

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 05 octobre 2016  
Par M. Desmis Edouard**

---

**Le Houblon : Culture, phytochimie, et applications thérapeutiques  
actuelles**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Sahpaz Sevser, Professeur des universités, Laboratoire de pharmacognosie de la faculté de pharmacie de Lille 2.

**Assesseur (conseiller de thèse) :** Rivière Céline, Maître de conférences, Laboratoire de pharmacognosie de la faculté de pharmacie de Lille 2.

**Membre extérieur :** Dumortier Alain, Docteur en pharmacie, Lillers.



## Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE  
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :  
Vice- présidents :

Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE  
Professeur Alain DUROCHER  
Professeur Régis BORDET  
Professeur Eric KERCKHOVE  
Professeur Eric BOULANGER  
Professeur Frédéric LOBEZ  
Professeur Damien CUNY  
Professeur Benoit DEPRez  
Professeur Murielle GARCIN  
Monsieur Pierre RAVAUX  
Monsieur Larbi AIT-HENNANI  
Monsieur Antoine HENRY

Directeur Général des Services :

Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :  
Vice-Doyen, 1<sup>er</sup> assesseur :  
Assesseur en charge de la pédagogie  
Assesseur en charge de la recherche  
Assesseur délégué à la scolarité  
Assesseur délégué en charge des  
relations internationales  
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante

Professeur Damien CUNY  
Professeur Bertrand DECAUDIN  
Dr. Annie Standaert  
Pr. Patricia Melnyk  
Dr. Christophe Bochu  
  
Pr. Philippe Chavatte  
M. Thomas Morgenroth

Chef des services administratifs :

Monsieur Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

### Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

### Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

## Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme		Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques

M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale

M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

---

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

---

## ***Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## REMERCIEMENTS

### **À mes parents,**

Pour leur patience et leurs encouragements au cours de toutes ces années d'études, pour tout ce qu'ils ont fait et font encore pour moi. Je leur dois tant.

### **À mes deux frères Franck et Guillaume et ma belle-sœur Karina,**

Pour votre bonne humeur, pour tous ces bons moments passés ensemble, vos encouragements, et votre soutien dans les moments difficiles.

### **À mes grands-parents,**

Pour leur écoute, leur affection.

### **À Mme Sahpaz,**

Pour avoir fait l'honneur de présider ma thèse, pour vos enseignements au cours de notre formation universitaire.

### **À Mme Rivière,**

Pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour votre disponibilité, vos conseils et ainsi que les corrections apportées à cette thèse.

### **À tous les pharmaciens qui m'ont suivis durant mon cursus,**

Pour leur confiance, et la transmission de leurs savoirs et expériences.

### **À toute ma famille et tous mes amis que je n'ai pas cités,**

Pour m'avoir aidé dans l'écriture de cette thèse et dans la vie de tous les jours.

## SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	<b>12</b>
<b>1 Origine du houblon</b> .....	<b>13</b>
1.1 Historique .....	13
1.2 Ethnopharmacologie .....	13
1.3 Croyances et mythes .....	14
<b>2 Étude botanique</b> .....	<b>15</b>
2.1 Classification systématique.....	15
2.2 Noms vernaculaires .....	15
2.3 Caractéristiques botaniques.....	16
2.3.1 Appareil végétatif .....	17
2.3.1.1 Le système racinaire .....	17
2.3.1.2 Les tiges .....	17
2.3.1.3 Les feuilles.....	18
2.3.2 Appareil reproducteur.....	19
2.3.2.1 Inflorescence .....	19
2.3.2.2 Le fruit.....	20
<b>3 Culture, production, et intérêts industriels du houblon</b> .....	<b>22</b>
3.1 Écologie .....	22
3.1.1 Le terrain .....	22
3.1.2 Le Climat.....	22
3.2 Production .....	22
3.2.1 Zones de Production .....	22
3.2.1.1 Production en Europe.....	23
3.2.1.2 Production en France .....	23
3.2.2 Culture.....	24
3.2.2.1 Cycle de croissance .....	25
3.2.2.2 Aménagement du terrain .....	25
3.2.2.3 La mise en culture .....	26
3.2.2.4 Les facteurs d'amélioration du rendement .....	27
3.2.2.4.1 Les fertilisants et les pesticides.....	27
3.2.2.4.2 Les insecticides.....	27
3.2.2.5 Les maladies .....	27
3.2.3 Récolte .....	28
3.2.4 Stockage et conservation.....	29
<b>4 Phytochimie du houblon</b> .....	<b>31</b>
4.1 Les résines du houblon.....	31
4.1.1 Les résines dures.....	32
4.1.2 Les résines molles .....	32
4.1.2.1 Les acides amers .....	33
4.1.2.1.1 Biosynthèse.....	34
4.1.2.1.2 Caractéristiques physico-chimiques des acides amers .....	35
4.1.2.1.2.1 Caractéristiques des alpha-acides.....	36
4.1.2.1.2.2 Caractéristiques des bêta-acides.....	36
4.1.2.2 Les iso-alpha-acides et leurs dérivés .....	37
4.1.2.3 Purification et analyse des acides amers du houblon .....	39
4.2 Les polyphénols du houblon .....	40
4.2.1 Les flavonoïdes .....	41
4.2.1.1 Les flavonols.....	42
4.2.1.2 Les tanins catéchiques .....	43
4.2.1.2.1 Les tanins catéchiques monomères.....	43
4.2.1.2.2 Les proanthocyanidines .....	44
4.2.1.3 Les flavonoïdes prénylés.....	46

4.2.1.3.1	Les chalcones et dihydrochalcones .....	46
4.2.1.3.1.1	Structure .....	46
4.2.1.3.1.2	Biosynthèse .....	47
4.2.1.3.1.3	Les chalcones dans le houblon.....	48
4.2.1.3.2	Les flavanones .....	50
4.2.1.3.2.1	Structure .....	50
4.2.1.3.2.2	Biosynthèse .....	51
4.2.1.3.2.3	Les flavanones du houblon .....	52
4.2.2	Les acides phénoliques.....	53
4.2.3	Les stilbènes .....	54
<b>4.3</b>	<b>Les huiles essentielles du houblon .....</b>	<b>55</b>
4.3.1	Les hydrocarbures .....	55
4.3.1.1	Les hydrocarbures aliphatiques.....	55
4.3.1.2	Les hydrocarbures terpéniques .....	55
4.3.2	Les dérivés oxygénés .....	57
4.3.2.1	Les terpénoïdes.....	57
4.3.2.2	Les dérivés oxygénés aliphatiques/aromatiques.....	58
4.3.3	Les dérivés sulfurés .....	59
<b>5</b>	<b>Applications thérapeutiques actuelles du houblon.....</b>	<b>60</b>
<b>5.1</b>	<b>Effets du houblon sur le système nerveux central.....</b>	<b>60</b>
5.1.1	Rappels des mécanismes physiologiques de la sédation.....	60
5.1.1.1	Définition.....	60
5.1.1.2	Architecture du sommeil .....	61
5.1.1.3	Techniques d'études du sommeil .....	62
5.1.1.4	Régulation du sommeil.....	63
5.1.2	Molécules du houblon impliquées dans la modulation de l'activité du S.N.C ....	65
<b>5.2</b>	<b>Activité oestrogénique et répercussions sur l'inhibition de l'ostéoporose .....</b>	<b>69</b>
<b>5.3</b>	<b>Propriétés anti-inflammatoires .....</b>	<b>73</b>
5.3.1	Propriétés anti-inflammatoires des composés flavonoïdes du houblon .....	73
5.3.2	Propriétés anti-inflammatoires des acides amers du houblon .....	75
<b>5.4</b>	<b>Applications anti-cancéreuses .....</b>	<b>76</b>
5.4.1	Applications anti-cancéreuses des flavonoïdes du houblon .....	76
5.4.1.1	Chimio-prévention de la phase d'initiation de la cancérogénèse .....	77
5.4.1.2	Inhibition de la phase de promotion de la cancérogénèse .....	78
5.4.1.3	Inhibition de la phase de progression de la cancérogénèse .....	79
5.4.1.3.1	Propriétés antiprolifératives des flavonoïdes du houblon.....	80
5.4.1.3.2	Applications des flavonoïdes du houblon dans les mécanismes d'inhibition par apoptose	81
5.4.2	Applications anticancéreuses des acides amers du houblon.....	84
5.4.2.1	Activités <i>in vitro</i> .....	84
5.4.2.2	Activités <i>in vivo</i> .....	87
<b>5.5</b>	<b>Autres activités .....</b>	<b>88</b>
5.5.1	Effets anti bactérien, antiviral, et antifongique .....	88
5.5.1.1	Activités antimicrobiennes des acides amers.....	88
5.5.1.2	Activités antimicrobienne des composés flavonoïdes .....	91
5.5.1.3	Activités antimicrobiennes des huiles essentielles .....	93
5.5.2	Propriétés stomachiques.....	94
5.5.3	Propriétés régulatrices sur les troubles métaboliques .....	95
5.5.3.1	Applications des polyphénols du houblon dans les maladies métaboliques .....	95
5.5.3.2	Applications des acides amers du houblon dans les maladies métaboliques .....	95
5.5.4	Applications dans le traitement et la prévention des troubles cardio-vasculaires	97
<b>5.6</b>	<b>Indications pharmaceutiques et statut juridique du houblon en Europe et en France .....</b>	<b>98</b>
5.6.1	Indications en France.....	98
5.6.2	Indications du houblon au niveau européen .....	98
5.6.2.1	Composition qualitative et quantitative .....	98

5.6.2.2	Formes pharmaceutiques utilisées .....	99
5.6.2.3	Posologie et méthode d'administration.....	99
5.6.2.4	Contre-indication et précautions d'utilisation .....	99
5.6.2.5	Toxicité et effets indésirables .....	100
5.6.2.6	Intéactions médicamenteuses du houblon .....	100
5.6.3	Autres usages du houblon .....	100
5.6.3.1	Usages culinaires .....	100
5.6.3.2	Utilisation du houblon dans la production de la bière .....	101
<b>6</b>	<b>Produits commercialisés à l'officine.....</b>	<b>104</b>
6.1	<b>Spécialités et principaux compléments alimentaires à base de houblon commercialisés à l'officine .....</b>	<b>104</b>
6.2	<b>Spécialités et compléments alimentaires à base de houblon mélangé avec d'autres plantes et/ou produits .....</b>	<b>106</b>
	<b>Conclusion .....</b>	<b>112</b>
	<b>Bibliographie.....</b>	<b>113</b>

## Introduction

Le houblon est connu de par le monde pour son usage au sein de l'industrie brassicole en raison de ses propriétés amérisantes, aromatiques, et antiseptiques.

Toutefois le houblon est aussi employé au sein de l'industrie pharmaceutique notamment pour ses propriétés sédatives.

De nos jours les médecines douces et notamment la phytothérapie connaissent un regain d'intérêt.

Avec les améliorations des techniques d'analyses depuis ces 40 dernières années, la description des caractéristiques chimiques et pharmacologiques des plantes médicinales s'est largement approfondie, permettant ainsi de confirmer de façon scientifique leurs propriétés traditionnelles. De nouvelles molécules ont pu également être isolées et de nouveaux mécanismes d'action pharmacologiques décrits. La plupart faisant d'excellents candidats pour l'élaboration éventuelle de nouveaux médicaments.

Le houblon fait partie de ces plantes chez lesquelles des molécules originales ont pu être identifiées, comme certains composés phénoliques prénylés (chalcones et acides amers) faisant l'objet à l'heure actuelle de nombreux essais *in vitro*, mais aussi *in vivo* chez l'animal et même chez l'homme.

D'autre part le houblon est une plante qui est bien représentée dans la région Hauts-de-France (2<sup>e</sup> producteur national derrière l'Alsace) et notamment dans les Flandres. C'est d'ailleurs une des raisons qui m'a poussé à réaliser ce travail car c'est une plante qui fait partie du paysage Flamand.

Ce travail nous permettra de mettre en parallèle l'usage traditionnel du houblon en tant que plante médicinale avec les données pharmacologiques actuelles.

Pour cela, nous allons décrire son origine, ses caractéristiques botaniques, sa production, ses propriétés phytochimiques, ses applications thérapeutiques actuelles. Nous aborderons en fin de manuscrit la présentation de quelques spécialités à base de plantes et compléments alimentaires commercialisés à l'officine.

# 1 Origine du houblon

## 1.1 Historique

Les citations les plus anciennes concernant le houblon, *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae), remontent à l'Antiquité au 1<sup>er</sup> siècle apr. J.-C. grâce aux témoignages de Pline L'ancien (23-79 apr. J.-C.). Il décrit la plante comme « le loup des saules » (*lupus salictarius*) où il comparait le houblon sauvage poussant sur les saules et étranglant les branches avec le comportement des loups agrippant leur proie [2][3]. Chez les Romains les jeunes pousses étaient à l'époque déjà employées comme légumes [1][3], les feuilles et les cônes étaient utilisés pour la réalisation d'une teinture brune, les fleurs comme source d'arôme naturel. Ses tiges fibreuses de la même manière que le Chanvre (*Cannabis sativa*), ont été utilisées pour la réalisation d'un type grossier de toile et la production de papier [1][3].

En Europe, les faits rapportés sur les origines du houblon commencent à apparaître au début du Moyen-âge probablement en raison d'une utilisation accrue de la plante dans le processus de brassage. Les sources les plus anciennes de *Humulus lupulus* en Europe et son utilisation dans le brassage ont été décrites par Wilson(1975) [4][3]. À cette époque la plante était collectée directement dans la nature à l'état sauvage. Les premières traces écrites concernant l'apparition des houblonnières ont été données par Pépin le Bref en l'abbaye de Saint-Denis en 768.

Mais la culture du houblon n'a réellement débuté qu'à partir du milieu du IX<sup>e</sup> siècle, entre 859 et 875 apr. J.-C., en Allemagne, où elle s'est étendue du Nord vers le Sud au cours de la période médiévale, ainsi que dans d'autres régions d'Europe centrale. À cette époque *Humulus lupulus* était utilisé comme alternative au Myrte (*Myrica gale*) qui entraînait dans la composition du *gruit* et qui était l'additif le plus utilisé dans l'aromatisation de la bière à l'intérieur de l'espace européen.

C'est seulement à partir du XVIII<sup>e</sup> siècle que l'utilisation de *Humulus lupulus* a vaincu celle de *Myrica gale* à cause de ses meilleures propriétés de conservation [8].

Au départ employé comme agent conservateur grâce à son activité anti-microbienne plus tard il sera utilisé pour ajouter l'amertume à la bière.

Aujourd'hui environ 98% de la production mondiale du houblon est destinée à l'utilisation en brasserie [3][5][6][7].

## 1.2 Ethnopharmacologie

Historiquement, les vertus thérapeutiques du Houblon apparaissent au IX<sup>e</sup> siècle dans la médecine arabe où Masawayih (777-857) fait un sirop de houblon contre la fièvre vésiculaire et comme dépuratif [7].

Au Xe siècle Abdullah Ibn al-Baytar, médecin et botaniste arabe (1197-1248) originaire d'Espagne, parlait des vertus médicinales du houblon redonnant le sommeil à ceux qui l'avaient perdu [7].

En Europe, Hildegarde de Bingen (1098-1179) signale ses effets thérapeutiques surtout en gynécologie et dans les mélancolies. Paracelse (1493-1541) en aurait fait un laxatif. Hufeland (1762-1836) l'utilise comme amer stomachique et médication des nerfs [6],[7].

À l'heure actuelle, le Comité pour les médicaments à base de plantes (HMPC, Committee on Herbal Medicinal Products) et l'Agence européenne des médicaments (EMA, European Medicines Agency) rapportent depuis 2007 l'utilisation traditionnelle de *Humulus lupulus* pour le soulagement des symptômes légers du stress mental et l'insomnie [3].

La Coopérative Scientifique Européenne de Phytothérapie (ESCOP 2003) a approuvé le houblon comme un traitement pour l'excitabilité, les troubles de l'humeur (agitation, anxiété) et les troubles du sommeil [3],[9].

Les tribus Amérindiennes ont quant à elles utilisées le houblon comme sédatif, antirhumatismal, analgésique et comme agent pour lutter contre l'inflammation [3],[9]-[11].

En Inde, la Pharmacopée ayurvédique recommande le houblon pour traiter l'agitation associée à la tension nerveuse, les maux de tête et l'indigestion [3].

La médecine traditionnelle chinoise utilise le houblon pour traiter l'insomnie, l'agitation, la dyspepsie et le manque d'appétit. Des extraits de houblon alcoolique ont été cliniquement utilisés en Chine pour traiter la lèpre, la tuberculose pulmonaire, la dysenterie bactérienne aiguë, la silicose et l'asbestose [9],[3].

### 1.3 Croyances et mythes

Aux environs de 1500, lorsque les brasseurs anglais ont appris que le houblon du continent permettait de mieux conserver la bière ils l'utilisèrent pour l'élaboration de l'ale devenant alors la bitter. Toutefois Henri VIII (1491-1547) en aurait interdit l'usage jugeant que cette plante était néfaste et mettait la population en danger. Son fils Édouard VI (1537-1553) a levé l'interdiction en 1552 [6].

Au Nord de la France ainsi qu'à l'Est de l'Angleterre, on utilisait des cônes de houblon séchés sous l'oreiller pour stimuler le sommeil, c'est ainsi que le roi d'Angleterre George III aurait retrouvé le sommeil en 1787 [5].

Les Romains le désignaient « petit-loup » car ils pensaient que le houblon en s'agrippant autour des arbres suçait leur sève ce qui expliquerait l'origine botanique du terme *lupulus* [3].

En France, il est le symbole de l'injustice car il est capable, paraît-il, d'étouffer son tuteur. Mais le plus souvent, il symbolise l'opulence (dans les pays producteurs de bières en particulier). C'est certainement une allusion à sa vigueur de pousse [12],[13].

## 2 Étude botanique

### 2.1 Classification systématique

Selon la classification systématique APG III (classification phylogénétique des Angiospermes) qui est la plus récente en botanique, le genre *Humulus* appartient à la famille des Cannabaceae qui est affiliée aux clades suivants :

Règne	Plantae
Sous-embranchement	Angiospermes
Clade	Eudicots (Eudicotylédones)
Classe	Rosidées
Clade	Eurosids I
Ordre	Rosales
Famille	Cannabaceae
Genre	<i>Humulus</i>
Espèce	<b><i>Humulus lupulus</i> L., 1753</b>

Le genre *Humulus* compte 3 espèces : *lupulus*, *japonicus*, et *yunnanensis*. (*japonicus* et *yunnanensis* sont utilisées uniquement à des fins ornementales).

Cinq variétés différentes ont pu être répertoriées pour l'espèce *Humulus lupulus*, elles diffèrent selon leur morphologie foliaire et leur localisation géographique : la variété *lupulus* pour l'Eurasie, la variété *cordifolius* (Japon), la variété *neomexicanus* (Cordillère nord-américaine depuis le Mexique jusqu'à la Colombie-Britannique), la variété *pubescens* (Midwest américain) et la variété *lupuloides* (Amérique du nord). Différents cultivars ont ensuite été développés pour l'industrie brassicole (Challenger, Magnum, Nugget...)[6],[14],[15].

### 2.2 Noms vernaculaires

En France le terme le plus courant pour désigner la plante est **Houblon, Houblon commun**, mais d'autres noms sont utilisés : ***couleuvrée septentrionale, houblon à bière, houblon grim pant, salsepareille indigène, bois du diable, vigne du Nord***.

En anglais elle se définit par le terme Hop, ou encore Common hop, European hop. Le mot « hop » désigne la plante et « hops » les épis de fleurs femelles vendues dans le commerce [6].

D'un point de vue étymologique le terme houblon est apparu au XV<sup>e</sup> siècle. Il provient de *houbelon* tirant lui-même son origine du terme néerlandais *hop* suffixé en *-élon*. Il est également dérivé de l'ancien français *hoppe* signifiant « bière houblonnée » en usage dans les parler du Nord et chez les Wallons : d'où est venu *houppe* en moyen français. L'ancien bas francique donnait *humilo* signifiant plante. Le terme élon est probablement issu de l'ancien substantif judéo-français *homlon* qui survit encore dans les toponymes des départements de l'Aisne et de la Somme.

Le latin médiéval connaît également un substantif *humulo* donnant alors *humulus*. L'origine de *humulus* bien qu'encore discuté proviendrait aussi du diminutif *humus* signifiant sol en latin.

Le mot d'origine franque a été évincé par son concurrent néerlandais correspondant à une amélioration de la technique de brassage et à l'usage du houblon dans la fabrication de la bière provenant des Pays-Bas et de Flandres [16].

D'autre part il semblerait que le terme *lupulus* découle de terme latin *lupus* par référence aux caractéristiques de la plante et sa ténacité à se fixer sur son support tel le loup agrippant sa proie [1].

La littérature anglaise quant à elle décrit l'origine du terme hop comme découlant de *hoppan* qui signifie grimper [17].

### 2.3 Caractéristiques botaniques

Le houblon est une plante grimpante, dioïque, vivace, à rhizomes, développant des tiges herbacées sarmenteuses-volubiles, rameuses, mesurant 5 à 6 mètres en moyenne mais pouvant aller jusqu'à plus de 10 mètres. Les feuilles sont 3-5 lobées, et les fleurs femelles sont groupées en grappes communément appelées « cônes » ou « strobiles ».

Spontanée dans les haies et les lisières des bois d'Europe et de l'Amérique du Nord, c'est une espèce largement cultivée [18],[7].



Figure 1 : Planche botanique de *Humulus lupulus* [19].

## 2.3.1 Appareil végétatif

### 2.3.1.1 Le système racinaire

Les racines sont de nature rhizomateuse, c'est la seule partie de la plante qui persiste durant l'hiver (plante vivace). Elles peuvent s'étendre à une profondeur allant jusqu'à 2 mètres. Sa durée de vie est estimée entre 20 et 30 ans. Les racines à proprement parler sont plutôt menues et entrelacées les unes dans les autres [20],[21].



Figure 2 : Partie de rhizome de houblon [21].

### 2.3.1.2 Les tiges

La tige est angulaire, duveteuse, mais rude au toucher avec présence de cystolithes. Elle est munie de crochets permettant à la plante de s'agripper aux surfaces. Elle s'enroule autour de son support dans le sens des aiguilles d'une montre [6],[7],[18],[21].



Figure : 3 Détail de la tige de houblon [22].



Figure : 4 Vue sur les tiges volubiles s'enroulant dans le sens horaire [24]

### 2.3.1.3 Les feuilles

Les feuilles sont opposées, pétiolées, palmatilobées en cœur, à 3-5 lobes ovales-acuminés dentés, rudes au toucher, les supérieurs sont souvent simples. La base du pétiole comporte deux stipules de forme triangulaire [6],[7],[18].



*Figure 5 : Feuilles de houblon qui peuvent être palmatilobées ou entières [23]*



*Figure 6 : Feuille de houblon à 5 lobes [22]*

## 2.3.2 Appareil reproducteur

### 2.3.2.1 Inflorescence

Les fleurs sont de couleur vert-jaunâtre, de nature dioïque, les inflorescences mâles poussent en grappes rameuses, les **inflorescences femelles** en **cônes** ovales, pédonculés, opposés et pendants.

Le périgone mâle est constitué de 5 parties égales contenant 5 étamines dressées à filet court. Les fleurs femelles sont opposées à 2 à l'aisselle des écailles foliacées du cône, à longs stigmates filiformes [6],[7],[18].



Figure 7 : Inflorescences mâle [22]



Figure 8 : Inflorescences femelles jeunes [23]



Figure 9 : Vue en détail de la fleur mâle [22]



Figure 10 : Vue en détail d'une jeune fleur femelle [22]

### 2.3.2.2 Le fruit

Au cours de sa maturation la fleur femelle va évoluer : les bractées vont venir progressivement recouvrir l'inflorescence aboutissant à la formation de cônes qui correspondent à la **drogue** selon la pharmacopée française. Ce sont ces cônes qui renferment les fruits. La pollinisation est anémogame. Les cônes sont normalement fécondés s'il y a présence de plants mâles à proximité. Les houblonniers cherchent à éviter la pollinisation car elle empêche la production d'épis sans graines, qui sont les plus recherchés dans le commerce, c'est pour cette raison que l'on ne retrouve que des plants femelles dans les houblonnières. Les cônes fécondés produisent des akènes dont la dissémination est assurée par le vent (anémochorie) [6],[7],[18].

Le cône de nature ovoïde et mesurant en moyenne 2 à 5 cm de longueur, est formé de nombreuses bractées ovales, jaunes vert, sessiles, membraneuses, et imbriquées. C'est à la base des bractées et du repli induvial que se trouvent les fruits de nature ovoïde comprimée (akènes) qui sont couverts de petites glandes à oléorésines jaune orangé [6],[7],[18].



Figure 11 : Cônes matures [24]



Figure 12 : Cône révélant la résine odorante et pulvérulente lupuline issue des glandes à oléorésine [24]



Figure 13 : Cône en coupe longitudinale révélant les glandes à oléorésine [34].

L'examen microscopique du cône réduit en poudre révèle la présence de nombreux poils glanduleux jaunes orangés, à pieds court, bicellulaires et bisériés, à tête octacellulaire, où l'on trouve une assise hémisphérique de cellules sécrétrices d'oléorésine (*fig. 14, fig. 15*) [18].

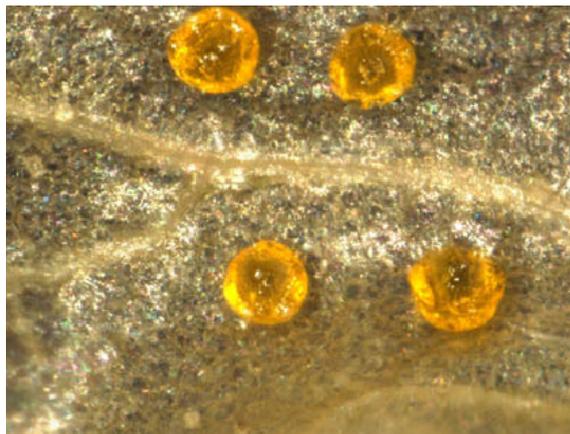


Figure 14 : Vue des glandes à oléorésine au microscope photonique [25]

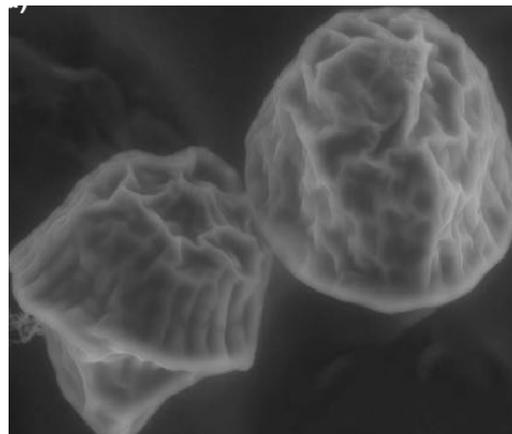


Figure 15 : Vue des glandes sécrétrices au microscope électronique [25]

## 3 Culture, production, et intérêts industriels du houblon

### 3.1 Écologie

#### 3.1.1 Le terrain

Théoriquement le houblon tirerait son origine de la Chine car toutes les espèces de houblon ont pu y être identifiées [26]-[28].

En réalité la variété *lupulus* pousse essentiellement dans les zones septentrionales tempérées et de manière spontanée dans les haies et lisières des bois d'Europe et de l'Amérique du Nord, jusqu'à une altitude de 1500m.

La culture du houblon a débuté au cours du VIII<sup>e</sup> siècle en Allemagne. C'est une plante largement cultivée dans la majorité des régions tempérées du monde, entre les latitudes 35° et 55° de l'hémisphère Nord et de l'hémisphère Sud. Le houblon est notamment cultivé de l'Europe centrale (Allemagne, République Tchèque, Pologne, Slovénie, Royaume-Uni, Espagne, France) à l'Amérique du Nord (USA et Canada) en passant par la région de l'Altaï (l'ouest de la Chine, Russie, Kazakhstan, Mongolie) [27],[28].

Le houblon pousse le plus souvent en milieu humide sur des sols fertiles et profonds dans les buissons humides, sur les versants, au bord des cours d'eau, dans les forêts alluviales ainsi que le long des haies et des clôtures, souvent sur sol sableux.

La plante pousse de façon optimale dans les sols alluviaux riches et typique des loams sableux ou graveleux.

Les sols bien drainés conviennent particulièrement dans les régions où le gel a tendance à déchausser les racines [6].

D'autre part la plante pousse plus facilement sur les sols alcalins ( $6,5 < \text{pH} < 7,5$ ) [20].

#### 3.1.2 Le Climat

Le houblon s'adapte à toutes les sortes de climats tempérés. Il possède une bonne résistance aux basses températures. Il faut noter que les parties aériennes sont détruites chaque année par le gel. Les nouvelles tiges sont produites l'été suivant à partir du rhizome vivace ou à partir des bourgeons localisés sur la souche qui peut vivre une cinquantaine d'années. Toutefois dans les régions très froides, la présence d'une bonne couverture neigeuse aide à prévenir des pertes dues au gel. Le houblon est plutôt tolérant à l'ombre, mais préfère le plein soleil [6].

### 3.2 Production

#### 3.2.1 Zones de Production

La production du houblon repose essentiellement sur la récolte des cônes femelles dont la culture concerne presque exclusivement l'industrie brassicole.

Environ 97% de la production mondiale est en effet destinée à la brasserie, le reste est alloué à l'industrie pharmaceutique.

La production mondiale varie entre 80 000 et 100 000 tonnes par an. Elle est dominée par les **U.S.A** et l'**Allemagne**. La production de ces deux pays représente 75 à 80% de la production totale [29].

En 2015 la production Américaine est passée devant celle de l'Allemagne à cause des mauvaises conditions climatiques observées en Europe durant cette période.

En ce qui concerne les Etats-Unis la majorité de la production est représentée par les États de Washington, l'Oregon et l'Idaho ; en Allemagne la production est essentiellement concentrée dans la région de l'Hallertau. Les autres gros producteurs sont essentiellement représentés par la République tchèque, la Pologne, la Slovénie, l'Angleterre, l'Ukraine, et la Chine [29], [30].

### 3.2.1.1 Production en Europe

En Europe la production du houblon est estimée en moyenne à 50 000 tonnes par an, elle est regroupée sur plus de 2600 exploitations, correspondant à une superficie de production estimée à 26 500 ha. Ce qui représente 60% de la superficie mondiale de houblon.

Il est cultivé dans 14 pays de l'Union Européenne dont 17 000 ha en Allemagne, ce qui représente 60% de la surface communautaire et environ 1/3 de la surface mondiale [30].

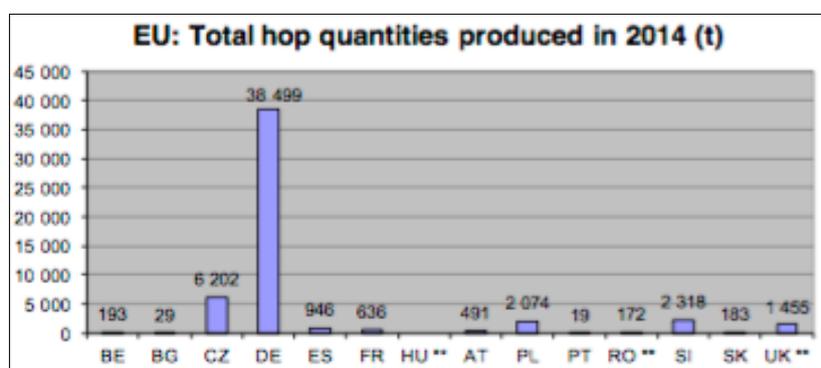


Figure 16 : Quantité de houblon produit en tonnes en Europe en 2014 [30]

### 3.2.1.2 Production en France

En France, la production du houblon est assez minoritaire, elle se concentre dans les régions du Nord et de l'Alsace, et est représentée par l'AGPH (Association des Producteurs de Houblon de France) dont le siège est situé en Alsace à Hochfelden. Cet organisme regroupe l'ensemble de la production houblonnière française et permet la maîtrise de la production et assure la commercialisation du houblon en France [30],[33].

Les producteurs de houblon sont regroupés en coopératives : le Comptoir Agricole (Cophoudal) à Brumath en Alsace et Coophounord à Berthen, dans le Nord de la France [30]-[32].

En moyenne la production en France est d'environ 700 tonnes par an et représente une surface de 500 hectares [30]-[32].

La région du Bas-Rhin représente l'essentiel de la production nationale estimée à 96%. Ce qui représente 481 hectares de production répartis sur 47 producteurs houblonniers qui en font la première région houblonnière de France [31].

La production au Nord de la France est plus minoritaire, elle représente 27 hectares pour une production annuelle moyenne de 50 tonnes répartie chez 7 producteurs tous situés en Flandre intérieure et notamment à, Staple, Steenvorde, Boeschepe, Bailleul, Méteren et Saint Jans-Cappel [35],[36],[37].

Ce déclin dans la région du Nord s'explique en partie par la forte concurrence à la frontière Belge dans la région du Westhoek (150 ha répartis chez 23 houblonniers produisant environ 270 tonnes par an) [35],[38].

Il existe de nombreux cultivars pour la brasserie qui diffèrent selon la région de production et le caractère recherché aromatique ou amérisant. À l'heure actuelle on a pu recenser plus de 230 cultivars différents.

Les plus connues sont les variétés : *Brewer's Gold* (meilleur rendement, plus tardif, hybride originaire d'Angleterre), *Northern Brewer* (hybride d'origine anglaise), *Strisselspalt*, *Record*, *Saaz* (demi précoce originaire de Yougoslavie), *Goldings* (houblon anglais) et *Nugget* (très amer).

L'Alsace par exemple est plutôt connue pour produire des houblons très aromatiques dont le cultivar le plus représenté est le *Strisselspalt*. Dans le Nord de la France et notamment en Flandres les variétés les plus cultivées sont le *Brewer's Gold*, le *Northern Brewer*, le *Challenger*, le *Magnum*, et le *Nugget* [31],[39].

### 3.2.2 Culture

La mise en culture du houblon est assez exigeante, elle s'effectue au sein des houblonnières dont la mise en place engendre des coûts élevés (+/- 20 000€/ha).

C'est en effet une culture particulière qui nécessite un aménagement du terrain spécifique et surtout une bonne connaissance des multiples cultivars disponibles plus ou moins sensibles aux variations climatiques, géographiques et dont les rendements diffèrent de façon significative. D'autre part la récolte nécessite une main d'œuvre importante [40],[41],[42].



Figure 17 : Houblonnière du Nord de la France située à Boeschèpe [24]

### 3.2.2.1 Cycle de croissance

Durant l'hiver les parties aériennes meurent, seules persistent les parties souterraines où les rhizomes rentrent en dormance.

Toutefois, les houblonniers commencent à travailler sur les champs à partir de février pour retirer les restes de tiges cueillies au mois de septembre. Ces tiges vont ensuite être hachées et servir d'engrais. Les premières pousses font leur apparition à partir du mois de mars, c'est la levée de la dormance, une première taille est alors effectuée afin de donner un espace suffisant aux meilleures pousses. Les premiers jets sont alors coupés jusqu'à une profondeur de -5 cm, et récoltés, et éventuellement commercialisés pour un usage culinaire notamment en Belgique. Au mois d'avril les tiges commencent à pousser ; celles-ci sont alors fixées sur leur support lorsqu'elles atteignent une longueur d'environ 30 cm, on utilise que les 2 ou 3 tiges, les plus coriaces de chaque plan, les autres sont coupées. Les tiges de houblon sont supportées par des cordes fixées à des câbles qui sont soutenus solidement par des poteaux de bois de 6 à 7 mètres de hauteur [41],[43].

La terre est également retournée et on retire les mauvaises herbes. Le houblon débute alors sa pleine croissance à partir du mois de juin où les tiges peuvent pousser jusqu'à 10 cm par jour, c'est aussi le moment où s'installe le début de la floraison. Au mois d'août le houblon atteint une hauteur d'environ 7 mètres, les fleurs commencent à murir et les cônes font leur apparition, ils atteignent leur âge adulte vers la fin du mois. Commence ensuite la phase de récolte, qui se déroule, selon les cultivars de fin août jusque mi-septembre [41].

### 3.2.2.2 Aménagement du terrain

Le houblon est une plante grimpante, qui aime la lumière. C'est une liane à croissance rapide dont les plants peuvent rapidement atteindre en 2 ou 3 mois des hauteurs avoisinant les 7 mètres et même 3 à 4 mètres pour les cultivars nains. Cela implique donc un support permettant au houblon de grimper.

La hauteur et le choix du support sont importants car ils doivent être adaptés à la variété cultivée afin qu'elle puisse atteindre la hauteur adéquate pour permettre la floraison.

