .

**Tableau III.8** :Résultats du test phytochimique .

le test phytochimique		Résultat	La couleur
Métabolites secondaires	Réactifs		
Flavonoïdes	(HCl) et (Mg)	+++	
Polyphénols	folin-ciocalteu	+++	
Les saponines		-	

<b>Les quinones libres</b>	NaOH	++	
<b>Les terpénoïdes</b>	d'acide sulfurique	+++	
<b>Tanins</b>	FeCl3	+++	
<b>Les alcaloïdes</b>	le réactif de Wagner	+++	

+++ : Fortement positif      -: absence

Le screening phytochimique réalisé sur la propolis a révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, les polyphénols, les Tanins ,Les quinones libres , Les terpénoïdes et Les alcaloïdes. Ces composés chimiques ont été détectés à partir des tissus végétaux de la propolis. La détection de ces composés chimiques repose sur des tests de solubilité et des observations de changements de couleur caractéristiques.

La présence de ces composés dans la propolis brute suggère la richesse en phytochimie de cet extrait végétal. Chaque composé peut contribuer aux propriétés thérapeutiques et aux bienfaits potentiels de la propolis, tels que ses effets antimicrobiens, anti-inflammatoires ou antioxydants.

### III.6. Caractérisation de la formulation :

#### III.6.1. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :

Le pic de forte intensité de la formulation observé à 3313  $\text{cm}^{-1}$  a été attribué à la vibration d'étirement du carbonyle de l'énol. On observe une bande à 2927, 1458 et 1245  $\text{cm}^{-1}$ , ce qui pourrait être dû à la vibration d'étirement C-H et à l'apparition de groupes méthyle.

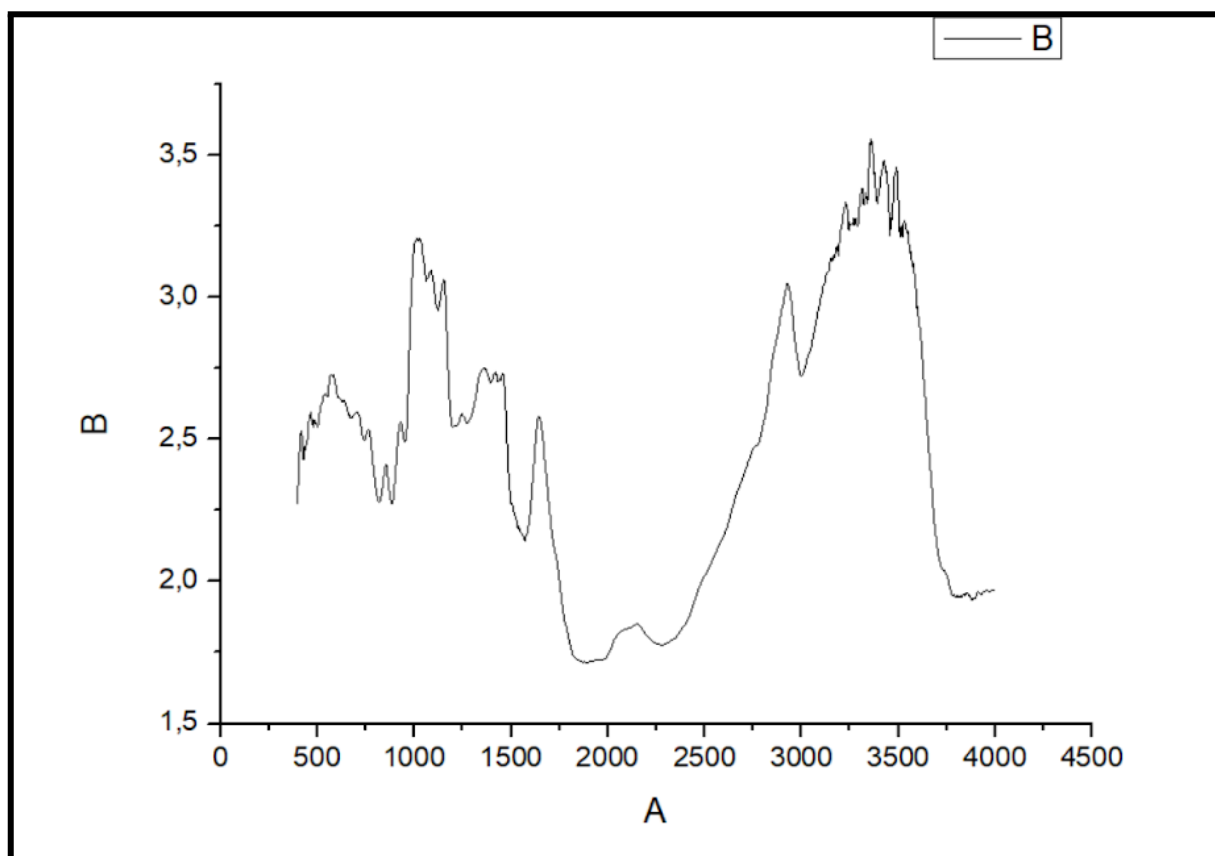
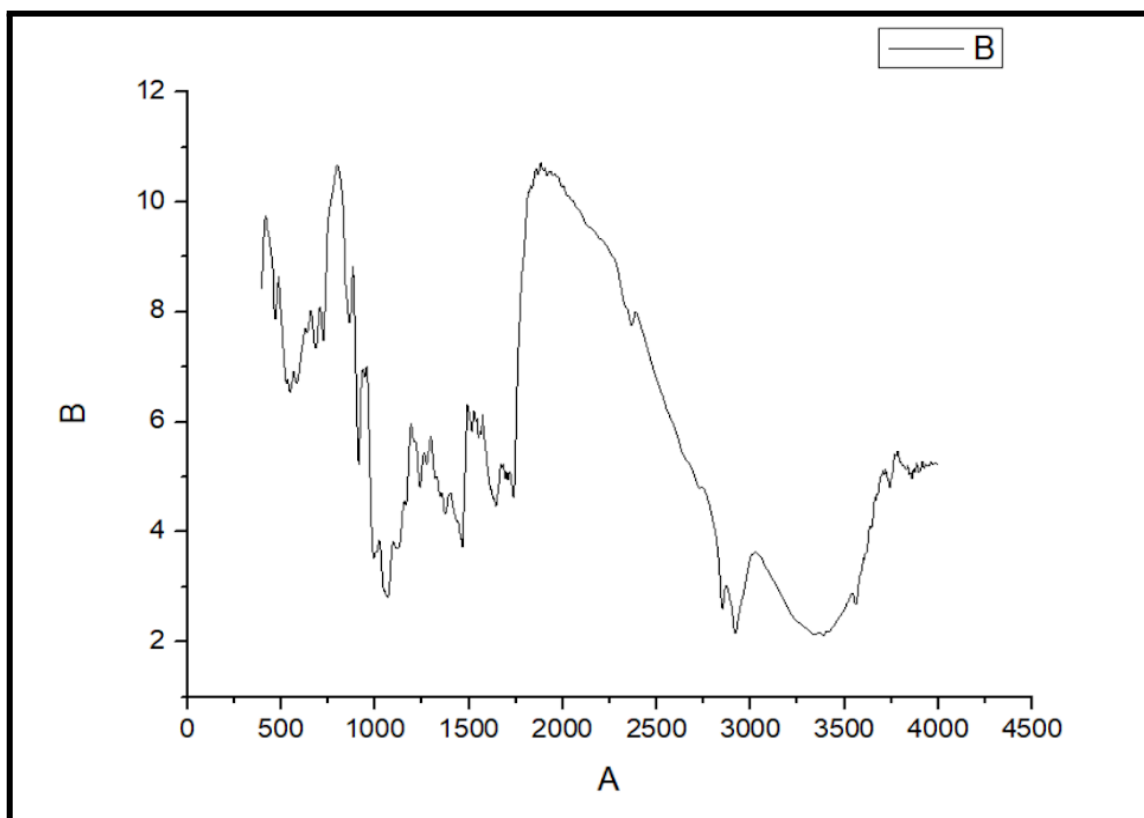


Figure III.20 : Spectre IR de la formulation.



**Figure III.21** : Spectre IR de la propolis brute.

Le pic pour la propolis brute et de la formulation correspond au groupe fonctionnel  $-OCH_3$  et  $C=C$  qui ont apparu à 2920 et 1645  $cm^{-1}$ , suggérant que la propolis était présente dans la formulation et ne s'est pas dégradée au cours du processus de préparation. Nous avons également observé un pic majeur de la propolis à environ 3336  $cm^{-1}$ , qui a été attribué aux vibrations  $-OH$  de la fonction phénol liées de manière intermoléculaire.

Le spectre FTIR de la propolis brute et de la formulation pour mettre en évidence les interactions entre et les excipients. Comme on le voit, les spectres FTIR semblent démontrer que la structure chimique de la propolis n'a pas été modifiée après la formulation des comprimés.

Cependant, le spectre FTIR de la formulation a montré quelques petites différences dans les plages de 800 à 400  $cm^{-1}$  (étirement  $C-O$ ), et aussi l'apparition de nouveaux pics comme le pic à 3957  $cm^{-1}$  dû aux interactions entre les composés de la propolis et les excipients.

On remarque aussi que l'amplitude des groupements a changé. De plus, il y avait une augmentation de l'intensité pour le pic typique de la propolis dans la formulation comme cela

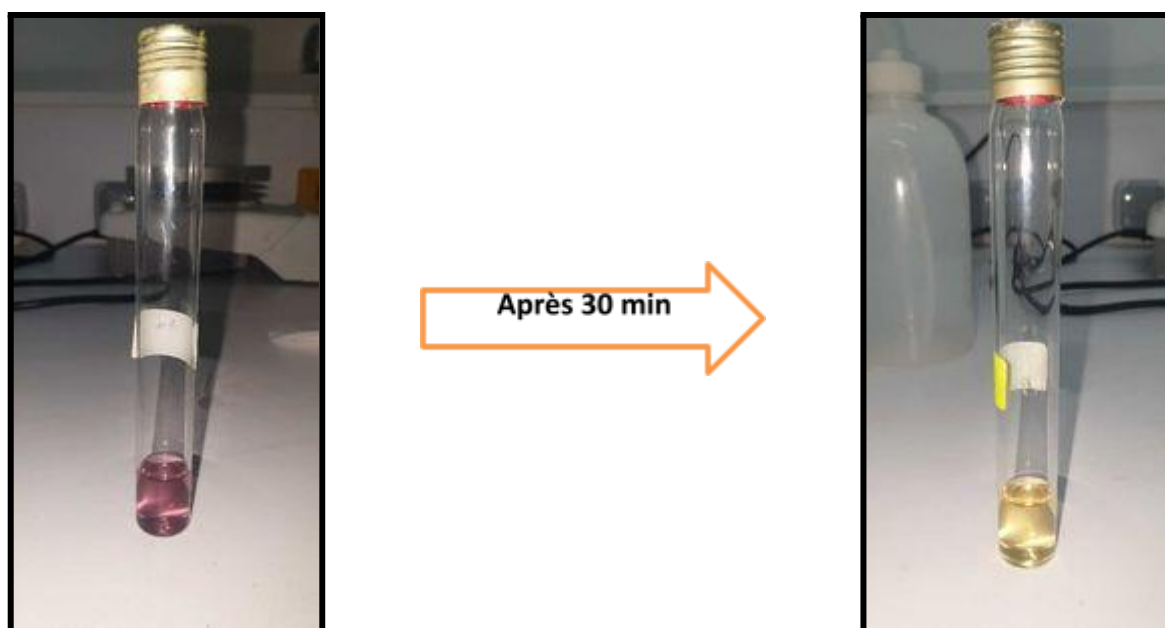
a été constaté avec le pic à 3424 cm<sup>-1</sup> qui correspond à la fonction phénol, ce qui prouve qu'il y a toujours existence de cette fonction réputée pour être responsable de la majorité des activités biologiques de la propolis, mais il y'a juste une variation du moment dipolaire des liaisons de la fonction phénolique due au changement d'intensité de la bande , ce changement semble être due au procédé de la compression.

### **III.7. les activités biologique :**

#### **III.7.1. l'activité antioxydante :**

Nous avons réalisé une étude comparative de l'activité antioxydante entre la propolis brute et le Nerprun et le mélange de notre formulation à différentes proportion de la propolis en utilisant la méthode du DPPH. Cette méthode est considérée comme fiable et pratique, car le radical DPPH est stable et permet de mesurer rapidement et facilement l'activité antioxydante des substances testées.

Les figures présentées ci-dessous représentent les échantillons après 30 minutes d'incubation, mettant en évidence les changements de couleur observés :

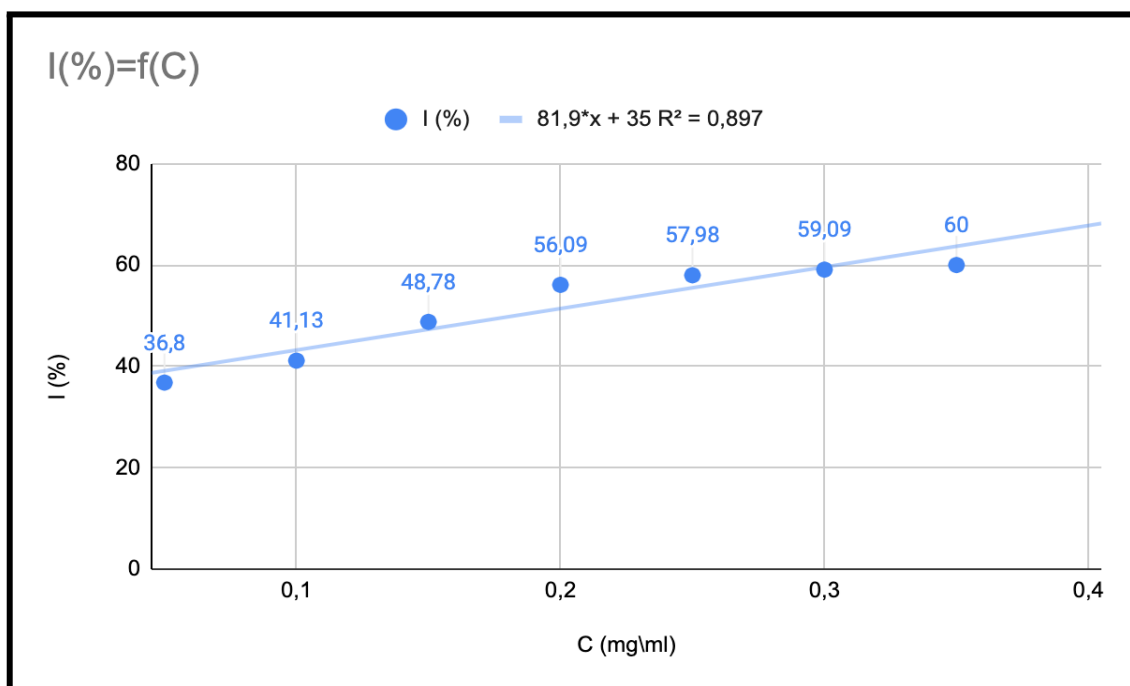


**Figure III.22 :** échantillon avant incubation et après incubation .

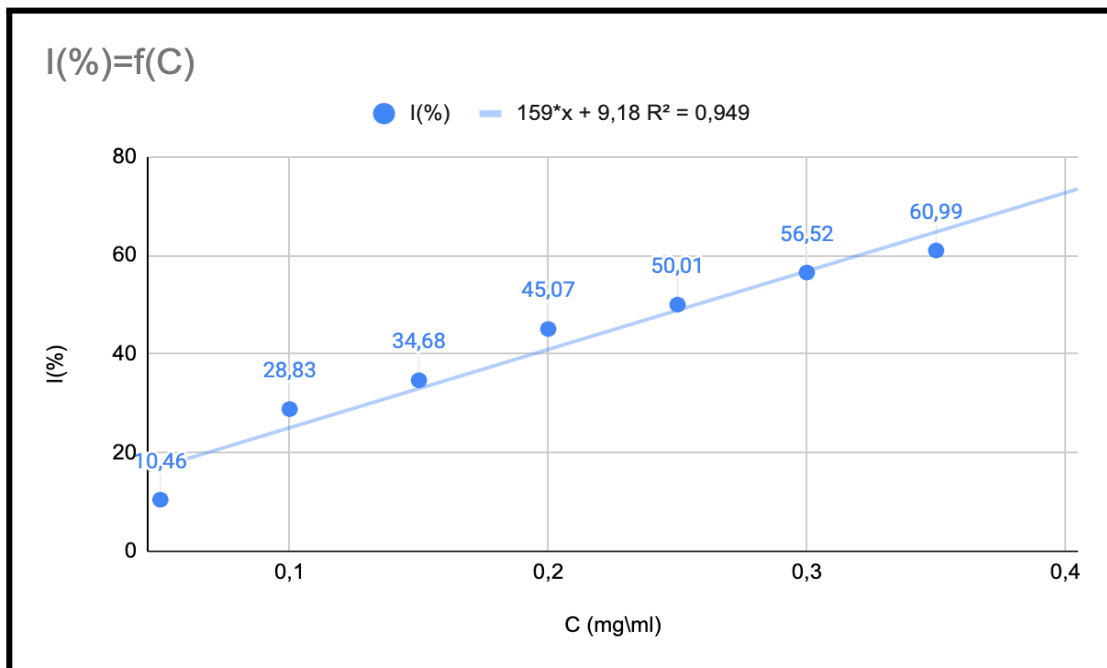
En effectuant des mesures d'absorbance pour chaque concentration, nous avons pu calculer les pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration (IC%) en utilisant la formule suivante :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle \times 100] \dots Eq\ 4$$