L'infrastructure est en fait réalisée à partir de poteaux de bois le plus généralement en cèdre, de câbles d'acier, de cordages et de systèmes d'ancrage au sol.

C'est à partir de ces poteaux que part un système de câble permettant au houblon de s'étendre rapidement. Des ficelles sont ensuite raccordées du sol vers ces câbles permettent aux tiges de chaque plant de s'agripper et de monter à hauteur adéquate. En moyenne, en terme d'équipements 1ha. de production nécessite 80 poteaux, 4 kms de câbles, et 3 kms de ficelle. Étant donné qu'un plant de houblon peut produire pendant plusieurs décennies (10 à 20 ans en moyenne pour une houblonnière), la densité de plantation est un paramètre important à prendre en compte. Il faut ainsi assurer un espace minimal entre chaque plan afin de leur offrir les réserves nécessaires. En moyenne, chaque plant est planté tous les 1,50 à 2 mètres et en interligne de 2,70 à 2,80 mètres ; la densité de plantation étant de 2500 à 3000 pieds par hectare.

La mise en culture du houblon nécessite un matériel spécialisé. Des échelles, escaliers ou plateformes mobiles sont requis pour ficeler le houblon, le récolter et entretenir les lianes et le treillage.

Pour la récolte et le stockage des cônes il est nécessaire d'employer une cueilleuse à houblon mécanique et éventuellement un granulateur pour le stockage du houblon sous forme de granulés, un séchoir pour le séchage des cônes, ainsi qu'une chambre froide de stockage à température et hygrométrie contrôlée. Cela engendre donc un investissement financier non négligeable. [20],[39],[40],[42],[43].

### 3.2.2.3 La mise en culture

Concernant la mise en culture, on a recours à des boutures prélevées sur des souches ou bien obtenues par micro-bouturage. La profondeur de plantation doit être comprise entre 20 et 30 cm, dans un sillon qui doit être recouvert de terre. Il faut environ 2 ans pour qu'un plan arrive à pleine maturité, il faudra donc éviter d'entreprendre la récolte avant cette période de maturation.

Le choix du sol doit être adapté, d'une bonne profondeur, drainé, avec une bonne capacité de rétention d'eau. Il doit être peu sensible au tassement, de texture limono-sablonneuse ou limono-argileuse. Les sols à eaux stagnantes doivent absolument être évités. Le pH idéal se situe aux environs de 6,5.

Au niveau de l'emplacement, le houblon est une espèce très sensible au vent, de ce fait on préférera placer les plants à l'abri du vent, sur un terrain de faible pente, et bien exposé à la lumière afin d'initier la floraison. Pour une croissance optimale le houblon nécessite un climat plutôt humide et ensoleillé. Pour une croissance optimale des cônes, il faut veiller au respect d'une température d'exposition optimale d'environ 20°C. Les pertes hydriques du houblon sont très importantes de ce fait il faudra veiller à une irrigation optimale des plants surtout lors de sa phase de maturation de juin à début juillet (croissance des tiges) et de fin juillet à début août (maturation des cônes). Les apports minimums en eau sont de 250 à 300 mm/an les valeurs optimales étant de 700 à 800 mm/an.

Au niveau de la conduite de production, la première taille des souches doit être effectuée au début du printemps où l'on retire les bases des lianes de l'année précédente. Il faut aussi veiller à la bonne irrigation du sol, on effectue ensuite la mise à fil des lianes les plus vigoureuses et on élimine les autres. On entreprend ensuite le buttage pour favoriser la croissance racinaire estivale et la mise en réserve. On défane alors les pousses à la base du pied afin de limiter les foyers de maladie ou d'insectes, s'ensuit une phase de traitement phytosanitaire. On veille également à détruire les éventuels pieds mâle aux alentours afin d'éviter la formation de graines. Débute ensuite la phase de récolte manuelle et/ou mécanique des cônes découlant alors sur l'opération de séchage à 60°C permettant le stockage à sec, à l'abri de la lumière et de l'air afin d'éviter tout risque d'oxydation.

Étant donné l'exigence culturale de la plante elle nécessite une main d'œuvre importante, les étapes les plus coûteuses étant la mise à fil et la phase de récolte/séchage ; la mise à fil se fait généralement en 3 passages et représente environ 160 heures/ha. et la phase de récolte/séchage nécessite environ 180 heures/ha.

[20],[39],[40],[43]-[46].

### 3.2.2.4 Les facteurs d'amélioration du rendement

#### 3.2.2.4.1 Les fertilisants et les pesticides

Le houblon a la particularité de stocker des éléments nutritifs dans ses racines, ce qui limite les apports d'engrais en début de végétation. Il faut toutefois compléter les besoins sur l'ensemble du cycle. La fertilisation nécessite deux apports : du fumier et un engrais minéral. Elle se fait normalement au printemps. Il faut également retenir que le houblon réagit bien à de petites quantités de bore [45].

Afin de ne pas détériorer les rendements, il faut également veiller à la survenue des mauvaises herbes et des éventuelles maladies.

Ainsi afin d'empêcher la survenue de maladies on utilise des pesticides fongicides à base de soufre. Des produits biologiques sont aussi employés comme le Milstop® et le Scirroco® pour lutter contre l'oïdium [20],[46].

#### 3.2.2.4.2 Les insecticides

Le houblon est une cible pour de nombreux insectes. Les nuisibles les plus fréquents sont les **pucerons** dont le *Phorodon humili*, et les **acariens** dont le *Tétranyque tisserand*. Pour lutter contre les pucerons un contrôle naturel peut être fait par les coccinelles, les syrphes, les forficules, ou encore les chrysopes. De même, un contrôle naturel par les punaises, les hémérobes, peut être mis en place pour les tétranyques.

Des produits à base de chaux et de soufre sont aussi pulvérisés pour lutter contre les pucerons. L'emploi de produits insecticides à base de pyrèthres (spray) pour lutter contre les tétranyques est recommandé mais aussi des produits biologiques comme le Neudosan® et l'Opal® [20],[44],[46].

### 3.2.2.5 Les maladies

Les principales maladies rencontrées chez le houblon sont :

- l'**oïdium** (*Sphaerotheca humuli*) : cette maladie se manifeste par la présence de tâches blanches/grises et un feutrage sur la face supérieure des feuilles. Les fleurs deviennent petites, dures et blanches sans pouvoir donner de cônes. Une déformation et un feutrage blanc, pouvant devenir brun rougeâtre à la récolte, apparaissent sur les cônes. Son apparition est favorisée par des conditions sèches ou faiblement humides.
- le **mildiou** (*Pseudoperonospora humuli*) : cette maladie peut se manifester selon 2 formes de contaminations, selon une contamination primaire où l'on observe la présence de feuilles recourbées et jaunes et l'apparition d'un feutrage noir/gris sous les feuilles, ou une contamination secondaire où l'on remarque des feuilles présentant des tâches vert clair/jaune devenant brunes et anguleuses, où les fleurs et les cônes se dessèchent, brunissent et peuvent tomber. La contamination par le mildiou est favorisée par des conditions climatiques humides et des températures douces à chaudes.

- le **botrytis** (*Botrytis cinerea*) : ce pathogène va contaminer la pointe des cônes, il s'y développe alors un feutrage mycélien grisâtre bien visible à l'œil, pouvant faire pourrir le cône. Il se manifeste en condition humide et lors d'une fertilisation azotée excessive.
- la **verticilliose** (*Verticillium*) : il s'agit d'un organisme fongique fréquemment rencontré dans les cultures de houblon, il provoque un flétrissement verticillien caractéristique avec une chlorose foliaire précoce suivie d'une nécrose engendrant la chute prématurée des feuilles, ainsi qu'une décoloration vasculaire des tiges et des racines. Cette maladie réduit de manière considérable le rendement des cultures.

Afin de diminuer le risque de contamination des mesures simples sont employées en veillant notamment à désherber régulièrement, s'assurer du bon drainage du sol, utiliser un compost « propre » [46],[47].

### 3.2.3 Récolte

Le houblon arrive en général à maturité du milieu du mois d'août à la fin septembre. Pour avoir toutes les qualités les cônes doivent être cueillis au moment favorable, c'est à dire lorsque ceux-ci sont bien allongés, quand les pointes des bractées commencent à brunir et à s'ouvrir légèrement, les glandes à lupuline sont bien visibles à la base des bractées, et l'odeur caractéristique du cultivar se ressent au froissement. Par ailleurs la récolte doit se faire uniquement par temps sec, il faut éviter les jours de pluie et/ou d'humidité les 3 jours précédents. Elle s'effectue sur une période unique d'une fenêtre de 5 à 15 jours [48], [49].

Autrefois, celle-ci était réalisée à la main et nécessitait une main d'œuvre très importante car les cônes étaient arrachés un par un ou par grappe de 2 ou 3 au plus, c'était une opération longue, délicate et difficile [50].

Aujourd'hui, l'ensemble des opérations pour la récolte du houblon est mécanisé. Les lianes sont arrachées sur le pied. Un tracteur muni d'une machine et suivi d'une remorque passe entre les poteaux de la parcelle, la machine coupe une liane avec son fil au pied et en saisit le bout, pendant que le tracteur poursuit sa route, arrachant la liane complète de son support (*figure 18*). La liane libérée tombe dans la remorque prévue, les lianes sont ensuite déposées auprès d'une cueilleuse mécanique (*figure 19*) qui permet de séparer les cônes du reste de la plante (tiges, feuilles) : cette machine est constituée de tambours tournant et happant les tiges.

Des tenailles triangulaires en acier arrachent ensuite les cônes, les feuilles et les petites branches des tiges. Le tout passe d'abord par un support en fil de fer, puis par un tapis en caoutchouc. Les feuilles sont aspirées et les branches restent collées au tapis en caoutchouc.

De cette façon, il ne reste plus que les cônes, ceux-ci sont alors inspectés par des opérateurs à leur sortie sur le tapis afin de retirer les éventuelles impuretés (*fig. 20*). Ils sont alors mis en sac pour ensuite être séchés.

Le reste des végétaux est entassé à l'extérieur et constituera une excellente base à l'élaboration du compost (*fig. 21*). [31],[41],[51]



Figure 18 : Tracteur munie de sa machine coupant les tiges [52]



Figure 19 : Cueilleuse à houblon [52]



Figure 20 : Contrôle des cônes [52]



Figure 21 : Déchets servant à la base du compost [52]

### 3.2.4 Stockage et conservation

Les cônes de houblon ont une forte teneur en eau (75 à 80%) [53].

Avant d'être stockés, les cônes doivent être séchés très rapidement (6 à 12 heures après la coupe) afin d'éviter que les constituants chimiques entrant dans la composition du cône ne se dégradent.

Cette étape de séchage s'effectue par flux d'air à une température maximale de 60°C. Les cônes sont disposés dans une tour munie de plusieurs étages de clayettes ; au pied de cette tour se trouve une source de chaleur (chauffage puissant), qui envoie l'air chaud se dirigeant de bas en haut en traversant les clayettes emplies de cônes de houblon.

Les cônes subissent un séchage d'une durée comprise entre 5 et 6 heures afin que la teneur en eau soit réduite à des valeurs de 8 à 12% permettant une conservation convenable des cônes [53].

Les cônes sont ensuite comprimés en ballots cylindriques de 60 cm de diamètre et 1,2 mètres de hauteur, à l'aide d'une presse hydraulique. Ils pèsent de 100 à 150 kg (fig. 22). Les balles sont étiquetées et après le passage du certificateur, un plomb est apposé. Il garantit le cultivar et le lieu de production. Chaque lot de houblon vendu dans le monde possède un numéro de certification.

Ils sont ainsi mis en balle puis transférés dans des centres de stockage en chambre froide à une température d'environ  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Les cônes de houblon étant très hygroscopiques, ceux-ci doivent être conservés dans un endroit sec dépourvu d'humidité (tolérance maximale de 65%), à l'abri de la lumière car les constituants chimiques sont photosensibles et protégés de l'oxygène de l'air.

Pour rallonger le temps de conservation, le houblon peut être transformé sous forme d'extraits concentrés (*fig. 24*) ou sous forme de granulés ou pellets (*fig. 23*).

L'extrait concentré se présente sous la forme d'une pâte semi-liquide à température ambiante conditionnée en boîte métallique. Ce procédé fait subir au houblon différentes opérations de concassage, nettoyage, mouture humide, extraction chimique le plus souvent par dioxyde de carbone supercritique, qui n'altèrent pas les constituants chimiques essentiels. Les granulés de houblon ou pellets résultent d'un enrichissement mécanique de la lupuline des feuilles et des tiges, opéré après mouture des cônes à basse température. Les granulés semblent d'un emploi très répandu en raison de leur excellente conservation. Les cônes séchés peuvent aussi être vendus tels quels en conditionnement sachet où l'on utilise un filet en polyéthylène alimentaire contenant à la demande entre 2 et 4 kg de cônes de houblon ; le filet est placé dans un sachet aluminium dont on remplace l'oxygène par un gaz inerte, le risque d'oxydation est ainsi évité et on préserve la qualité aromatique du houblon

(*fig. 25*) [31],[41],[51].



Figure 22 : Stockage des ballots en milieu réfrigéré [54]



Figure 23 : Pellets de houblon [54]



Figure 24 : Houblon sous forme d'extrait  $\text{CO}_2$  [54]



Figure 25 : Houblon en vrac [54]

## 4 Phytochimie du houblon

Les composés chimiques du houblon qui présentent un intérêt économique et thérapeutique notables sont essentiellement concentrés au niveau des **inflorescences femelles qui constituent la drogue végétale**. Il s'agit du cône ou strobile, c'est à cet endroit que l'on y distingue les nombreuses coupelles à la base des bractées contenant une poudre jaune appelée lupuline.

Ces cônes sont essentiellement constitués d'eau (8 à 12% de matière sèche), de **polyphénols** (3 à 6% de mat. sèche), de **résines** (12 à 30% de mat. sèche) et d'**huiles essentielles** (0,5 à 3% de mat. sèche).

Les résines totales développent une amertume caractéristique, qui est particulièrement recherchée en brasserie. Ceci est dû à leur composition chimique particulière qui comprend notamment les **acides amers** du houblon.

Les résines du houblon renferment une grande quantité de métabolites secondaires ; plus de 1000 composés ont pu être identifiés à ce jour [3], [55]-[57].

Composés	Quantité moyenne en %
$\alpha$ -acides	2-17
$\beta$ -acides	2-10
Acides aminés	0,1
Cendres	10
Cellulose	40-50
Monosaccharides	2
Huiles et acides gras	1-5
Pectines	2
Polyphénols et tanins	3-6
Protéines	15
Huiles essentielles	0,5-3(v/m)
Eau	8-12

Figure 26 : Composition chimique de cônes houblons séchés [58]

### 4.1 Les résines du houblon

Le houblon cultivé de nos jours principalement pour ses cônes femelles présente un intérêt majeur dans l'industrie brassicole. Ces cônes peuvent contenir près de 30% de résine. C'est elle qui est responsable du pouvoir amérisant propre au houblon.

Cette résine est subdivisée en deux catégories distinctes : les « **résines dures** » et les « **résines molles** » [59], [60].

Cette classification suit un système de nomenclature normalisé par la Convention Européenne Brassicole (EBC) et la Société Américaine de Chimie Brassicole (ASBC), [29]. Elle est basée sur les fractions obtenues après extraction en accord avec le solvant utilisé. Par définition on appelle « résine dure » la proportion de résine totale insoluble dans l'hexane et résine molle la fraction qui est soluble dans l'hexane. Cette différence de solubilité est due à la nature des différents composants présents dans chacune de ces deux fractions [59], [29].

Les résines molles renferment les acides *alpha* et *béta*, auxquels s'ajoutent des composés issus de l'oxydation de ces derniers [59].

Les résines dures renferment essentiellement des composés polyphénoliques dont de nombreuses chalcones et flavanones [59].

D'autre part il est à noter que ces deux fractions sont solubles dans le méthanol à froid et le diéthyl-ether, ce qui permet de les séparer des cires présentes également dans les cônes (environ 5% du poids sec total).

Ces cires renferment un complexe de dérivés alcooliques, d'acides, et d'esters à longues chaînes ainsi que des hydrocarbures [59].

Résines dures Xanthohumol Iso-xanthohumol Flavanone	Résines molles <b>Alpha-acides</b> : cohumulone, humulone, adhumulone, prehumulone, et posthumulone
	<b>Béta-acides</b> : colupulone, lupulone, adlupulone, prelupulone, postlupulone

Figure 27 : Composition chimique des résines du houblon [61]

#### 4.1.1 Les résines dures

La quantité de résines dures est plus ou moins variable selon les cultivars de houblon utilisés et les conditions de conservation. On note en effet une proportion plus importante en résine dure lorsque le houblon a subi un traitement post-récolte inapproprié ou quand il a été stocké dans de mauvaises conditions. La teneur moyenne en résine dure représente environ 3% de la masse du cône [60].

On y distingue les résines dures : *alpha*, *béta*, *delta*, *gamma*, *epsilon* [29]

Les composés majoritaires identifiés sont principalement des **polyphénols**. A ce jour certains d'entre eux font l'objet de nombreuses études car ils présentent un intérêt thérapeutique majeur.

#### 4.1.2 Les résines molles

Les résines molles du houblon résultent d'un mélange complexe de dérivés cétoniques. Elles sont essentiellement constituées de composés acides que l'on appelle : **acides amers** du houblon. Ce sont en fait des dérivés du phloroglucinol ou benzène-1,3,5-triol, dont la structure est la suivante :



Figure 28 : Structure du phloroglucinol [62]

Les acides amers représentent 5 à 20% du poids sec des cônes femelles du houblon, on les distingue habituellement en deux catégories les **alpha-acides** ou **humulones** et les **béta-acides** ou **lupulones** [3]

D'autres composés mineurs ont également pu être identifiés avec entre autres des acides gras, des cires et des dérivés des acides amers (désoxy- $\alpha$ -acides).

Ces derniers sont particulièrement intéressants car outre leurs propriétés amérisantes, on leur reconnaît également des activités pro-mousse, anti-inflammatoires, et anti-microbiennes [60].

#### 4.1.2.1 Les acides amers

Comme cité précédemment les acides amers peuvent être séparés en deux catégories : alpha-acides et bêta-acides. Ces deux groupes possèdent une structure de base dérivée du phloroglucinol (*fig. 29*) associée à une chaîne latérale oxo-alkyl à 3-,4-,5-, ou 6-carbones [3], [59].

La structure des bêta-acides diffère de celle des alpha-acides par la présence d'un groupe prényl supplémentaire. Les alpha-acides sont des dérivés « diprénylé » du phloroglucinol et les bêta-acides des dérivés « triprénylés » du phloroglucinol [3].

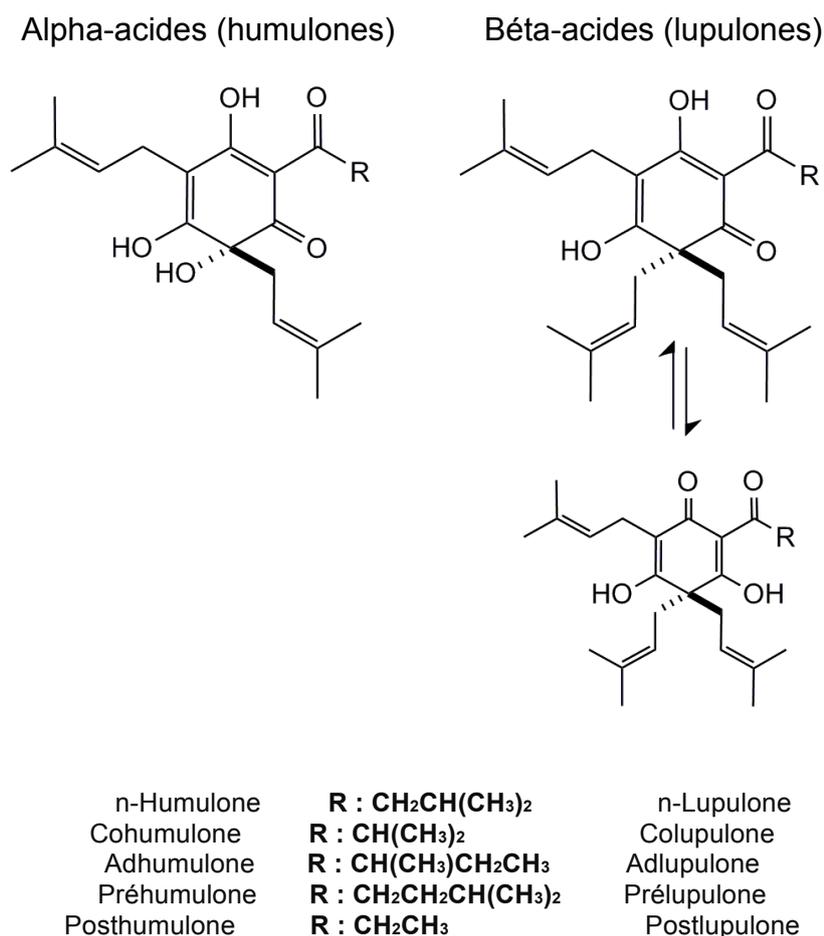


Figure 29 : Structure chimique des acides amers du houblon [63]

La présence d'une fonction prényl supplémentaire au niveau des bêta-acides leur confère un caractère légèrement plus lipophile, ce qui explique leur différence de solubilité dans les hydrocarbures.

Il est à noter que les acides amers sont des composés caractéristiques du houblon et ne sont identifiés à l'heure actuelle au sein d'aucune autre espèce végétale [3], [59].

Les principaux **alpha-acides** sont respectivement la **n-humulone** , la **cohumulone**, l'**adhumulone** ; les **béta-acides** correspondants sont respectivement la **n-lupulone** , la **colupulone** et l'**adlupulone**, (fig. 29). Ces composés diffèrent par la nature de leur chaîne latérale acylée ; ceci s'explique par leur biosynthèse à partir des **acides aminés** à chaîne latérale **hydrophobe** que sont la **leucine**, la **valine**, et l'**isoleucine**. On a respectivement une fonction *isovaleryl-* pour la n-humulone et la n-lupulone (*origine=leucine*), *isobutyryl-* pour les cohumulone et colupulone (*origine=valine*), *2-methylbutyroxyl* pour les adhumulone et adlupulone (*origine=isoleucine*), [64]. En plus de ces deux séries de composés, il faut préciser qu'il existe également une série d'acides amers mineurs qui sont représentés par les post-humulone/lupulone et pré-humulone/lupulone [64].

#### 4.1.2.1.1 Biosynthèse

De nature terpénophénolique, les acides amers du houblon sont synthétisés à partir de malonyl-coenzyme A et d'isoprénylpyrophosphate, au cours du développement des trichomes, dès la formation du cône.

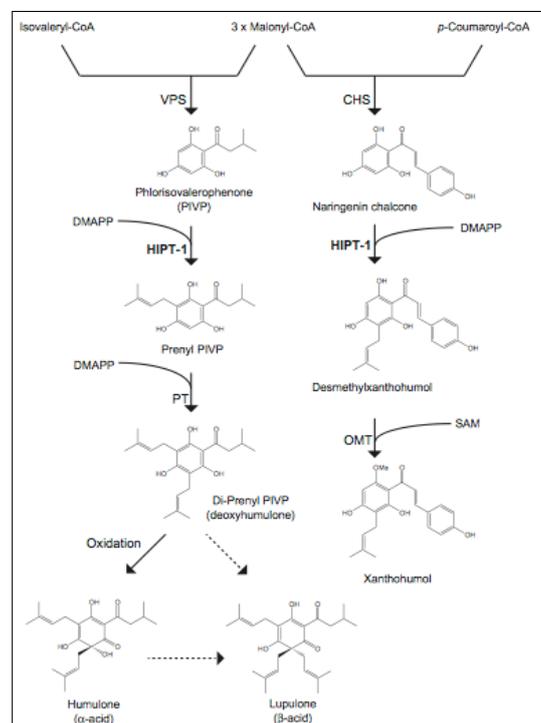


Figure 30 : Biosynthèse des acides amers dans les glandes à lupuline. HIPT-1, prényl transférase ; VPS, valérophénone synthase ; DMAPP, diméthylallylpyrophosphate ; CHS, chalcone synthase ; PT, prényltransférase [65].

Le noyau aromatique de l'humulone et lupulone est dérivé du phloroglucinol, il est formé à partir de la condensation d'un acyl-CoA et de trois molécules de malonyl-CoA par l'intermédiaire de la valérophénone synthase.

Selon la source d'acyl-CoA, on obtient trois classes de dérivés phloroglucinol différents, à savoir que la phloroisovalérophénone (PIVP) synthétisée à partir de l'isovaléryl-CoA est à l'origine de la formation des humulone et lupulone.

La phloroisobutyrophénone (PIBP) dérivée de l'isobutyryl-CoA conduit à la production des cohumulone et colupulone, et la phlorométhylbutanophénone (PMBP), dérivée du 2-méthylbutyryl-CoA est responsable de la formation des composés adhumulone et adlupulone.

Après condensation avec le malonyl-CoA, les dérivés acylphloroglucinol résultants sont soumis à deux ou trois prénylations par l'ajout d'un diméthylallyl-diphosphate (DMAPP) via l'action d'une prényl-transférase (PT). Mono-prényl PIVP et di-prényl PIVP (désoxy-humulone) sont les intermédiaires clés dans la biosynthèse de l'humulone et la lupulone. La désoxyhumulone subit ensuite une réaction d'oxydation qui aboutit à la production d'humulone. Les lupulones qui comportent trois groupements diméthylallyl- sont synthétisées à partir de la désoxyhumulone ou de l'humulone correspondante et subiront une réaction de prénylation supplémentaire.

En ce qui concerne le houblon et la biosynthèse de ses métabolites secondaires, il faut retenir le rôle crucial des prényltransférases aromatiques qui interviennent à la fois dans la biosynthèse des acides amers et des flavonoïdes (chalcones et flavanones) [60],[65],(fig. 30).

#### 4.1.2.1.2 Caractéristiques physico-chimiques des acides amers

Au sein des glandes à lupuline les acides amers sont présents à l'état libre et totalement protonés. Dans cet état ils sont très insolubles dans l'eau mais peuvent être facilement extraits par le méthanol, il est à noter que la sélectivité peut être encore améliorée en ayant recours à l'hexane, le toluène, le dichlorométhane ou le diéthyl-éther. Après extraction les alpha-acides prennent un aspect de pâte jaunâtre alors que les bêta-acides présentent une structure cristalline plutôt translucide.

On note également que la température de fusion des alpha-acides est nettement inférieure à celle des bêta-acides.

On qualifie ces composés acides car ils présentent un caractère donneur de protons caractéristique. Ils sont en effet facilement solubles dans les solutions alcalines. Le pKa des alpha-acides est atteint à un pH de 4,7 alors que les bêta-acides présentent un pKa plus élevé de 5,7 [66].

Au niveau de l'absorbance aux U.V, on peut constater que leur structure présente des chromophores qui déclenchent un pic d'absorbance dans une région qui se situe à 310-340nm, cette caractéristique permet leur détection dans les solutions faiblement concentrées [67].

Au niveau de la stabilité, il faut préciser que ces composés sont très sensibles à l'oxydation, la lumière, et la chaleur. Ils sont donc très instables et se dégradent donc très facilement.

Cette dégradation des acides amers est facilement détectable par le développement d'une odeur forte caractéristique qui n'est généralement pas la bienvenue en brasserie [63].

Afin de prévenir cette dégradation, les cônes de houblon sont séchés rapidement après la récolte et sont stockés à basse température (-20°C), dans l'obscurité, et à l'abri de l'air ambiant en étant scellé hermétiquement [63].

#### 4.1.2.1.2.1 Caractéristiques des alpha-acides

En ce qui concerne les caractéristiques physico-chimiques des alpha-acides, le caractère acide, leur capacité à former des sels et leurs propriétés chélatrices sont liées par la présence du système  $\beta$ -tricétonique.

La détermination de la composition des alpha-acides est très importante dans le milieu brassicole, car un taux élevé de co-humulone est généralement associé à un houblon de mauvaise qualité.

En règle générale **les analogues humulone, cohumulone, et adhumulone sont les constituants majeurs des alpha-acides**, ils représentent respectivement : **35-70%, 20-65%, et 10-15% de la teneur totale en alpha-acides**. On peut rappeler que les pré- et post-humulones sont des composés minoritaires des alpha-acides. On remarque d'autre part que la teneur relative entre l'humulone et la cohumulone varie fortement en fonction du cultivar de houblon utilisé. Au contraire la teneur en adhumulone ne varie que très peu.

Les alpha-acides jouent un rôle majeur dans la qualité d'une bière car ils stabilisent la formation de la mousse et améliore sa conservation. Ils sont en effet doués d'une puissante activité antibactérienne. D'autre part lors de l'étape de cuisson du moût ces composés subissent un certain nombre de réactions (notamment des réactions d'isomérisation) qui aboutissent à la formation de composés particulièrement intéressants tels que les iso-alpha-acides [60], [63].

#### 4.1.2.1.2.2 Caractéristiques des bêta-acides

Les bêta-acides possèdent un caractère moins acide que les humulones, ceci est dû à la fonction alcool tertiaire en C6 qui est substituée par une chaîne latérale de type prényl.

En contraste avec les alpha-acides, pour chaque bêta-acide, deux formes énols prédominent. (*fig. 29*). Néanmoins, la plupart du temps on les représente uniquement dans la forme diénol conjuguée de leur homologue alpha correspondant.

**Les bêta-acides majoritaires dans la plupart des cultivars de houblons sont la lupulone et la colupulone**. Ces deux composés sont en général présents en quantité équivalente quelque soit l'origine du houblon, **ils représentent environ 20 à 55% des bêta-acides totaux**. L'adlupulone est quant à lui présent en quantité beaucoup plus faible, environ 10 à 15% du total des bêta-acides.

Pré- et post-lupulone sont quant à eux uniquement présents à l'état de traces.

On peut noter que les bêta-acides sont très sensibles à l'oxydation, et donc très instables notamment lorsqu'ils sont exposés à l'air ambiant. (Réaction d'auto-oxydation). *Par exemple lors du processus de fabrication de la bière ils sont éliminés dès les premières étapes du houblonnage*. Cette dégradation aboutit alors à la formation de nombreux dérivés oxydés. On obtient alors des composés particulièrement stables et facilement identifiables tels que les hulupones (*fig. 31*).

A la différence des bêta-acides, les hulupones ne possèdent aucun caractère acide. *On peut les identifier au sein des bières bien qu'elles n'en contiennent que de très faibles quantités* [63].

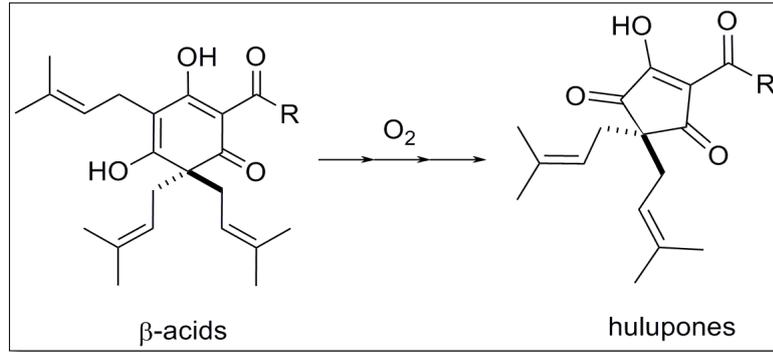


Figure 31 : Réaction d'auto-oxydation des bêta-acides aboutissant à la formation d'hulupones. [63]

#### 4.1.2.2 Les iso-alpha-acides et leurs dérivés

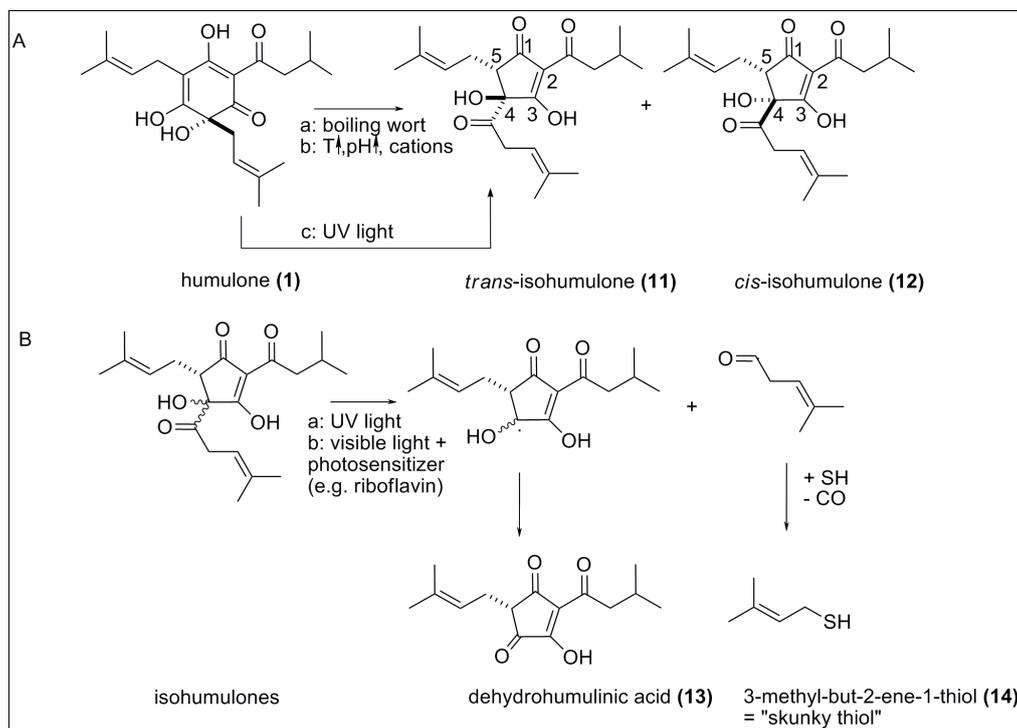
Lors du processus de fabrication de la bière, plus particulièrement lors de l'étape de cuisson du moût, au moment de l'ébullition, les alpha-acides peuvent se transformer en éléments bien plus solubles en solution aqueuse, il s'agit des **iso-alpha-acides**. Ces composés sont en moyenne présents à des concentrations oscillant de 10 à 100 mg/L selon les bières [63].

Il faut remarquer que chaque analogue de type iso-alpha-acide est présent à l'état de mélange épimérique, ainsi on distingue deux formes d'isomères *cis* et *trans* pour chaque élément [63].

Cette notion de stéréo-isomères repose sur l'orientation relative entre l'hydroxyle en C4 et le groupe prényl en C5 (fig. 32) [63].

Le ratio *cis/trans* dépend fortement des conditions dans lesquelles le brassage a été effectué. Dans des conditions normales le ratio est de 68/32 [63], [64].

Figure 32 : A : Isomérisation des humulones en isohumulones. B : Formation du composé « dénaturant » de la bière [63]



Les iso-alpha-acides ne peuvent être formés à partir des alpha-acides que sous un certain nombre de conditions : ils ne sont obtenus qu'après cuisson du houblon lui-même et/ou des extraits huileux de houblon et à un pH compris entre 5,0 et 5,5, ( fig. 32 A) [63].

En laboratoire, cette réaction peut être favorisée par cuisson des alpha-acides en milieu alcalin et en présence de cations divalents jouant le rôle de catalyseurs de réaction ou par irradiation sous lampe U.V d'une solution méthanolique d'alpha-acides. Il se produit alors une réaction de photoisomérisation stéréospécifique qui ne produit que l'isomère trans de l'iso-alpha-acide correspondant [63]

Les iso-alpha-acides représentent à peu près 80% de l'ensemble des dérivés du houblon présents au sein d'une bière. **Ce sont plus particulièrement ces composés qui représentent le goût amer typique de la bière. Ils possèdent par ailleurs, des propriétés tensioactives, qui contribuent à stabiliser la mousse et à protéger la bière des micro-organismes** [63].

D'autre part lorsque ces iso-alpha-acides sont exposés à la lumière ils peuvent subir une série de réactions qui aboutissent en la formation de dérivés thiols, notamment du fameux : « 3-méthylbut-2-ène-1-thiol » composé dénaturant de la bière, particulièrement peu apprécié des brasseurs, (fig. 32 B) [63], [64].

Il s'agit de l'un des constituants majeurs responsable de la dégradation des qualités gustatives de la bière. Cette réaction est en réalité initiée par la présence de riboflavine (vitamine B2) qui agit ici comme photosensibilisateur.

On peut éviter ce phénomène par réduction de ces iso-alpha-acides (fig. 33).

On obtient principalement des dérivés di, tétra, ou hexahydro de ces iso-alpha-acides qui sont quant à eux peu sensibles aux ondes lumineuses du spectre visible, ce qui permet désormais aux brasseurs l'utilisation de bouteilles de bière non teintées. [63], [64].

En outre les tétrahydro- et hexahydro-iso-alpha-acides ont pour avantage de favoriser la stabilisation de la mousse [63], [64].

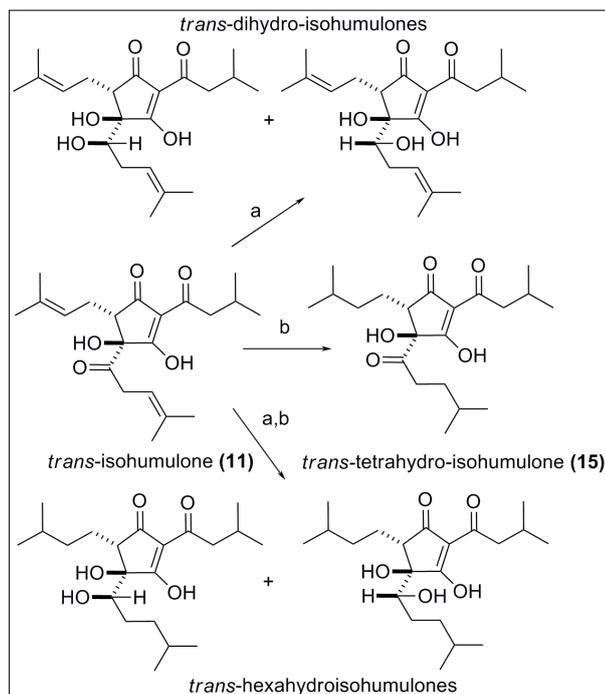


Figure 33 : Réaction de réduction d'isohumulones. Par action du borohydrate de sodium (a) ; de l'hydrogène/palladium (b) [63]

#### 4.1.2.3 Purification et analyse des acides amers du houblon

Les acides du houblon peuvent être séparés de leur matériel végétatif par extraction avec des solvants de polarité différente. L'extraction au dioxyde de carbone supercritique ou au dioxyde de carbone liquide produisent respectivement une pâte « vert foncé » ou « « jaune-dorée » qui contiennent un taux élevé d'alpha-acides et de bêta-acides tout en évitant les composés les plus polaires tels les tanins, les résines dures, et les sels [68]. Ce type d'extraction permet de purifier les éléments obtenus.

Les alpha-acides sont ensuite purifiés par précipitation de leurs principaux sels via la technique citée précédemment ou par extraction liquide-liquide en solution carbonatée, les bêta-acides pour être purifiés nécessitent quant à eux la présence d'un environnement plus alcalin tel l'hydroxyde de sodium (NaOH) [57].

Les iso-alpha-acides ainsi que leur dérivé réduit sont quant à eux purifiés par des solutions de sels potassiques [57].

Plus récemment, on a pu mettre au point une technique permettant de séparer les isomères *cis* et *trans* par complexation avec des bêta-cyclodextrines [69].

L'analyse quantitative et qualitative des acides du houblon est le plus couramment effectuée par chromatographie liquide haute performance (C.L.H.P), d'autres méthodes peuvent néanmoins être employées telles : la chromatographie à contre-courant (C.C.C), la chromatographie sur couche mince (C.C.M), ou encore la chromatographie par échange d'ions. Pour les extraits de houblon, on sépare individuellement les acides amers : soit par C.L.H.P semi-préparative couplée à la détection U.V, ou par spectrométrie de masse ou par spectroscopie R.M.N au H , ou encore par combinaison de ces techniques. [63],[69].

Un certain nombre de variables déterminent la composition finale des extraits houblonnés d'acides amers. Il existe des variations importantes selon le matériel de départ, le cultivar, le moment de la récolte, les conditions de maturation, le développement et le stockage du houblon. Les acides amers sont aussi très sensibles à l'oxydation et à la dégradation par l'oxygène de l'air, d'une manière générale, les critères d'identification d'un extrait donné mis sur le marché sont difficilement interprétables. Il est donc essentiel que la purification et le stockage de ces composés soient rigoureusement contrôlés et que des tests de qualité sur les extraits soient couramment effectués [63].

Afin de réduire ces approximations, on encourage actuellement, la normalisation des extraits de houblon ou d'utiliser chaque composé de manière individuelle [63].

## 4.2 Les polyphénols du houblon

Les polyphénols (environ 8000 composés connus) représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, synthétisés exclusivement par les végétaux et quelques microorganismes [70].

Leur structure repose sur la présence obligatoire d'un ou plusieurs groupements phénolique dont l'hydroxyle est soit libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside [18].

Ils jouent un rôle essentiel chez l'homme et les animaux car ils en sont tributaires pour fabriquer les éléments essentiels à leur survie (acides-aminés, vitamines, pigments, toxines).

Afin de les différencier des autres groupes phytochimiques, ces composés tirent leur origine, même si elle n'est pas complètement élucidée, de 2 voies de biosynthèse distinctes :

- la voie des shikimates dont le précurseur est l'acide shikimique. Celui-ci permet d'obtenir divers composés polyphénoliques allant des phénols simples aux lignanes, lignines, coumarines, acides aromatiques, etc.
- la voie de l'acétate qui aboutit à la formation des molécules polycycliques tels les chromones, isocoumarines, xanthones, quinones, etc.

Cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'interaction de ces deux voies, ce qui permet d'avoir une multitude de structures d'origine mixte, tel est le cas des flavonoïdes (au sens large), des stilbènes, des pyrones, etc.

Parmi ces polyphénols, on y retrouve [18],[70] :

- les **flavonoïdes**, avec les flavanols (quercétine, kaempférol), les flavanols (groupe des tanins catéchiques), les flavones (apigénine, lutéoline), les chalcones (xanthohumol), et les flavanones (hespérétine, naringénine),
- les acides phénoliques et tanins hydrolysables,
- les stilbènes,
- les lignines et subérines.

En ce qui concerne leur détection les techniques les plus employées reposent sur la chromatographie liquide haute performance (C.L.H.P) couplée à un détecteur UV-visible et/ou à un spectromètre de masse [18].

Chez le houblon les polyphénols que l'on a pu isoler sont principalement des flavonoïdes [70].

Ce sont les composés qui représentent le plus grand intérêt chez cette plante, du fait de leurs nombreuses activités thérapeutiques.

Ces flavonoïdes interviennent notamment dans la protection cardio-vasculaire par leur action anti-oxydante [70]; leur activité anti-cancérogène est à souligner avec par exemple la chimioprévention du xanthohumol et de la 8-prenylnaringénine [70]-[73], tout comme leur action anti-inflammatoire avec par exemple la modification de l'activité lipoxgénasique permettant de baisser le rapport leucotriène/prostacycline [70], et citons enfin les vertus oestrogéniques des flavanones prénylées, avec notamment la 8-prénylnaringénine qui est un phyto-œstrogène très puissant. Elle fait en effet l'objet de nombreuses études dans la prévention et/ou le traitement des symptômes de la post-ménopause et l'ostéoporose [71],[73],[74].

Les autres polyphénols identifiés à ce jour sont les stilbènes et les acides phénoliques bien qu'ils représentent un intérêt moindre en comparaison des flavonoïdes [70].

#### 4.2.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont pour la majeure partie d'entre eux toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et des feuilles.

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune. Ils partent ainsi tous d'une structure de base qui comprend un squelette à 15 carbones formé par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones. Ces trois carbones forment en général un hétérocycle oxygéné que l'on appelle  $\gamma$ -pyrone. La caractéristique majeure des flavonoïdes est qu'ils possèdent toujours une structure en C6-C3-C6. (fig. 34)

Plusieurs milliers de flavonoïdes ont pu être décrits. On peut les regrouper en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation et la conformation du noyau pyranique central C [18],[70][75].

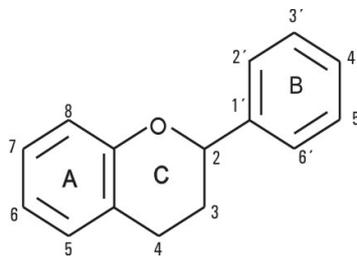


Figure 34 : Structure de base des flavonoïdes [75]

Au sein du houblon, on peut y distinguer différents sous-types :

-les **flavonols** [70]

-les **tanins catéchiques monomères et les tanins catéchiques condensés** [70]

-les **flavonoïdes prénylés** [70] qui représentent la classe la plus importante (plus d'une trentaine de composés identifiés à ce jour [89] qui comprennent :

-les **chalcones** dont le représentant le plus étudié est le xanthohumol, qui représente 80 à 90% des flavonoïdes du houblon. On a pu l'isoler pour la première fois en 1913. Le xanthohumol est une chalcone prénylée qui peut se dégrader lors du processus de fabrication de la bière pour aboutir à la formation d'isoxanthohumol [3].

- les **flavanones prénylées** : deux molécules la 6-prénylnaringénine et la 8-prénylnaringénine (hopéine) sont les plus étudiés actuellement notamment pour leurs effets oestrogéniques [3], [71].

#### 4.2.1.1 Les flavonols

Les flavonols sont une des sous-catégories des flavonoïdes, ils sont caractérisés par la présence d'une fonction hydroxyle phénolique en C3 et une fonction carbonyle C=O en C4 du noyau pyranique C [18],[70],[93] (*fig 35*)

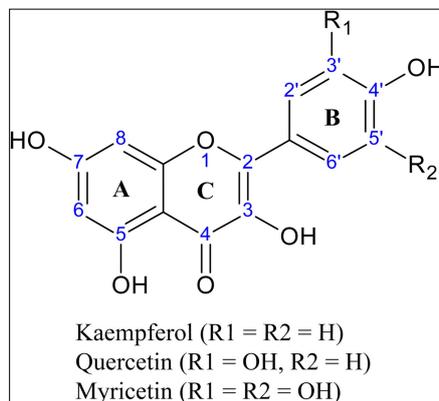


Figure 35 : Structure des flavonols aglycones du houblon [93]

Au sein du houblon les flavonols sont pour la plupart présents à l'état naturel sous forme d'hétérosides de flavonol ou sous forme aglycones. On y trouve ainsi les génines **kaempférol**, **quercétine**, et myricétine, ainsi que des mono-, di-, et tri-glycosides de quercétine et de kaempférol [70],[93]

Les principaux hétérosides identifiés sont les suivants [93] :

- **Astragaline** ou Kaempférol-3-O-glucoside
- Kaempférol-3-O-rutinoside
- Kaempférol-3-O-néohespéridoside
- Kaempférol-(3,1)- $\beta$ -glucose- $\alpha$ -rhamnose-(2,1)- $\alpha$ -rhamnose
- **Isoquercitrine** ou quercétine-3-O-glucoside
- Quercitrine ou quercétine-3-O-rhamnoside
- **Rutine** ou quercétine-3-O-rutinoside
- Quercétine-3-O-néohespéridoside
- Quercétine-(3,1)- $\beta$ -glucose-(6,1)- $\alpha$ -rhamnose-(2,1)- $\alpha$ -rhamnose
- Myricitrine ou Myricétine-3-O-rhamnoside.

Les composés majoritaires sont principalement le **kaempférol** (820 à 1630 mg/kg après hydrolyse) [70], la **quercétine** (de 132mg/kg jusqu'à 320 à 1440 mg/kg) [70] l'**astragaline** détecté pour la première fois en 1965 par Van Craenenbroeck (310 à 620 mg/kg)[70], l'**isoquercitrine** (80 à 1040mg/kg) [70] et la **rutine** (jusqu'à 1930 mg/kg [70]).

#### 4.2.1.2 Les tanins catéchiques

Il s'agit du groupe des tanins de structure C6-C3-C6, ce groupe, est le plus abondant du règne végétal. Il ne faut pas les confondre avec les tanins hydrolysables qui possèdent une origine et une structure complètement distinctes.

Leur poids moléculaire se situe entre 500 et 3000 Daltons. Ils se retrouvent la plupart du temps sous forme condensée de dimères ou d'oligomères mais peuvent parfois se présenter à l'état libre monomère comme c'est le cas dans le houblon. [18],[70].

##### 4.2.1.2.1 Les tanins catéchiques monomères

Ces composés reposent sur une structure de base qui appartient à la classe des flavanols, que l'on appelle également flavan-3-ols ou à tort : « catéchines ». Sa structure est basée sur le 2-phényl-3-chromanol [18] :

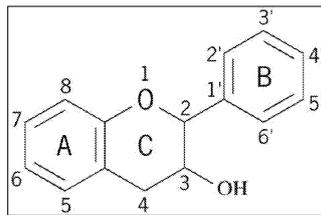


Figure 36 : Structure du 2-phényl-3-chromanol structure de base des flavan-3-ols [76].

Les flavan-3-ols sont caractérisés par leur hétérocycle central C substitué en 3 par une unique fonction hydroxyle. Il en découle toute une série de composés en fonction des substitutions notamment par des hydroxyles phénoliques sur les cycles A et B.

La classe la plus importante est représentée par la catéchine et ses dérivés car c'est la plus abondante du règne végétal. Elle constitue en effet, la classe des tanins catéchiques.

La catéchine et ses dérivés sont caractérisés par la présence d'une fonction hydroxyle en C5 et C7 du cycle A et en C4' et C3' du cycle B. La présence supplémentaire d'une fonction hydroxyle OH en R5' du cycle B est la caractéristique des gallocatéchines.

Tous les composés issus de la catéchine possèdent 4 stéréoisomères en raison de la présence des carbones 2 et 3 asymétriques.

Ainsi les dérivés avec l'OH en 3 en position  $\alpha$  prennent le nom *épicaatécol* et les dérivés avec l'OH en 3 en position  $\beta$ , le nom *cathécol*.

La catéchine existe donc sous 4 formes stéréoisomériques en raison de la présence de ces carbones 2 et 3 asymétriques. On obtient alors les quatre composés suivants :

- la (+)-catéchine
- la (-)-épicaatéchine
- la (-)-catéchine
- la (+)-épicaatéchine

Ces énantiomères diffèrent par la configuration R,S des C2, et C3 du cycle central C, on a respectivement une configuration :

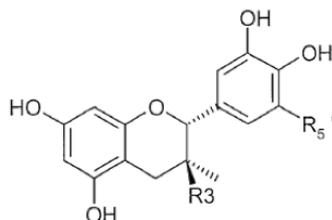
- 2R,3S pour la (+)-catéchine
- 2R,3R pour la (-)-épicatéchine
- 2S,3R pour la (-)-catéchine
- 2S,3S pour la (+)-épicatéchine

Les énantiomères les plus rencontrés dans le houblon sont la **(+)-catéchine** et la **(-)-épicatéchine** [70],[93].

Les monomères de (+)-catéchine et de (-)-épicatéchine peuvent atteindre respectivement 2821 et 1483 mg/kg de matière sèche [77]-[81].

Par ailleurs on a également pu détecter la présence d'une gallocatéchine, la **(-)-gallocatéchine** [79].

*On peut d'autre part noter que la principale unité monomérique identifiée au sein de la bière est la (+)-catéchine (0,5 à 6,9 mg/L), mais la (-)-épicatéchine (0,8-1,9 mg/L), la (-)-gallocatéchine, la (-)-galloépicatéchine, la (-)-gallate catéchine, la (-)-gallate épicatéchine et deux glycosides ont également pu être détectés [82]-[86].*



Nom	Configuration	R3	R4
(+)-catéchine	2R,3S	OH	H
(-)-épicatéchine	2R,3R	H	H
(-)-gallocatéchine	2R,3R	OH	OH

Figure 37 : Structure des tanins catéchiques monomères identifiés dans le houblon. [70]

*Il faut remarquer que ce ne sont pas des tanins au sens strict étant donné qu'ils possèdent une masse moléculaire d'environ 300 Daltons donc inférieur à 500 Daltons. Ces molécules sont la plupart du temps retrouvées sous forme de polymères : les proanthocyanidines.*

#### 4.2.1.2.2 Les proanthocyanidines

Les proanthocyanidines ou proanthocyanidols que l'on appelle également tanins catéchiques condensés non hydrolysables sont des polymères de flavanols. Ils sont constitués d'unités de type flavan-3-ol polyhydroxylée. On distingue plusieurs classes selon le schéma d'hydroxylation [18],[70].

Par additions successives d'unités flavanols, il se forme des dimères, trimères et jusqu'à des polymères pouvant compter plusieurs dizaines d'unités élémentaires.

Les termes proanthocyanidine, anthocyanogène ou procyanidol, seront fréquemment utilisés pour les oligomères (respectivement 2,3, unités). L'appellation de flavonoïdes simples sera conservée jusque 7 à 8 unités. Pour un plus grand nombre d'unités monomériques, la terminologie tanin sera retenue [18],[70].

Les principales classes que l'on trouve dans la nature sont représentées par les procyanidines et prodelphinidines.

Les procyanidines sont constituées d'unités cathécol et épicatechol.

Les prodelphinidines sont quant à elles constituées d'unités gallocatéchol et épigallocatéchol [18].

Parmi les procyanidines, on distingue principalement les procyanidines de type A et de type B.

Les procyanidines de type B se caractérisent par une seule liaison interflavanique reliant les atomes C4-C8 ou C4-C6. Celle-ci est placée du côté opposé par rapport à l'hydroxyle en position C3 du monomère supérieur (lien  $\alpha$  si (+)-catéchine, et lien  $\beta$  si (-)-épicatechine).

Les procyanidines de type A se caractérisent par une liaison supplémentaire de type éther entre le carbone C2 et les hydroxyles 5 ou 7 du noyau A [70].

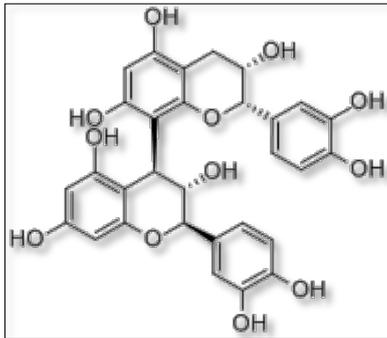
Au niveau des structures chimiques les procyanidines B1, B2, B3, et B4 possèdent une liaison en C4-C8 avec respectivement comme unités structurales :

(-)-épicatechine/(+)-catéchine, (-)-épicatechine/(-)-épicatechine, (+)-catéchine/(+)-catéchine, et (+)-catéchine/(-)-épicatechine.

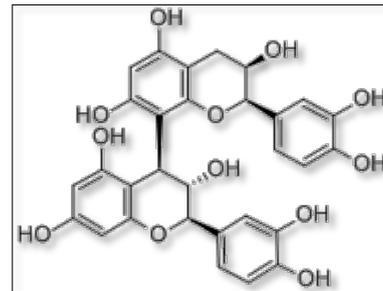
Les procyanidines B7, B5, B6, et B8 possèdent une liaison de type C4-C6 et comme unités structurales respectives : (-)-épicatechine/(+)-catéchine, (-)-épicatechine/(-)-épicatechine, (+)-catéchine/(+)-catéchine, et (+)-catéchine/(-)-épicatechine [18].

Les prodelphinidines sont des dimères construits exactement sur le même modèle que les procyanidines mais avec la gallocatéchine et l'épigallocatéchine [18].

Au sein du houblon on a pu identifier différents dimères notamment : les **procyanidines B3 et B4** découvertes jusqu'à des teneurs de 0,1% [78]-[81], les procyanidines B1 et B2, présentes mais uniquement à l'état de traces [79]-[81], tout comme la prodelphinidine B3 [79] et les prodelphinidines de type A [85].



Procyanidine B3 [93]



Procyanidine B4 [93]

Figure 38 : Structure des deux principales procyanidines retrouvées dans le houblon.

Des trimères de flavonoïdes ont également pu être isolés, avec tout d'abord trois procyanidines de type C qui ont les structures suivantes : (+)-catéchine-(4 $\alpha$ -8)-(+)-catéchine-(4 $\alpha$ -8)-(+)-catéchine, (-)-épicatechine-(4 $\beta$ -8)-(+)-catéchine-(4 $\alpha$ -8)-(+)-catéchine, (-)-épicatechine-(4 $\beta$ -8)-(-)-catéchine-(4 $\beta$ -8)-(+)-catéchine ; et deux prodelphinidines de type C dont les structures sont : (-)-gallocatéchine-(4 $\alpha$ -8)-(-)-gallocatéchine-(4 $\alpha$ -8)-(+)-catéchine, et (+)-catéchine-(4 $\alpha$ -8)-(-)-gallocatéchine-(4 $\alpha$ -8)-(+)-catéchine [79].

#### 4.2.1.3 Les flavonoïdes prénylés

##### 4.2.1.3.1 Les chalcones et dihydrochalcones

###### 4.2.1.3.1.1 Structure

Il s'agit à l'heure actuelle du groupe le plus étudié des flavonoïdes isolés chez le houblon. Ceci s'explique par leurs multiples intérêts au point de vue activité pharmacologique *in vitro* et/ou *in vivo* : analgésique, antioxydant, antifongique, antibactérien, anti-protozoaire, « protecteur gastrique », antimutagène, anti-tumoral, anti-inflammatoire [87], [88].

Les chalcones s'identifient par le motif *1,3-diphenyl-2-en-1-one* [87]. De cette structure il en découle une caractéristique unique au sein de la famille des flavonoïdes : « elles ont la particularité de ne pas posséder de noyau central C, les cycles A et B sont reliés par un chaînon tricarboné cétonique,  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturé pour les chalcones, en revanche les dihydrochalcones ne possèdent pas cette double liaison conjuguée au carbonyle. » [18].

Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées. (*fig. 39*), [70]

La présence d'une double liaison conjuguée confère aux chalcones une couleur jaune, qui caractérise justement la pigmentation jaune de la lupuline. En conséquence, les dihydrochalcones (*fig. 40*) sont généralement incolores [70].

Les chalcones existent sous deux formes stéréoisomères Z et E en fonction de la position des substituants de part et d'autre de la double liaison centrale. A l'état naturel, les chalcones ont la plupart du temps une configuration de type E [70],[93].

Ces composés peuvent être substitués par différentes unités chimiques. Ces substitutions se font essentiellement sur le cycle A et sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes (C-2', C-4', C-6'), le noyau B est le plus souvent non substitué ou parfois monosubstitué.

On retrouve fréquemment des composés avec des substituants hydroxyle et/ou méthoxyle en 2', 4', et 6' du cycle A, par ailleurs les dérivés C-alkylés sont fortement représentés, les substituants sont principalement des unités alkyle, **isoprényle**, ou **géranyle** [70],[93].

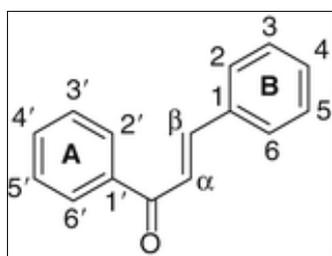


Figure 39 : Structure de base des chalcones [18].

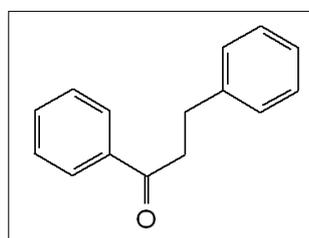


Figure 40 : Structure des dihydrochalcones [18].

#### 4.2.1.3.1.2 Biosynthèse

Le motif chalcone est important car il ouvre la voie de biosynthèse des flavonoïdes, avec la formation du squelette diphenyle propane C6-C3-C6.

La biosynthèse des chalcones repose sur une enzyme clef : la chalcone synthase (CHS), il s'agit d'une enzyme appartenant à la superfamille des polypeptides (*polyketide en anglais*) synthases (PKS), dans la littérature on la désigne également polypeptide synthase de type III (PKSIII).

Elle possède une structure dimérique dont chaque monomère a une taille comprise entre 42 et 45 kDa.

Au niveau de la biosynthèse (*fig. 41*) la première étape débute par une réaction de désamination de la L-phénylalanine, ce qui aboutit à la formation d'une molécule de trans-cinnamate. Ce composé sera ensuite facilement convertit en p-coumarate via l'action de la trans-cinnamate-4-monooxygénase. Ce p-coumarate va ensuite réagir avec une molécule de SH-CoA, pour former grâce à la 4-coumarate-CoA ligase la structure 4-coumaroyl-CoA. Enfin dans l'étape finale, intervient la naringénine-chalcone synthase qui va permettre de catalyser la réaction entre le 4-coumaroyl-CoA et les trois molécules de malonyl-CoA. On obtient alors un composé intermédiaire qui via une réaction de cyclisation intramoléculaire et la perte d'une molécule de CoA aboutit à la naringénine chalcone.

Il est à noter qu'en laboratoire la plus simple des chalcones peut être préparée à partir d'une réaction de condensation de type aldol (réaction de crotonisation) entre une molécule de benzaldéhyde et d'acétophénone en présence d'hydroxyde de sodium qui permet de catalyser la réaction [73],[87].

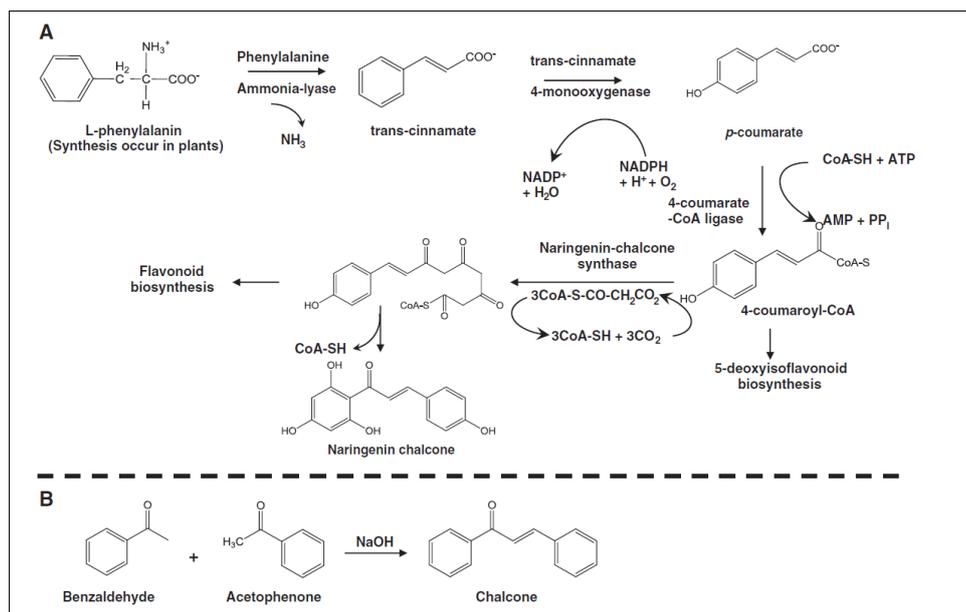


Figure 41 : Biosynthèse (A) et synthèse industrielle (B) des chalcones [87].

#### 4.2.1.3.1.3 Les chalcones dans le houblon

Au sein du houblon les chalcones identifiées sont essentiellement des chalcones de type prénylées et géranylées [73].

La chalcone majoritaire est le **Xanthohumol (XH)** (de 0,1 à 1% du poids sec total). Il est ubiquitaire de tous les cultivars. Cette molécule a été isolée et décrite pour la première fois en 1913 par Power et al [73],[94].

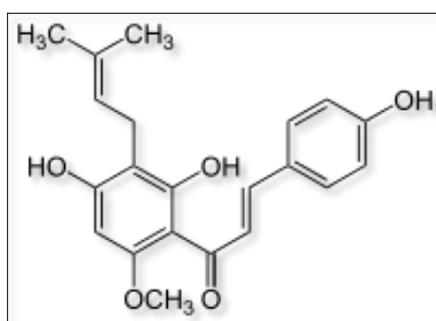


Figure 42 : Xanthohumol [3]

Cette chalcone est particulièrement abondante lorsque la drogue est fraîchement coupée ou lorsque que les cônes ont été « proprement » conservés [17], [90],[91]. La présence d'une autre chalcone du houblon est à souligner, il s'agit du 2',4',4,6'-tétrahydroxy-3'-C-prénylchalcone, communément appelé **desméthylxanthohumol (DMX)**, (1200 mg/kg), il est considéré comme le précurseur biogénétique du xanthohumol et d'une grande partie des flavonoïdes présents dans le houblon [17].

Jusqu'à ce jour, on a pu constater que dans la lupuline, les xanthohumol et desméthylxanthohumol sont accompagnés par au moins douze autres chalcones prénylées ou géranylées, il s'agit [3],[73] :

- du **Xanthogalénol**, (*uniquement présent dans les cultivars nord américains et de l'est asiatique, la méthylation en position 4' du noyau chalcone serait un trait de caractère primitif de l'espèce humulus lupulus qui aurait disparu au cours de l'évolution* [92].
- du **4'-O-Méthylxanthohumol**,
- de la **3'-Géranylchalconaringénine**,
- de la **3',5'-Diprénylchalconaringénine**,
- du **5'-Prénylxanthohumol**,
- du **Flavokawin**,
- du **Xanthohumol B**,
- du **Xanthohumol C**,
- du **Xanthohumol D**,
- du **Xanthohumol E**,
- de l' **$\alpha,\beta$ -Dihydroxanthohumol**,
- et de l'**iso-Déhydrocycloxanthohumol hydrate**.

Figure 43 : Structure des chalcones prénylées et géranylées du houblon [73]

Structure	Trivial name	Reference
	Xanthohumol	Power et al. (1913) Verzele et al. (1957) Huebner and Riedl (1960) Haensel and Schulz (1988)
R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> = H, R <sub>4</sub> = Prenyl	Desmethylxanthohumol	Haensel and Schulz (1988)
R <sub>1</sub> , R <sub>3</sub> = H; R <sub>2</sub> = Me, R <sub>4</sub> = Prenyl	Xanthogalenol	Stevens et al. (2000)
R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> = Me; R <sub>3</sub> = H, R <sub>4</sub> = Prenyl	4'-O-Methylxanthohumol	Sun et al. (1989)
R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> = H, R <sub>4</sub> = Geranyl	3'-Geranylchalconaringénine	Stevens et al. (1997)
R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> = H; R <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> = Prenyl	3',5'-Diprénylchalconaringénine	Stevens et al. (2000)
R <sub>1</sub> = Me, R <sub>2</sub> = H; R <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> = Prenyl	5'-Prénylxanthohumol	Stevens et al. (1997)
R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> = Me; R <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> = H	Flavokawin	Stevens et al. (2000)
	Xanthohumol B	Tabata et al. (1997) Stevens et al. (1997)
	Xanthohumol C	Stevens et al. (2000)
	Xanthohumol D	Stevens et al. (2000)
	Xanthohumol E	Stevens et al. (2000)
	$\alpha,\beta$ -Dihydroxanthohumol	Etteldorf et al. (1999)
	iso-Dehydrocycloxanthohumol hydrate	Etteldorf et al. (1999)

Par ailleurs, il faut préciser que le DMX et les douze autres composés sont présents dans les cônes de houblon à des concentrations 10 à 100 fois plus faible par rapport au xanthohumol [73].

Il a également été rapporté que plus la teneur en acide alpha est élevée, plus la concentration en xanthohumol est importante [3], [95].

Jusqu'à présent, on sait que le houblon est la seule source de ces composés et qu'ils sont également identifiables dans la bière. D'ailleurs, un lien a pu être établi entre la concentration de ces molécules et le degré de houblonnage [70], [96].

Seul 15 à 50% de xanthohumol du houblon demeure dans la bière finie [70], ce qui conduit souvent à des concentrations inférieures à 1 ppm [70], [73], [91]. Ce phénomène est dû à l'isomérisation du xanthohumol favorisée par le brassage. Les bières brunes et ambrées sont caractérisées par des niveaux légèrement plus élevés en xanthohumol résultant de l'utilisation de malts foncés, car ceux-ci contiennent des composés inhibant l'isomérisation du xanthohumol (obtenu par extraction éthanol-CO<sub>2</sub>) combinée à un houblonnage tardif permet d'augmenter sensiblement la quantité de xanthohumol dans la bière (près de 10 ppm) [70], [96].

Cette réaction d'isomérisation repose sur le fait que la plupart des chalcones du houblon contiennent un groupement hydroxyle en 2' et/ou en 6', ce qui permet le déclenchement d'une réaction d'addition de type Michael sur la double liaison  $\alpha,\beta$ . Il en résulte alors une cyclisation de la chalcone qui permet d'obtenir la flavanone correspondante, et si les positions 2' et 6' sont toutes les deux hydroxylées on obtiendra les deux isomères correspondants. Cette réaction est grandement facilitée par augmentation du pH (*notamment lors de l'étape du houblonnage pour la production de la bière*) et par le fait que le produit obtenu possède une très faible énergie de conformation [70], [73]. Tout cela contribue donc à la formation des flavanones correspondantes.

#### 4.2.1.3.2 Les flavanones

##### 4.2.1.3.2.1 Structure

Tout comme les chalcones, ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie en 2. Elles possèdent une structure dérivée des flavones, de type 2-phényl-4-chromanone, (*fig. 44*). Elles tirent leur origine des chalcones. Chez les flavanones naturelles, le carbone 2 est normalement de configuration S. Elles existent sous forme libre ou sous forme glycosylée. Sous forme libre, les carbones en position 5 et 7 sur le cycle A peuvent être hydroxylées ou méthoxylées. Le cycle B peut aussi être substitué en position 3', 4', 5' et 6'. Les dérivés C-alkylés sont relativement courants, surtout les dérivés C-prénylés ou C-géranylés, c'est notamment le cas des flavanones du houblon [70].

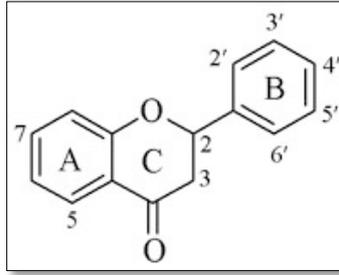


Figure 44 : Structure générale des flavanones [19]

Les flavanones en particulier C-alkylées du houblon tout comme les chalcones font partie des molécules isolées les plus étudiées du fait de leur très puissante activité oestrogénique et chimiopréventive [70].

#### 4.2.1.3.2.2 Biosynthèse

Les flavanones sont des composés dérivés des chalcones. Elles peuvent être obtenues selon deux voies distinctes :

- soit par l'action d'une enzyme essentielle, la chalcone isomérase. Cette enzyme permet de catalyser la conversion de la chalconaringénine (*chalcone tétrahydroxylée*) en flavanone, la 2(S)-naringénine [73], [97] (fig. 45).
- ou plus simplement par une réaction d'isomérisation par augmentation de température et de pH, ce qui conduit à une réaction d'addition de type Michael, d'un hydroxyle libre en 2' et/ou 6' sur la double liaison  $\alpha,\beta$  de la chalconaringénine. On a alors une cyclisation de la chalconaringénine qui aboutit au mélange racémique des énantiomères 2(R)- et 2(S)-naringénine [73].

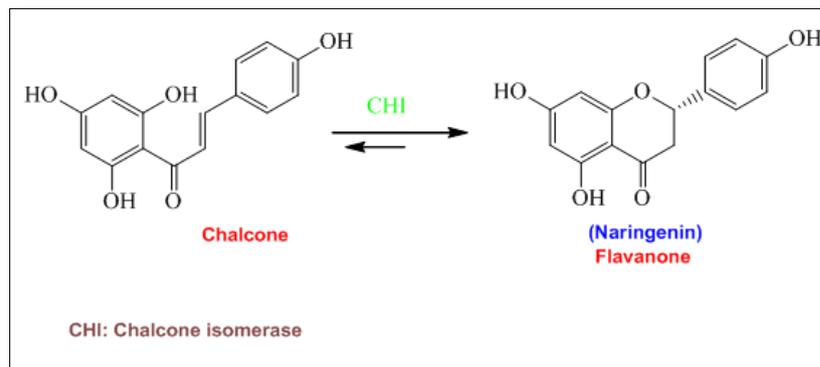


Figure 45 : Isomérisation des flavanones à partir des chalcones [97]

#### 4.2.1.3.2.3 Les flavanones du houblon

Les flavanones isolées les plus importantes du houblon découlent de leur précurseur le desméthylxanthohumol, qui par isomérisation (*notamment lors du brassage*) aboutit aux mélanges racémiques des deux flavanones prénylées suivantes (*car deux fonctions hydroxyle libres en ortho du C1' du DMX*) :

- la ( $\pm$ )**8-prénylnaringénine (8-PN)** [3]
- la ( $\pm$ )**6-prénylnaringénine (6-PN)** [3]

Le troisième composé majeur est l'**isoxanthohumol (IX)**, il s'agit de la flavanone prénylée dérivée de l'isomérisation du xanthohumol (XH) ; il fut identifié et caractérisé pour la première fois par Verzele et al. en 1957 bien qu'il fut déjà isolé en 1913 par Power et al. sous le terme *humulol* [73].