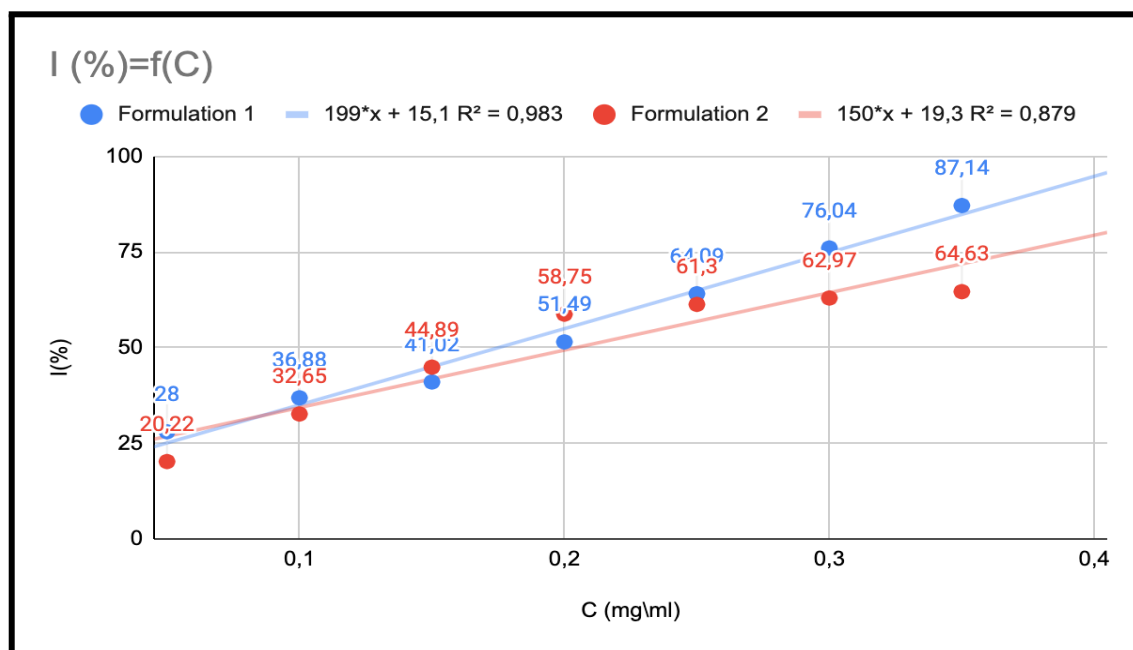
Ces valeurs de pourcentage d'inhibition ont ensuite été utilisées pour tracer les courbes. Ces courbes représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de la propolis brute et du mélange final de notre formulation à base de propolis respectivement.



**Figure.III.23** : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de la propolis



**Figure.III.24 :** Pourcentage d’inhibition en fonction des différentes concentrations du Nerprun.



**Figure.III.25 :** Pourcentage d’inhibition en fonction des différentes concentrations de la formulation à différents dosages.



Les valeurs de l'IC50 de la propolis brute et de Nerprun et de notre formulation à différentes dosage de la propolis et du Nerprun sont déterminées en utilisant la partie linéaire des courbes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des différents composés à tester.

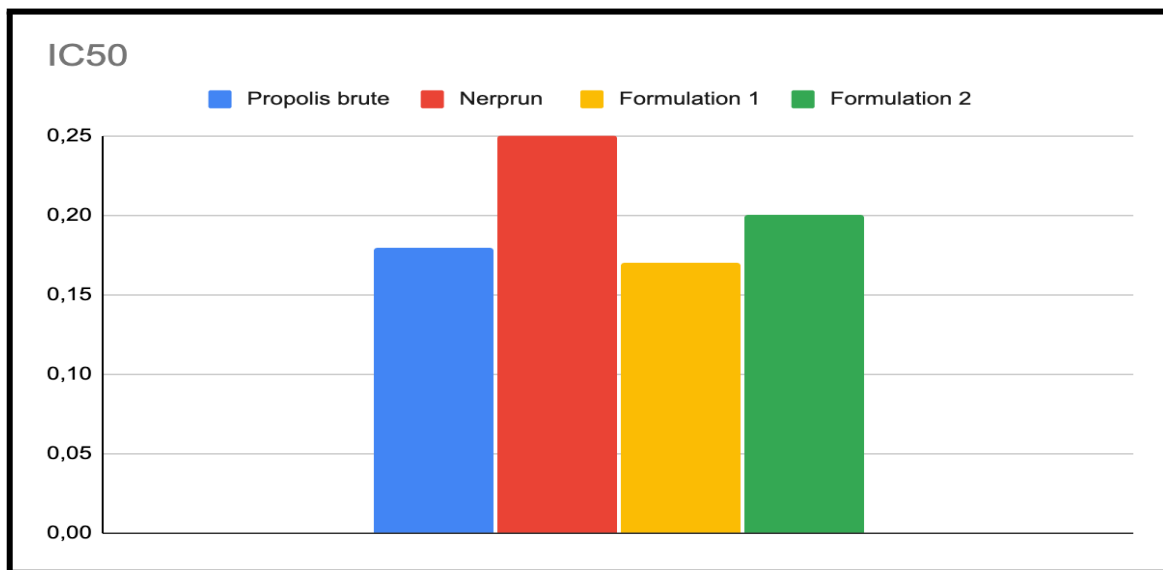
Le tableau ci-dessous représente les Valeurs d'IC50 calculées à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des différents composés à tester :

**Tableau III.9** : les valeurs d'IC50 des différents composés à tester .

<b>les échantillons</b>	<b>l'IC50 mg/ml</b>
<b>la propolis brute</b>	0.18
<b>Nerprun</b>	0.25
<b>la formulation 1</b>	0.17
<b>la formulation 2</b>	0.2

**Ces résultats ont été présentés sous forme d'histogramme :**

l'histogramme ci-dessous met en évidence les valeurs d'IC50 pour chaque échantillon, reflétant ainsi l'efficacité inhibitrice relative des échantillons testés.



**Figure.III.26 :** Histogramme présentant les valeurs des concentrations inhibitrices de la propolis de nerprun et des deux formulations.

Les résultats de l'activité antioxydante permet de comparer l'efficacité antioxydante de la propolis, du nerprun et des formulations à base de propolis dans notre complément alimentaire. Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) fournies sont les suivantes :

- Pour la propolis : IC50 = 0,18 mg/ml
- Pour le nerprun : IC50 = 0,25 mg/ml
- Pour la formulation 1 (70% de propolis et 30% de nerprun) : IC50 = 0,17 mg/ml
- Pour la formulation 2 (30% de propolis et 70% de nerprun) : IC50 = 0,2 mg/ml

L'IC50 représente la concentration à laquelle l'activité antioxydante atteint 50%. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est élevée.

A la lumière de ces résultats nous constatons ce qui suit:

- Comparaison entre la propolis et le nerprun : Les valeurs d'IC50 pour la propolis et le nerprun sont assez proches, ce qui suggère une activité antioxydante similaire entre les deux substances. Cependant, il est important de noter que d'autres facteurs tels que la composition exacte des extraits et les interactions avec d'autres composés peuvent influencer les résultats.
- Comparaison des formulations : Les formulations à base de propolis et de nerprun ont montré des résultats différents en termes d'activité antioxydante. La formulation 1, avec 70% de propolis et 30% de nerprun, présente un IC50 plus bas de 0,17 mg/ml,

ce qui indique une activité antioxydante plus forte par rapport à la formulation 2, qui contient 50% de propolis et 50% de nerprun, avec un IC50 de 0,2 mg/ml. Cela suggère que l'augmentation de la proportion de propolis dans la formulation conduit à une augmentation de l'activité antioxydante.

Il convient de noter que d'autres facteurs peuvent également influencer l'activité antioxydante, tels que la synergie entre les composés présents dans la propolis et le nerprun, ainsi que l'interaction avec d'autres excipients présents dans les formulations.

A cet effet, les résultats suggèrent que la propolis, le nerprun et les formulations à base de propolis et de nerprun présentent tous une activité antioxydante, et que la proportion relative de ces ingrédients peut influencer l'activité antioxydante globale de la formulation.

### **III.7.2. l'activité anti inflammatoire :**

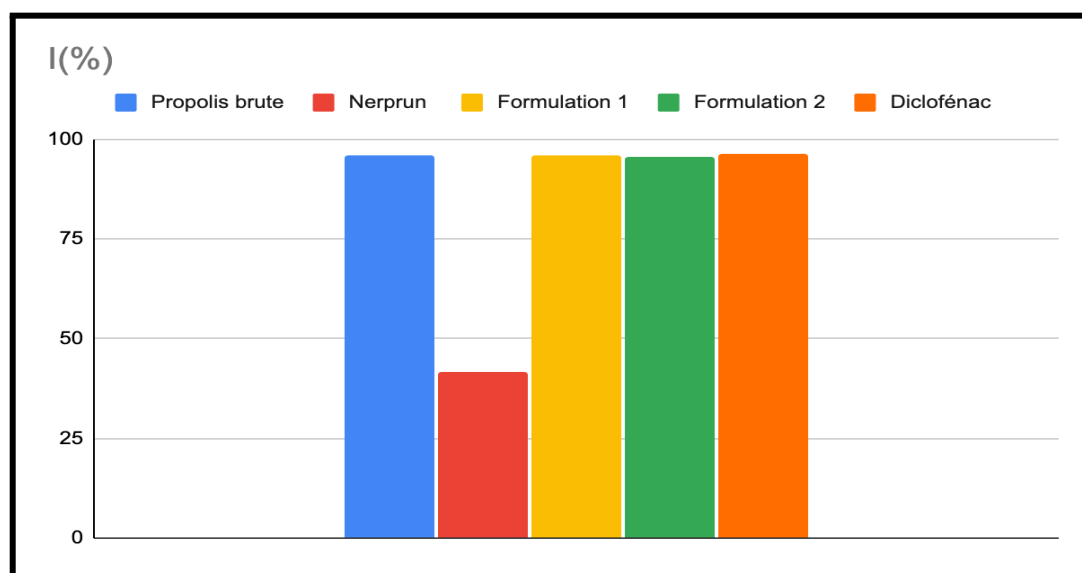
Nous avons effectué un criblage pour déterminer la concentration appropriée afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de la propolis brute ,du Nerprun et de nos deux formulations. Pour ce faire, nous avons évalué l'effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine de la sérum bovin (BSA) en comparant nos échantillons avec un contrôle positif, le Diclofénac. Nous avons réalisé ce test en utilisant trois concentrations différentes (0.1, 1 et 5 mg/ml) pour chaque échantillon. À partir des résultats d'absorbance obtenus, nous avons choisi la concentration de 1 mg/ml pour estimer et comparer l'effet inhibiteur de la propolis brute, du Nerprun et des deux formulations. Le pourcentage d'inhibition (%I) a été calculé en utilisant la formule suivante :

Pourcentage inhibition =  $100 - \left[ \frac{\text{optical density of solution} - \text{optical density of control}}{\text{optical density of test}} \right] \times 100$

**Tableau III.10** : le pourcentage d'inhibition de chaque échantillon.

Echantillons	Diclofénac	propolis brute	Nerprun	la première formulation	la deuxième formulation
Le pourcentage d'inhibition (%)	96.25%	95.77%	41.59%	95.92%	95.46%

Les résultats de l'effet inhibiteur de la dénaturation de la BSA à la concentration de 1 mg/ml de chaque échantillon sont résumés dans le tableau ci-dessus (Tableau III.10) et l'histogramme illustré dans la figure III.23 ci-dessous :



**Figure III.27** : Histogramme présentant les pourcentages d'inhibition de la propolis brute, le Nerprun, la première formulation, la deuxième formulation et le Diclofénac.

D'après l'histogramme le pourcentage d'inhibition de la dénaturation du BSA, les résultats obtenus indiquent que la propolis brute présente une activité anti-inflammatoire avec un pourcentage d'inhibition de 95.77%. Le nerprun montre également une activité anti-inflammatoire, mais avec un pourcentage d'inhibition plus faible de 41.59%. En comparaison, les deux formulations à base de propolis affichent des pourcentages d'inhibition élevés, avec 95.92% pour la première formulation et 95.46% pour la deuxième formulation.

Ces résultats suggèrent que la propolis brute et les formulations à base de propolis ont une activité anti-inflammatoire similaire, se rapprochant de celle du diclofénac. Cependant, il convient de noter que la propolis brute présente un pourcentage d'inhibition légèrement inférieur à celui du diclofénac. Ces résultats soulignent le potentiel prometteur de la propolis en tant qu'agent anti-inflammatoire naturel, tout en laissant entrevoir la possibilité d'améliorer davantage les formulations à base de propolis pour augmenter leur efficacité.

### III.7.3. Activité antibactérienne :

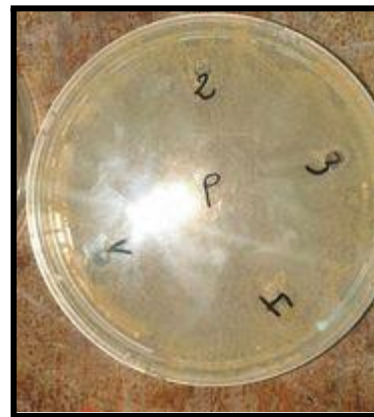
Dans notre étude, les activités antibactériennes de la propolis brute et des deux formulations ont été évaluées contre deux pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), en utilisant la méthode de confection des puits sur milieu de culture Mueller-Hinton gélosé. Nous avons utilisé l'éthanol pour faire la dilution de nos produits.

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne sont regroupés dans le Tableau III.11 et présentés sur les figures III.26, III.27, III.28. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits imprégnés.

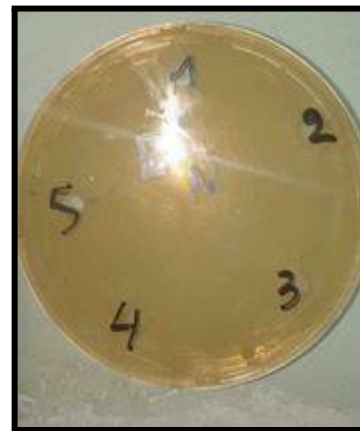
**Tableau III.11** : Résultat de l'activité antibactérienne de la propolis brute et les deux formulations .

	C (mg/ml)	Zone d'inhibition (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>Propolis brute</b>	4	10	-
	6	10	-
	8	23	-
	10	50	-
<b>la première formulation</b>	4	10	-
	6	10	-
	8	20	-
	10	30	-

la deuxième formulation	4	10	-
	6	10	-
	8	30	-
	10	30	-



**Figure III.28:** Zone d'inhibition de la propolis brute contre *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement.



**Figure III.29:** Zone d'inhibition de la première formulation contre *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement.



**Figure III.30:** Zone d'inhibition de la deuxième formulation contre *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement.

A partir des résultats du test, on a constaté que la propolis brute et les deux formulations n'ont présenté aucune activité inhibitrice pour *Escherichia coli* dans toutes les concentrations. Les résultats montrent que la propolis brute présente des zones d'inhibition allant de 10 à 50 mm à différentes concentrations allant de 4 à 10 mg /ml pour *staphylococcus aureus* . Pour la première formulation, les zones d'inhibition sont de 10 à 30 mm . Quant à la deuxième formulation, la deuxième formulation présente des zones d'inhibition allant de 30 à 10 mm aux mêmes concentrations que la propolis .

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al (2009) ; ils ont classé les diamètres de zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 5 classes: [88]

Très fortement inhibitrice :  $D \geq 30\text{mm}$

Fortement inhibitrice :  $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$

Modérément inhibitrice ;  $16\text{ mm} \leq D \leq 20\text{mm}$

Légèrement inhibitrice :  $11\text{ mm} \leq D \leq 16\text{ mm}$

Non inhibitrice :  $D < 10$

A partir de cette échelle, on constate que l'activité antibactérienne de la propolis brute est Très fortement inhibitrice  $D \geq 30\text{mm}$  , les deux formulations ont présenté une activité antibactérienne qui est fortement inhibitrice  $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$  . On conclut que notre formulation à base de propolis ont un effet bactériostatique contre la souche *Staphylococcus aureus* car elle a arrêté la prolifération de cette dernière.

### **III.8. Contrôle pharmaco-techniques en fin de production :**

Le contrôle pharmaco-technique en fin de production des comprimés à base de propolis est essentiel pour évaluer leur qualité et leur conformité aux normes. Nous avons réalisé le contrôle pharmaco-technique de deux formulations de comprimés à base de propolis.

Les résultats de ces tests ont été consignés dans un tableau détaillant les paramètres évalués :

**Tableau III.12** : les résultats du contrôle pharmacotechnique de la première formulation.

<b>Les paramètres</b>	<b>La dureté</b>	<b>L'épaisseur</b>	<b>Uniformité de masse</b>	<b>La friabilité</b>
<b>Formulation 01</b>	40	6.266	706 g	0.0175%

**Tableau III.13** : les résultats du contrôle pharmaco-technique de la deuxième formulation.

<b>Les paramètres</b>	<b>La dureté</b>	<b>L'épaisseur</b>	<b>Uniformité de masse</b>	<b>La friabilité</b>
<b>Formulation 02</b>	43.671	6.410	699 g	0.057%

Les résultats des tests pour la première formulation de comprimés montrent une dureté de 40, une épaisseur de 6.266, une friabilité de 0.0175% et une uniformité de masse de 706 g avec un écart type qui est inférieur à 5% . Ces valeurs indiquent que les comprimés sont suffisamment résistants, de taille uniforme et présentent une faible tendance à se désagréger.