Les deux molécules IX et surtout 8-PN (*qui est parfois désignée par le terme **hopéine***) sont des composés particulièrement intéressants, tout d'abord de par leur quantité relativement importante dans les cônes de houblon, respectivement jusqu'à 80 et 90 mg/kg [70] et de par leurs implications thérapeutiques.

La 8-PN est à l'heure actuelle le plus puissant phyto-oestrogène naturel que l'on ait pu isoler [74], diverses études ont pu confirmer que ce composé est en majeure partie responsable des effets oestrogéniques de la bière [70],[73]. C'est d'ailleurs une des raisons pour lesquelles les favonoïdes prénylés du houblon sont couramment testés au sein des laboratoires industriels et académiques [73].

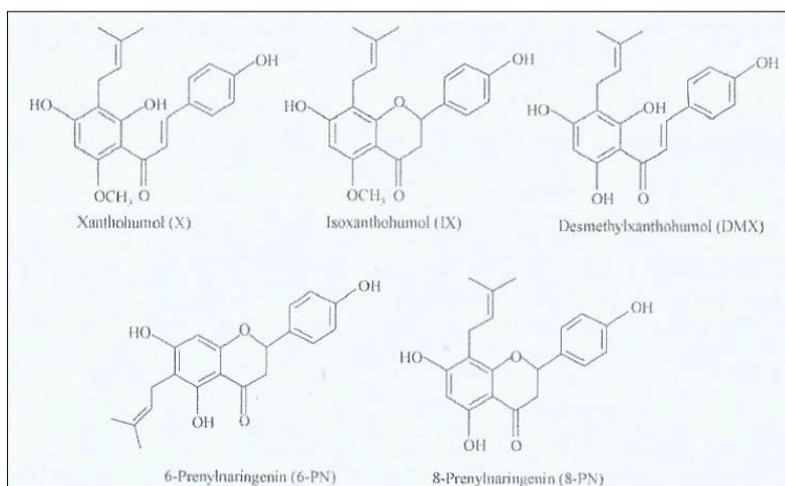


Figure 46 : Structure des principales chalcones prénylées (X et DMX) du houblon et de leurs dérivés flavanones (IX, 8-PN, 6-PN) [3].

Par ailleurs, sept autres flavanones prénylées minoritaires on pu être détectées [70],[92]il s'agit des :

- 7-O-méthyl-6-prénylnaringénine,
- 7-O-méthyl-8-prénylnaringénine,
- 5,7-di-O-méthyl-8-prénylnaringénine,
- 5,7-di-O-méthylprénylnaringénine,
- 6,8-diprénylnaringénine,
- 6-géranylnaringénine,
- 8-géranylnaringénine

#### 4.2.2 Les acides phénoliques

Dans le houblon les acides phénoliques rencontrés sont essentiellement des acides hydroxybenzoïques, structure de type C6-C1 et des acides hydroxycinnamiques, structure de type C6-C3 [70].

Les acides hydroxybenzoïques majeurs sont l'acide vanillique (59 mg/kg), (*figure 47*) et l'acide syringique (30mg/kg), (*figure 48*) [70].

Les acides hydroxycinnamiques majoritairement rencontrés sont les acides p-coumarique (13 mg/kg), caféique (38 mg/kg), et férulique (24 mg/kg), [70],(*figure 49*).

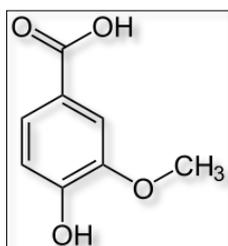


Figure 47 : Acide vanillique [98]

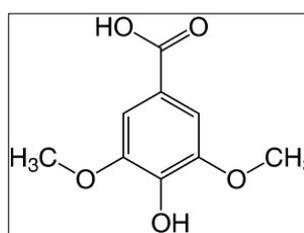


Figure 48 : Acide Syringique [98]

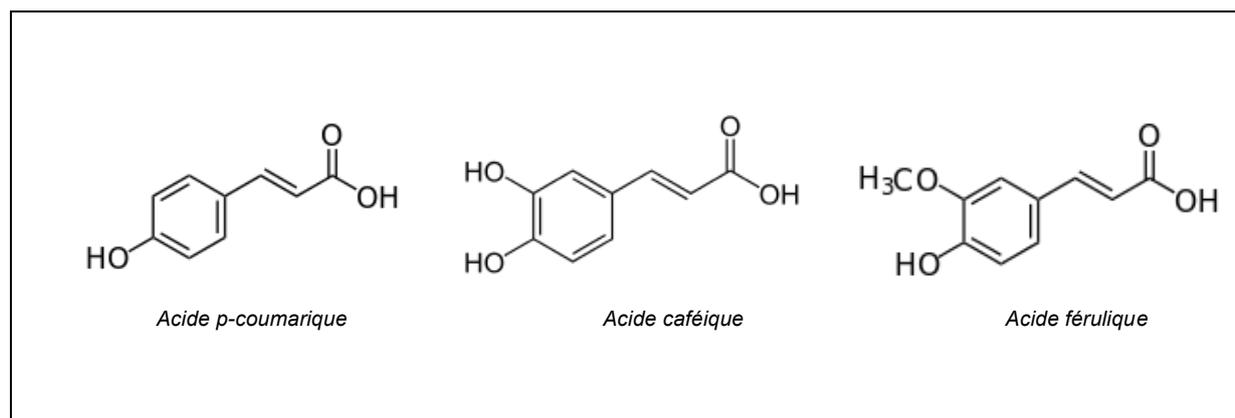


Figure 49 : Les acides hydroxycinnamiques majeurs du houblon [70]

### 4.2.3 Les stilbènes

Les stilbènes sont des hydrocarbures aromatiques naturellement présents dans le règne végétal sous forme libre ou glycosylée. Au niveau de la structure chimique ils sont constitués de deux cycles aromatiques reliés par un pont méthylène, il en découle deux formes isomères (cis ou trans) qui peuvent avoir des caractéristiques totalement différentes.

Au sein du houblon, trois stilbènes différents ont pu être identifiés, il s'agit du *trans*-resvératrol, du *trans*-picéide (composé majoritaire), (fig. 50) et du *cis*-picéide. Les quantités rapportées sont très variables et varient fortement en fonction des cultivars et des conditions extérieures [70].

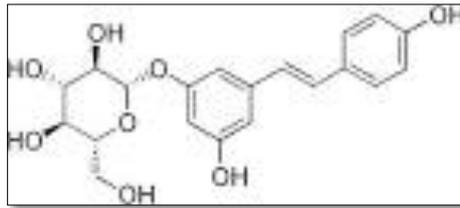


Figure 50 : *trans*-picéide [98]

### 4.3 Les huiles essentielles du houblon

Tout comme les acides amères, les huiles essentielles, par leur qualité et quantité confèrent une valeur commerciale non négligeable au houblon, car elles contribuent au parfum et à l'arôme des bières [29]

Ces huiles essentielles constituent un mélange très complexe d'environ 300 constituants chimiques différents [55].

Elles représentent entre 0,5 et 3% de la matière sèche d'un cône, les principaux dérivés isolés sont des hydrocarbures de type terpénique [55]. On y distingue dans une moindre mesure des hydrocarbures aliphatiques ainsi que des composés oxygénés, et quelques constituants sulfurés [102].

Ces essences se concentrent essentiellement au niveau des glandes à lupuline, *bien que selon certains auteurs leur biosynthèse et stockage pourrait également se produire au sein d'autres organes comme les poils sécréteurs* [102].

#### 4.3.1 Les hydrocarbures

Les hydrocarbures présents dans le houblon peuvent se distinguer en trois familles distinctes : les hydrocarbures aliphatiques, les monoterpènes et les sesquiterpènes [101].

##### 4.3.1.1 Les hydrocarbures aliphatiques

Ces composés sont plutôt minoritaires chez le houblon, les principaux constituants isolés sont des alcanes et des alcènes tels le pentane, l'octane, le 2-pentène, l'isoprène, le 1,3,5-undécatriène[100],[101].

##### 4.3.1.2 Les hydrocarbures terpéniques

Il s'agit de la classe de constituants la plus abondante. Les dérivés terpéniques représentent entre 80 et 90% de la teneur totale en huiles essentielles présentes dans les cônes de houblon [103].

Les terpènes sont des métabolites secondaires jouant un rôle de défense des plantes et d'attraction des pollinisateurs.

Au niveau de la structure, les dérivés terpéniques sont des composés formés par l'association de plusieurs unités isoprènes (structure pentacarbonée diénique : C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) pouvant aller d'un enchainement de deux (monoterpènes C<sub>10</sub>) à huit unités (carotènes : C<sub>40</sub>), [100].

En ce qui concerne la biosynthèse des terpènes [102] (*fig 51*), celle-ci débute par l'association de trois molécules d'acétyl-CoA, suivie d'une décarboxylation. L'unité isopentényl pyrophosphate (IPP) ainsi formée est alors isomérisée en 3,3-diméthyl allyl diphosphate (DMAPP) [102].

L'addition d'une unité IPP sur un DMAPP mène au géranyl pyrophosphate (GPP) ou son analogue néryl diphosphate, précurseurs des monoterpènes.

L'addition d'une unité IPP supplémentaire conduit au farnésyl pyrophosphate (FPP), précurseur des sesquiterpènes [102].

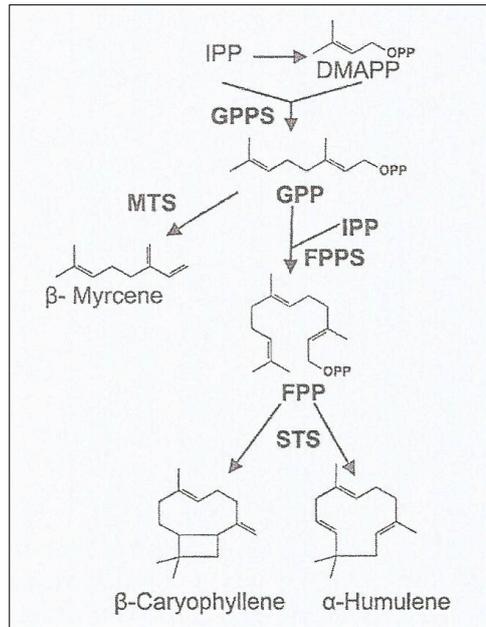


Figure 51 : Voie de biosynthèse des mono et sesquiterpènes [102]

L'essence de houblon peut renfermer jusqu'à 200 constituants terpéniques différents. Les terpènes identifiées sont principalement des carbures **monoterpéniques** (C10) et **sesquiterpéniques** (C15) [29], par ailleurs constituants majoritaires de la plupart des huiles essentielles des végétaux [100].

Parmi les monoterpènes, le composé le plus abondant et commun à tous les cultivars est le **β-myrcène**, (fig.52),[3],[55][100].

Les autres terpènes monocycliques rapportés sont : le limonène, le p-cymène, les α et β-phellandrènes [101].

On peut également citer deux autres monoterpènes bicycliques les α et β-pinènes, et le sabinène [7].

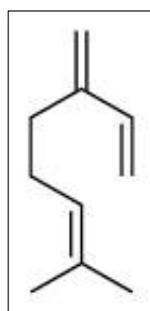


Figure 52 : Structure du β-myrcène[100]

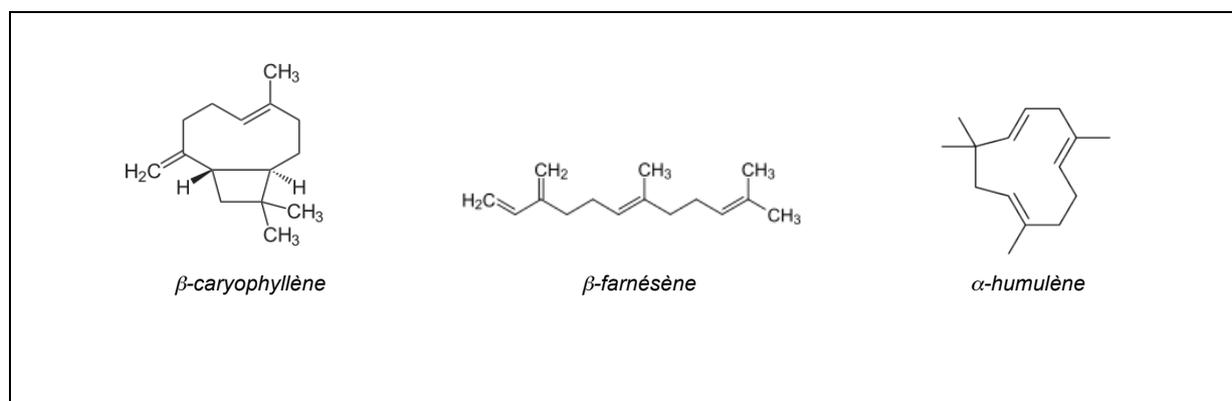
Les sesquiterpènes majoritaires et ubiquitaires de tous les cultivars sont : l' **$\alpha$ -humulène**, le plus abondant composé monocyclique, suivi par le  **$\beta$ -caryophyllène**, composé bicyclique, et le  **$\beta$ -farnésène**, unique sesquiterpène acyclique du houblon, (*figure 53*), [29].

Les proportions entre  $\alpha$ -humulène et  $\beta$ -caryophyllène permettent de classer les différents cultivars de houblon, un rapport  $\alpha$ -humulène/ $\beta$ -caryophyllène plus élevé étant associé aux cultivars européens.

Par ailleurs, les cultivars de houblon aromatiques sont caractérisés par leur haute teneur en  $\beta$ -farnésène [100].

D'autres composés, plus minoritaires sont régulièrement décrits dans la littérature il s'agit entre autres des germacrènes B et D, du sélinène composé dont la concentration peu être assez élevée chez les cultivars de houblon amérissants, et du cadinène [7],[100],[101].

Figure 53 : Structure des sesquiterpènes majoritaires du houblon [98]



#### 4.3.2 Les dérivés oxygénés

Les dérivés oxygénés présents au sein du houblon sont le résultat d'un mélange complexe d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'acides, de cétones, et d'époxydes [101]. Ces composés oxygénés proviennent essentiellement de la dégradation des dérivés terpéniques et des acides amers qui sont particulièrement sensibles à l'oxygène de l'air ambiant, ils sont à l'origine de la formation de la plupart des terpénoïdes et hydrocarbures oxygénés présents au sein du houblon. Ces constituants représentent approximativement 10 à 20% du total en huile essentielle.

##### 4.3.2.1 Les terpénoïdes

Les terpénoïdes les plus abondants du houblon sont principalement des dérivés alcooliques [104]

Parmi les dérivés alcooliques observés on distingue deux groupes différents :

- les alcools monoterpéniques
- les alcools sesquiterpéniques

Le dérivé alcoolique majoritaire isolé est le **linanol** (constituant monoterpénique) (figure 54), il serait par ailleurs le constituant le plus odorant du houblon, on retrouve également d'autres composés plus minoritaires comme le géraniol et le nérol [100], [104], [105].

Les dérivés alcooliques sesquiterpéniques majoritaires sont l'humulénol I, l'humulénol II et l'humulol [101]. On peut également citer la découverte récente du 14-hydroxy-béta-caryophyllène (figure 55), constituant permettant notamment l'identification des cultivars de houblon aux saveurs boisées [100].

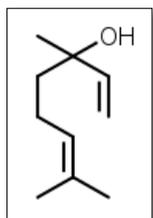


Figure 54 : Structure du linalol [29]

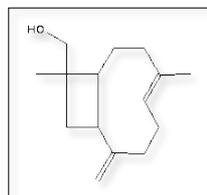


Figure 55 : Structure du 14-hydroxy-béta-caryophyllène [98]

Parmi les autres terpénoïdes nous pouvons citer la présence d'**époxydes** tel les humulènes époxydes qui tirent leur origine de l'oxydation des sesquiterpènes dont la concentration augmente durant la conservation du houblon [100],[101].

#### 4.3.2.2 Les dérivés oxygénés aliphatiques/aromatiques

Les constituants majoritaires sont surtout des alcools aliphatiques, dont le composé majoritaire est le **2-méthyl-but-3-én-2-ol** (figure 56), celui-ci voit par ailleurs sa concentration augmenter avec le temps lors du stockage du houblon.

On retrouve également des **esters** comme l'heptanoate de méthyle, des dérivés **cétoniques** avec pour exemple la 2-undécanone, des **aldéhydes** comme le 3-méthyl-2-buten-1-al, des acides comme l'acide butanoïque [100],[101],[18].

Parmi les composés aromatiques oxygénés identifiés on peut citer la présence d'eugénol et de 4-vinylguaiacol [105].

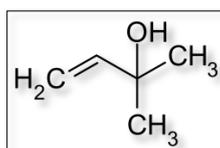


Figure 56 : Structure du méthylbuténol [98]

### 4.3.3 Les dérivés sulfurés

Les dérivés sulfurés sont uniquement présents à l'état de traces au sein du houblon, néanmoins ils peuvent jouer le rôle de puissants agents aromatisants, ils ont donc un certain intérêt au sein de l'industrie brassicole [29].

Ces composés ne sont pas produits directement par la plante. Ils sont formés par l'incorporation photochimique ou thermique d'atomes de soufre sur des molécules préexistantes et plus particulièrement sur les terpènes.

Ces réactions sont le résultat des traitements phytosanitaires employés par l'industrie brassicole dont le but est de lutter contre les divers agents pathogènes pouvant altérer le bon développement des plants de houblon et/ou modifier le caractère aromatique de certains cultivars [106]

Les composés identifiés sont essentiellement des thioesters avec pour exemple le butanoate de S-méthylthio-2-méthyle et des épisulfures d'humulène et de caryophyllène où l'on peut citer le 4,5-épithiocaryophyllène. On rapporte également l'existence d'hétérocycles soufrés dont des thiophènes comme les 3 méthylthiophène et 3-(4-méthyl-3-pentényl)-thiophène [106].

## 5 Applications thérapeutiques actuelles du houblon

Les métabolites secondaires du houblon possèdent de nombreuses activités pharmacologiques.

Les diverses molécules isolées ont pu prouver leurs multiples effets *in vitro* et *in vivo*.

Les principales activités rapportées sont :

- des propriétés modulatrices sur l'activité du système nerveux central
- des propriétés oestrogéniques
- des propriétés anti-inflammatoires
- des propriétés anti-oncogéniques (action sur les phases d'initiation, promotion et progression des cancers)
- des effets antibactériens et antifongiques
- des propriétés stomachiques
- des propriétés régulatrices sur les métabolismes lipidique et glucidique.

Les grandes classes de molécules impliquées sont les acides amers, les prénylflavonoïdes, et les huiles essentielles [3],[99].

### 5.1 Effets du houblon sur le système nerveux central

Le houblon est depuis longtemps connu pour ses propriétés sédatives, elle tire son origine d'un constat des plus simples : lors de la récolte du houblon les cueilleurs sont victimes de somnolence et de fatigue, apparemment en raison du transfert de la résine de houblon de leurs mains à leur bouche [3].

De nos jours, de nombreuses préparations renfermant des extraits de houblon (la plupart du temps combinés à la valériane) sont commercialisées comme remède naturel pour le traitement des troubles mineurs du sommeil, de l'anxiété et de la nervosité [3].

#### 5.1.1 Rappels des mécanismes physiologiques de la sédation

Le sommeil fait partie intégrante de la vie, il ne permet pas seulement de reprendre des forces, il est indispensable au développement cérébral ou encore pour assurer certaines fonctions métaboliques.

Chez l'homme la phase de repos est programmée pour avoir lieu la nuit, et représente environ un tiers de la vie.

A l'heure actuelle, même si toutes les fonctions du repos ne sont pas complètement élucidées, l'architecture ainsi que les mécanismes de transition entre la phase d'éveil et de sommeil sont bien connus. Leur description est assez récente, se situant vers le milieu des années cinquante [109].

##### 5.1.1.1 Définition

Le sommeil est un état physiologique périodique et quotidien caractérisé par la suspension réversible de la conscience éveillée et au cours duquel l'interaction avec le milieu extérieur est abolie ou réduite [107],[108].

### 5.1.1.2 Architecture du sommeil

Chez l'être humain, l'architecture du sommeil est marquée par deux phases distinctes qui s'opèrent de façon alternative, entre l'établissement du sommeil calme à onde lente (qui peut être différencié en deux phases distinctes) et le sommeil paradoxal.

Lorsque l'on s'endort, le sommeil débute par une phase de sommeil lent léger pour aboutir rapidement à une phase de sommeil lent profond ; après environ 90 minutes s'ensuit une phase de sommeil paradoxal. Ces différents stades correspondent à un cycle de sommeil. Un cycle dure environ de 90 à 120 minutes.

Chez un adulte normal, une nuit de sommeil est marquée par la répétition de 4 à 6 cycles.

Le sommeil lent est marqué par trois stades de profondeur croissante allant de N1 à N3. La durée moyenne du sommeil lent oscille entre 60 et 75 minutes en moyenne.

Les stades N1 et N2 correspondent au sommeil lent-léger, ces stades correspondent à la phase d'endormissement. En N1, le dormeur est réveillé par le moindre bruit, il ne se perçoit pas alors comme ayant dormi ou vaguement somnolent, il s'agit d'un stade de transition entre l'éveil et le sommeil, de durée assez brève (environ 5% de la durée du sommeil).

Le cerveau ralentit peu à peu et le dormeur passe au stade N2, stade de sommeil confirmée. L'aspect de l'électroencéphalogramme (EEG) est modifié (présence des ondes K).

On passe ensuite à la phase de sommeil lent profond marquée par le(s) stades N3 (et N4, *selon les auteurs*), sur l'EEG apparaissent des ondes de plus en plus lentes et amples (ondes delta : basse fréquence, grande amplitude) ; c'est un sommeil profond où il est de plus en plus difficile de réveiller le dormeur.

Il est à noter que ce stade de sommeil lent-profond correspond au sommeil réparateur et que sa durée diminue au fil de la répétition des cycles du sommeil au profit du sommeil paradoxal.

Au niveau du corps de N1 à N3, on observera en parallèle une diminution progressive des principales fonctions de base de l'organisme : le pouls et la respiration ralentissent, la tension artérielle, le tonus musculaire, la température corporelle baissent.

Le dormeur passe ensuite au stade de sommeil paradoxal, c'est un état dans lequel le dormeur est difficile à réveiller, son cerveau est aussi actif qu'en stade N1, on observe également la présence de salves de mouvements des yeux, appelés mouvements oculaires rapides. (REM : pour Rapid Eye Movement sleep). *C'est d'ailleurs sur ce principe que repose en partie la classification de Dement et Kleitman où l'on définit le sommeil paradoxal, sommeil REM par opposition au sommeil lent, sommeil non-REM.* Paradoxalement (d'où son nom) le corps présente une atonie musculaire qui contraste avec la forte activité cérébrale. C'est durant ce stade que se déroulent la plupart des rêves. D'autre part la pression artérielle, la fréquence cardiaque et la respiration présentent une certaine instabilité, la température corporelle peut également baisser de près d'un degré Celsius. Ce stade dure environ 15 à 20 minutes.

[110]-[113].

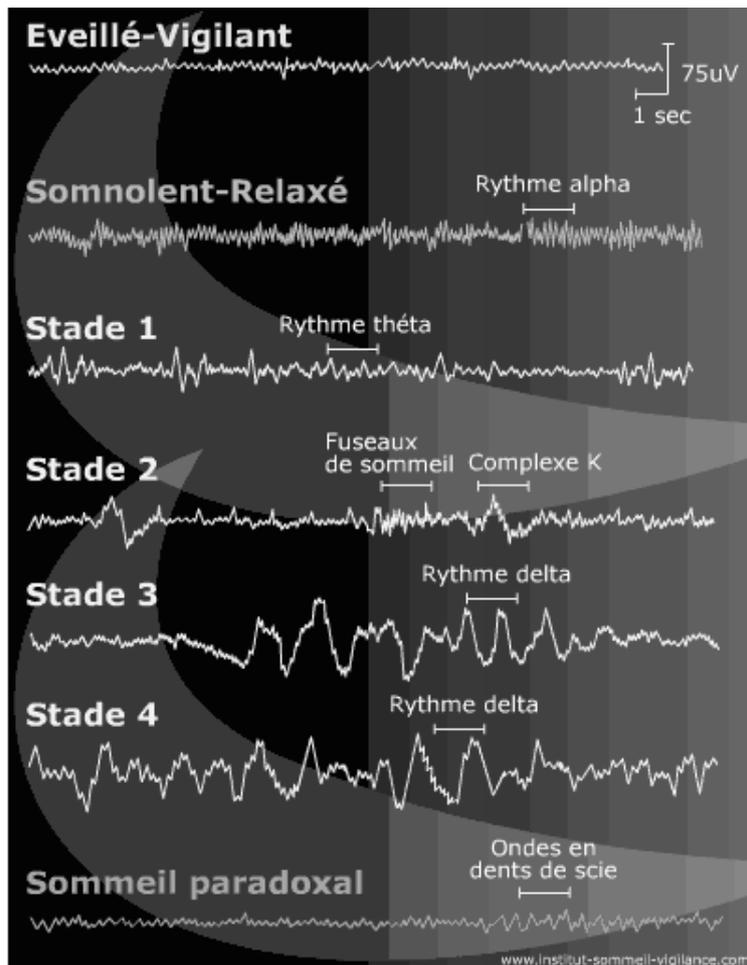


Figure 57 : Exemple de tracés EEG révélant les différents stades de sommeil [111]

### 5.1.1.3 Techniques d'études du sommeil

Les méthodes permettant l'étude du sommeil sont nombreuses. L'examen de base et le plus courant que l'on rencontre dans la plupart des centres de sommeil est le test polysomnographique. Il permet de suivre le sommeil et son évolution durant la nuit.

Ce test repose sur la mesure et la combinaison de plusieurs variables telles que :

- l'électroencéphalographie (EEG), qui permet de déterminer l'activité électrique du cerveau.
- l'electromyographie (EMG), qui va analyser les mouvements des muscles de la face, du menton et parfois des jambes et des bras.
- la mesure des mouvements des globes oculaires déterminés par l'électro-oculogramme (EOG).
- la polygraphie respiratoire qui va mesurer le débit respiratoire, les éventuels ronflements, les mouvements du thorax et de l'abdomen ainsi que la saturation du sang en oxygène.
- l'électrocardiogramme révélant l'activité électrique du muscle cardiaque.

Grâce à ce test, on peut connaître et appréhender le temps de sommeil, sa composition en cycles et stades, la latence d'endormissement, l'efficacité du sommeil (rapport entre temps de sommeil total et temps passé au lit), la survenue d'anomalies cardiaques, respiratoires, et/ou neurologiques.

Le déroulement d'une nuit de sommeil est représenté par la réalisation d'un hypnogramme (figure 58). Il permet d'étudier les différentes phases de sommeil et de veille. Il est réalisé à partir des données obtenues par la réalisation des EEG, EOG, et EMG. Il permet de résumer le déroulement d'une nuit de sommeil en montrant le nombre et la structure de chaque cycle (sommeil lent et sommeil paradoxal). C'est d'après l'analyse de ce graphique que l'on détermine si l'architecture du sommeil chez un individu est normale ou pathologique.

[111], [114], [115].

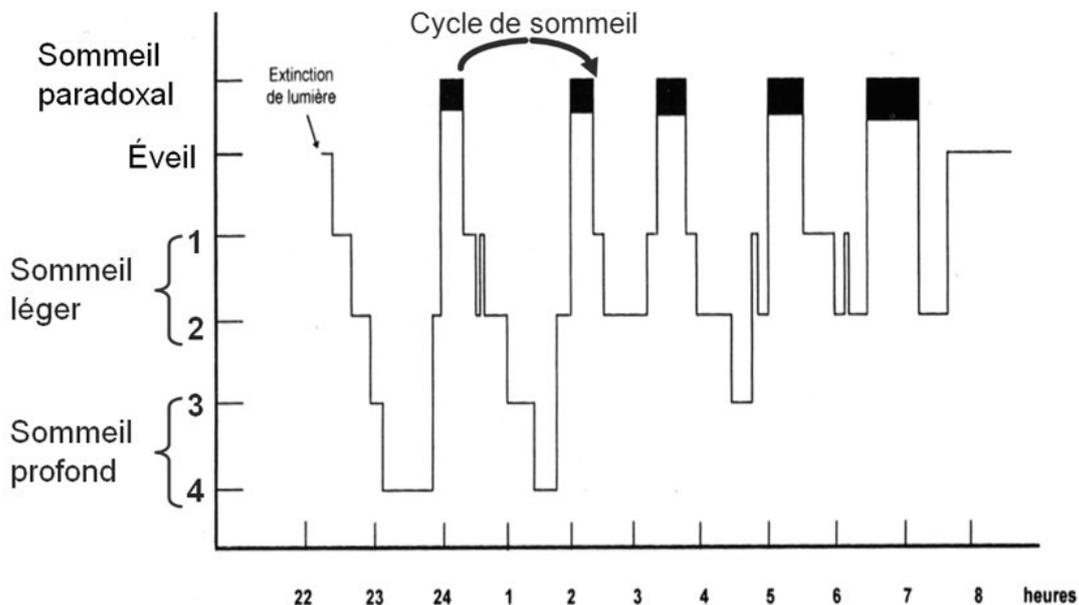


Figure 58 : Hypnogramme normal réalisé chez un individu n'ayant pas de problèmes de sommeil [114]

#### 5.1.1.4 Régulation du sommeil

Le sommeil alterne régulièrement avec l'état de veille et ces deux états de la vigilance sont liés entre-eux. Le sommeil est sous la dépendance de trois modèles de régulation : homéostatique (processus S), circadien (processus C) et ultradien.

La régulation homéostatique : Ce processus de régulation a été découvert pour la première fois en 1982 par les travaux de Borbely, il se résume de la manière suivante : plus la durée de veille est prolongée plus la pression de sommeil est importante, plus le sommeil à ondes lentes est important.

Le besoin de sommeil augmente au cours de la veille et diminue progressivement durant le sommeil, ce principe bien qu'encore mal compris résulterait de l'accumulation d'une substance issue du métabolisme des neurones produit au cours de l'éveil.

Les premières hypothèses suggérant l'existence d'une substance inductrice de sommeil remontent au début du XXe siècle où l'on a montré qu'une privation prolongée de sommeil chez le chien, s'accompagnait de la production d'un facteur hypnogène puisque l'injection du LCR de ce chien à un autre animal induisait du sommeil.

Cette substance favorise la survenue d'onde lente jusqu'à un certain seuil. Il s'agit d'un processus accumulatif augmentant pendant la veille avec un seuil « haut » et diminuant durant le sommeil avec un seuil « bas ».

De nombreux travaux indiquent que l'adénosine serait le principal facteur inducteur de sommeil. Durant l'éveil les cellules corticales subissent un fort métabolisme énergétique qui transforme l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine diphosphate (ADP). L'ADP inhibe alors progressivement l'activité des neurones cholinergiques au fur et à mesure que son taux augmente. La caféine est d'ailleurs un antagoniste de l'adénosine ce qui lui confère ainsi son activité stimulante.

L'éveil provoque aussi sa propre inhibition par le biais des neurones GABAergiques des noyaux pré-optiques qui sont activés par les décharges successives des neurones sérotoninergiques du système du raphé. Les neurones du GABA vont ensuite inhiber les fonctions de l'éveil (fonctionnant avec les monoamines et l'acétylcholine). C'est donc bien l'éveil qui induit le sommeil.

La régulation circadienne : Circadien signifie autour (circa) des 24 heures (dies). La rythmicité circadienne existe chez toutes les espèces, elle est contrôlée par de nombreuses variables physiologiques qui sont l'alternance veille/sommeil (V/S), le rythme de la température, et la sécrétion de nombreuses hormones.

Chez l'homme, les rythmes sont gérés par l'hypothalamus où est différencié deux types d'oscillateurs l'un étant dit « faible » et l'autre « fort ».

L'oscillateur faible est représenté par le noyau suprachiasmatique (NSC). Les cellules constituant ce noyau possèdent une activité neuronale et métabolique circadienne, elles renferment tous les éléments du fonctionnement de l'horloge. Ce fonctionnement est dû à l'expression rythmique de l'activité de certains gènes et à la production de certaines protéines dont le taux varie en fonction du temps. Ce NSC est qualifié de générateur rythmique endogène (« horloge interne »). Le fonctionnement circadien du NSC a une durée comprise entre 24 et 25 heures. Il permet d'affirmer que l'alternance des cycles veille/sommeil n'est pas uniquement sous l'influence exogène de l'alternance jour/nuit, il va gérer les phases de veille/sommeil profond et la libération d'hormones : prolactine et hormone de croissance (GH).

L'oscillateur «fort » se situe au niveau de l'hypothalamus latéral, il a sous contrôle le rythme de la température corporelle, le sommeil paradoxal, la sécrétion de cortisol qui stimule l'éveil et de la mélatonine qui engendre le sommeil.

Ces deux oscillateurs sont couplés entre-eux, leur périodicité endogène est ramenée à 24 heures par l'action des synchroniseurs exogènes (zeitgebers) dont le principal est l'alternance de lumière/obscurité.

L'oscillateur faible se dérègle rapidement en l'absence des synchroniseurs externes expliquant les alternances veilles/sommeil désynchronisées du rythme de la température dans les expériences « hors du temps » (déphasage progressif entre le sommeil et les autres rythmes corporels).

La lumière du jour est en effet le marqueur de temps externe le plus important pour la synchronisation de 24 heures. Elle va agir au niveau des voies nerveuses rétiniennes en stimulant les cellules ganglionnaires à mélanopsine, ces dernières vont véhiculer l'information aux cellules du noyau suprachiasmatique (NSC) par l'intermédiaire du faisceau rétinohypothalamique. Ce système permet donc le transfert de l'énergie lumineuse au NSC dont certains de ses neurones vont être activés et d'autres inhibés, les neurones actifs du NSC vont alors à leur tour agir sur la glande pinéale en bloquant sa sécrétion physiologique de mélatonine à l'obscurité qui agit en retour sur le rythme circadien du NSC. Ce système permet de comprendre que de nombreuses activités physiologiques soient synchronisées sur l'alternance jour/obscurité.

La régulation ultradienne : ce processus intervient dans le contrôle des phases de sommeil lent et de sommeil paradoxal. Le principe de régulation repose sur l'activité alternée de population de neurones interconnectés et localisés pour une part dans la formation réticulée pontique et le locus coeruleus alpha qui correspond au groupe de neurones : « sp-on » et d'autre part dans le locus coeruleus et le noyau dorsal du raphé qui correspond au groupe de neurones : « sp-off ». L'activité alternée de ces deux groupes de neurones interconnectés et à action inverse, selon une relation temporelle réciproque, expliquerait l'alternance sommeil paradoxal et sommeil lent. Chez l'homme, ce cycle dure environ 90 min et conditionne la capacité de l'organisme de passer de l'état d'éveil au sommeil.

[111], [116], [117].

#### 5.1.2 Molécules du houblon impliquées dans la modulation de l'activité du S.N.C

- **Essais *in-vitro* et *in-vivo***

L'activité neuropharmacologique du houblon ne fut clairement démontrée qu'à partir des années 1980 où Hänsel et al. attribuent en 1982 l'activité sédatrice du houblon au **2-méthyl-3-butène-2-ol**, produit obtenu à partir de la dégradation des acides amers (dérivés de l'humulone et dérivés de la lupulone) du houblon lors du stockage à température ambiante [118],[119].

Wohlfart et al. ont démontré à partir de 1983 que ce composé provoquait une réduction de la motricité spontanée de 50% sans induire d'effet myorelaxant lorsqu'il était injecté en voie intra-péritonéale chez le rat à une dose de 206,5 mg/kg [120],[121]. D'autre part, une dose élevée (800 mg / kg) du même composé a montré la capacité à induire une narcose chez la souris [118].

Toutefois, bien que les extraits de houblon disponibles dans le commerce ne contiennent que de faibles quantités de 2 -méthyl-3- butène -2-ol (< 0,01%) [119], ce constituant peut tout de même atteindre des concentrations plus élevées (0,15%) notamment lorsque le houblon a été stocké durant plusieurs années. Ceci s'explique par le fait que ce composé est issu de la dégradation de l'humulone et la lupulone ainsi que de leurs dérivés.

D'autre part, les auteurs pensent actuellement que l'augmentation de la concentration du 2-méthyl-3-butène-2-ol, proviendrait essentiellement du

métabolisme *in vivo* de l'humulone et de la chalcone prénylée, le xanthohumol [119],[121].

Néanmoins, à l'heure actuelle le rôle des **résines** semble mieux démontré [3].