Pour la deuxième formulation, la dureté est de 43.671, l'épaisseur de 6.410, la friabilité est de 0.057% et l'uniformité de masse est de 706 g avec un écart type qui est inférieur à 5%. Ces résultats suggèrent que les comprimés sont légèrement plus durs que la première formulation, de taille similaire et légèrement plus sujets à l'abrasion.

Les deux formulations de comprimés ont des caractéristiques acceptables en termes de résistance, de taille et de tendance à se désagréger.

### **III.9. Résultats de dissolution des comprimés :**

#### **III.9.1. Etude de dissolution :**



Les résultats de l'étude de dissolution des comprimés formulés de la première formulation ainsi que la deuxième formulation sont représentés dans les graphes suivants :

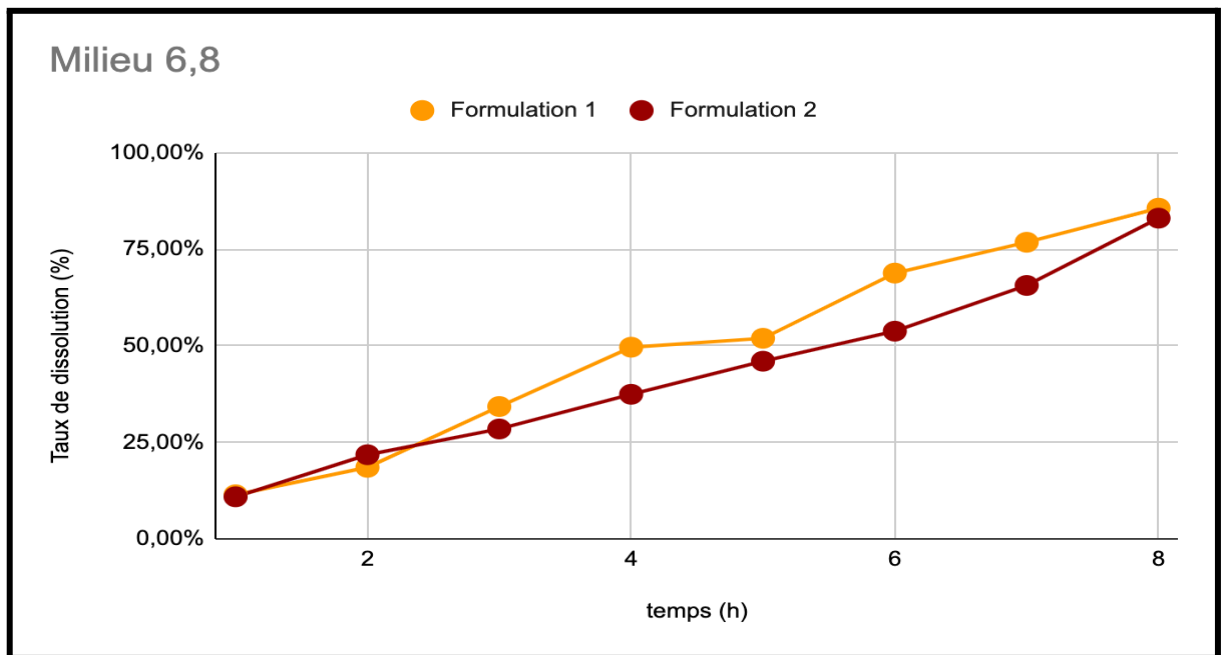


Figure III.31 : cinétique de dissolution des comprimés dans le milieu pH=6.8

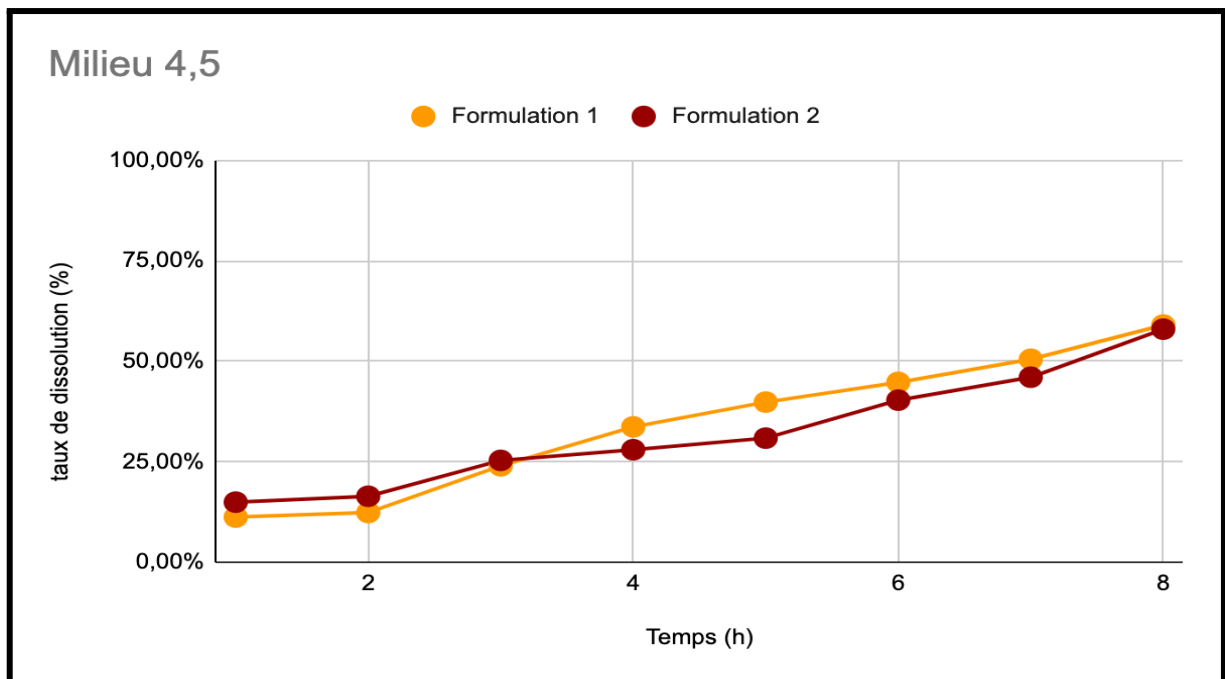
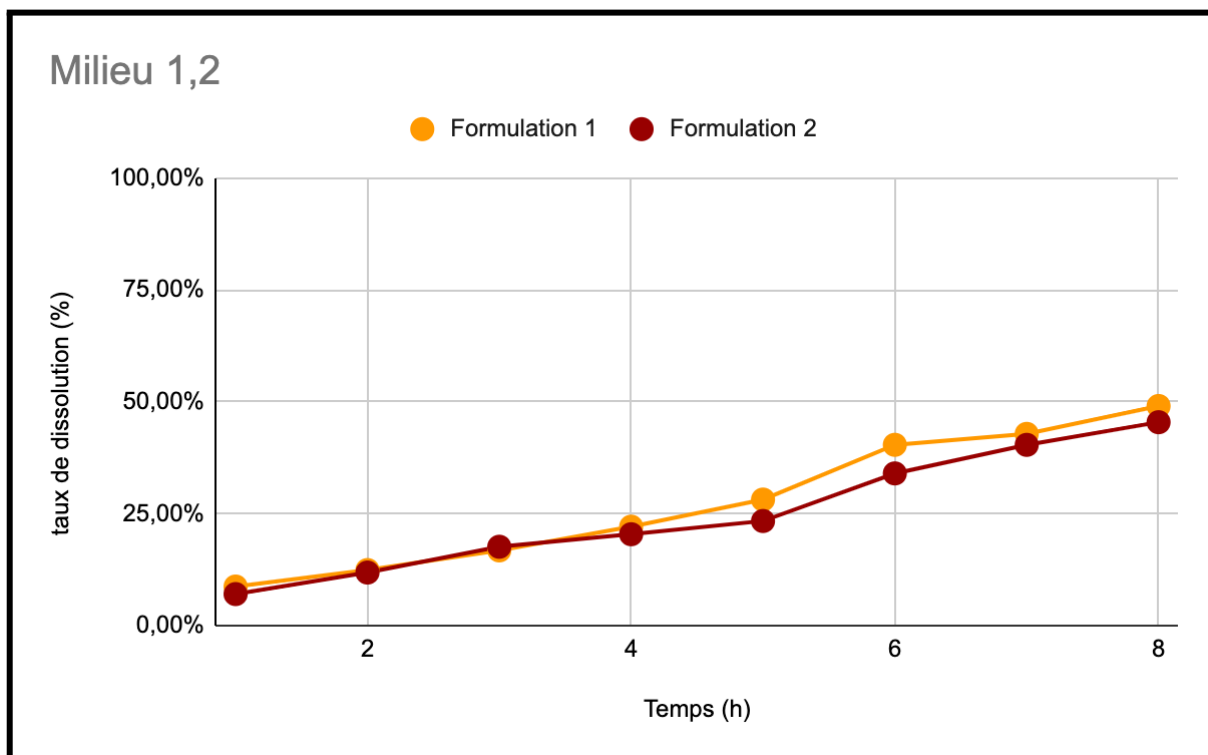


Figure III.32 : cinétique de dissolution des comprimés dans le milieu pH=4.5



**Figure III.33:** cinétique de dissolution des comprimés dans le milieu pH=1.2

On peut observer à partir des résultats obtenus lors de la dissolution effectuer une croissance au bout d'une heure donc une amélioration dans le taux de dissolution pour les deux formulations dans les trois milieux.