Des investigations plus récentes concernant l'activité neuropharmacologique du houblon ont été menées notamment par Zanolli et al. en 2005-2007[122],[123]. Elles reposent sur l'étude d'**extraits de houblon obtenus par une extraction par le dioxyde de carbone supercritique et de fractions combinées en alpha et bêta-acides**. Lors de leurs études, les extraits de houblon ont été administrés par voie orale chez des rats de laboratoire, les résultats ont révélé un effet inducteur du sommeil de type pentobarbital, l'effet observé serait dose-dépendant et débiterait à la dose minimale efficace de 10mg/kg ; les extraits employés n'auraient ni modulé l'activité locomotrice lors du « test en champ libre » ni modifié le comportement anxiogène lorsque ces rats ont été soumis au « test du labyrinthe en croix surélevé ». Ils ont également pu mettre en évidence pour la première fois une activité similaire aux antidépresseurs. En effet lors du « test de comportement du désespoir » ils ont observé une diminution du temps d'immobilité des rats lorsque les extraits de houblon ont été administrés de manière successive à 24, 5, et 1h avant la pratique du test à des doses de 5-10 mg/kg de poids corporel.

**Les mêmes effets pharmacologiques** ont été obtenus en utilisant une fraction de houblon renfermant **uniquement des acides-alpha**.

Une fraction contenant **uniquement des bêta-acides** a également été administrée afin d'en tester les effets. Les résultats obtenus chez les rats ont montré une augmentation de leur capacité d'exploration lors du test en champ libre, en revanche une diminution de l'activité hypnotique de type pentobarbital a été observée, ce qui suggère une légère activité anxiolytique. Par ailleurs, les études électrophysiologiques menées sur des cultures de cellules granulaires de cervelet ont montré que les bêta-acides diminuent la propagation des courants GABAergiques évoqués de manière dose-dépendante et aggravent les effets induits par la picrotoxine.

Leurs conclusions ont permis de considérer que les alpha-acides (humulone et dérivés) sont les constituants majeurs provoquant l'activité sédatrice de type pentobarbital ainsi que l'activité antidépressive. Les bêta-acides quant à eux provoquent également, dans une moindre mesure, une activité antidépressive, mais n'entraîneraient pas de sédation étant donné qu'ils diminuent l'activité GABAergique [3], [122], [123].

Cela laisse donc suggérer que ces extraits de houblon ainsi que les fractions enrichies en alpha et bêta d'acides partagent bien une activité antidépressive. Ceci pourrait donc expliquer l'intérêt du houblon dans le traitement des troubles mineurs liés à la dépression.

D'autres publications menées par Schiller et al. en 2006 ont également démontré que ces mêmes acides amers du houblon augmenteraient la durée du sommeil induit par la kétamine et diminueraient la température corporelle chez des souris traitées à différents dosages allant de 200 à 500 mg/kg d'extraits carbonique et éthanolique en acides amers [124]. En revanche ils n'ont pas constaté d'effet anxiolytique, cela confirme les travaux menés par l'équipe de P.Zanolli [3].

Les deux fractions contenant les acides alpha ou bêta ont également été testées séparément. Les résultats obtenus ont montré une prolongation de la durée d'endormissement induite par la kétamine néanmoins la fraction bêta a nécessité une concentration six fois supérieure (200mg/kg) à celle de la fraction alpha (25mg/kg) [124]. Le rôle prépondérant des alpha-acides est donc confirmé [3].

Aoshima et al. en 2006 sont parvenus également à identifier un autre constituant, une huile essentielle de type terpénoïde, produite à partir du myrcène durant le houblonnage en brasserie : le **myrcénol** [125].

Cette molécule prolongerait la durée de la sédation induite par le pentobarbital chez les souris et potentialiserait la réponse des récepteurs GABAergiques *in vitro*. Le myrcénol participerait donc au maintien de l'activité sédative [125].

Un autre constituant appartenant aux chalcones prénylées du houblon fait également l'objet de diverses études concernant une probable activité sédative et anxiolytique, il s'agit du **xanthohumol**. Bien que le mécanisme d'action dans cette activité semble encore assez partagée à l'heure actuelle, certains auteurs sont parvenus à montrer que le xanthohumol était capable d'inhiber la fixation du Mu-Alexa (muscimol-Alexa Fluor 532), agoniste spécifique du récepteur GABA<sub>A</sub>, sans interaction avec le récepteur aux benzodiazépines et d'augmenter le nombre de complexes ligand-récepteur à mobilité latérale limitée dans les neurones hippocampaux, comme il est observé pour le midazolam [126].

Une autre étude comparative mettant en jeu l'activité du xanthohumol et du midazolam réalisées chez des rats de laboratoire (Sprague-Dawley) a permis de tirer la conclusion que le xanthohumol seul n'entraînait pas de modulation de l'activité du récepteur GABA<sub>A</sub>. Mais lors de l'utilisation du complexe xanthohumol/midazolam, les auteurs ont constaté une augmentation notoire de l'activité sédative en comparaison avec le midazolam utilisé seul chez ces mêmes rats. Ces résultats ont ainsi permis d'établir que le xanthohumol est probablement capable d'interagir avec un autre site modulateur du système nerveux central et serait en mesure de renforcer l'activité des anxiolytiques. Désormais, il se pourrait que le xanthohumol exerce soit une activité agoniste partielle ou antagoniste sur les récepteurs aux benzodiazépines de type GABA<sub>A</sub> ou que le xanthohumol ait la capacité d'interagir avec un autre système de neurotransmission au niveau central [127].

Bien que les constituants du houblon provoquant une sédation sont clairement identifiés, à ce jour, de nombreuses questions subsistent quant aux mécanismes d'actions.

Plusieurs études ont pu apporter quelques éléments de réponse concernant ces mécanismes d'action :

- Abourashed et al. en 2004 ont pu mettre en évidence, à l'aide de tests réalisés *in vitro* sur des extraits secs, la capacité du houblon à interagir au niveau du système nerveux central. Ils ont conclu que l'action sédative du houblon serait liée au masquage des récepteurs sérotoninergiques de type 5HT<sub>6</sub> et des récepteurs à la mélatonine de type ML1. Le lien entre les récepteurs sérotoninergiques et la dépression ainsi que les troubles du sommeil n'est plus à démontrer tout comme le rôle de la mélatonine dans la régulation du rythme circadien [3].
- une autre publication menée par Muller et al. en 2002 révèle que l'effet sédatif du houblon serait lié à un mécanisme d'action alternatif qui emploierait la voie des récepteurs au GABA [3].

- une autre équipe a évalué la capacité d'un extrait hydro-méthanolique de houblon dosé à 45% à déplacer les ligands de référence de 14 types de récepteurs ayant une influence sur le sommeil. Les meilleurs résultats ont été obtenus sur les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> (CI<sub>50</sub> = 21 µM) et ML<sub>1</sub> (CI<sub>50</sub> = 71 µM) [128].
  - La bière ainsi qu'un extrait pentanique de houblon ont également donné des réponses positives sur les récepteurs GABA<sub>A</sub> d'ovocytes de grenouilles (*Xenopus laevis*) [125].
- **Essais cliniques**

Concernant l'efficacité clinique du houblon et son rôle dans la sédation, les études jusqu'à ce jour ont toujours été réalisées à partir de préparations à base de mélanges de houblon et de plantes diverses, comme la valériane.

Des tests randomisés en double aveugle réalisés chez des patients souffrant de troubles du sommeil ont notamment révélé une efficacité et une tolérance équivalente entre une préparation à base de houblon et de valériane et un traitement reposant sur l'utilisation de benzodiazépines [3].

La qualité du sommeil a été déterminée à l'aide de tests psychométriques, d'échelles psychopathologiques et de questionnaires sur le sommeil. Cette étude a souligné que le traitement houblon-valériane réalisé sur deux semaines consécutives n'a pas provoqué les symptômes de sevrage qui se produisent habituellement avec un traitement à base de benzodiazépines [3].

Une autre étude reposant sur les effets pharmacodynamiques d'un mélange disponible dans le commerce renfermant de la valériane et du houblon (ZE 91 019) a été réalisée chez des jeunes patients adultes en utilisant l'électroencéphalographie quantitative topographique. Un effet évident au niveau du système nerveux central a été observé quatre heures après l'ingestion de fortes doses du mélange (1500 mg de la valériane et 360 mg de houblon) [3].

Par ailleurs, ces publications ont été confirmées par une étude multicentrique, randomisée et contrôlée par placebo qui a été réalisée chez 184 patients souffrant d'insomnie légère, où l'on a administré durant la nuit une combinaison d'extraits standardisés de houblon (83,8 mg) et de valériane (374 mg) durant 28 jours. Les paramètres du sommeil ont été mesurés quotidiennement par des tests polysomnographiques. La combinaison de houblon-valériane a montré un effet hypnotique modeste, une amélioration du sommeil sans produire d'effets résiduels importants et d'insomnie rebond [3].

Ainsi, la combinaison valériane-houblon peut être considéré comme une alternative utile aux traitements sédatifs classiques [3].

Toutefois, la présence de valériane ou d'autres herbes médicinales dans les formulations cliniques ne permet pas d'évaluer à l'heure actuelle l'efficacité clinique potentielle du houblon administré seul [3].

Néanmoins nous pouvons conclure que les divers tests de laboratoire réalisés *in vivo* et *in vitro*, ne font que confirmer l'usage traditionnel du houblon dans le traitement de la nervosité, l'anxiété et les troubles du sommeil [3].

## 5.2 Activité oestrogénique et répercussions sur l'inhibition de l'ostéoporose

La découverte des propriétés oestrogéniques du houblon tire son origine des cueilleurs du houblon [3]. En effet, lorsque la récolte n'était pas encore mécanisée de nombreuses femmes étaient victimes de troubles menstruels, ce qui laissait suggérer une activité hormonale potentielle au niveau des cônes [103] ; c'est d'ailleurs ce même constat qui expliquait l'utilisation traditionnelle des extraits de houblon dans le traitement des bouffées de chaleur chez les femmes ménopausées [129].

- **Études *in-vitro***

La présence de substances oestrogéniques au niveau des cônes de houblon fut décrite pour la première fois en 1953 suite aux investigations de Koch et Heim. Même si à cette époque les propriétés oestrogéniques restent assez controversées elles ont suscité de nombreuses recherches.

Ainsi les deux composés majeurs responsables de cette activité furent caractérisés pour la première fois en 1988 grâce aux travaux de Hansel et Schulz où ils ont pu isoler deux flavanones prénylées, la 8-prénylnaringénine et la 6-prénylnaringénine [3]

Actuellement diverses équipes de recherche ont pu observer et caractériser les effets oestrogéniques du houblon.

La 8-prénylnaringénine et la 6-prénylnaringénine ont été capables de mimer l'activité des stéroïdes humains tel le 17- $\beta$ -estradiol [130].

Ceci s'explique par la similarité structurale de ces flavonoïdes avec les oestrogènes et par conséquent par leur capacité d'interagir au niveau des divers récepteurs aux oestrogènes en tant qu'agoniste ou antagoniste.

Il en découle ainsi de nombreuses perspectives dans la prévention et le traitement des cancers hormono-dépendants [93].

A l'heure actuelle le flavonoïde prénylé le plus étudié et le plus prometteur est la 8-prénylnaringénine.

Il s'agit du phytoestrogène le plus puissant que l'on ait pu isoler et identifier jusqu'à ce jour [93].

Les études *in vitro* effectuées sur cette molécule ont pu mettre en évidence sa capacité à entrer en compétition avec le 17- $\beta$ -estradiol bien que son activité soit moins puissante [17]. Les concentrations nécessaires pour atteindre 50% de l'activité oestrogénique maximale ( $EC_{50}$ ) sont de 4,4nM pour la 8-prénylnaringénine, par comparaison l' $EC_{50}$  du 17- $\beta$ -estradiol est de 0,82nM [130].

Les propriétés oestrogéniques des flavonoïdes prénylés s'expriment principalement dans deux voies distinctes :

La première voie ciblée est celle des récepteurs spécifiques aux oestrogènes (ER), dont il existe deux sous-types différents ER $_{\alpha}$  et ER $_{\beta}$ .

L'activité oestrogénique des flavonoïdes prénylés est liée à la forte affinité de ces composés pour ces récepteurs et par conséquent par l'activation des voies de signalisation qui en découlent.

On note par ailleurs que la 8-prénylnaringénine montre une affinité environ deux fois plus importante avec les ERs là où il est environ 70 fois moins actif que le 17- $\beta$ -estradiol [93]. En revanche le chef de file des chalcones prénylées du houblon, le xanthohumol n'a toujours pas à l'heure actuelle montré une quelconque affinité avec ces récepteurs [93].

Néanmoins les potentialités du xanthohumol ne sont pas à négliger car celui-ci lorsqu'il est absorbé *in vivo* subi une réaction de biotransformation au niveau de l'intestin pour être cyclisé en isoxanthohumol [18] lui-même O-déméthylé par les bactéries intestinales (*Eubacterium*) ou dans une moindre mesure par le foie via la voie des cytochromes P450 (CYP1A2) conduisant en la formation de la 8-PN [93]. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle le xanthohumol et surtout l'isoxanthohumol sont considérés comme pro-oestrogènes [93].

La seconde voie ciblée repose sur la capacité des flavonoïdes prénylés à agir comme effecteurs d'enzymes cibles et notamment leur capacité à interagir avec l'enzyme aromatasé impliquée dans la régulation des concentrations sanguines en oestradiol. Cette enzyme permet la conversion des hormones androgéniques en oestrogènes au niveau du sein [131].

En effet l'équipe de Monteiro et al. a pu démontrer que les principaux prénylflavonoïdes du houblon (8-prénylnaringénine, xanthohumol, et isoxanthohumol), exercent une inhibition de l'activité de l'aromatase (respectivement :  $CI_{50}=0,08\mu M$ ,  $CI_{50}=3,2\mu M$ ,  $CI_{50}=25,4\mu M$ ). Par conséquent ces composés sont doués d'une activité antiproliférative non négligeable dans les cancers du sein liés à une surexpression de l'aromatase de type SK-Br-3, (dans ce type de cancer les tumeurs ont pour caractéristique principale de surexprimer anormalement un taux très élevé de cette enzyme aromatasé en comparaison avec un tissu sain) [131],[132].

Par ailleurs d'autres investigations ont permis de démontrer à partir de tests *in vitro* que les 8-prénylnaringénine et 6-prénylnaringénine ont la capacité de moduler l'activité des phosphatases alcalines sur les lignées de cellules Ishikawa (lignée de cellules cancéreuses de l'endomètre répondant aux oestrogènes)

[ $CE_{50}=0,8nM$  pour la 8-PN et  $CE_{50}=500nM$  pour la 6-PN en comparaison du 17- $\beta$ -estradiol  $CE_{50}=0,8nM$ ], [74], [130].

Ces résultats nous indiquent donc que les flavonoïdes prénylés du houblon exercent bien une activité similaire aux oestrogènes.

D'autres récents tests *in vitro* ont permis de mettre en évidence les potentialités de la 8-PN et la naringénine dans la promotion de la voie de différenciation des ostéoblastes et par conséquent l'augmentation de la minéralisation osseuse.

Une étude récente menée par Ming et al., en 2012 concernant des essais *in vitro* sur des extraits de cellules stromales de moelle osseuse chez le rat a en effet permis de démontrer la capacité d'un mélange dosé à  $1\mu M$  en 8-PN et naringénine à promouvoir la différenciation des ostéoblastes et donc la minéralisation du tissu osseux chez la ratte [93].

- **Études *in vivo***

La très forte activité de la 8-PN a également été confirmée dans divers tests *in vivo* : Une étude menée par Miyamoto et al., en 1998 a permis de démontrer que l'administration de 8-PN à une dose de 30 mg/kg/jour durant deux semaines consécutives chez des rattes ovariectomisées a abouti en une diminution significative de la perte de densité osseuse [3]. En 2005, l'équipe de Humpel et al., a également testé l'effet de la 8-PN sur des rattes ovariectomisées, les résultats obtenus ont permis de confirmer la capacité de la 8-PN à réduire la perte de densité osseuse induite par l'ovariectomie tout en engendrant un effet minime sur la modulation de la masse de l'utérus et de la densité l'endomètre [93].

La potentialité oestrogénique de cette molécule dans la prévention des troubles liés à l'ostéoporose post-ménopausique semble donc être confirmée.

En ce qui concerne le mécanisme d'action des prénylflavonoïdes sur la diminution de la perte de densité osseuse, bien qu'il ne soit pas complètement élucidé à ce jour, il semblerait que ces molécules agiraient directement sur la promotion des gènes stimulant l'expression des ostéoblastes et inhibant l'expression des ostéoclastes [93].

Une autre étude réalisée chez des rattes ovariectomisées chez lesquelles on a administré une très haute dose de 8-PN (68,4mg/kg) durant 3 mois consécutifs, a permis de démontrer que la 8-PN est également capable de réduire les pics de concentration des hormones lutéinisante (LH) et folliculostimulante (FSH), de provoquer une augmentation des taux de prolactine et de la masse utérine, d'induire une hyperplasie de l'épithélium vaginal, et de provoquer une augmentation de la sécrétion des glandes mammaires [3].

Ces effets observés sur l'axe hypothalamo-hypophysaire sont très similaires à ceux produits par l'action de l'oestradiol [3].

En revanche, une autre étude où l'on a administré une plus faible dose de 8-PN (18mg/kg) de manière quotidienne chez des rattes ovariectomisées durant 28 jours, afin de prévenir la perte de densité osseuse a permis de mettre en évidence une stimulation parallèle minimale et dose indépendante sur les cellules utérines, où les résultats obtenus sur ces cellules sont approximativement dix fois plus faible que ceux observés pour traiter la perte osseuse avec l'estradiol [133]. Cette découverte démontre la remarquable spécificité tissulaire dont fait preuve la 8-PN avec un effet prolifératif minimal sur l'utérus et l'endomètre.

D'autre part des chercheurs se sont également intéressés à la capacité de la 8-PN à réduire l'incidence de la survenue des bouffées de chaleur liées à la ménopause. L'équipe de Bowe et al. en mesurant la température corporelle de rattes ovariectomisées après administration de 400 µg/kg de 8-PN durant deux jours consécutifs, sont parvenus à faire diminuer la température corporelle de ces animaux avec des résultats identiques lorsque l'expérience fut réalisée dans les mêmes conditions en administrant 4 µg/kg d'estradiol. L'effet de ces deux substances est bloqué par les antagonistes des récepteurs périphériques aux oestrogènes, ce qui démontre que les mécanismes de régulation périphériques impliquant les effets vasomoteurs sont régulés par les oestrogènes et les phytoestrogènes dont la 8-PN fait partie [3].

En revanche une autre étude menée par Miligan et al., en 2000 sur les activités endocrines des flavonoïdes du houblon, a permis de démontrer qu'aucun des produits testés (XH, IX, 6-PN, 8-PN) avait une quelconque activité progestative ou androgénique [134].

D'ailleurs une autre étude menée en 2003 par l'équipe de Zierau et al. sur l'activité de la 8-PN sur des récepteurs aux androgènes a permis de mettre en évidence des effets anti-androgéniques [3].

- **Études cliniques**

D'un point de vue clinique, une étude a été menée par Heyerick et al. en 2006, ils ont réalisé un test randomisé en double aveugle d'un échantillon d'extrait standardisé de houblon à base de 8-PN versus placebo ; ce test a été effectué chez des femmes ménopausées chez qui l'on a administré une quantité d'extrait correspondant à une dose de 100µg de 8-PN durant 6 semaines ; les observations rapportées ont été une diminution de la survenue des bouffées de chaleurs, et d'autres inconforts liés à la déficience oestrogénique tels que la baisse des suées, des insomnies, des palpitations et de l'irritabilité.

L'efficacité du houblon dans le traitement des bouffées de chaleurs chez les femmes ménopausées a d'ailleurs déjà été décrite au début des années 1990 et confirmée en 2007 par Goetz et al. où différentes préparations à base houblon non standardisées ont été employées et testées au sein d'un petit groupe de patientes ménopausées[3]. Dans un autre test des chercheurs ont administré des doses croissantes de 8-PN (50 à 750 mg) par voie orale chez des femmes ménopausées en bonne santé et ont analysé les taux sériques en FSH et LH 24h après l'administration. L'étude a été effectué à l'aide de tests randomisés en double aveugle au sein de trois groupes de huit femmes, placebo versus échantillons contrôlés de doses croissantes en 8-PN (50, 250, 750 mg) où six femmes ont reçu les doses de 8-PN et les deux autres le placebo. Les résultats obtenus ont permis de rapporter une excellente absorption et tolérance à la molécule ainsi qu'une diminution non négligeable des concentrations sériques en LH, notamment chez les femmes ayant absorbé la dose maximale de 8-PN (750 mg) ; ceci confirme que la 8-PN exerce bien des effets systémiques endocrines non négligeables chez les femmes ménopausées [3].

Bien qu'à l'heure actuelle l'apport de nouvelles études cliniques soit nécessaires afin de confirmer toutes les potentialités des flavonoïdes prénylés du houblon et notamment la 8-PN concernant leurs activités oestrogéniques ; les derniers résultats apportés semblent être tout à fait favorables au développement de nouvelles thérapies alternatives à base de 8-PN, notamment dans le traitement des symptômes liés à la ménopause.

### 5.3 Propriétés anti-inflammatoires

L'inflammation fait partie intégrante d'un mécanisme physiologique complexe de réponse biologique lié au traumatisme subit par le tissu vasculaire suite à une blessure et/ou une infection. Toutefois, l'inflammation excessive peut être dangereuse et peut conduire à des changements pathologiques au sein des cellules. Les anomalies inflammatoires peuvent déclencher de nombreux troubles qui sont associés à de nombreuses maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, la dysfonction érectile, l'arthrite, l'obésité, ou la survenue d'une maladie cardiaque ischémique [99],[139],[141]. Dans un grand nombre d'études *in vitro et in vivo*, l'effet des polyphénols du houblon ainsi que ceux des acides amers sur l'expression et l'activité de facteurs pro-inflammatoires ont pu être démontrés [99],[139],[141].

#### 5.3.1 Propriétés anti-inflammatoires des composés flavonoïdes du houblon

Les effets anti-inflammatoires des composés phénoliques du point de vue moléculaire sont essentiellement liés au niveau de leur structure chimique à la présence de groupes OH en C7 et C4 associé conjointement à une double liaison entre C2 et C3 sur le cycle C de la molécule [140].

Plusieurs études *in vitro, in vivo* ont ainsi décrit la quercétine comme étant un composé capable d'affecter l'inflammation en agissant principalement sur les leucocytes et le ciblage de nombreuses kinases de signalisation intracellulaire et des phosphatases, des enzymes et des protéines membranaires qui jouent souvent un rôle crucial dans des fonctions cellulaires spécifiques [99].

En réalité, la cible moléculaire principale concernant les effets anti-inflammatoires des polyphénols est le **NF-κB**, facteur de transcription qui peut réguler l'inflammation en favorisant l'expression de gènes pro-inflammatoires permettant l'expression d'enzymes inflammatoires telles l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), les cyclooxygénases-1 et -2 (COX-1 et COX-2), le facteur de nécrose tumorale de type  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), et l'interleukine-6 (IL-6) [141].

Des composés comme le **xanthohumol** et la **8-prénylnaringénine**, ont démontré qu'ils agissent en inhibant fortement l'activation du facteur NF-κB dans des lignées cellulaires microgliales [99].

Plusieurs études épidémiologiques, portant sur les flavonoïdes incluant le kaempférol, la quercétine, la naringénine, ont permis de souligner qu'ils seraient aussi capables de supprimer l'activation de NF-κB, sachant que l'activation de NF-κB est très étroitement lié au stress oxydatif [136].

Les composés phénoliques ont aussi démontrés leur capacité à moduler le métabolisme de l'acide arachidonique en inhibant les enzymes spécifiques telles que la cyclooxygénase (COX), la lipoxygénase (LOX), et la phospholipase-A2 (PLA2).

La phospholipase A2 est responsable de la libération de l'acide arachidonique à partir des phospholipides.

Les composés phénoliques, et plus particulièrement la quercétine, a démontré une activité inhibitrice de la PLA2 envers les leucocytes humains [137].

Il est à noter que les cyclooxygénases sont des enzymes clés qui catalysent la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines, qui sont également impliquées dans le développement de l'inflammation. Elles sont également impliquées dans la génération du médiateur inflammatoire majeur, l'oxyde nitrique (NO).

En réalité la suppression de l'expression de la COX par les polyphénols a été démontrée *in vitro* dans plusieurs études.

Ainsi, la  $CI_{50}$  pour l'inhibition de l'activité de la COX-1 a été mesurée respectivement à 5,2 et 7,5  $\mu\text{M}$  pour le (+) - catéchine et la (-) - épicatechine, [99]. La valeur  $CI_{50}$  du xanthohumol pour l'inhibition de la COX-1 et COX-2 a été respectivement déterminée comme étant de 17 et 42  $\mu\text{M}$  [72].

La quercétine aurait également la capacité d'inhiber la COX-2 dans des macrophages de souris, chez une lignée cellulaire impliquée dans le cancer du sein ou encore sur les lignées neuronales HT22 ainsi que sur les lignées microgliales de type BV2 [99].

Le stress oxydatif joue aussi un rôle crucial dans la production de certaines enzymes spécifiques impliquées dans l'inflammation; notamment les lipoxygénases, en particulier les 5-lipoxygénase et 12-lipoxygénase, qui sont impliqués dans divers troubles inflammatoires.

Les composés phénoliques tels que le kaempférol, la quercétine, et la myricétine parviendraient à inhiber ces lipoxygénases [137].

D'autre part citons également l'oxyde nitrique, composé ubiquitaire impliqué dans l'inflammation et qui joue aussi un rôle crucial dans le mécanisme de vasodilatation *via* la relaxation des cellules musculo-vasculaires lisses [139].

La production excessive de NO est catalysée par une enzyme spécifique : l'oxyde nitrique synthase inductible iNOS [135].

L'inhibition d'iNOS est en réalité médiée par le facteur NF- $\kappa$ B, ou par l'activateur de transcription STAT-1, or les composés ayant la capacité d'inhiber l'iNOS sont considérés comme anti-inflammatoires. Les flavonoïdes comme la quercétine, le kaempférol, la naringénine, ou la catéchine sont capables de diminuer l'expression d'iNOS [138].

Par ailleurs, l'équipe de Gerhauser en 2009 est parvenue à démontrer que l'acide gallique, le xanthohumol, l'isoxanthohumol, le kaempférol, la quercétine et la quercitrine sont aussi capables d'inhiber l'induction d'iNOS, ceci a notamment été constaté lors de tests *in vitro* effectués sur des macrophages murins, avec une  $CI_{50}$  allant de 18,7 à 40,6  $\mu\text{M}$  [99],[142].

Un autre biomarqueur spécifique d'affection inflammatoire est la détermination de la concentration de la protéine C réactive (C.R.P). Cette protéine est sécrétée en réponse à des concentrations accrues de facteurs inflammatoires comme l'IL-6 et IL-1 $\beta$ . Chun et al en 2008 ont ainsi montré que la consommation de flavonoïdes tels que la quercétine et le kaempférol était inversement corrélée avec les niveaux de CRP dans le sérum [99], [136].

### 5.3.2 Propriétés anti-inflammatoires des acides amers du houblon

L'humulone, en tant que composé actif de l'extrait de houblon a démontré plusieurs potentialités anti-inflammatoires intéressantes. Il serait notamment capable d'inhiber l'œdème de l'oreille (inflammation) induite par le 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate. L'humulone (avec une dose d'inhibition de 50%;  $ID_{50}=0,2$  mg / oreille) a eu le même effet que l'indométacine ( $ID_{50}$  0,3 mg / oreille) mais un effet plus faible que l'hydrocortisone ( $ID_{50}=0,03$  mg / oreille) [99].

Un effet similaire a été observé avec les hexahydro- $\beta$ -acides, qui sont des dérivés des  $\beta$ -acides réduits [99].

L'humulone a également été identifiée comme étant capable d'inhiber l'œdème induit par l'acide arachidonique au niveau du conduit auditif lors de tests effectués chez des souris [99].

Les acides amers du houblon testés de manière individuelle se sont montrés être des inhibiteurs sélectifs de la COX-2 [63].

Ainsi l'humulone est capable d'inhiber l'induction de la COX-2 médiée par le TNF : ceci a été démontré lors d'un test effectué sur un modèle cellulaire ostéoblastique par inhibition de la synthèse de prostaglandine E2 (PGE2) avec une  $CI_{50} = 30$  nM. Ces résultats indiquent que l'humulone présente une activité de suppression similaire à celle produite par l'action des glucocorticoïdes dans la réponse au TNF- $\alpha$  induite par la transcription de la cyclooxygénase-2, et peut agir indépendamment du récepteur au glucocorticoïde [99].

Les iso- $\alpha$ -acides présents dans les extraits de houblon isomérisés ont des effets très similaires. En effet les concentrations en prostaglandine E2 (PGE2) mesurées à partir d'un échantillon de cellules muqueuses de colon de rat, préalablement stimulées par le vecteur pro-inflammatoire azoxyméthane ont été diminuées de manière considérable après que ces rats soient alimentés par une solution enrichie en iso- $\alpha$ -acides [99].

Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant un extrait standardisé carbonique de houblon pour tester son efficacité comme inhibiteur de la COX-1 et COX-2 en utilisant un dosage sanguin total. L'extrait de houblon a montré une diminution de la production de PGE2 dans la totalité des échantillons sanguins contenant la COX-2, ( $CI_{50} = 20,4\mu\text{g/ml}$ ), en revanche pour les échantillons contenant la COX-1 les chercheurs n'ont pas constaté d'inhibition de la production de PGE2 [99].

Un test portant sur l'application topique d'une préparation à base d'humulone (10 $\mu\text{mol}$  dans 200 $\mu\text{l}$  d'acétone) sur la peau de souris initialement rasée au niveau dorsal a permis d'enregistrer une diminution significative de la réponse inflammatoire TPA induite où l'expression de la COX-2 y a été fortement inhibée. L'humulone supprimé l'activation TPA-induite de NF- $\kappa$ B et AP-1, et l'expression subséquente de la COX-2, par des kinases de blocage, pouvant être responsable d'effets antitumoraux sur le processus de carcinogenèse de la peau des souris [99].

Sur la base de ces connaissances issues de la recherche fondamentale, certains compléments et préparations à base de plantes contenant des acides amers de houblon ont été développés et appliqués dans la pratique pour le traitement des maladies inflammatoires telles que l'arthrite.

Des tests cliniques réalisés avec des préparations contenant notamment des formes réduites en iso- $\alpha$ -acides combinés à des extraits de romarin, ont ainsi été testés et les résultats obtenus ont révélé une diminution de la douleur ressentie par les patients souffrant d'arthrites [99]

## 5.4 Applications anti-cancéreuses

Durant ces vingt dernières années de nombreuses études *in vitro* on été menées sur le houblon afin de déterminer l'activité potentielle des constituants majeurs en tant qu'agent de chimioprévention. Les deux classes majeures qui retiennent l'attention à l'heure actuelle sont essentiellement les flavonoïdes et dans une moindre mesure les acylphloroglucinols prénylés (acides amers) du houblon [3].

### 5.4.1 Applications anti-cancéreuses des flavonoïdes du houblon

De nombreux auteurs ont démontré l'existence de potentiels agents anti-carcinogènes au sein du houblon, notamment les composés phénoliques.

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la prolifération des cellules tumorales, de stopper la croissance des tumeurs, et de participer activement à l'inhibition sélective de la carcinogénèse lors des phases d'initiation, promotion, et tardive de la prolifération cellulaire.

L'activité anti-carcinogénique des flavonoïdes est attribuée à une large variété de mécanismes, dont les principaux sont l'inhibition du métabolisme des substances procarcinogènes, et l'induction des enzymes participant à la détoxification des substances cancérigènes.

Dans les stades avancés de prolifération des tumeurs les flavonoïdes sont capables de ralentir le processus en inhibant la synthèse d'A.D.N, en inhibant l'angiogénèse, et en induisant l'apoptose des cellules cancéreuses [93]

Chez le houblon, l'attention repose essentiellement sur les flavonoïdes prénylés qui font preuve d'un très large spectre d'actions anti-carcinogènes [93], [144].

D'autres flavonoïdes retiennent également l'attention, il s'agit de la quercétine et la myricétine [93].

La quercétine est particulièrement intéressante car elle fait preuve de potentialités anticancéreuses en intervenant sur la régulation du cycle cellulaire, le renversement des multi-résistances aux médicaments, et l'apoptose des cellules tumorales [93].

Le kaempférol a également montré son activité potentielle notamment en inhibant la croissance des cellules cancéreuses, l'angiogénèse et en induisant l'apoptose des cellules cancéreuses [93].

Toutefois parmi les composés entrant dans la composition du houblon, à l'heure actuelle ce sont bien les flavonoïdes prénylés qui retiennent l'attention des chercheurs notamment avec la chalcone prénylée, le xanthohumol, et la flavanone prénylée, l'isoxanthohumol.

Lors des nombreux tests *in vitro* effectués, il semblerait que le XH intervienne sur les différentes phases du cancer en inhibant les stades d'initiation, de promotion, et de progression de la cancérogénèse, ce qui en fait un agent de chimioprévention à large spectre d'action [3],[73],[143].

*In vivo* le xanthohumol semble porter une action significative sur l'inhibition de l'angiogenèse tumorale [73].

#### 5.4.1.1 Chimio-prévention de la phase d'initiation de la cancérogénèse

Le xanthohumol ainsi que d'autres dérivés prénylés du houblon tel que l'isoxanthohumol (flavanone prénylée du XH) sont capables d'inhiber les enzymes du cytochrome P450 étant entre autres responsables de la transformation des substances procarcinogènes d'origine exogène et endogène en leur forme réactives carcinogènes [93]. Ils permettent ainsi d'inhiber l'activation métabolique des procarcinogènes.

Une étude menée par Henderson et al., en 2000 sur des microsomes hépatiques de rat a permis de démontrer qu'une dose de 10  $\mu$ M de xanthohumol engendrait un blocage quasi complet des enzymes CYP1A1 et CYP1B1 du cytochrome P450. Avec une dose de 10 $\mu$ M d'IX ou de 8-PN ces mêmes chercheurs ont pu enregistrer un taux d'inhibition avoisinant les 90% de l'enzyme CYP1A2 [145].

Tout ceci nous prouve que les dérivés prénylés du houblon sont capables d'une inhibition sélective des enzymes du cytochrome P450.

Une autre étude *in vitro* portant sur des cellules hépatiques humaines a permis de démontrer les effets anti-mutagène du xanthohumol à partir d'une dose de 0,01  $\mu$ M, dès lors une inhibition des enzymes du cytochrome p450 soumises à deux facteurs procarcinogènes connus que sont la 2-amino-3-méthylimidazo[4,5f]quinoline (IQ) (agent se formant notamment lors de la cuisson excessive des viandes) et le tert-butyl hydroperoxide a été observée, ces deux procarcinogènes étant normalement facilement convertis en dérivés carcinogènes par les enzymes du cytochrome P450 [93].

Les effets chimiopréventifs peuvent aussi se manifester par un mécanisme de détoxification des agents carcinogènes grâce à l'intervention d'enzymes spécifiques. Une des enzymes majeures impliquées est la NADPH quinone réductase, enzyme spécifique du métabolisme hépatique de phase II. Il s'agit d'une enzyme impliquée dans le processus de réduction catalytique des quinones en hydroquinones, permettant ensuite l'excrétion des substrats de l'organisme par réaction enzymatique de conjugaison.

Une étude *in vitro* effectuée sur un échantillon de cellules hépatiques murines (Hepa 1c1c7) a permis de démontrer que le xanthohumol ainsi que six autres flavonoïdes prénylés à partir de concentrations de 10 $\mu$ M étaient capables d'engendrer une augmentation significative de l'activité de la quinone réductase.

Il faut noter que durant ce test les auteurs ont également soumis les échantillons à d'autres flavonoïdes ne comportant ni de fonction prényl- ni de fonction géranyl- les résultats observés sur la quinone réductase furent pratiquement nuls, ceci permet de démontrer le rôle décisif des dérivés prénylés sur la quinone réductase [93].

D'ailleurs une étude similaire menée par l'équipe de Gerhauser et al., en 2002 testant l'activité inductrice du xanthohumol et de l'isoxanthohumol sur la NADPH hydroquinone réductase a donné des résultats similaires [73],[85].

Le xanthohumol est ainsi considéré comme un inducteur monofonctionnel qui active de manière sélective la NADPH quinone réductase sans engendrer une quelconque activation transcriptionnelle des sites catalytiques des enzymes de phase I tel le CYP1A1 [73],[85].