On déduit que le taux de dissolution est important dans le milieu (pH 6.8) où il atteint 85,62% pour la première formulation et 83,04% pour la deuxième formulation.

Donc Le milieu intestinal (pH 6.8) a donné un meilleur pourcentage de dissolution que les deux autres milieux (pH 1.2 et pH 4.5) en raison de la composition chimique du principe actif (propolis brute) qui contient divers composés tels que les flavonoïdes, des acides phénoliques et des huiles essentielles qui sont plus solubles dans des environnements légèrement basiques, ce qui favorise leur dissolution dans le milieu intestinal.

On constate aussi une libération prolongée des comprimés avec un taux de dissolution de 85% atteint au bout de 8h dans le milieu (pH=6.8), cela est dû aux composés de la matrice solide des comprimés qui se dissout lentement, libérant ainsi progressivement le principe actif (propolis brute) dans le milieu de dissolution.

## **Conclusion générale :**

La propolis, un composé résineux recueilli par les abeilles à partir de diverses sources végétales, a été utilisée comme principe actif dans notre étude visant à optimiser la formulation d'un complément alimentaire. Grâce à ses propriétés biologiques, notamment ses activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes, la propolis offre un potentiel prometteur en termes de santé et de bien-être.

Notre étude a réussi à optimiser la formulation d'un complément alimentaire à base de propolis. En utilisant la propolis comme principe actif, nous avons développé deux formulations différentes à différentes proportions pour notre complément, en utilisant le nerprun comme additif pour faciliter le broyage de la propolis, ainsi que d'autres excipients tels que l'amidon de riz, le sorbitol et la maltodextrine pour améliorer les paramètres pharmaco-techniques de la poudre afin de la rendre apte à la compression et à la fabrication de comprimés.

Afin de développer la formule adéquate, nous avons opté pour l'approche des plans d'expérience.

Au terme de notre travail, les principaux résultats peuvent être résumés comme suit :

- Par spectroscopie UV, la nature de notre matière a été confirmée. L'absorption maximale a été détectée à 285 nm.
- Des tests de criblage phytochimique ont révélé la présence de flavonoïdes, de polyphénols, de tanins et de saponines dans la propolis brute, conférant ainsi des propriétés bénéfiques à notre complément alimentaire.
- Nous avons également évalué la solubilité de la propolis dans différents solvants et avons identifié l'éthanol comme solvant adéquat.
- Cette étude de formulation a donné des réponses pharmaco-techniques conformes aux normes exigées par la pharmacopée pour les deux formulations de notre complément alimentaire à l'exception de certaines formules, ainsi que des résultats biopharmaceutiques présentés sous forme de profil qui est bien celui d'une forme à libération prolongée.
- Nous avons également mené une étude sur les activités biologiques de la propolis et des deux formulations de notre complément alimentaire. Les résultats obtenus ont été

satisfaisants et ont démontré que notre complément alimentaire présente des activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes grâce à la présence de propolis.

Notre étude a démontré que les deux formulations de notre complément alimentaire à base de propolis ont donné des résultats satisfaisants. Cependant, il est important de noter que la première formulation, avec un dosage plus élevé de propolis, a montré une efficacité supérieure à celle de la deuxième formulation, qui contenait une proportion de propolis moins élevée.

Ces observations indiquent que le dosage de propolis dans la formulation peut influencer l'efficacité globale du complément alimentaire. Une concentration plus élevée de propolis peut avoir un impact plus marqué sur les activités biologiques, telles que les propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes.

## Références bibliographiques :

1. Baudel, M. (2017) l'Apithérapie. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie ; université Picardie jules verne, p123.
2. Silva-Carvalho R., Baltazar F., and Almeida-Aguiar C. (2015) Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development [Internet]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. [cité 19 mars 2019].
3. Bankova V, Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 2000.
4. Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol* 2005.
5. Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley FR. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. *Bee World*.
6. Marcucci MC, Ferreres F, García-Viguera C, et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol*.
7. Bankova V. Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. *J ApiProduct Api Medical Science*. 2009.
8. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Król W. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complement Altern Med*.
9. Sforcin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol*.
10. Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Phytochemistry*.
11. Park YK, Alencar SM, Aguiar CL. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *J Agric Food Chem*.
12. Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005.
13. Bankova V. Propolis: A review of its chemical composition and biological properties. *APIMONDIA Congress*; 2005.
14. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 2002.
15. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995.

16. Silici S, Kutluca S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J Ethnopharmacol*.
17. Vynograd N, Vynograd I, Sosnowski Z. A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine*.
18. Bankova V, Popova M, Bogdanov S, et al. Chemical composition of European propolis: Expected and unexpected results. *Z Naturforsch C J Biosci*.
19. Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine*.
20. Sforcin JM. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytother Res*.
21. Bankova V, Christov R, Marcucci MC, et al. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Z Naturforsch C J Biosci*.
22. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*.
23. Natarajan K, Singh S, Burke TR Jr, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
24. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*.
25. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*.
26. Bankova V, Galabov AS, Antonova D, et al. The chemical composition of Bulgarian propolis. *J Nat Prod*.
27. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol*.
28. Rodríguez, Y.; Sánchez-Catalán, F.; Rojano, B.; Durango, D.; Gil, J.; Marín-Loaiza, J. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento del atlántico, Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 2012.
29. A M S Ibrahim, Phytochemical Composition of Iraqi Propolis and its effect on some Microorganisms, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, *Al-Anbar J Vet Sci* 2018.
30. Anđelković B, Vujić L, Čekić I V, Tesević V, Vajs V, Devac D G, Metabolomics study of Populus type propolis, *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016.

31. Angélique S D, Effets biologiques des nanoparticules manufacturées : influence de leur caractéristique, Thèse de Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), France, 2008
32. Russo, V Cardile, F Sanchez, N Troncoso, A Vanella, J A Garbarino, Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines, Italy, Elsevier, life sciences 2004.
33. Blanc M, Propriétés et usage médical de produits de la ruche, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges, 2010.
34. F Klingshirn, Zinc Oxide: From Fundamental Properties Towards Novel Applications, Germany, Springer, 2010.
35. Jeridane A, Yous M, Nadjemi B, Boutassouna D, Strocker P, Vidal N, Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, Food Chem 2006.
36. A Badria, H M Fathy, A S Fatehe, M H Ahmed, M G Ghazy, Chemical and biological diversity of propolis samples from Bulgaria, Libya, and Egypt, Journal of Apitherapy 2018.
37. Galeotti, F Maccari, A Fachini, N Volpi, Chemical Composition and Antioxidant Activity of Propolis Prepared in Different Forms and in Different Solvents Useful For Finished Products, B Natural, Corbetta, 20121 Milano, MDPI Italy, 2018.
38. Garima S, Bhavesh R, Kasariya K, Ranjan A S, Singh R P, Biosynthèse de nanoparticules d'argent à l'aide d'extrait de feuilles d'Ocimum sanctum (Tulsi) et criblage de son activité antimicrobienne, J Nanopart Res 2013.
39. Gharbi M, Les produits de la ruche: origine- fonctions naturelles- Composition - propriétés thérapeutiques: apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire, Thèse de Doctorat en Médecine-Pharmacie, Université Claude Bernard (Lyon I) 2011.
40. Hasna A S, Rajeshwari S, Venckatesh R, Green synthèse et caractérisation de nanoparticules d'oxyde de zinc d'Ocimum basilicum L var purpurascens Benth - Extrait de feuille de Lamiaceae, Mater lett 2014.
41. Ahn M R, Kumazawa S, Hamasaka T, Bang K S, Nakayama T, Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007.
42. Alexandra Mocanu, Gabriela Isopencu, Cristina Busuioc, Oana-Maria Popa, Paul Dietrich & Liana Socaciu-Siebert, Bacterial cellulose films with ZnO nanoparticles and propolis extracts: Synergistic antimicrobial effect, Scientific Reports 2019.

43. A M S Ibrahim, Phytochemical Composition of Iraqi Propolis and its effect on some Microorganism, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Al-Anbar J Vet Sci 2018.
44. Andelkovi B, Vujisi L, ckovi I V, Tesevi V, Vajs V, devac D G, Metabolomics study of Populus type propolis, Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016.
45. Angélique S D, Effets biologiques des nanoparticules manufacturées : influence de leur caractéristique, Thèse de Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), France, 2008.
46. A Russo, V Cardile, F Sanchez, N Troncoso, A Vanella, J A Garbarino, Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines, Italy, Elsevier, life sciences 2004.
47. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, et al. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J Ethnopharmacol.
48. Marcucci MC, Ferreres F, García-Viguera C, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. J Ethnopharmacol. 2001.
49. Sforcin JM, Fernandes A Jr, Lopes CA, Bankova V, Funari SR. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. J Ethnopharmacol. 2000.
50. Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. J Ethnopharmacol 2000.
51. Sawaya AC, Calado V, da Silva Cunha IB, et al. Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red Brazilian propolis. Evid Based Complement Alternat Med. 2013.
52. Salomão K, Dantas AP, Borba CM, et al. Chemical composition and microbicidal activity of extracts from Brazilian and Bulgarian propolis. Lett Appl Microbiol. 2004.
53. Bankova V S, De Castro S L, Marcucci M C, Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, Apidologie 2000.
54. Blanc M, Propriétés et usage médical de produits de la ruche, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges, 2010.
55. Burdock G A, Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis), Food and Chemical Toxicology 1998.



- 56.** Castaldo S, Capasso F, Propolis, an old remedy used in modern medicine, *Fitoterapia* 2002.
- 57.** Suraj Prakash Shrestha .; Yuji Narukawa.; Tadahiro Takeda. 2007. Chemical constituents of nepalese propolis: isolation of new dalbergiones and related compound. *Journal of Natural Medicine* (2007) 61 : 73 – 76
- 58.** Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. 2006. Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA* 41 (2006) PAGE 110-120.
- 59.** Chung Y-C, Chang C-T, Chao W-W, Lin C-F, et Chou S-T, Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002.
- 60.** Sawaya AC, Calado V, da Silva Cunha IB, et al. Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red Brazilian propolis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:605393. doi:10.1155/2013/605393
- 61.** Eric Debuyser, La propolis, Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université De Nante, Faculté de Pharmacie, 1984.
- 62.** F A Badria, H M Fathy, A S Fatehe, M H Ahmed, M G Ghazy, Chemical and biological diversity of propolis samples from Bulgaria, Libya, and Egypt, *Journal of Apitherapy* 2018;3(2).
- 63.** R. KRELL., 1996. Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5.
- 64.** Mohsen FathiNajafi.; Fatemehvahdy.; Mohammed Seyyedini.; Hamid rezaJomehzadeh.; KazemBozary. 2007. Effect of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. *Cytotechnologie.*(2007) 54: 49 – 56.
- 65.** Eric Debuyser., 1984. La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nantes, Faculté de pharmacie.
- 66.** Shimomura. Y et al. (2004) Exercise Promotes BCAA Catabolism: Effects of BCAA Supplementation on Skeletal Muscle during Exercise, 1583S-1587S.
- 67.** Ambroise M. (2007) AFSSA Apports nutritionnels conseillés pour la population française. France, Editions tec & doc.
- 68.** DANIELE F. (2014) *Le grand livre des compléments alimentaires*, Paris, Leduc. S. Wilborn CD et al. (2004) Effects of Zinc Magnesium Aspartate (ZMA).

- 69.**Supplementation on Training Adaptations and Markers of Anabolism and Catabolism, 12-20.
- 70.**BAZIRE. A et PONROY.A. (2008) La plante au complément alimentaire ; les bienfaits naturels des plantes en toute sécurité, communiqué de presse, Angers.
- 71.**cours monsieur cheknane les formes pharmacheutique solide .
- 72.**Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (2005). Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte.
- 73.**Cynober L. (2008) Complément alimentaire, alicament, médicament : qui est qui ? ou Faust revisité, 1521.
- 74.**Salomão K, Dantas AP, Borba CM, et al. Chemical composition and microbicidal activity of extracts from Brazilian and Bulgarian propolis. *Lett Appl Microbiol.* 2004;
- 75.**Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology.* 2005?
- 76.**Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. 2006. Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA* 41 (2006) PAGE 110-120.
- 77.**Andelkovic B., Vujisi L., ckovi I. V., Tesevi V., Vajs V., devac D. G. (2016). Metabolomics study of Populus type propolis. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, S0731-7085, 30493-9.
- 78.**A. dos Santos Pereira, A.C. Pinto, J.N. Cardoso, F.R. de Aquino Neto, M.F. de Souza Ramos, G.M. Dellamora-Ortiz et E.P. dos Santos , *J. High Resolu. Chromatogr.* 21(1998) 396-400.
- 79.**Eric Debuyser., 1984. La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université De Nante, Faculté de pharmacie.
- 80.**Sforcin JM, Fernandes A Jr, Lopes CA, Bankova V, Funari SR. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J Ethnopharmacol.* 2000.
- 81.**N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).
- 82.**Oloyede,.O. I. (2005). Chemical profile of unripe pulp of Carica papaya. *Pakistan journal of nutrition*, 4(6), 379-381.
- 83.**Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 4(7), 685-688.

- 84.** Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Res*, 2, 77- 82.
- 85.** Huang, D. J., Chun-Der, L. I. N., Hsien-Jung, C. H. E. N., & Yaw-Huei, L. I. N. (2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] LamTainong 57') constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45.
- 86.** Samojlik, I., et al., Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and caraway (*Carum carvi* L.)(Apiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010. 58(15): p. 8848-8853.
- 87.** Paixao, N., et al., Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chemistry*, 2007. 105(1): p. 204-214.
- 88.** Mutai, C., et al., Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from *Acacia mellifera*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2009.

## Appendice A

### Appareillages

#### A. Appareillages :

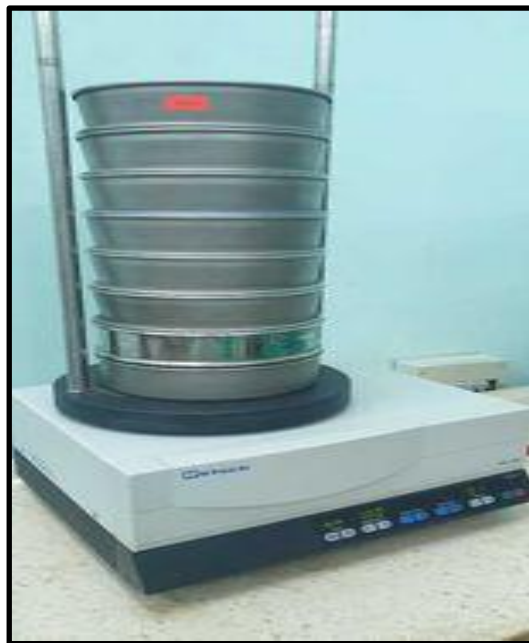
Le matériel utilisé dans cette étude est spécifique au procédé de granulation par voie humide, qui est utilisé pour formuler des comprimés. Le matériel comprend notamment :



**Figure A.1 :** Balance.



**Figure A.2 : Etuve.**



**Figure A.3 : Tamiseur.**



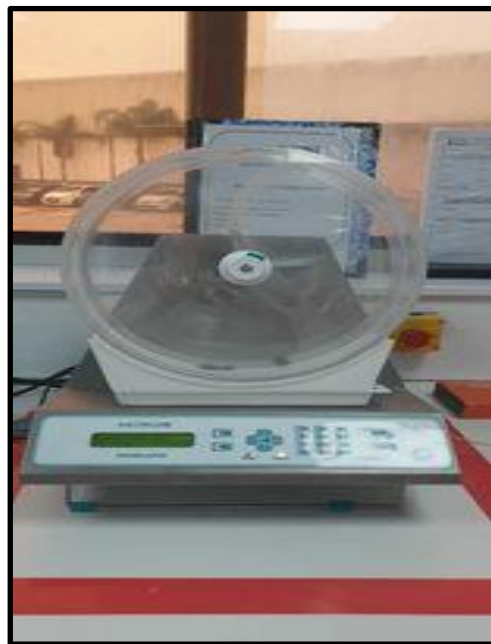
**Figure A.4 :** Entonnoir normalisé.



**Figure A.5:** Voluménomètre.



**Figure A.6:** Duromètre.



**Figure A.7:** Friabilimètre.



**Figure A.8 :** Dissolutest.



**Figure A.9 :** Hachoir

Cheff.