#### 5.4.1.2 Inhibition de la phase de promotion de la cancérogénèse

La phase de promotion du cancer est marquée par la mise en jeu des promoteurs tumoraux dits co-carcinogènes tels que les cytokines pro-inflammatoires, les facteurs de croissance, et les médiateurs hormono-dépendants qui favorisent l'expression d'une lésion génétique induite par les agents initiateurs mutagènes. Ce qui aboutit à l'émergence d'un phénotype cellulaire tumoral indépendant des contrôles tissulaires. L'inflammation et prolifération cellulaire non contrôlée sont la plupart du temps associées, car tout état inflammatoire engendre une surproduction massive de médiateurs hormono-dépendant telles les prostaglandines. Celles-ci sont notamment impliquées dans les mécanismes initiateurs d'angiogenèse permettant la néovascularisation des cellules tumorales, étape clé dans l'évolution d'une tumeur.

Il a été démontré que l'un des intérêts anti-promotion du houblon pouvait s'expliquer par sa capacité à interférer sur la voie des enzymes cyclooxygénases (COX) de type I et II médiateurs de la production de prostaglandines pro-inflammatoires à partir de l'acide arachidonique.

Gerhauser et al. ont ainsi pu démontrer à l'aide de tests *in vitro* le potentiel anti-inflammatoire et donc anti-prolifératif du xanthohumol. Cette molécule est en effet capable d'inhiber la synthèse endogène des prostaglandines par inhibition de l'expression génétique des enzymes cyclooxygénases COX-1 constitutive et COX-2 inductible avec respectivement une  $CI_{50}$  établit à 16,6 et 41,5  $\mu$ M [143].

D'autre part une autre étude *in vitro* portant sur des lignées de macrophages murins de type RAW 264.7 a permis de démontrer que la 8-prenyl-naringénine est également capable d'inhiber la voie de biosynthèse des prostaglandines en inhibant l'expression de la COX-2 [93].

En inhibant la synthèse des prostaglandines le houblon est donc capable de limiter l'expression des co-carcinogènes, mais le houblon peut également agir de manière directe sur l'angiogenèse.

Les effets de la 8-PN étudiés par l'équipe de Pepper et al., en 2004, ont ainsi permis de démontrer que la 8-PN était capable d'inhiber l'angiogénèse à l'aide d'un modèle *in vitro* mettant en jeu des cellules endothéliales inductibles et une structure tridimensionnelle de collagène conduisant à la formation d'un nouveau réseau de capillaires. Après traitement avec la 8-PN et comparaison avec un puissant agent antiangiogénique connu, la génistéine, les deux composés ont provoqué une diminution de la prolifération des cellules endothéliales et de la capillarisation avec une potentialité similaire. La  $CI_{50}$  a pu être établie à des valeurs comprises entre 3 et 10  $\mu$ M pour la 8-PN. Ils ont également testé les effets de la 8-PN *in vivo* à l'aide de tests mettant en jeu des membranes chorioallantoïdienne (CAM) d'embryon de poulet et mesurant l'évolution des diamètres des veines et longueurs des vaisseaux sanguins, les changements qualitatifs et quantitatifs observés ont été identiques à ceux mettant en jeu ces mêmes éléments avec la génistéine [143].

Une autre étude *in vivo* a démontré la capacité du xanthohumol à induire une diminution significative de l'angiogénèse chez des souris disposant d'implants de Matrigel, lors de ce test le xanthohumol a été incorporé dans l'eau de boisson des animaux et ces effets ont été observés pour une concentration en xanthohumol de l'ordre de 2 $\mu$ M.

À des concentrations plus élevées (200 $\mu$ M), le xanthohumol a montré une très nette inhibition de l'angiogénèse sans engendrer d'effets néfastes sur les paramètres vitaux de l'animal [3].

Le houblon est également capable de mettre en jeu d'autres facteurs importants de l'inflammation, d'autres études ont en effet démontré que le xanthohumol peut empêcher le processus inflammatoire en inhibant le relargage d'oxyde nitrique (NO), par inhibition directe de l'expression de l'oxyde nitrique synthase induite (iNOS) par lipopolysaccharide (LPS). Cette découverte est intéressante dans le sens où une production massive et prolongée de NO favorise la promotion de la production des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), inducteur puissant de l'angiogénèse [73].

#### 5.4.1.3 Inhibition de la phase de progression de la cancérogénèse

En ce qui concerne la phase de progression de la cancérogénèse celle-ci se traduit par un certain nombre de caractéristiques avec entre autres l'apparition d'une prolifération cellulaire non contrôlée totalement indépendante des facteurs de croissance et une résistance des cellules nouvellement formées à l'apoptose.

Les activités anticarcinogéniques des flavonoïdes dans cette phase de la cancérogénèse sont attribuées à leur capacité à interférer la synthèse d'ADN et donc limiter la prolifération cellulaire mais aussi par leur capacité à déclencher le phénomène d'apoptose.

#### 5.4.1.3.1 Propriétés antiprolifératives des flavonoïdes du houblon

Diverses études ont pu mettre en évidence les effets antiprolifératifs et cytotoxiques du houblon, notamment lors de tests *in vitro* réalisés par Gerhauser et al., en 1999 mettant en jeu le xanthohumol et l'isoxanthohumol et des échantillons de cellules cancéreuses de type MCF-7 impliquées dans le cancer du sein hormonodépendant, des cellules HT-29 impliquées dans le cancer du colon, ainsi que des cellules cancéreuses de types A-2780 impliquées dans le cancer des ovaires. Lors des essais après 4 jours de traitement, ils sont parvenus à conclure que le xanthohumol inhibait la prolifération des cellules MCF-7, HT-29 et A-2780 de manière dose dépendante avec une  $CI_{50}$  établit respectivement à 3.5, 10 et 5.2 $\mu$ M. Les mêmes essais effectués avec l'isoxanthohumol furent moins bons avec une  $CI_{50}$  s'établissant respectivement à 4.7, 10, et 25,7 $\mu$ M. Ils ont également confirmé que le mécanisme responsable de cette inhibition reposait uniquement sur un blocage de synthèse d'A.D.N., ce constat à été confirmé en mesurant les taux de  $^3[H]$  thymidine incorporé au sein de l'A.D.N, jusqu'à des concentrations en XH et IX de l'ordre de 100 $\mu$ M [73],[143].

D'autres tests *in vitro* ont également démontré que le xanthohumol est capable d'inhiber directement la prolifération cellulaire en bloquant directement l'activité de l'A.D.N polymérase  $\alpha$  humaine, enzyme impliquée dans l'étape d'initiation de la synthèse d'A.D.N. Cette capacité a également été démontrée en effectuant les mêmes essais avec l'isoxanthohumol [85]

La plupart des cellules cancéreuses possèdent une certaine capacité à s'adapter à des milieux pauvres en oxygène et à se multiplier en conditions hypoxiques. Pour exemple on peut citer la lignée cellulaire invasive HT-1080 impliquée dans le cancer humain du fibrosarcome qui est capable de doubler sa synthèse en triglycérides et esters de cholestérol en condition hypoxique. Le xanthohumol à partir de concentrations s'établissant à 3 $\mu$ M est capable de réduire la formation des triglycérides et la synthèse de gouttelettes lipidiques induites par l'hypoxie. D'autre part le xanthohumol a montré une meilleure capacité à inhiber la prolifération et la motilité des cellules HT-1080 en condition hypoxique qu'en condition normale.

En réalité le xanthohumol serait un inhibiteur de l'activité de la diacylglycéroltransférase (DGAT) et de l'expression de l'ARN<sub>m</sub> DGAT-1. Ainsi, il a été établi que le xanthohumol présente un aspect chimiopréventif intéressant dans le traitement des cellules cancéreuses se développant en milieu hypoxique [143].

Par ailleurs, une récente étude menée par Bensasson et al. en 2011 a permis de mettre en évidence l'implication d'autres composés du houblon sur cette phase de progression, la quercétine ainsi que la myricétine sont effectivement capables d'inhiber les activités des topoisomérase de type I et de type II, enzymes impliquées dans la régulation des super-enroulements des hélices d'A.D.N [93].

### 5.4.1.3.2 Applications des flavonoïdes du houblon dans les mécanismes d'inhibition par apoptose

Le point clef de l'apoptose est marqué par le recrutement et l'activation d'effecteurs majeurs : les caspases, protéases intracellulaires permettant l'intégration du signal pro-apoptotique ainsi que les protéines de la famille bcl-2.

D'une manière générale ces effecteurs et donc l'apoptose peuvent être induits selon deux voies majeures : la voie extrinsèque médiée par les récepteurs à domaines de mort mettant en jeu le TNF et le NF- $\kappa$ B et la voie intrinsèque médiée par la voie de signalisation mitochondriale [146].

A l'heure actuelle de nombreux essais ont permis de démontrer que le xanthohumol est particulièrement impliqué dans ces deux voies de signalisation [146].

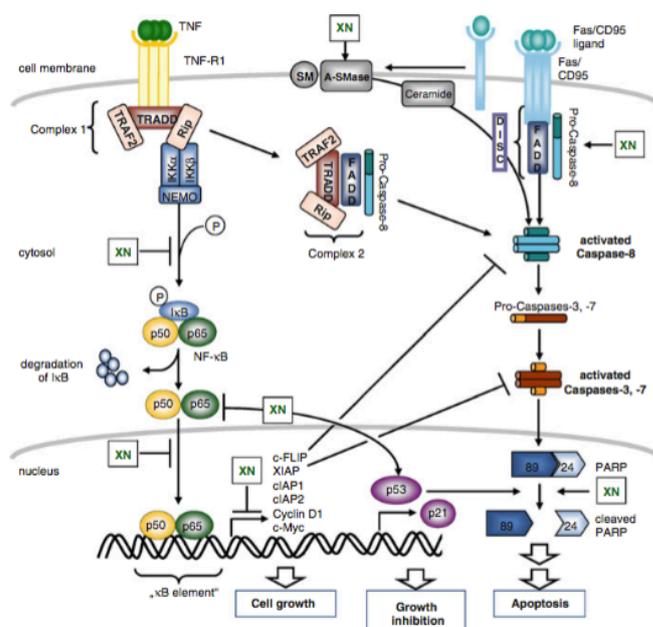


Figure 59 : Induction de l'apoptose via le récepteur de mort (DR pour death receptor) et les différentes voies de signalisation qui en découlent et l'influence du xanthohumol sur ces mécanismes [146].

En ce qui concerne la voie extrinsèque on a pu découvrir que le xanthohumol pouvait agir de différentes manières (fig. 59).

En 2005 l'équipe de Gerhauser a démontré que le xanthohumol pouvait induire le processus d'apoptose chez un échantillon de cellules du type HCT-116 dérivé de la lignée cellulaire 40-46 impliquée dans le cancer du colon. Le mécanisme d'action reposerait sur le clivage et l'activation de l'enzyme initiateur caspase-8, il a été décrit que l'effet était dose dépendant, par conséquent le xanthohumol permet d'activer les effecteurs qui en découlent c'est à dire les caspases-3 et -7 impliquées directement dans la fragmentation de l'A.D.N cellulaire ainsi que le clivage de la PARP (poly(ADP-ribose)polymérase) qui permet l'initiation du processus apoptotique [146].



En ce qui concerne le mécanisme d'apoptose médiée par la voie de signalisation mitochondriale, elle repose essentiellement sur le recrutement de la famille des protéines du type Bcl-2. Ces protéines vont réguler le passage des petites molécules tel le cytochrome C via les pores de transition mitochondriaux (fig. 60).

La famille Bcl-2 comprend les protéines anti-apoptotiques (ex : Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1) et pro-apoptotiques (ex : Bax, Bak, Bad).

Le domaine BH3 de la protéine Bid va activer le complexe pro-apoptotique Bax après clivage par la caspase-8 qui permet la connexion entre la voie recrutant le récepteur de mort (DR) et la voie mitochondriale. Les signaux de stress intracellulaire vont alors déclencher la translocation de Bax du cytosol vers les mitochondries, où il va subir une réaction d'homodimérisation et participer à la perméabilisation membranaire mitochondriale. Il en résultera alors un relargage de cytochrome c, déclenchant alors l'assemblage du complexe multi-protéique apoptosome.

L'apoptosome va alors provoquer l'activation de la pro-caspase-9 et la cascade d'activation des caspases qui en découle [146].

En ce qui concerne les tests *in vitro*, on peut citer l'effet du xanthohumol sur cette voie à partir des cellules 40-16 impliquées dans le cancer du colon, ainsi sur cette lignée le xanthohumol est impliqué dans les deux voies de signalisation de l'apoptose [146].

Dans une autre étude on a démontré que le xanthohumol était capable de diminuer l'expression du complexe anti-apoptotique Bcl-2 ce qui conduit alors au clivage de la procaspase-9 et l'activation subséquente des caspases effectrices. Par ailleurs le traitement par le xanthohumol induit également le recrutement de la protéine p53 et l'expression du complexe pro-apoptotique Bax chez les cellules épithéliales HBP-1 de la prostate, tandis que l'expression complexe anti-apoptotique a été inhibée [147].

Lust et al. sont quant à eux parvenus à démontrer que le xanthohumol induisait le déclenchement de l'apoptose par voie mitochondriale chez un échantillon de cellules cancéreuses responsables de la leucémie lymphoïde chronique. Dans cette étude le xanthohumol déclencherait l'expression de Bcl-2, Mcl-1 et Bid, induisant l'activation des caspases-9 et -3 [146].

En ce qui concerne les études *in vivo* quelques essais ont pu confirmer les potentialités anti-prolifératives et anti-tumorales du xanthohumol. Les équipes de Gerhauser et al. en 2005 et Klenke et al., en 2008 ont effectué des études similaires sur des souris femelles munies de fenêtres dorsales dans lesquelles ont été implantées des xénogreffes de tumeurs de type MX-1 humaines responsables du cancer du sein.

Après une période d'incubation de 15 jours succédant à l'implantation des cellules tumorales, les souris ont été traitées avec le xanthohumol par injection sous-cutanée à une dose de 1000 mg/kg par jour ou par DMSO considéré comme solvant de contrôle pendant une période 7 et de 14 jours. Pour évaluer la croissance de la tumeur, ils ont mesuré la surface bidimensionnelle de la tumeur par photographie digitale en utilisant la microscopie optique à champ clair. La densité fonctionnelle veineuse a été quantifiée par la technique de la vidéo-microscopie de fluorescence intravitale après injection du dextran type FITC. L'application du xanthohumol pendant les 7 et 14 jours a inhibé la croissance des xénogreffes de tumeurs mammaires de respectivement 46 et 83% par comparaison avec le groupe traité

avec le solvant et la réduction de taille des tumeurs a été établie à 30 et 56% respectivement.

De manière concomitante le traitement au xanthohumol durant cette période de 14 jours a aussi réduit la néovascularisation induite de 33% [143].

Albini et al. ont testé l'effet du xanthohumol en administrant une solution aqueuse concentrée à 20 $\mu$ M par voie orale chez des souris chez lesquelles ont a préalablement implantés des xénogreffes de cellules responsables du sarcome de Kaposi. L'injection de ces cellules a été effectuée à l'aide d'implants de matrigel. L'administration du xanthohumol a débuté 4 jours après l'injection des cellules cancéreuses ; 24 jours après l'injection le volume moyen des tumeurs a été réduit de manière significative jusqu'à un taux de 70%. L'inhibition de la croissance tumorale a été accompagnée par une réduction de la néovascularisation par comparaison au groupe témoin [146].

En conclusion, le xanthohumol apparaît donc comme un produit naturel doué d'un large spectre d'activités biologiques.

Il semble évident qu'à partir des diverses études menées *in vitro* que le xanthohumol inhibe la prolifération cellulaire par inhibition de la synthèse d'A.D.N, en induisant l'arrêt du cycle cellulaire et en déclenchant l'apoptose. L'induction de l'apoptose a été observée chez un large panel de types de cancers et de cellules cancéreuses.

En ce qui concerne son activité *in vivo* bien que les tests soient encore rares à l'heure actuelle ses effets observés sur l'angiogenèse semblent très prometteurs [146].

#### 5.4.2 Applications anticancéreuses des acides amers du houblon

Parmi les résines du houblon les acides amers semblent également avoir une activité marquée dans la chimioprévention du cancer. Ces molécules permettraient de diminuer le risque de développement des cancers en prévenant l'activation métabolique des procarcinogènes et de manière alternative elles seraient capables d'inhiber le développement du cancer en agissant tout comme les flavonoïdes prénylés sur les phases d'initiation, promotion, et progression du cancer [63].

##### 5.4.2.1 Activités *in vitro*

Parmi les effets observés les acides amers semblent jouer un rôle important sur le **déclenchement de l'apoptose**.

Les premières études concernant les effets des acides amers sur l'apoptose datent de 1997 où l'équipe de Tobe et al., rapporte les propriétés inductrices pro-apoptotiques de l'humulone à partir de tests effectués sur la lignée cellulaire HL-60 impliquée dans la leucémie promyéloïde.

L'humulone induirait *in vitro* la fragmentation des acides nucléiques au sein de la structure d'A.D.N de manière dose dépendante, des tests on été réalisés avec des doses croissantes en humulone s'échelonnant de 1 à 100  $\mu$ g/ml, en revanche les mêmes tests effectués avec les  $\alpha$ -iso-acides aux mêmes doses ne provoqueraient aucun effet sur l'A.D.N.

Plus tardivement les chercheurs se sont intéressés aux cibles moléculaires visées par les acides amers. Pour ce faire l'équipe de Chen & al., en 2006 a utilisé un extrait de houblon contenant un mélange constitué à 49,39% d'  $\alpha$ -acide et 24,94% de  $\beta$ -acide, ils ont étudié l'effet causé par ce mélange sur un échantillon de cellules de type HL-60 impliquée dans la leucémie, ce mélange a eu pour conséquence de déclencher le processus d'apoptose sur ces cellules.

Les acides amers activeraient le processus d'apoptose en déclenchant **la voie de signalisation intrinsèque mitochondriale**, ils provoqueraient un déséquilibre du potentiel membranaire mitochondrial ce qui augmenterait la perméabilité membranaire par altération de l'expression de la famille des complexes protéiques Bcl-2, parmi lesquels on peut distinguer les protéines anti-apoptotique Bcl-2 et pro-apoptotique Bax. Le résultat de cette voie de signalisation aboutit alors à la cascade d'activation des caspases qui par leur action protéasique engendrent la dégradation protéolytique des structures cellulaires [63].

Par ailleurs il est à noter que les acides amers seraient également impliqués dans le déclenchement de l'apoptose via **la voie de signalisation extrinsèque** qui repose sur le recrutement et l'expression du récepteur de mort cellulaire Fas et son ligand FasL. Dans cette voie les lupulones semblent jouer un rôle déterminant, un test portant sur des échantillons cellulaires de type SW620 impliqué dans un type de carcinome humain métastatique du colon a permis de démontrer qu'un échantillon concentré en lupulones (40 $\mu$ g/mL ) a eu pour effet de déclencher la surexpression du Fas et du FasL. De plus les chercheurs ont également observé une augmentation de la perméabilité mitochondriale associée à l'altération de l'expression des Bcl-2 et Bax. Il faut aussi retenir le rôle crucial pour le TNF $\alpha$  (facteur de nécrose tumorale) et sa relation avec les récepteurs TRAIL-R1 et TRAIL-R2 appartenant à la famille des ligands inducteurs d'apoptose où ceux-ci sont surexprimés par action des lupulones dans les deux cancers TRAIL-dépendant impliquant les cellules sensibles SW 480 et résistantes SW 620 impliquées dans le cancer du colon [63].

Diverses études ont également mis en évidence les **propriétés antiprolifératives** des acides amers : les lupulone, co-lupulone et un dérivé semisynthétique l'hexahydrocolupulone ont prouvé leur capacité à inhiber la croissance de plusieurs lignées cellulaires d'origine humaine. L'hydroxyhydrocolupulone est la molécule qui a démontré le spectre d'activité le plus important et le plus large ; les chercheurs ont pu identifier une activité inhibitrice notable de cette molécule sur diverses tumeurs solides, des cellules leucémiques ainsi que sur diverses cellules multirésistantes avec des  $CI_{50}$  s'échelonnant de 0,85 à 2,19  $\mu$ M. Le mécanisme résultant de cette inhibition serait dû au blocage du cycle de réplication cellulaire en phase G0/G1 ce qui perturberait la synthèse d'A.D.N, et d'A.R.N, engendrant l'arrêt de la synthèse protéique et donc l'inhibition de la croissance cellulaire.

Il a également été rapporté que les  $\beta$ -acides inhiberaient la croissance des lignées cellulaires SW620 impliquées dans le cancer du colon de manière dose et temps-dépendante.

L'humulone inhiberait aussi la lignée cellulaire leucémique humaine U937 avec une  $CI_{50}$  établi à  $3,4\mu M$  tout en augmentant légèrement leur différenciation comme le prouve l'augmentation du taux de nitro-bleu de tétrazolium réduit et l'activité du lysozyme, deux marqueurs typiques de différenciation cellulaire. Les agents qui inhibent la prolifération et améliorent la conversion des cellules précancéreuses en des cellules différenciées sont amenés à réduire le développement du cancer. Ainsi l'humulone améliorerait la différenciation des monocytes issus de lignée U937 induits par la vitamine D3, le 12-O-tétrade-canoylphorbol-13-acétate (TPA), l'acide rétinoïque et le  $TNF\alpha$ . Ces effets ont également été rencontrés chez d'autres lignées cellulaires notamment sur des cellules impliquées dans la leucémie myéloïde telles les lignées K652, HEL, KU812 ainsi que sur la lignée monoblastique THP-1 et la lignée myéloblastique ML-1 [63].

Une autre propriété intéressante des acides amers serait que ceux-ci soient également capables d'intervenir sur **l'inhibition de l'angiogenèse**, jouant donc un rôle déterminant dans le développement des tumeurs malignes. Shimamura et al. ont en effet rapporté en 2001 que l'humulone préviendrait l'angiogenèse de manière dose-dépendante en étudiant le processus d'angiogenèse sur des membranes chorioallantoïdes d'embryons de poussins (CAM) avec une dose effective en humulone diminuant de 50% l'activité angiogénique ( $DE_{50}$ ) établie à  $1,5\mu g/CAM$ .

L'humulone à une dose de  $10\mu g$  a également démontré une diminution de la néovascularisation sur des échantillons de cellules vasculaires de rats ainsi que sur des cellules endothéliales de souris de type KOP2.16, stimulées par un facteur de croissance fibroblastique. D'autre part à partir d'une dose en humulone établie à  $100\mu M$ , les chercheurs ont remarqué une diminution significative de l'expression du VEGF, facteur de croissance spécifique de l'endothélium vasculaire, qui contribue de façon significative au processus d'angiogénèse.

La lupulone a quant à elle montré une activité notoire sur des échantillons de cellules endothéliales ombilicales d'origine humaine, des essais successifs à des doses croissantes en lupulone ( $2,5-50\mu M$ ) ont provoqué une diminution dose-dépendante de la prolifération de ces cellules et du chimiotactisme vers la fibronectine. D'autre part la formation des structures capillaires proches ont été fortement réduites lors des tests de morphogénèse effectués sur Matrigel, ce qui démontre un certain effet inhibiteur sur la néovascularisation.

Le rôle du NO, son implication avec le VEGF et les effets qu'il engendre à la fois sur la surexpression de l'angiogénèse, l'augmentation de la perméabilité vasculaire, et la progression tumorale a été clairement démontré ; les expériences ainsi rapportées sur les acides amers du houblon ont démontré qu'ils étaient capables d'empêcher à la fois la production de NO et l'expression de l'oxyde nitrique synthase notamment à partir d'une expérience effectuée sur une lignée macrophagique de souris de type RAW264.7 initialement stimulée par une combinaison de lipopolysaccharide (LPS) et d'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [63].

Tout comme les chalcones et flavanones prénylées, les acides amers joueraient également un rôle notoire dans la chimio-prévention en intervenant sur la phase d'initiation de la cancérogénèse en modulant l'expression des **enzymes du cytochrome P450**.

Des études effectuées sur des microsomes hépatiques de souris et les effets engendrés par la colupulone ont démontré sa capacité à augmenter le contenu enzymatique des P450 et stimuler l'activité des enzymes de phase I, participant entre autres à la déméthylation de l'aminopyrine, l'hydroxylation de l'aniline et le benzopyrène ; une sur-régulation des CYP3A et CYP2B aurait aussi été détectée indépendamment par les techniques de western et northern blot [63].

#### 5.4.2.2 Activités *in vivo*

Les activités observé *in vivo* en ce qui concerne les acides amers sont à l'heure actuelle encore peu nombreuses, les molécules les plus étudiées sont l'humulone ainsi que la lupulone.

Toutefois des chercheurs sont parvenus à démontrer à l'aide de tests effectués chez des rats alimentés par des extraits enrichis en lupulone (0,001 et 0,005%), une diminution dose-dépendante du développement du processus de carcinogénèse du colon initié par l'exposition à l'azoxyméthane ; le nombre total des lésions prénéoplasiques et la présence des tumeurs au sein du colon ont été réduit de manière considérable.

Un protocole similaire reposant sur l'administration orale d'un extrait d'acides amers isomérisés contenant 30% d'iso- $\alpha$ -acides a prouvé la réduction des foyers de cryptes aberrants au sein du colon (A.C.F).

Une autre étude portant sur l'effet topique d'une préparation à base d'humulone sur des souris (1mg/souris) a également démontré son potentiel préventif sur l'apparition de lésions pré-néoplasiques sur la peau de ces souris initialement exposées au 7,12-diméthylbenz(a)anthracène (DMBA) et au 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA).

L'humulone inhiberait de façon significative l'expression de la COX-2 épidermique induite par le TPA pour laquelle le taux est particulièrement élevé durant la carcinogénèse et l'inflammation.

Des effets en ce qui concerne la lupulone et l'inhibition de la néovascularisation tumorale ont aussi été décrits, des tests effectués sur des souris chez lesquelles on a incorporé de la lupulone dans leur eau de boisson à une valeur de 0,01% durant 21 jours a aboutit à la diminution de la formation de nouveaux vaisseaux à des valeurs proches de 50%. La mesure de la néovascularisation étant appréhendée par mesure du contenu en hémoglobine sur dispositifs Matrigel® implanté au niveau sous-cutané. [63].

## 5.5 Autres activités

### 5.5.1 Effets anti bactérien, antiviral, et antifongique

Initialement le houblon était utilisé dans le milieu brassicole afin de prolonger la durée de conservation de la bière, plus tard on a découvert que le houblon réduisait la croissance du lactobacillus, principal contaminant altérant les propriétés gustatives de la bière. Ainsi les propriétés du houblon en tant que conservateur ont été étudiées depuis de nombreuses années et l'on a découvert que certains de ses constituants possédaient des propriétés antibactériennes/antifongiques sur divers pathogènes.

Cette activité est majoritairement attribuée aux acylphloroglucinols prénylés (acides amers du houblon) qui représentent les perspectives les plus intéressantes à l'heure actuelle. Néanmoins les recherches les plus récentes attribuent également des perspectives très prometteuses sur les potentialités anti-infectieuses des dérivés flavonoïdes et les huiles essentielles entrant dans la composition du houblon [3],[99].

#### 5.5.1.1 Activités antimicrobiennes des acides amers

- **activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne des acides amers s'exercerait sur divers pathogènes et plus particulièrement sur les bactéries Gram-positives comme *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, et *Pediococcus* [99].

Le mécanisme d'action résulterait d'une interaction entre les structures hydrophobes des acides amers et la paroi cellulaire bactérienne engendrant des altérations de la membrane primaire [3].

En fait le mécanisme d'inhibition sur des cellules sensibles et les acides amers fut décrit pour la première fois en 1993 par Simpson. Des tests effectués en incorporant des  $\beta$ -acides,  $\alpha$ -acides, et iso- $\alpha$ -acides sur des membranes cellulaires ont permis d'identifier une perturbation de l'homéostasie cellulaire où les acides amers ont perturbé le comportement des canaux ionophores notamment les pompes  $H^+/Mn^{2+}$  conduisant en une accumulation de protons au niveau intracellulaire et aboutissant à la mort cellulaire [99] (*fig. 61*).

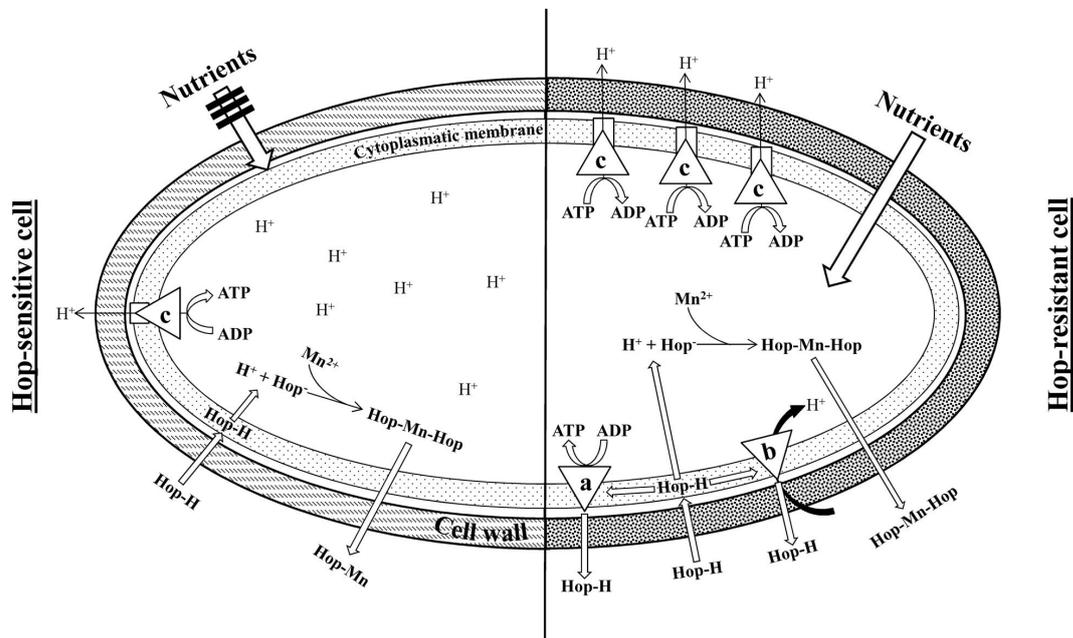


Figure 61 : Mécanisme d'action de l'effet antimicrobien du houblon sur cellules sensibles/resistantes : (A) pompe HorA pharmacorésistante ; (B) transporteur pmf-dépendant ; (C) H<sup>+</sup>ATPase [99].

Toutefois, certains microorganismes ont développé des mécanismes de résistance, c'est notamment le cas des bactéries Gram-négatives telles que *Pectinatus cerevisiophilus*, *Pectinus frisingensis* et *Megasphaera cerevisiae* (fig. 61) où la membrane cellulaire réduit la perméabilité des substances non polaires, de fait la plupart des microorganismes anaérobie sont en globalité totalement résistants aux composés entrant dans la composition du houblon. D'autre part d'autres bactéries deviennent résistantes au houblon en exprimant des pompes pharmaco-résistantes (Hor-A) ou des transporteurs pmf-dépendants [99].

Il à noter que l'activité antibactérienne des  $\beta$ -acides et  $\alpha$ -acides est bien supérieure à celle des iso- $\alpha$ -acides bien qu'en pratique et notamment dans la bière à cause de la moindre solubilité des  $\beta$ -acides et  $\alpha$ -acides ce sont les iso- $\alpha$ -acides qui possèdent une meilleure efficacité [99]

Le potentiel antimicrobien est aussi accentué par le caractère plus ou moins hydrophobe des constituants du houblon : plus le nombre et la longueur des chaines latérale acyl- ou prényl- est importante plus l'effet antimicrobien est puissant. Ainsi en comparant les activités antimicrobienne des acides amers il a été établie que l'efficacité décroît de la manière suivante : lupulone>humulone>isohumulone [99].

Du fait de cette activité antibactérienne marquée dans le milieu brassicole les composés du houblon font preuve d'un attrait particulier dans le milieu de la recherche médicale humaine et vétérinaire.

Les chercheurs ont ainsi analysé et comparé l'activité des acides amers avec celle des antibiotiques. Ainsi l'activité d'un mélange de lupuline et xanthohumol a pu être comparé à l'activité des antibiotiques tels que le sulfate de polymyxine B, la tobramycine, et la ciprofloxacine. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées afin d'élucider des mécanismes d'actions communs entre ces molécules du houblon et les antibiotiques testés.

Dans cette étude des bactéries Gram+ et Gram- ont été utilisées. Toutes les bactéries Gram+ ont répondu au traitement et d'une manière surprenante il y a eu quelques résultats d'inhibition positifs au sein des populations bactériennes Gram- [99].

De fait des tests ont été réalisés afin d'étudier les capacités inhibitrices du houblon sur la croissance d'*Helicobacter pylori*. Pour ce faire un cultivar de houblon à haute teneur en lupulone a été utilisé (Saaz). La préparation obtenue a ainsi été utilisée afin d'étudier ses capacités inhibitrices sur la souche *H.pylori*, microorganisme pathogène responsable du développement des gastrites et ulcères gastro-duodénaux chez les patients infectés. Les tests ont démontré le potentiel du houblon comme supplément efficace au traitement antibiotique des infections à *H.pylori* [99].

La lupulone aurait aussi un intérêt en médecine vétérinaire car elle a démontré une efficacité marquée contre *Clastridium perfringens* retrouvée dans le tractus intestinal des poulets au niveau du jejunum et caecum. Cette implication pour les poulets pourrait empêcher la survenue des mécanismes de résistance qui arrive fréquemment après une utilisation prolongée d'antibiotiques dans l'alimentation animale.

L'effet des  $\beta$ -acides et notamment de la lupulone sur la croissance du clostridium sur les sols contaminés au sein du fourrage à base de pulpe fraîche ensilée a également été étudié. Il a été confirmé que les  $\beta$ -acides améliorent la préservation de la pulpe ensilé des effets de l'acide lactique dû au clostridium.

Un autre problème inhérent à l'industrie agro-alimentaire est la contamination des produits laitiers et des viandes par *Listeria monocitogenes*. Or, il apparaît que les  $\beta$ -acides possèderaient une forte capacité à combattre l'activité de cette bactérie Gram+, ceci a notamment été observé lors de tests effectués *in vitro* à partir d'un échantillon de viande marinée de filet de porc contaminée où la croissance de *listeria* a été fortement inhibée, la CMI de l'extrait enrichi en  $\beta$ -acide étant établie à 6,3 ppm, ceci démontre l'implication pratique des  $\beta$ -acides pour la préservation des viandes [99], [148].

Une étude statistique intéressante menée également sur *Listeria monocytogenes* et l'activité potentielle d'un extrait de houblon à partir d'un échantillon de fromage à croûte lavée a également démontré son activité antibactérienne. Pour ce faire la surface du fromage a été contaminée avec 2 à 3log de *Listeria monocytogenes/g* et ces derniers ont ensuite été badigeonnés quotidiennement avec un extrait houblonné (30 $\mu$ g/g de fromage) ; la contamination après traitement a été réduite à 1log [99],[149]

- **activité antivirale**

Les informations concernant les implications antivirales des acides amers est à l'heure actuelle encore peu documentée. Seules quelques études font l'objet d'une certaine activité des  $\alpha$ -acides dans ce domaine.

Ainsi une étude portant sur l'effet d'un extrait purifié en  $\alpha$ -acides a démontré une légère activité inhibitrice contre le virus de la diarrhée virale bovine (BVD) (BVDV, index thérapeutique=9,1) ; cet extrait a également été utilisé comme modèle pour le virus de l'hépatite C et le cytomégalovirus (CMV) où les résultats semblent mitigés [99],[150].

- **activité antifongique**

Les acides amers exerceraient une activité antifongique notoire sur diverses espèces telles *Candida albicans*, *Tricophyton*, *Fusarium* et *Mucor*. Cette activité serait plus accentuée par l'utilisation des humulones, l'activité s'exerçant à une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 100µg/ml alors que les lupulones exercent une même activité à partir d'une CMI de 200µg/ml lors de tests effectués chez les espèces *Tricophyton*, et *Mucor spp* [3].

- **activité anti-protozoaire**

Les acides amers possèdent aussi une activité antiprotozoaire ceci a notamment été démontré par l'équipe de Srinivasan et al., en 2004 où ils ont remarqué que les protozoaires ciliés étaient beaucoup plus sensibles aux effets des acides amers du houblon que les amibes [99].

*Plasmodia* serait également sensible au même extrait mais d'une manière moindre par rapport aux effets engendrés par les anti-malariques [99].