**Figure A.10** : comprimeuse automatique à l'échelle pilote.

### **Appendice B**

**Résultats de l'analyse granulométrique de la première formulation:**

**Tableau B.1** : l'analyse granulométrique [essai 1] :

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
1000	>1000	<b>15.2</b>	<b>15.39</b>	<b>15.39</b>

800	900	<b>16.23</b>	<b>16.43</b>	<b>31.82</b>
630	715	<b>19.21</b>	<b>19.45</b>	<b>51,27</b>
400	515	<b>36.2</b>	<b>36.65</b>	<b>87.92</b>
200	300	<b>11.6</b>	<b>11.74</b>	<b>99.66</b>
Fond	<200	<b>0.34</b>	<b>0.34</b>	<b>100</b>

**Tableau B.2 : l'analyse granulométrique [essai 2] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
1000	>1000	<b>10.2</b>	<b>10.4</b>	<b>10.4</b>
800	900	<b>17.4</b>	<b>17.75</b>	<b>28.15</b>
630	715	<b>25.6</b>	<b>26.12</b>	<b>54.27</b>
400	515	<b>38.4</b>	<b>39.18</b>	<b>93.45</b>
200	300	<b>6</b>	<b>6.12</b>	<b>99.57</b>
fond	<200	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>100</b>

**Tableau B.3 : l'analyse granulométrique [essai 3] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
1000	>1000	<b>13.9</b>	<b>14.04</b>	<b>14.04</b>
800	900	<b>17</b>	<b>17.17</b>	<b>31.21</b>
630	715	<b>22.2</b>	<b>22.42</b>	<b>53.63</b>
400	515	<b>39.2</b>	<b>39.59</b>	<b>93.22</b>
200	300	<b>6.2</b>	<b>6.26</b>	<b>99.48</b>
Fond	<200	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>100</b>

**Tableau B.4 : l'analyse granulométrique [essai 8] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>15.5</b>	<b>15.5</b>	<b>15.5</b>
<b>800</b>	900	<b>21.7</b>	<b>21.7</b>	<b>37.2</b>
<b>630</b>	715	<b>22.8</b>	<b>22.8</b>	<b>60</b>
<b>400</b>	515	<b>32.7</b>	<b>32.7</b>	<b>92.7</b>
<b>200</b>	300	<b>6.3</b>	<b>6.3</b>	<b>99</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>100</b>

**Tableau B.5 : l'analyse granulométrique [essai 9] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>15.43</b>	<b>15.34</b>	<b>15.34</b>
<b>800</b>	900	<b>16.66</b>	<b>16.66</b>	<b>32</b>
<b>630</b>	715	<b>19.9</b>	<b>19.9</b>	<b>51.9</b>
<b>400</b>	515	<b>34.8</b>	<b>34.8</b>	<b>86.7</b>
<b>200</b>	300	<b>25.4</b>		
<b>Fond</b>	<200	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>100</b>

**Tableau B.6 : l'analyse granulométrique [essai 12] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
-----------------------------------	----------------------------------	-----------	-----------	------------

<b>1000</b>	>1000	<b>10</b>	<b>10.1</b>	<b>10.1</b>
<b>800</b>	900	<b>18.2</b>	<b>18.38</b>	<b>28.48</b>
<b>630</b>	715	<b>24.6</b>	<b>24.84</b>	<b>53.32</b>
<b>400</b>	515	<b>37.9</b>	<b>38.28</b>	<b>91.6</b>
<b>200</b>	300	<b>8</b>	<b>8.08</b>	<b>99.68</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.3</b>	<b>0.3</b>	<b>100</b>

**Tableau B.7 : l'analyse granulométrique [essai 13] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>8.2</b>	<b>8.36</b>	<b>8.36</b>
<b>800</b>	900	<b>14.3</b>	<b>14.59</b>	<b>22.95</b>
<b>630</b>	715	<b>27.9</b>	<b>28.46</b>	<b>51.41</b>
<b>400</b>	515	<b>37.4</b>	<b>38.16</b>	<b>89.57</b>
<b>200</b>	300	<b>10</b>	<b>10.2</b>	<b>99.77</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.2</b>	<b>0.2</b>	<b>100</b>

**Tableau B.8 : l'analyse granulométrique [essai 14] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>8.8</b>	<b>8.85</b>	<b>8.85</b>
<b>800</b>	900	<b>16.3</b>	<b>16.39</b>	<b>25.24</b>
<b>630</b>	715	<b>25</b>	<b>25.15</b>	<b>50.39</b>
<b>400</b>	515	<b>40</b>	<b>40.24</b>	<b>90.63</b>
<b>200</b>	300	<b>9</b>	<b>9.05</b>	<b>99.63</b>

<b>Fond</b>	<200	<b>0.3</b>	<b>0.3</b>	<b>100</b>
-------------	------	------------	------------	------------

**Résultats de l'analyse granulométrique de la deuxième formulation:**

**Tableau B.9 : l'analyse granulométrique [essai 1] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>17.20</b>	<b>17.4</b>	<b>17.4</b>
<b>800</b>	900	<b>22.5</b>	<b>22.77</b>	<b>40.17</b>
<b>630</b>	715	<b>21.2</b>	<b>21.45</b>	<b>61.62</b>
<b>400</b>	515	<b>33.2</b>	<b>33.6</b>	<b>95.22</b>
<b>200</b>	300	<b>4.2</b>	<b>4.25</b>	<b>99.47</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>100</b>

**Tableau B.10 : l'analyse granulométrique [essai 2] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>16.1</b>	<b>16.42</b>	<b>16.42</b>
<b>800</b>	900	<b>21.2</b>	<b>21.6</b>	<b>38.02</b>
<b>630</b>	715	<b>22.4</b>	<b>22.85</b>	<b>60.87</b>
<b>400</b>	515	<b>30.2</b>	<b>30.81</b>	<b>91.68</b>
<b>200</b>	300	<b>7.5</b>	<b>7.65</b>	<b>99.33</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.6</b>	<b>0.61</b>	<b>100</b>

**Tableau B.11 : l'analyse granulométrique [essai 3] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>14.2</b>	<b>14.22</b>	<b>14.22</b>
<b>800</b>	900	<b>23.2</b>	<b>23.24</b>	<b>37.46</b>
<b>630</b>	715	<b>20.5</b>	<b>20.54</b>	<b>58</b>
<b>400</b>	515	<b>34.5</b>	<b>34.56</b>	<b>92.56</b>
<b>200</b>	300	<b>7</b>	<b>7.01</b>	<b>99.57</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>100</b>

**Tableau B.12 : l'analyse granulométrique [essai 8] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>14.2</b>	<b>14.38</b>	<b>14.38</b>
<b>800</b>	900	<b>21.7</b>	<b>21.98</b>	<b>36.36</b>
<b>630</b>	715	<b>22.8</b>	<b>23.09</b>	<b>59.45</b>
<b>400</b>	515	<b>32.72</b>	<b>33.14</b>	<b>92.59</b>
<b>200</b>	300	<b>6.3</b>	<b>6.38</b>	<b>98.97</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>1</b>	<b>1.01</b>	<b>100</b>

**Tableau B.13 : l'analyse granulométrique [essai 9] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>19.29</b>	<b>19.68</b>	<b>19.68</b>
<b>800</b>	900	<b>22.4</b>	<b>22.85</b>	<b>42.53</b>
<b>630</b>	715	<b>21.09</b>	<b>21.52</b>	<b>64.05</b>

<b>400</b>	515	<b>26.72</b>	<b>27.26</b>	<b>91.31</b>
<b>200</b>	300	<b>8</b>	<b>8.16</b>	<b>99.47</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.5</b>	<b>0.51</b>	<b>100</b>

**Tableau B.14 : l'analyse granulométrique [essai 12] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>18.3</b>	<b>18.48</b>	<b>18.48</b>
<b>800</b>	900	<b>21.7</b>	<b>21.91</b>	<b>40.39</b>
<b>630</b>	715	<b>22.4</b>	<b>22.62</b>	<b>63.01</b>
<b>400</b>	515	<b>28.5</b>	<b>28.78</b>	<b>91.79</b>
<b>200</b>	300	<b>7.8</b>	<b>7.87</b>	<b>99.66</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.3</b>	<b>0.3</b>	<b>100</b>

**Tableau B.15 : l'analyse granulométrique [essai 13] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>10</b>	<b>10.01</b>	<b>10.01</b>
<b>800</b>	900	<b>17.3</b>	<b>17.31</b>	<b>27.32</b>
<b>630</b>	715	<b>25.4</b>	<b>25.42</b>	<b>52.74</b>
<b>400</b>	515	<b>38.3</b>	<b>38.33</b>	<b>91.07</b>
<b>200</b>	300	<b>8.5</b>	<b>8.51</b>	<b>99.58</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>100</b>

**Tableau B.16 : l'analyse granulométrique [essai 14] :**

ouverture tamis ( $\mu\text{m}$ )	diamètre moyen ( $\mu\text{m}$ )	refus (g)	refus (%)	cumulé (%)
<b>1000</b>	>1000	<b>18.29</b>	<b>18.29</b>	<b>18.29</b>
<b>800</b>	900	<b>22.4</b>	<b>22.4</b>	<b>40.69</b>
<b>630</b>	715	<b>21.06</b>	<b>21.06</b>	<b>61.75</b>
<b>400</b>	515	<b>29.72</b>	<b>29.72</b>	<b>91.47</b>
<b>200</b>	300	<b>8</b>	<b>8.002</b>	<b>99.47</b>
<b>Fond</b>	<200	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>100</b>