#### 5.5.1.2 Activités antimicrobienne des composés flavonoïdes

L'activité antimicrobienne des polyphénols houblonnés est basée sur l'inhibition de la réplication des microorganismes, incluant les bactéries, *fungi* et les parasites du type protozoaires. Un mécanisme d'action similaire est aussi observé contre certains facteurs de virulence qui induit les ARN et/ou ADN viraux [99].

- **activité antibactérienne**

Cette activité antimicrobienne repose sur la capacité de ces molécules à s'accumuler au sein des cellules ou de pénétrer la membrane cellulaire phospholipidique et provoquant l'inhibition de la croissance cellulaire.

L'activité antimicrobienne des constituants polyphénoliques dépend essentiellement de leur degré d'hydrophobicité à cause de leur interaction avec la barrière cellulaire [144].

Il est aussi admis que les polyphénols agissent de manière synergique avec un certain nombre d'antibiotiques contre divers microorganismes pharmaco-résistants [99].

Les polyphénols avec une structure flavanique comme les flavonols et flavan-3-ols, ainsi que les tanins sont particulièrement actifs. Ces polyphénols exercent leur activité contre un large panel de bactérie Gram+ incluant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces naeslundii* et *Claustidium perfringens* mais aussi contre certaines **bactéries Gram-** incluant *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusarium nucleatum*, ou encore *Escherichia coli* [99].

Alvesalo et al., en 2006 ont aussi démontré les effets inhibiteurs de ces composés de type phénolique sur la bactérie pathogène Gram- *Chlamydia pneumoniae* qui jouent un rôle crucial dans plusieurs infections respiratoires sévères comme par exemple les pneumonies, et qui représente un facteur de risque important dans le développement des pathologies telles que l'asthme ou le cancer pulmonaire. Il est à noter que la Quercétine et la Myricétine ont démontré une très forte activité inhibitrice « anti-chlamydiale » sur des cellules humaines [99].

Les acides phénoliques dont l'acide gallique, l'acide caféique et l'acide ferulique démontrent un effet antimicrobien moindre en comparaison des polyphénols flavonoïdiques néanmoins il faut retenir l'effet notoire des acides phénoliques contre quelques bactéries Gram+ telles que *S.aureus*, *L.monocytogenes*, et Gram- telles que *Pseudomonas aeruginosa*. L'équipe de recherche de Diaz Gomez a notamment démontré en 2014 que l'activité antibactérienne de l'acide gallique était supérieure à celle exercée par la catéchine, engendrant une diminution supérieure de la croissance des souches *E.coli* [99].

Parmi les polyphénols dotés d'une activité antibactérienne notoire, les flavonoïdes prénylés, en raison de leur caractère hydrophobe marqué ont attiré toutes les attentions des chercheurs durant ces dernières années. Les flavonoïdes prénylés démontrent en effet une activité antibactérienne notamment sur les bactéries Gram+ du genre *Staphylococcus* et *Streptococcus* [144]. Le xanthohumol et la 6-prénylnaringénine seraient les agents potentiels les plus efficaces. Des tests ont ainsi démontré une activité inhibitrice notoire sur *S.aureus* (CMI=6,25µg/ml), [3]. Toutefois les effets inhibiteurs du xanthohumol sur la croissance de *S.mutans* auraient une efficacité 6 fois inférieure à celle engendrée par les β-acides [144].

Il est à noter également que les propriétés antimicrobiennes s'expriment par la capacité de réduction d'adhésion des bactéries sur les surfaces inertes et abiotiques en bloquant entre autres la capacité des microorganismes à former leur biofilm.

Ainsi Rozalski et al., en 2013 se sont intéressés sur l'inhibition de la viabilité d'un biofilm et l'effet engendré par un extrait de houblon enrichi en xanthohumol, les tests ont pour cela été réalisés à partir de plusieurs échantillons dont le premier était dépourvu de xanthohumol, dans ce cas il y a une réduction de formation du biofilm de 48,2%, dans le deuxième résultat l'extrait de houblon contenait 51% de xanthohumol, l'effet inhibiteur sur la formation du biofilm a été de 78%, enfin les chercheurs ont réalisé un dernier test à l'aide d'une solution pure de xanthohumol, la réduction du biofilm a alors été de 86,5%.

Ceci démontre la potentialité importante du xanthohumol sur les capacités de réduction de formation des biofilms [99].

- **activité antifongique**

L'activité antifongique des flavonoïdes prénylés repose essentiellement sur les capacités du xanthohumol et la 6-prénylnaringénine à inhiber de façon effective la croissance des champignons dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum* [144].

- **activité anti-protozoaire**

Les flavonoïdes prénylés présentent en effet des implications intéressantes dans la lutte contre certains protozoaires c'est notamment le cas du *Plasmodium falciparum*, agent responsable du paludisme. Le mécanisme d'inhibition par ces dérivés prénylés et notamment du xanthohumol reposerait sur l'inhibition d'une cystine protéase enzyme responsable de la dégradation de l'hémoglobine [144].

- **activité antivirale**

L'activité antivirale des polyphénols essentiellement les flavonoïdes prénylés ont démontré dans de nombreuses études un large panel d'activités sur divers facteurs de virulence tels que les virus à ARN, le virus responsable de la diarrhée virale bovine (BVD), le virus de l'hépatite C (VHC), le cytomégalovirus (CMV) (Zhang et al., 2010), ainsi que sur divers virus à ADN tels les virus herpes simplex de type 1 et 2 (HSV-1, HSV-2) [99].

Les proanthocyanidines exercent quant à elle une activité inhibitrice contre l'activité du virus *influenza A* et également contre le HSV par leur capacité à prévenir l'entrée du virus dans la cellule hôte, ces proanthocyanidines agiraient donc sur la première phase critique de l'infection des cellules par HSV-1. Les acides phénoliques présenteraient aussi des perspectives intéressantes avec une activité potentiellement inhibitrice sur le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1), des tests in vitro ont démontré que ces acides phénoliques seraient capables d'inhiber la transcriptase réverse de type 1 supprimant plusieurs étapes cruciales du processus de réplication virale [99].

### 5.5.1.3 Activités antimicrobiennes des huiles essentielles

D'une manière générale les extraits de houblon à base d'huile essentielle de houblon possèdent **une activité antimicrobienne nettement inférieure à celle établi par les résines.**

Toutefois, les huiles essentielles du houblon ont montré une légère activité antibactérienne contre quelques bactéries Gram- telle que *Escherichia coli* et sur des bactéries Gram+ telles que *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* ainsi qu'une activité antifongique contre la levure *Candida albicans* et le champignon *Trichophyton interdigitale*, ces effets ont été observés à partir d'une essence houblonnée obtenue par hydro-distillation de cônes de houblon. Ceci a été confirmé un peu plus tard en 2006 par l'équipe de Jirovetz et al. Ils ont démontré les effets antimicrobiens d'huile essentielle houblonnée contre diverses bactéries Gram+ (*S.aureus*, *Enterococcus faecalis*), Gram+ (*E.coli*, *Salmonella spp.*) et la levure *C.albicans* ; les auteurs ont de plus effectué une purification de l'huile essentielle et sélectionné certains composés terpéniques qui ont notamment inhibé la croissance des bactéries Gram- *Proteus vulgaris* et *P.aeruginosa*.

Parmi les études publiées les composés majoritairement actifs semblent être essentiellement les dérivés terpéniques alcooliques. On peut ainsi citer le linalol, le géraniol, le terpinéol, et l'oxyde de limonène faisant l'objet d'une étude approfondie en 2007 par l'équipe de Kotan et al. où ils ont pu tester les effets de ces composés sur 63 types bactériens différents.

L'efficacité antimicrobienne du linalol a été confirmée (CMI allant de 0,3 à 1,9 mg/ml) en l'exposant face à différentes espèces bactériennes *S.aureus*, *E.coli*, *B.subtilis*, *Pasteurella multocida*, des champignons filamenteux *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae* et *Rhizopus solani* et la levure *C.albicans*.

D'autre part le linalool et l' $\alpha$ -terpinéol ont démontré leur activité potentielle sur certaines espèces bactériennes causant des troubles dentaires.

On peut également retenir la propriété intéressante du géraniol qui semble agir de façon synergique avec le chloramphénicol.

Les monoterpènes et sesquiterpènes semblent également avoir quelques propriétés antimicrobiennes intéressantes. Les principaux sesquiterpènes du houblon,  $\alpha$ -caryophyllène, et  $\beta$ -humulène ont effet montré des effets modérés antimicrobiens contre les bactéries *P. vulgaris*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa sp Salmonella*, et la levure *C. albicans*. L'humulène a également été actif contre *Sarcina lutea* et *Xanthomonas campestris*. Les fractions d'huile essentielle enrichies en caryophyllène, et humulène, contenant un large éventail d'autres composés également présents dans le houblon, ont démontré une activité significative contre *B. subtilis* et *P. aeruginosa*, ainsi que contre les levures *Candida glabrata*, *C. albicans* et *A. niger*. Les effets antifongiques et antibactériens d'autres monoterpènes couramment présents dans le houblon, comme le myrcène et le limonène, l' $\alpha$ -muroloène, le  $\sigma$ -cadinène,  $\beta$ -pinène, ont également été démontrés. [99]

### 5.5.2 Propriétés stomachiques

L'usage traditionnel du houblon dans les troubles digestifs ont été étudiés et validés assez récemment par Kurasawa et al. en 2005. Les auteurs sont parvenus à démontrer à partir d'un extrait sec de houblon lorsqu'il est administré par voie orale engendrait une augmentation de la sécrétion gastrique sans affecter le pH gastrique. Cette augmentation de sécrétion gastrique n'est pas observée lors d'une administration intra-gastrique, ce qui suggère que l'amertume des extraits houblonnés jouerait un rôle crucial dans le mécanisme d'induction de l'hypersécrétion gastrique via la stimulation de la phase céphalique et le recrutement du nerf pneumogastrique.

Cliniquement, l'administration d'une préparation aqueuse d'*humulus lupulus* L. chez des patients présentant des troubles d'hyposécrétion gastrique a permis de montrer une action stimulante de la sécrétion gastrique chez ces mêmes patients. C'est aussi pour cette raison que le houblon est traditionnellement utilisé pour stimuler l'appétit à cause de son haut pouvoir amérisant [3].

### 5.5.3 Propriétés régulatrices sur les troubles métaboliques

Dans les pays industrialisés la prévalence des maladies métaboliques a atteint durant ces dernières décennies des proportions épidémiques non négligeables.

Le syndrome métabolique est associé à plusieurs facteurs de risques tels que l'obésité abdominale, une pression artérielle élevée, une hyperglycémie, une hypertriglycéridémie, et un faible taux de H.D.L cholestérol [99].

Le traitement est basé sur la réduction des maladies cardiovasculaires en diminuant le taux de L.D.L cholestérol et la réduction de la pression artérielle, ainsi que le traitement du diabète [99].

#### 5.5.3.1 Applications des polyphénols du houblon dans les maladies métaboliques

Les effets bénéfiques des polyphénols chez les patients souffrant de diabète consistent en une diminution de l'insulino-résistance ainsi que la réduction de la masse adipeuse.

Ainsi il a été démontré que les composés phénoliques sont capables d'activer une protéine kinase dépendante de l'AMP, enzyme qui joue un rôle crucial dans la régulation du métabolisme du glucose et des acides gras.

Les prénylfavonoïdes et plus particulièrement le xanthohumol a pu démontrer sa potentialité sur son activité anti-obésité en incluant une capacité à inhiber la diacylglycérol acyltransférase à partir d'une étude effectuée sur un foie de rat et la lignée cellulaire HepG2 , la conséquence est qu'il permet d'inhiber le transport des triglycérides et la sécrétion de l'apolipoprotéine B, principal constituant de la fraction L.D.L du cholestérol.

L'effet thérapeutique des composés polyphénoliques dans le traitement de l'obésité repose également dans leur capacité à inhiber l' $\alpha$ -glucosidase, une enzyme qui permet la régulation de la concentration sanguine du glucose.

Liu et al., ont ainsi en 2014, découvert que le xanthohumol était capable de se lier à l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase et de provoquer une réduction du caractère hydrophobe de cette enzyme ce qui a pour conséquence de moduler la conformation de la protéine et ainsi inhiber son activité. Legette et al. ont quant à eux ont démontré les effets positifs après administration orale d'un extrait de xanthohumol (16,9  $\mu$ M/kg) sur le métabolisme du glucose chez des rats souffrant d'obésité [99].

#### 5.5.3.2 Applications des acides amers du houblon dans les maladies métaboliques

Les intérêts majeurs des acides amers dans ce domaine reposent essentiellement sur les iso- $\alpha$ -acides. Ces composés sont capables d'engendrer certains bénéfices sur la santé notamment en influençant le métabolisme lipidique, en améliorant la tolérance au glucose, et en diminuant l'obésité.

Les iso- $\alpha$ -acides ont été identifiés comme des substances susceptibles d'activer les récepteurs activant la prolifération des peroxysomes (PPAR) de type  $\alpha$  et  $\gamma$ . Le PPAR $\alpha$  est un facteur de transcription qui permet la régulation du métabolisme lipidique dans le foie. En réalité les iso- $\alpha$ -acides agissent à ce niveau en provoquant une diminution de la concentration sérique en triglycérides et en augmentant le taux de HDL-cholestérol.

Le PPAR $\gamma$  est quant à lui impliqué dans la régulation métabolique du stockage des acides gras et du glucose dans l'organisme. Des tests sur des souris diabétiques soumises à l'action des iso- $\alpha$ -acides ont permis de démontrer une réduction des pics plasmatiques du glucose, des triglycérides et des acides gras avec des taux de réductions respectifs de 65,3%, 62,6%, et 73,1% [99], [143].

Les iso- $\alpha$ -acides sont également capables de diminuer les capacités de résistance des récepteurs à l'insuline, cela a notamment été décrit lors d'un test effectué chez des souris femelles de type C57BL/6N ayant subi un régime à haute teneur en graisses durant 12 semaines, les chercheurs ont en réalité observé une sur-régulation de l'expression des gènes impliqués dans l'oxydation hépatique des acides gras, ainsi qu'une réduction de l'hypertrophie adipocytaire au sein du tissu adipeux blanc.

D'autre part lorsqu'une souris atteinte d'hypercholestérolémie est alimentée par un complément à base d'iso- $\alpha$ -acide, les chercheurs ont observé qu'il y avait une augmentation notable du taux plasmatique en HDL-cholestérol et une réduction du cholestérol et du triacylglycérol au niveau hépatique.

L'analyse quantitative des taux hépatiques d'A.R.N<sub>m</sub> a démontré que les iso- $\alpha$ -acides sont responsables d'une surrégulation de la transcription des A.R.N<sub>m</sub> codant pour l'expression de l'acyl-CoA-oxydase, l'acyl-CoA-synthétase et la lipoprotéine lipase ainsi que de la protéine de transport des acides gras, et en parallèle une diminution de la transcription des A.R.N codant pour l'expression de l'apolipoprotéine CIII et AI.

L'inhibition intestinale des graisses alimentaires pourrait aussi être un mécanisme par lequel les iso- $\alpha$ -acides agiraient, où les composés ont engendré une diminution de poids marquée chez des souris obèses ayant subi un régime enrichi en graisses. L'effet modulateur des iso- $\alpha$ -acides sur le métabolisme lipidique pourrait donc favoriser une diminution de l'embonpoint chez des patients atteints d'obésité.

Par conséquent ces résultats sont prometteurs pour l'utilisation des iso- $\alpha$ -acides chez l'homme dans le traitement et la prévention de l'obésité alimentaire induite et les syndromes métaboliques [99],[151],[152].

#### 5.5.4 Applications dans le traitement et la prévention des troubles cardio-vasculaires

En accord avec l'organisation mondiale de la santé, les pathologies d'origine cardio-vasculaires restent à l'heure actuelle la principale cause de mortalité au sein des pays industrialisés.

Un nombre non négligeable de publications démontre que l'incorporation d'aliments riches en polyphénols dans le régime alimentaire induit une réduction des facteurs de risques cardio-vasculaires tels que l'hypertension et l'athérosclérose [135]. Cet effet bénéfique des polyphénols est principalement dû à leurs actions anti-oxydantes ainsi qu'à l'activation d'enzymes à haut potentiel antioxydant [99]. Dans le contrôle de l'homéostasie vasculaire ainsi que les fonctions de régulation vasculaires, l'oxyde nitrique (NO) et les prostacyclines, jouent un rôle important. Les substances polyphénoliques ont démontré leur capacité à induire la production de NO en stimulant notamment l'expression de la NO-synthétase, enzyme responsable de la production endothéliale de l'oxyde nitrique par un mécanisme extra-cellulaire dépendant du calcium [99].

Les flavan-3-ols ont ainsi été décrits comme étant capables d'induire une relaxation endothéliale dépendante chez des cellules humaines, isolées à partir d'un échantillon d'artère mammaire interne, de manière dose-dépendante avec un effet relaxant maximal établi à 50 $\mu$ M [99].

Les acides phénoliques seraient aussi connus comme puissants agents antioxydants avec des effets protecteurs cardio-vasculaires importants. Les effets de l'acide gallique peuvent ainsi être soulignés où diverses études *in vitro* et *in vivo* ont relaté ses actions potentielles anti-hyperglycémiques, anti-oxydantes, et sa capacité à empêcher la peroxydation lipidique [99].

Un autre effet néfaste sur la majoration des facteurs de risques cardio-vasculaire est l'utilisation abusive du sel dans l'alimentation. Or des tests effectués chez une population de rats chez lesquels on a administré des aliments à haute teneur en sel ainsi qu'un extrait enrichi en iso- $\alpha$ -acides a permis d'identifier une absence d'augmentation de la pression artérielle. Il est ainsi admis que les iso- $\alpha$ - réduiraient le stress oxydatif et augmenterait la biodisponibilité du NO [99].

## 5.6 Indications pharmaceutiques et statut juridique du houblon en Europe et en France

### 5.6.1 Indications en France

En France, la note explicative de l'agence du médicament admet une possible utilisation de l'inflorescence femelle c'est à dire du cône du houblon ainsi que des poils glanduleux (Pharmacopée française, 2016), son usage est indiqué dans le traitement par voie orale pour :

- principalement traiter les symptômes des états neurotoniques des adultes et des enfants, notamment en cas de troubles mineurs du sommeil [18].
- stimuler l'appétit étant donné qu'il est considéré comme tonique amer [18].

En ce qui concerne les usages traditionnels en France, les cônes femelles sont traditionnellement utilisés comme tonique amer et stimulant de l'appétit. Le houblon est également un remède apprécié pour combattre les états anxieux, les migraines et les insomnies. Il est aussi indiqué pour traiter certains types d'asthmes ainsi que pour les règles douloureuses en tant qu'antispasmodique et le traitement des bouffées de chaleurs.

Par ailleurs, les strobiles sont utilisés comme anaphrodisiaques chez l'homme, en particulier dans le cas de troubles sexuels avec hyperexcitabilité [5].

### 5.6.2 Indications du houblon au niveau européen

Selon les recommandations de l'EMA, les indications du houblon ne reposent que sur les usages traditionnels et sur la base de son ancienneté d'usage pour soulager les symptômes du stress mental et faciliter le sommeil [153].

#### 5.6.2.1 Composition qualitative et quantitative

Les formes utilisées sont diverses, selon les recommandations de l'EMA le houblon peut être employé en préparation à partir :

- de substance végétale comminutive
- de substance végétale en poudre
- d'extrait liquide (DER 1: 1) extraction solvant éthanol 45% v / v
- d'extrait de liquide (DER 1:10) extraction par solvant vin doux
- de teinture (rapport de la substance à base de plantes pour l'extraction par solvant 1: 5 extraction solvant éthanol 60% v / v
- d'extrait sec (DER 4-5: 1) l'extraction du solvant de méthanol à 50% v / v

### 5.6.2.2 Formes pharmaceutiques utilisées

Selon les recommandations européennes [153] on utilise le houblon à partir de substance à base de plantes comminutives sous forme de :

- tisane à usage oral
- préparations à base de plantes sous des formes posologiques solides ou liquides à usage oral.

### 5.6.2.3 Posologie et méthode d'administration

Dans le traitement des **symptômes liés au stress mental** les recommandations et usages applicables sont les suivants :

- Tisane: 500 mg de substance à base de plantes broyées dans 150-200 ml d'eau bouillante comme une infusion à base de plantes, jusqu'à 4 fois par jour.
- Poudre de substance à base de plantes: 400 mg deux fois par jour pour les adultes et de 200 mg deux fois par jour pour les adolescents.
- Extrait liquide (1: 1): 0,5-2,0 ml, jusqu'à 3 fois par jour.
- Extrait de liquide (1:10): 19 g, 2-3 fois par jour.
- Teinture mère (1: 5): 1-2 ml, jusqu'à 3 fois par jour.
- Extrait sec (4-5: 1): 125 mg, 2 à 3 fois par jour.

En ce qui concerne le traitement des troubles du sommeil les recommandations et usages applicables sont les suivants :

- Tisane: 500-1000 mg de substance à base de plantes broyées dans 150-200 ml d'eau bouillante comme une infusion à base de plantes 30 - 60 min avant le coucher.
- Substance à base de plantes en poudre: 800-2000 mg, 30-60 minutes avant le coucher.
- Extrait sec (4-5: 1): 125-250 mg, 60 minutes avant l'heure du coucher.

*Rmq : L'utilisation chez les enfants de moins de 12 ans est déconseillée. [153]*

### 5.6.2.4 Contre-indication et précautions d'utilisation

En ce qui concerne les contre-indications, l'emploi du houblon est à l'heure actuelle uniquement contre-indiqué en cas d'hypersensibilité à la substance active.

Toutefois quelques restrictions d'usage subsistent notamment en cas de grossesse et d'allaitement du fait de l'absence de données suffisantes.

Par ailleurs l'emploi du houblon peut altérer la capacité à conduire et à utiliser des machines, ainsi les patients traités doivent éviter de conduire ou utiliser des machines [153].

D'autre part en vertu du principe de précaution et les potentialités oestrogéniques de la plante, il est prudent de s'abstenir dans la prescription de préparations de houblon en cas de cancers hormono-dépendants (sein, col de l'utérus, prostate), [7].

#### 5.6.2.5 Toxicité et effets indésirables

Dans un usage purement pharmaceutique le houblon n'est pas toxique, aucun effet indésirable lié à son utilisation n'a encore été rapporté à l'heure actuelle.

La génotoxicité a été peu étudiée, la cancérogénécité et les effets sur la reproduction sont inconnus [153].

En ce qui concerne les effets indésirables, le houblon peut déclencher des réactions allergiques chez les personnes sensibles et des dermatites de contact ont été observées chez les travailleurs de la filière mais apparemment pas dans le cadre de l'emploi médicinal [18].

Ces dermatites seraient attribuées à la présence des dérivés terpéniques et notamment du myrcène dans les cônes fraîchement cueillis ; cet aspect irritant serait également lié à l'altération mécanique des poils sécréteurs présents sur les tiges et les feuilles générant une réaction de type urticaire chez les travailleurs de la filière [155].

Des manifestations altérant les voies pulmonaires ont également été rapportées, dans le milieu brassicole notamment, avec signes d'irritation bronchique, dyspnée, et toux irritative [156].

#### 5.6.2.6 Intéractions médicamenteuses du houblon

L'EMA en l'état actuel des connaissances ne revendique aucune interaction médicamenteuse connue.

Toutefois étant donné les potentialités sédatives, les préparations à base de houblon ne devraient pas être utilisées en cas de traitement par les antidépresseurs, les antihistaminiques, les anxiolytiques [153].

### 5.6.3 Autres usages du houblon

L'usage non pharmaceutique du houblon repose essentiellement sur un usage alimentaire.

Essentiellement connu comme ingrédient entrant dans la composition de la bière, il intervient aussi au niveau culinaire.

#### 5.6.3.1 Usages culinaires

Les jeunes pousses de houblon peuvent être utilisées en tant que légume où elles sont consommées comme des asperges. On préférera dans ce cas utiliser les variétés aromatiques et peu amères contrairement à celles employées en brasserie.

Elles peuvent être consommées crues en salade ou cuites et constituent dans ce cas un excellent légume aux propriétés toniques, rafraichissantes, diurétiques et antiscorbutiques [7].

Les longues tiges de houblon récoltées de septembre à novembre peuvent aussi être utilisées pour la vannerie sauvage [154].

Néanmoins il faut retenir que la majeure partie de la production du houblon est destinée presque exclusivement à la brasserie sous forme d'inflorescences broyées directement et surtout sous forme d'oléorésine extraite par le dioxyde de carbone supercritique [18].

### 5.6.3.2 Utilisation du houblon dans la production de la bière

L'aromatisation de la bière par le houblon a initialement été popularisée par les avancées de sainte Hildegarde de Bingen (1098-1179) qui permit de standardiser l'usage du houblon dans le brasage.

Ensuite grâce à Jean-Sans-Peur, duc de Bourgogne et Comte des Flandres, prônant l'usage du houblon dans la fabrication de la bière il généralise en 1409 l'introduction du houblon lors du brassage (le houblon était alors en concurrence avec un mélange d'herbes, le "gruyt", dont les ecclésiastiques gardaient le secret). Il a ainsi fait sortir la brasserie des seuls monastères et a consacré la bière dans la forme que nous lui connaissons actuellement [157].

En réalité c'est à partir d'Edouard VI (1537-1553) que son utilisation commence à se répandre au sein des brasseries [6].

Les premières directives sur le protocole de production de la bière sont alors établies : la bière doit être fabriquée exclusivement par des maîtres brasseurs et doit être obtenue à partir d'eau, de céréales et de houblon.

De nos jours la bière est fabriquée à partir d'eau, de malt (en général de l'orge germé, parfois du froment ou du seigle), de houblon pour l'aromatisation (amertume) qui permet aussi d'améliorer la conservation et la digestibilité de la bière, de levures permettant la fermentation alcoolique et donnant également le goût et le parfum à la bière, et éventuellement de grains crus tels que le maïs, le riz, le seigle, l'avoine ou l'épautre et de succédanés tels que du glucose, saccharose, maltodextrine, dextrose, etc.

Le protocole de fabrication de la bière se résume en 6 étapes (*fig. 62*) :

- le maltage qui consiste à reproduire naturellement la germination du grain (d'orge) afin qu'il produise les enzymes nécessaires à la transformation de l'amidon en sucres permettant la fermentation et la formation d'alcool.
- la saccharification, consistant en la transformation des sucres complexes (amidon) en sucres simples fermentescibles par action des enzymes du malt par chauffage.

- **le houblonnage**, il consiste à l'incorporation du houblon dans le mélange sous forme d'extraits, de pellets (houblon séché puis broyé et compacté) ou tel quel (*fig. 63*) lors du houblonnage à cru, et à la mise à ébullition du mélange afin de libérer les saveurs amers du houblon par isomérisation des acides amers.  
L'amertume étant essentiellement apportée par les acides alpha (humulone, cohumulone, adhumulone). Cette étape comprend la cuisson du moût qui consiste à dégrader les enzymes dont la fonction est désormais terminée.
- la fermentation, étape cruciale et dont il existe plusieurs méthodes où l'on va ajouter les levures à une partie ou la totalité du moût permettant la fabrication de l'alcool.
- la garde.
- le conditionnement permettant d'éviter tout contact avec les agents pathogènes et l'oxygène pouvant dégrader la bière. La bière est alors stockée dans des réservoirs à contre pression en CO<sub>2</sub>. Après une certaine période de garde la bière est soutirée et conditionnée en fût (pression), en bouteille ou canettes aluminium.



## 6 Produits commercialisés à l'officine

### 6.1 Spécialités et principaux compléments alimentaires à base de houblon commercialisés à l'officine

- **Houblon Arkogélules®** [160],[161]



Laboratoire : Arkopharma®.

**Spécialité indiquée** pour réduire la nervosité des adultes et des enfants notamment en cas de troubles mineurs du sommeil, et pour stimuler l'appétit.

Voie orale. Réservé à l'adulte et à l'enfant de plus de 12 ans. Adulte : 2 gélules le soir au moment du repas et 2 au coucher à prendre avec un grand verre d'eau.

Enfant de plus de 12 ans : 1 gélule le soir au moment du repas et 1 au coucher à prendre avec un grand verre d'eau.

- **Naturactive® Houblon** [162]



Laboratoire Naturactive®.

Recommandé pour ses propriétés relaxantes, il est indiqué pour traiter les changements d'humeur chez la femme, notamment en période de ménopause.

Adulte : 1 gélule matin et soir (soit 400 mg d'extrait de houblon par jour) avec un grand verre d'eau.

Réservé à la femme adulte. Ne pas utiliser pendant la grossesse et l'allaitement.

- **Houblon S.I.D.N®** [163]



Laboratoire S.I.D.N®.

Recommandé pour le traitement des troubles de la ménopause, la nervosité, l'irritabilité, les troubles du sommeil.

Adulte : 1 à 2 gélules par jour en dehors des repas.

- **Houblon Nat&form® [164]**



Laboratoire Nat&form®

Poudre de houblon (150mg/gélule)

Recommandé pour traiter la nervosité, l'anxiété, les troubles du sommeil, et améliorer le bien-être des femmes en période de ménopause.

Adulte : 3 à 6 gélules par jour.

- **Teinture mère houblon Biover® [165]**



Laboratoire Biover®

Extrait hydro-alcoolique de *humulus lupulus* 100% (alcool 67,1%, cône de houblon, eau).

Indiqué dans les cas d'agitation et d'insomnie.

Adulte : 30 gouttes 3 fois par jour ou 40 gouttes avant le coucher dans un peu d'eau ou dans un jus de fruit.

- **Humulus lupulus recens Weleda®[160]**

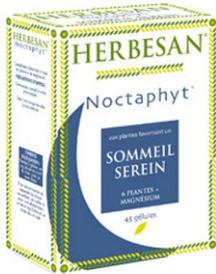
Préparations homéopathiques sur cône frais, dilutions comprises entre 2 et 30CH ou 4 et 60 DH.

- **Humulus lupulus siccum Boiron®[160]**

Préparations homéopathiques sur cône sec, dilutions comprises entre 2 et 30 CH ou 4 et 60 DH.

## 6.2 Spécialités et compléments alimentaires à base de houblon mélangé avec d'autres plantes et/ou produits

- **Herbesan® Noctaphyt® sommeil serein [166]**



Laboratoire Super Diet®.

Mélange à base de Passiflore (Poudre: partie aérienne et Extrait: feuille : 234 mg), d'Aubépine (sommité fleurie : 130 mg), d'extrait de Valériane (racine : 585 mg), d'Eschscholtzia (partie aérienne : 60 mg), de Mélisse (feuille : 60 mg), de Houblon (cône : 60 mg) et d'oxyde de Magnésium (75mg).

Recommandé pour favoriser le sommeil.

Adulte : 2 gélules le soir au moment du dîner.

- **Arkorelax® sommeil [161]**



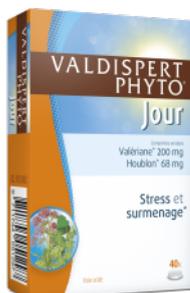
Laboratoire Arkopharma®.

Mélange à base d'extraits de Valériane, Passiflore, **Houblon**, Escholtzia, et Mélisse associés à de la mélatonine (1mg) et de la vitamine B6.

Recommandé pour améliorer l'endormissement et retrouver un sommeil de qualité.

Réservé à l'adulte : 1 comprimé par jour, 30 min avant le coucher.

- **Valdispert phyto jour ® [167]**



Laboratoire Vemedia®.

Mélange à base d'extrait sec de racine de Valériane (200mg) et d'extrait sec de strobile de houblon (68mg).

Recommandé dans les épisodes de stress et de surmenage.

Adulte : 1 comprimé 3 fois par jour.

- **Somdor +<sup>®</sup>** [168]



Laboratoire des Granions<sup>®</sup>.

Mélange à base de Mélisse, Valériane, Houblon, L-tryptophane et magnésium.

Recommandé pour faciliter l'endormissement et retrouver un sommeil naturel et réparateur.

Adulte : 2 comprimés par jour, 1 au dîner et 1 juste avant le coucher ponctuellement ou par période de 15 jours.

- **Cyclamax sommeil+stress<sup>®</sup>** [169]



Laboratoire Omega Pharma<sup>®</sup>.

Mélange à base d'extrait de valériane (168 mg), extrait de passiflore (150 mg), extrait de mélisse (150 mg), extrait de houblon (72 mg).

Recommandé pour favoriser l'endormissement et améliorer la qualité du sommeil.

Adulte : 2 gélules au cours du dîner.

- **Dorzen<sup>®</sup>** [170]



Laboratoire dergam<sup>®</sup>.

Mélange à base d'extraits de Mélisse (400mg) et de Houblon (100mg), de magnésium, de L-tryptophane, de vitamines B6, B9, et B12.

Recommandé pour aider à retrouver un sommeil de qualité.

Adulte : 1 comprimé au dîner et 1 comprimé au coucher.

- **Superdiet Quatuor<sup>®</sup>** [171]



Laboratoire superdiet<sup>®</sup>

Mélange à base de feuille de basilic, de cône de houblon, d'extrait de feuille de mélisse, d'extrait de feuilles de valériane.

Recommandé pour améliorer la qualité du sommeil.

Adulte : 3 gélules au moment du coucher.

- **Femagyne®** [172]



Laboratoire nutriclem®.

Mélange à base d'extraits de houblon, de vigne rouge, d'huile essentielle de sauge, de marjolaine et d'onagre associé à de l'acérola, et de l'huile d'onagre.

Recommandé pour :

- les fins de cycle menstruel difficile : 2 comprimés par jour pendant 10 jours à commencer 10 jours avant les règles.
- les troubles liés à la pré-ménopause, ménopause : 2 comprimés par jour pendant 2 à 3 mois.

- **Granio+ ménopause®** [173]



Laboratoire EA pharma®.

Mélange à base d'extraits de Houblon et de Sésame.

Recommandé pour limiter les bouffées de chaleur et les suees nocturnes de la ménopause.

Adulte : 1gélule le matin avant le repas.

- **Gynofénol®** [174]



Laboratoire Codifra®.

Recommandé pour aider à diminuer les signes associés à la ménopause tels que les bouffées de chaleur et les suees nocturnes.

Adulte : 1 seule gélule par jour

Déconseillé chez la femme enceinte et allaitante.

- **S.I.D.N® Preventlife Ménopause® [163]**



Laboratoire S.I.D.N.®  
Mélange à base d'extrait de racine d'éleuthérocoque, d'extrait de graine de lin, de poudre de pulpe de fruit de baobab, d'extrait de cône de houblon, d'oxyde de magnésium d'origine marine, de sélénite de sodium, et de vitamine B6.

Recommandé pour diminuer les troubles liés à la ménopause.

Adulte : 2 comprimés par jour.

Déconseillé chez les femmes ayant des antécédents personnels ou familiaux de cancer du sein.

- **Ménophytea bouffées de chaleur® [175]**



Laboratoire Phytéa®

Mélange à base de Lin, de Houblon, d'inuline de Chicorée, de Kudzu, et vitamine B6.

Recommandé pour réduire les bouffées de chaleur et suées nocturnes liées à la ménopause.

Adulte : 2 gélules vertes le matin et 2 gélules blanches le soir.

- **Menocia 12/12® [176]**



Laboratoire C.C.D.®.

Gélule jour : mélange à base d'extrait de feuille d'ortie, d'extrait de cône de houblon, de vitamines C, E, B5, B8 et vitamine D.

Gélule nuit : mélange à base d'extrait d'écorce de pin maritime, d'extrait de feuille de mélisse, d'extrait de cône houblon, de Magnésium, de L-cystéine, de L-tryptophane, de vitamine B6, de zinc et sélénium.

Adulte : 1 gélule le matin et 1 gélule le soir.

- **Premenox® [177]**



Laboratoire Nurilia®.

Mélange à base d'extraits de houblon, de sauge, d'avoine, de salsepareille, d'igname sauvage, d'huile d'onagre, de vitamine B6 et de zinc.

Recommandé pour le traitement des troubles liés à la ménopause.

Adulte : 2 gélules par jour au cours des repas.

- **Sérépause® ménopause [178]**



Laboratoire Inébios®

Mélange à base de carbonate de Magnésium, d'extrait de graine de Soja titré en isoflavones, de poudre de graine de Gattilier, d'extrait de cône de Houblon, de Vitamine C, de poudre de baie de Cassis, de poudre de feuille d'Artichaut, de poudre de sommité fleurie de Reine-des-prés, de Vitamine E, de poudre de sommité fleurie d'Achillée millefeuille, de poudre de sommité d'Alchémille, de levure riche en Sélénium, de poudre de racine de Chicorée, de Vitamine B6, de Vitamine A, de ferments lactiques (*Lactobacillus acidophilus*), de picolinate de Chrome et de gluconate de Zinc.

Recommandé pour soulager les troubles associés à la ménopause tels que les bouffées de chaleurs ou les troubles de l'humeur.

Adulte : 1gélule le matin et une gélule le soir.

- **Sérépause® ménopause tisane [178]**



Laboratoire Inébios®

Mélange à base de feuilles de Saugé, de feuilles de Mélisse, de sommité fleurie d'Aubépine, de partie aérienne de Fumeterre, de cônes de houblon.

Recommandé pour traiter les troubles liés à la ménopause tels que les bouffées de chaleur.

- **Tone audition®** [179]



Laboratoire Newnordic®

Mélange à base d'extraits de feuilles de Sarrasin (400mg), de fruits de Myrtille (100mg), de cônes de Houblon (100mg), de racines de Galanga (40mg), de feuilles de Gingko (80mg), de vitamines C (40mg) , et B3 (27mg), de magnésium (160mg) et potassium (150mg).

Recommandé pour atténuer les bruits et sifflements d'oreille (acouphènes), et en cas de baisse d'acuité auditive.

Adulte : 2 comprimés par jour au cours d'un repas.

- **Santane N9®** [160]



Laboratoire Iphym Santé ®

Mélange pour infusion à base de sommité fleurie d'Aubépine (0,3g), de fleur et bractées de Tilleul (0,3g), de Passiflore (0,255g) de feuilles de Mélisse (0,225g), de cônes de Houblon (0,12g) pour un sachet de 1,50g.

**Spécialité indiquée** pour réduire la nervosité des adultes et des enfants, notamment en cas de troubles du sommeil.

Adulte : 1 à 4 tasses par jour, de préférence après les repas.

Enfants de 30 mois à 15 ans : 1 à 3 tasses par jour après les repas pour réduire la nervosité, 1 tasse par jour le soir dans les troubles mineurs du sommeil.

Utiliser un sachet dose en infusion, par tasse d'eau bouillante. (Existe aussi en forme vrac)

- **Pédiakid nervosité®** [180]



Laboratoire Inelda®

Sirop à base d'extraits hydroglycériné de plantes 7,5% (Houblon, Mélisse, Fleur d'oranger, Passiflore, Gentiane), de magnésium et de vitamine B6.

Recommandé chez le jeune enfant pour favoriser l'apaisement et réduire l'agitation.

Avant 5 ans : 1 cuillère à café matin et midi après les repas.

Après 5ans : 2 cuillères à café matin et midi après les repas.

## Conclusion

Au cours de ce travail nous avons pu constater que la globalité des constituants isolés à partir des cônes de *Humulus lupulus* L., exercent un large spectre d'activités. Le houblon démontre des effets anti-inflammatoire, antimicrobien, antioxydant, anti-oncogénique puissants ainsi qu'une activité notoire sur les métabolismes du glucose et des lipides. Nous avons aussi remarqué que les activités thérapeutiques traditionnelles du Houblon tels que son effet hypnotique et son influence sur les troubles oestrogéniques ont pu être démontrés par de nombreuses publications scientifiques.

En raison de ses nombreuses propriétés intéressantes, le Houblon reste à l'heure actuelle une plante très convoitée par la recherche du fait de son haut potentiel thérapeutique.

Toutefois bien qu'il soit largement répandu et cultivé pour l'industrie brassicole, les composés bioactifs sont en réalité assez peu concentrés au sein de la plante. C'est pour cette raison que les travaux de recherche actuels se dirigent vers une meilleure compréhension des mécanismes génétiques. Ainsi les avancées permettront peut-être un jour d'influencer l'augmentation de la biosynthèse des flavonoïdes prénylés et des acides amers entrant dans la composition du houblon afin que des molécules comme le xanthohumol, la 8-prénylnaringénine, ou encore la *n*-humulone puissent être développées et mises sur le marché.

Le houblon qui est connu depuis l'antiquité en médecine traditionnelle et pour aromatiser certaines boissons n'a donc pas terminé de nous dévoiler ses nombreuses vertus.

## Bibliographie

- [1] Grieve M., 1971. *A Modern Herbal*. Dover publications, Inc., New York.
- [2] Langezaal C.R., Chandra A., Scheffer J.J., 1992. *Antimicrobial screening of essential oils and extracts of some Humulus lupulus L. cultivars*. Pharmaceutisch Weekblad. Scientific Editon 14, 353-356.
- [3] Zanolli P., Zavatti M., 2008. *Pharmacognostic and pharmacological profile of Humulus lupulus L.* Journal of Ethnopharmacology 116, 383-396.
- [4] Wilson D.G., 1975. *Plant Remains from the Graveney boat and the early history of Humulus lupulus L. in W.Europe*. New Phytologist, 627-648.
- [5] Fourasté I., *Le houblon*. 2013. Institut Klorane.
- [6] Small E., Calting P.M., 2000. *Les cultures médicinales canadiennes*. NRC research press, 91-98.
- [7] Faivre C., Ghedira K., Goetz P., Lejeune R., Staub H., 2007. *Monographie médicalisée : Humulus lupulus L.* Phytothérapie, Springer numéro 2 :86-89.
- [8] Behre K.E, 1999. *The history of beer additives in Europe-a review*. Vegetation History and Archeobotany 8, 35-48.
- [9] Blumenthal M., 1998. *The Complete German Commission E Monograph : Therapeutic Guide to Herbal Medicines*. American Botanical Council, Austin TX, p147.
- [10] Hamel P.B., Chiltoskey M.U., 1975. *Cheerokee Plants and Their Uses. A 400 years History*. Herald Publishing Co.
- [11] Bown D., 2001. *The Herb Society of America New Encyclopedia of Herbs and Their Uses*. Dorling Kindersley Ltd., London.
- [12] De Gubernatis A., 2011. *La mythologie des plantes ou les légendes du règne végétal*. Éditions Maxtor, p174.
- [13] Lacoste S., 2015. *Les plantes qui guérissent*. Éditions Leduc.s, p 261.
- [14] Patzak J., Nesvadba V., Henychova A., Krofta K., 2010. *Assessment of the genetic diversity of wild hops (Humulus lupulus L.) in Europe using chemical and molecular analyses*. Biochemical Systematics and Ecology 38, 136-145.
- [15] Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine, Bock B. & al., version 3.02 du 26 janvier 2016. Site disponible sur [www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org) (Page consulté le 12/08/16).

- [16] Houblon subst. masc. Le Trésor de la Langue Française Informatisé. Site disponible sur [www.atilf.atilf.fr](http://www.atilf.atilf.fr) (Page consultée le 12/08/16).
- [17] Chadwick L.R., Pauli G.F., Farnsworth N.R., 2006. *The pharmacognosy of Humulus Lupulus L. with an emphasis on estrogenic properties*. Phytomedicine 13, 119-131.
- [18] Bruneton J., 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4<sup>e</sup> éd.)*. Lavoisier, p 541-543.
- [19] Köhler F.E., 1897. Köhler's Medizinal-Pflanzen — List of Koehler Images, Domaine public.
- [20] Bouffard M., 2013. *Brève introduction à la culture du houblon au Québec*. Houblon Québec Coopérative de Solidarité.
- [21] [www.brasseursartisans.com](http://www.brasseursartisans.com) (Page consultée le 12/08/16).
- [22] Prat R., Rubinstein J.-P., 2016. *Arbres et arbustes : Houblon (Humulus lupulus cannabacées)*. Images issues du site [www.snv.jussieu.fr](http://www.snv.jussieu.fr) (Page consultée le 12/08/16).
- [23] Photos prises par Rivière C., 2014. Ferme Beck, Bailleul.
- [24] Photos prises par Desmis E., 2016. Berthen.
- [25] Patzak J., Krofta K., Henychov A., Nesvadba V., 2015. *Number and size of lupulin glands, glandular trichomes of hop (Humulus lupulus L.), play a key role in contents of bitter acids and polyphenols in hop cone*. International Journal of Food Science and Technology, 50, 1864–1872.
- [26] Small E., 1980. *The relationships of hop cultivars and wild variants of Humulus lupulus*. Canadian Journal of Botany 58, 676-686.
- [27] Neve R.A., 1991. *Hops*. Chapman and Hall, New York.
- [28] Murakami A., Darby P., Javornik B., Pais M.M.S., & al., 2006b. *Molecular phylogeny of wild hops, Humulus lupulus L.*. Heredity 97, 66-74.
- [29] Almaguer C., Schönberger C., Gastl M., Arendt E.K. & al., 2014. *Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review*. Journal of The Institute of Brewing & Distilling 120, 289-314.
- [30] Commission européenne de l'agriculture et du développement rural : *Le houblon*, 2016. Site disponible sur [www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu) (Page consultée le 13/08/16).
- [31] Coopérative des producteurs de Houblon d'Alsace COPHOUDAL. Site disponible sur [www.comptoir-houblon.fr](http://www.comptoir-houblon.fr) (Page consultée le 17/08/16).

[32] Dr Malovitz M., 2016. International Hop Growers Convention, *Economic Commission Summary Reports*.

[33] Association des Producteurs de Houblon de France. ACTA : les Instituts Techniques Agricoles. Site disponible sur [www.acta.asso.fr](http://www.acta.asso.fr) (Page consultée le 17/08/16).

[34] Image issue du site :  
<http://www.brassageamateur.com/forum/images/uploads/090814200451.jpg> (Page consultée le 12/08/16).

[35] Agriculture du Nord-Pas-de-Calais. Site disponible sur [www.fr.wikipedia.org](http://www.fr.wikipedia.org) (Page consultée le 17/08/16).

[36] Boinel G., Letoublon F., 2015. *Les faits marquants de l'agriculture et de la pêche en juillet-août 2015*. Agreste Nord-Pas-de-Calais Septembre 2015 N°86.

[37] *Flandre : Le Houblon de Flandre a de l'avenir, la région veut le soutenir*. L'indicateur des Flandres. Site disponible sur [www.lindicateurdesflandres.fr](http://www.lindicateurdesflandres.fr) (Page consultée le 17/08/16).

[38] *La superficie de houblon* site disponible sur [www.belgischehop.be](http://www.belgischehop.be) (Page consultée le 17/08/16).

[39] [www.houblonsdefrance.fr](http://www.houblonsdefrance.fr) (Page consultée le 17/08/16).

[40] Garcia J., 2008. *Alternative agricole à l'arrachage de la vigne, Partie 2 : Fiche Houblon*. Chambre régionale d'agriculture du Languedoc-Rousillon.

[41] [www.hopmuesum.be](http://www.hopmuesum.be) (Page consultée le 17/08/16).

[42] *Le champ du houblon*, site disponible sur [www.fr.ulule.fr](http://www.fr.ulule.fr) (Page consultée le 17/08/16).

[43] Stewart G.G., Priest F.G., 2006. *Handbook of brewing*. CRC Press, 2<sup>nd</sup> Edition, 177-280.

[44] Carter P.R. & al., 1990. *Hop*. Alternative field crops manual. Departments of Agronomy, Soil Science, and Plant Pathology, College of Agricultural and Life Sciences and Cooperative Extension Service, University of Wisconsin-Madison, WI 53706.

Department of Agronomy and Plant Genetics, and Center for Alternative Plant and Animal Products, University of Minnesota, St. Paul, MN 55108.

[45] Kuepper G., 2005. *Hops organic production*. A publication of ATTRA. Page téléchargeable à l'adresse : [www.attra.ncat.org/attra-pub/PDF/hop.pdf](http://www.attra.ncat.org/attra-pub/PDF/hop.pdf)

- [46] *Développement de la filière houblon d'île de France, 2015-2016*. Site disponible sur [http://fablab.sorbonne-universites.fr/wiki/lib/exe/fetch.php?media=wiki:dossier\\_houblon.pdf](http://fablab.sorbonne-universites.fr/wiki/lib/exe/fetch.php?media=wiki:dossier_houblon.pdf) (Page consultée le 17/08/16).
- [47] Wateau K., Cenier C., 2015. *Connaître et reconnaître : Les ravageurs, maladies et auxiliaires en culture de houblon*. FREDON Nord Pas-de-Calais. Disponible sur le site [www.ecophytopic.fr](http://www.ecophytopic.fr) (Page consultée le 21/08/16).
- [48] [www.montréalhoublonnière.com](http://www.montréalhoublonnière.com) (Page consultée le 21/08/16).
- [49] [www.omafra.gov.on.ca](http://www.omafra.gov.on.ca) (Page consultée le 21/08/16).
- [50] Zeyl R., 1930. *La culture du houblon en Alsace*, Annales de géographie vol39, numéro 22, pp 569-578.
- [51] Cyrek X., 2010. Reportage sur la culture du houblon en exploitation, 2010. Site disponible sur [www.lassbrau.com](http://www.lassbrau.com) (Page consultée le 21/08/16).
- [52] Images obtenues à partir du site [www.lassbrau.com](http://www.lassbrau.com) (Page consultée le 21/08/16).
- [53] Thompson J.F., Stone M.L., Kranzler G.A., 1985. *Modified Air Flow rate and Temperature Hop Drying*. Transactions of the ASAE, Vol. 28, N°4, pp 1297-1300.
- [54] Images obtenues à partir du site [www.comptoir-houblon.fr](http://www.comptoir-houblon.fr) (Page consultée le 21/08/16).
- [55] Eri S., Khoo B.K., Lech J., Hartman T.G., 2000. *Direct thermal desorption-gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry profiling of hop (Humulus lupulus L.) essential oils in support of varietal characterization*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48, 1140-1149.
- [56] Farnsworth, N.R., 2003. *A Database of World Literature of Natural Products*. Program for Collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences. College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago.
- [57] Verzele M., De Keukeleire D., 1991. *Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids*. Elsevier, Amsterdam.
- [58] Benitez J.L., Forster A., De Keukeleire D., Moir M., & al., 1997. *Hops and hops products*. Verlag Hans Carl, Nuremberg, Germany.
- [59] Verhagen L.C., 2010. *Beer flavor*. In *Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology*; Mander L. & Lui H.W. Eds. Elsevier : Oxford 3, 967-997.
- [60] Gros J., Kankolongo-Cibaka M.L., Collin S., 2013. *Revue sur les étonnantes analogies et les différences relevées entre un cône de houblon et une baie de raisin—Partie II: Les constituants majeurs*. Cerevisia 38, 79-88.

- [61] Wilson E.G., 2012. *Contributions to the quality control of two crops of economic importance : hops and yerba mate. Chapter 2 Hops and Beer*. Universiteit Leiden. The Netherlands.
- [62] Mills B., 2009. *Skeletal formula of the two tautomers of the phloroglucinol molecule, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>*. Image disponible sur le site [www.commons.wikimedia.org](http://www.commons.wikimedia.org) (Page consultée le 14/03/15).
- [63] Van Cleemput M., Cattoor K., De Bosscher K., Haegeman G., 2009. *Hop (Humulus lupulus)-Derived Bitter Acids as Multipotent Bioactive Compounds*. Review. Journal of Natural Products, Vol 72, N°6.
- [64] De Keukeleire D., 1999. *Fundamentals of Beer and Hop Chemistry*. Química Nova, 23 (1).
- [65] Tsurumaru Y., Sasaki K., Miyawaki T, Uto Y., & al., 2012. *HIPT-1, a membrane-bound prenyltransferase responsible for the biosynthesis of bitter acids in hops*. Biochemical and Biophysical Research Communications 417, 393-398.
- [66] Simpson W.J., 1993. *Ionization Behavior of Hop Compounds and Hop derived Compounds*. Journal of the Institute of Brewing, Vol. 99, pp 317-326.
- [67] Hughes P.S., 1996 . *Preparative regime for the purification of bitter acids derived from hops (humulus lupulus L.)*. Journal of chromatography A, 731, 327-330.
- [68] Gardner D., 1997. *Advances in brewing technology-hops*. Brewer 83, 165-172.
- [69] Wilson E., Khatib, A., Zhang, H. R., Verpoorte, R., 2006. *Method of Improving the Stability of Hop Extracts and Hop Flavoured Beverages* W.I.P.O. Patent WO/2006/0655131.
- [70] Collin S., Crouzet J., Agence Universitaire de la Francophonie, 2011. *Polyphénols et procédés*. Édition Lavoisier. Paris. 337 pages.
- [71] De Keukeleire D., Milligan S.R., Kalita J.C., Pocock V., & al., 2001. *Prenylated flavonoids are key agents in relation to health-beneficial properties of beer*. Proceedings of the 28th International Congress of the European Brewery Convention, Budapest, Hungary.
- [72] Gerhäuser C., Alt A.P., Klimo K., Knauf J., & al., 2002. *Isolation and potential cancer chemopreventive activities of phenolic compounds of beer* Phytochemistry Reviews 1 (3), 369-377.
- [73] Stevens J.F., Page J.E., 2004. *Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer to your good health*. Phytochemistry 65 :13, 17-30.
- [74] Milligan S.R., Kalita J.C., Heyerick A., Rong H., & al., 1999. *Identification of a potent phytoestrogen in hops (Humulus lupulus L.) and beer*. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 84 :22, 49-52.

[75] Flavonoïde disponible sur le site <https://fr.wikipedia.org/wiki/Flavonoïde> (Page consultée le 18/03/15).

[76] Flavan-3-ol disponible sur le site <https://fr.wikipedia.org/wiki/Flavan-3-ol> (Page consultée le 18/03/16).

[77] Callemien D., Jerkovic V., Rozenberg R., Collin S., 2005. *Hop as an interesting source of resveratrol for brewers : Optimization of the extraction and quantitativ study by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 424-429.

[78] Jerumanis J., 1985. *Quantitative analysis of flavonoids in barley, hops and beer by high performance liquid chromatography*. Journal of the Institute of Brewing, 91, 250-252.

[79] Li H.J., Deinzer M.L., 2006. *Structural identification and distribution of proanthocyanidins in 13 different hops*. Journal of the Institue of Brewing, 54, 4048-4056.

[80] Mc Murrough I., 1981. *High performance liquid chromatography of flavonoids in barley and hops*. J. Chromatogr. A, 218, 683-693

[81] Stevens J.F., Miranda C.L., Wolthers K.R., Schimerlik M. & al., 2002. *Identification and in vitro biological activiies of hop proanthocyanidins : Inhibition of nNOS activity and scavenging of reactive nitrogen species*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 3435-3443.

[82] Achilli G., Cellerino G.P., Gamache P.H., Deril G.V.M., 1993. *Identification and determination of phenolic constituents in natural beverages and plant-extracts by means of a coulometric electrode array system*. J.Chromatogr., 632, 111-117.

[83] Bartholome B., Pena-Neira A., Gomez-Cordoves C., *Phenolics and related substances in alcohol-free beers*. European Food Reasearch and Technology, 210, 419-423.

[84] Callemien D., Collin S., 2008. *Use of RP-HPLC-ESI(-)-MS/MS to differentiate various proanthocyanidin isomers in lager beer extracts*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 66(2), 109-115.

[85] Gerhauser C., Alt A., Klimo K., Knauff J., & al., 2002. *Isolation and potential cancer chemopreventive activities of phenolic compounds of beer*. Phytochemistry Reviews, 1, 369-377.

[86] Madigan D., Mc Murrough I., Smyth M.R., 1994. *Determination of proanthocyanidins and catechins in beer and barley by high performance liquid chromatography with dual electrode electrochemical detection*. Analyst (UK) 119, 863-868.

- [87] Yadav V.R., Prasad S, Sung B., Aggarwat B.B., 2011. *The role of chalcones in suppression of NF- $\kappa$ B mediated inflammation and cancer*. International Immunopharmacology, 11, 295-309.
- [88] Vauznour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G., Oruna-Concha M.J., & al., 2010. *Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action*. Nutrients, 2, 1106-1131.
- [89] Stevens J.F., Miranda C.L., Buhler D.R., Deinzer M.L., 1998. *Chemistry and biology of hop flavonoids*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 56, 136-145.
- [90] Stevens J.F., Taylor A.W., Clawson J.E., Deinzer M.L., 1999a. *Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47, 2421-2428.
- [91] Stevens J.F., Taylor A.W., Deinzer M.L., 1999b. *Quantitative analysis of xanthohumol and related prenylflavonoids in hops and beer by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 832, 97-107.
- [92] Stevens J.F., Taylor A.W., Nickerson G.B., Ivancic M. & al., 2000. *Prenylflavonoid variation in Humulus lupulus : distribution and taxonomic significance of xanthogalenol and 4'-O-methyl-xanthohumol*. Phytochemistry 53, 759-775.
- [93] Karabín M., Hudcová T., Jelínek L., Dostálek P., 2015. *Biotransformations and biological activities of hop flavonoids*. Biotechnology Advances, 33(6, Part 2):1063-90.
- [94] Power F.B., Tutin F., Rogerson H., 1913. *The constituents of hop*. Journal of the Chemical Society, 103, 1267-1292.
- [95] De keukeleire J., Ooms G., Heyerick A., Roldan Ruiz J., & al., 2003. *Formation and accumulation of  $\alpha$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (Humulus lupulus L.)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 4436-4441.
- [96] Walker C., Lence C.F., Biendl M., 2003. *Studies on xanthohumol levels in Stout/Porter Walker*. Brauwelt, 50, 1709-1712.
- [97] Jez J.M., Bowman M.E., Dixon R.A., Noel J.P., 2000. *Structure and mechanism of the evolutionarily unique plant enzyme chalcone isomerase*. Nature Structural and Molecular Biology, 7, 786-791.
- [98] [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)
- [99] Karabín M., Hudková T., Jelínek L., Dostálek P., 2016. *Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for their Use*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Vol 15(3), 542-567.

- [100] Kankolongo-Cibaka M.L., Gros J., Collin S., 2004. *Revue sur les étonnantes analogies et les différences relevées entre un cône de houblon et une baie de raisin. Partie III : arômes-Terpènes, C13-norisoprénoïdes, hydrocarbures et dérivés oxygénés non terpéniques*. *Cerevisia* 38, 103-117.
- [101] Sharpe F.R., Laws D.R., 1981. *The Essential Oils of Hops*. *Journal of the Institute of Brewing*, vol. 87, 97-107.
- [102] Wang G., Li T., Naveed A., Broum P., & al., 2008. *Terpene Biosynthesis in Glandular Trichomes of Hop*. *Plant Physiology* vol. 48, 1254-1266.
- [103] Verzele M., 1986. *100 Years of Hop Chemistry and its Relevance To Brewing*. *Journal of the Institute of Brewing*, 92(1), 32-48.
- [104] Schönberger C., Kostecky T., 2011. *125<sup>th</sup> Anniversary Review: The Role of Hops in Brewing*. *Journal of the Institute of Brewing*, 117, 259-267.
- [105] Steinhaus M., Schieberle P., 2000. *Comparison of the most odor-active compounds in fresh and dried hop cones (Humulus lupulus L. variety Spalter Select) based on GC-olfactometry and odor dilution techniques*. *Journal of the Agriculture Food Chemistry*, 48: 1776-1783.
- [106] Iranshahi M., 2012. *A review of volatile sulfur-containing compounds from terrestrial plants: biosynthesis, distribution and analytical methods*. *Journal of the Essential Oil Research* 24(4), 393-434.
- [107] De Saint-Hilaire Zara , 2006. *L'insomnie*, Édition PUF, Que sais-je ? p. 7-33.
- [108] Garnier. Delamare., 2002. *Dictionnaire des termes de médecine*. 27<sup>e</sup> édition. Maloine. Paris. 1001 p.
- [109] Campbell S.S., Tobler I., 1984. *Animal Sleep: a Review of Sleep Duration Across Phylogeny*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 8 (3), 269-300.
- [110] [www.institut-sommeil-vigilance.org](http://www.institut-sommeil-vigilance.org) (Page consultée le 06/01/15)
- [111] Dauvilliers Y., Billiard M., 2004. *Aspects du sommeil normal*. *EMC Neurologie* 1 :4, 458-480.
- [112] [www.reseau-morphee.fr](http://www.reseau-morphee.fr) (Page consultée le 06/01/16)
- [113] [www.inserm.fr](http://www.inserm.fr) (Page consultée le 06/01/16)
- [114] Vernet C., 2010. *Caractérisation des hypersomnies centrales chez l'homme : approche clinique et électrophysiologique*. Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie – Paris 6.
- [115] [www.hypersomnies.fr](http://www.hypersomnies.fr) (Page consultée le 06/01/16).

- [116] Vecchierini M.F., 2013. *Le sommeil : régulation et phénoménologie*. Revue des Maladies Respiratoires 30, 843-855.
- [117] Silbermagl S., Despopoulos A., 2001. *Atlas de poche de physiologie, 3<sup>e</sup> édition*. Flammarion Médecine-Science. Paris. 436p.
- [118] Hänsel P.B., Wohlfart R., Coper H., 1980. *Sedative-hypnotic compounds in the exhalation of hop, II*. Zeitschrift Fur Naturforschung 35, 1096-1097.
- [119] Hänsel P.B., Wohlfart R., Schmidt H., 1982. *The sedative-hypnotic principle of hops, 3. Communication : contents of 2-methyl-3-butene-2-ol. In hops and hops preparations*. Planta Medica 45, 224-228.
- [120] Wohlfart R., Hänsel P.B., Schmidt H., 1983a. *The sedative-hypnotic principle of hops, 4. Communication : pharmacology of 2-methyl-3-butene-2-ol*. Planta Medica 48, 120-123.
- [121] Wohlfart R., Wurm G., Hänsel P.B., Schmidt H., 1983b. *Detection of sedative hypnotic constituents. Part 5. Degradation of humulones and lupulones to 2-methyl-3-butene-2-ol, a hop constituent possessing sedative hypnotic activity*. Archiv der Pharmazie (Weinheim) 316, 132-137.
- [122] Zanolli P., Rivasi M., Zavatti M., Brusiani F., 2005. *New insight in the neuropharmacological activity of Humulus lupulus L.* Journal of Ethnopharmacology 102, 102-106.
- [123] Zanolli P., Zavatti M., Rivasi M., Brusiani F., 2007. *Evidence that the  $\beta$ -acids fraction of hops reduces central GABAergic neurotransmission*. Journal of Ethnopharmacology 109, 87-92.
- [124] Schiller H., Forster A., Vanhoff C., Hegger M., & al., 2006. *Sedating effects of Humulus lupulus L. extracts*. Phytomedicine 13, 535-541.
- [125] Aoshima H., Takeda K., Okita Y., Hossain S.J., 2006. *Effect of beer and hop on ionotropic  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors*. Journal of Agricultural Food Chemistry, 54, 2514-2519.
- [126] Meissner O., Häberlein H., 2006. *Influence of Xanthohumol on the Binding Behavior of GABA<sub>A</sub> Receptors and their Lateral Mobility at Hippocampal Neurons*. Planta Med, 72, 656-658.
- [127] Ceremuga T.E., Johnson L.A, Adams-Henderson J.M, Mc Call S., & al., 2013. *Investigation of the anxiolytic effects of xanthohumol, a component of humulus lupulus (Hops), in the male Sprague-Dawley rat*. AANA Journal 81(3), 193-198.
- [128] Abourashed E.A., Koeller U., Braltström A., 2004. *In vitro binding experiments with Valerian, hops and their fixed combination extract (Ze91019) In selected central nervous system receptors*. Phytomedicine 11, 633-638.

- [129] Goetz P., 1990. *Traitement des bouffées de chaleur par insuffisance ovarienne par l'extrait de houblon (Humulus lupulus)*. Revue de Phytothérapie Pratique ' , 13-15.
- [130] Milligan S., Kalita J., Pocock V., Heyerick A., & al., 2002. *Oestrogenic activity of the hop phyto-oestrogen 8-prenylnaringenin*. Reproduction 123, 235-242.
- [131] Monteiro R., Faria A., Azevado I., Calhau C., 2007. *Modulation of breast cancer cell survival by aromatase inhibiting hop (Humulus lupulus L.) flavonoids*. J. Steroid. Biochem. 105, 124-130.
- [132] Van Duursen M.B.M., Smeets E.E.J.W., Rijk J.C.W., & al., 2013. *Phytoestrogens in menopausal supplements induce ER-dependent cell proliferation and overcome breast cancer treatment in an in vitro breast cancer model*. Toxicol. Appl. Pharmacol., 269, 132-140.
- [133] Hümpel M., Isaksson P., Schaefer O., Kaufmam U., 2005. *Tissue specificity of 8-prenylnaringenin protection from ovariectomy induced bone with minimal trophic effects on the uterus*. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 97, 299-305.
- [134] Milligan S.R., Kalita J.C., Pocock V., Van de Kauter V., & al., 2000. *The endocrine activities of 8-prenylnaringenin and related hop (Humulus lupulus L.) flavonoids*. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 85, 4912-4915.
- [135] González-Gallego J., García-Mediavila M., Sánchez-Campos S., Tunon M., 2014. *Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of dietary flavonoids*. In : Watson R. Preedy V.R., Zibaldi S., editors. Polyphenol in Human Health and Disease. SanDiego, CA : Elsevier Inc. p435-452.
- [136] Chun O.K., Chung S.J., Claycombe K.J., Song W.O., 2008. *Serum C reactive protein concentrations are inversely associated with dietary flavonoid intake in US adults*. Journal of Nutrition, 138(4), 753-760.
- [137] Kim J., Lee K., Lee H., 2014c. *Polyphenols suppress and modulate inflammation :possible roles in health and disease*. In : Watson R. Preedy V.R., Zibaldi S., editors. Polyphenol in Human Health and Disease. SanDiego, CA : Elsevier Inc., p 1289-1307.
- [138] Liang Y.C., Huang Y.T., Tsai S.H., Lin-Shiau S.Y., & al., 1999. *Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages*. Carcinogenesis 20(10), 1945-1952.
- [139] Nemzer B.V., Rodriguez L.C., Hammond L., Di Silvestro R., 2011. *Acute reduction of serum 8-iso-PGF2-alpha and advanced oxidation protein products in vivo by polyphenol-rich beverage ; a pilot clinical study with phytochemical and in vitro antioxidant characterization*. Journal of Nutrition 10(1), 1-11.
- [140] Nowak R., Olech M., Nowacka N., 2014. *Plant Polyphenols as chemopreventive agents*. In : Watson R. Preedy V.R., Zibaldi S., editors. Polyphenol in Human Health and Disease. SanDiego, CA : Elsevier Inc., p 1289-1307.

- [141] Raza S.S., Khan M.M., Amhad A., Ashafaq M., & al., 2013. *Neuroprotective effect of naringenin is mediated through suppression of NF- $\kappa$ B signaling pathway in experimental stroke*. Neuroscience 230, 157-171.
- [142] Gerhäuser C., 2009a. *Phenolic beer compounds to prevent cancer*. In Preedy V.R. editor. Beer in health and disease prevention. SanDiego, CA : Elsevier Inc. p 669-684.
- [143] Gerhäuser C., 2005a. *Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents*. Journal of cancer 41, 1941-1954.
- [144] Gerhäuser C. 2005b. *Broad spectrum anti-infective potential of xanthohumol from hop (*Humulus lupulus* L.) in comparison with other hop constituents and xanthohumol metabolites*. Molecular Food and Nutrition Research, 49(9), 827-831.
- [145] Henderson M.C., Miranda C.L, Stevens J.F, Derinzer M.L., 2000. *In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus**. Xenobiotica 30, 235-251.
- [146] Strathmann J., Gerhäuser C., 2012. *Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Properties of Xanthohumol a Prenylated Chalcone from Hops (*Humulus lupulus* L.)*. Natural Compounds as Inducers of Cell Death : vol. 1 (4), 69-93. Springer Science.
- [147] Colgate E.C., Miranda C.L, Stevens J.F., Bray T.M., 2007. *Xanthohumol a prenylflavonoid derived from hops induces apoptosis and inhibits NF- $\kappa$ B activation in prostate epithelial cells*. Cancer Letter 246(1-2), 201-209.
- [148] Kramer, B., Thielmann, J., Hickisch, A., Muranyi, P., & al., 2015. *Antimicrobial activity of hop extracts against foodborne pathogens for meat applications*. J. Appl. Microbiol, 118: 648–657. doi:10.1111/jam.12717
- [149] Kuehnast K., Braun P.G. 2013. *Evaluation of antimicrobial activities of plant extracts on *Listeria monocytogenes* in manufactured red smear-ripened cheese*. J. Food. Saf. Food Qual. 64(6):168–74.
- [150] Buckwold V.E., Wilson R.J.H, Nalca A., Beer B.B., & al., 2004. *Antiviral activity of hop constituents against a series of DNA and RNA viruses*. Antiviral Research 61(1):57–62.
- [151] Yajima H., Ikeshima E., Shiraki M., Kanaya T., & al., 2004. *Isohumulones, bitter acids derived from hops, activate both peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma and reduce insulin resistance*. Journal of Biological Chemistry, 279(32) :33456-62.
- [152] Yajima H., Noguchi T., Ikeshima E., Shiraki M., & al., 2005. *Prevention of diet-induced obesity by dietary isomerized hop extract containing isohumulones, in rodents*. International Journal of Obesity 29(8), 991-997.
- [153] Community herbal monograph on *Humulus lupulus* L., flos EMA/HMPC/682384/2013.

- [154] Bernard B., 2011. *La vannerie sauvage, initiation*, édition de Terran, 216 p.
- [155] Estrada J.L., Gozalo F., Cecchini C., Casquette E., 2002. *Contact urticaria from hops (*Humulus lupulus*) in a patient with previous urticaria-angioedema from peanut, chestnut and banana*. Contact Dermatitis 46(2) :127.
- [156] Skórska C., Mackiewicz B., Góra A., Golec M., Dutkiewicz J., 2003. *Health effects of inhalation exposure to organic dust in hops farmers*. Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med, 58(1), 459-65.
- [157] Pauvros R., 1995. *Filière bière dans le Nord-Pas-de-Calais*. Agence Régionale du Développement Nord Pas-de-Calais, observation économique, N°1.
- [158] Image par Frozman sur Wikipedia français — Frozman, CC BY-SA 3.0, disponible sur <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=20697852> (Page consultée le 27/08/16).
- [159] Image par Henna — Taken by author at "Brewery De Cam", CC BY-SA 1.0, disponible sur <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=97672> (Page consultée le 27/08/16).
- [160] [www.ansm.sante.fr](http://www.ansm.sante.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [161] [www.arkopharma.fr](http://www.arkopharma.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [162] [www.naturactive.fr](http://www.naturactive.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [163] [www.sidnsante.com](http://www.sidnsante.com) (Page consultée le 30/08/16).
- [164] [www.atlantic-nature.fr](http://www.atlantic-nature.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [165] [www.biover.be](http://www.biover.be) (Page consultée le 30/08/16).
- [166] [www.herbesan.fr](http://www.herbesan.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [167] [www.valdispert.fr](http://www.valdispert.fr)(Page consultée le 30/08/16).
- [168] [www.granions.fr](http://www.granions.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [169] [www.omega-pharma.fr](http://www.omega-pharma.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [170] [www.laboratoires-dergam.com](http://www.laboratoires-dergam.com)(Page consultée le 30/08/16).
- [171] [www.superdiet.fr](http://www.superdiet.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [172] [www.nutriclem.com](http://www.nutriclem.com) (Page consultée le 30/08/16).
- [173] [www.ea-pharma.fr](http://www.ea-pharma.fr) (Page consultée le 30/08/16).
- [174] [www.codifra.fr](http://www.codifra.fr) (Page consultée le 30/08/16).

[175] [www.menophytea.com](http://www.menophytea.com) (Page consultée le 18/09/16).

[176] [www.menocia.com](http://www.menocia.com) (Page consultée le 18/09/16).

[177] [www.nurilia-sante.com](http://www.nurilia-sante.com) (Page consultée le 18/09/16).

[178] [www.inebios.eu](http://www.inebios.eu) (Page consultée le 18/09/16).

[179] [www.vitalco.fr](http://www.vitalco.fr) (Page consultée le 18/09/16).

[180] [www.pediakid.com](http://www.pediakid.com) (Page consultée le 18/09/16).



**Faculté des Sciences Pharmaceutiques  
et Biologiques de Lille**

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
☎ 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr/>



**DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE**

Nom et Prénom de l'étudiant : DESMIS EDOUARD ..... INE : 0995075645.M

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 

05	10	2016
jour	mois	année

 à 18 h 15 Amphithéâtre ou salle : PAULING .....

Avis du conseiller (directeur) de thèse

Nom : RUIERE .....

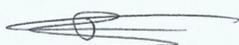
Prénom : Celine .....

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable : .....

Date : 06/09/2016

Signature: 

Avis du Président de Jury

Nom : SAHRAZ .....

Prénom : Sawsar .....

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable : .....

Date : 06/03/2016  
Signature: 

Décision de Monsieur le Doyen

Favorable

Défavorable

Le Doyen  
  
D. CUNY

NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

Université de Lille 2  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2015/2016

**Nom : Desmis**  
**Prénom : Edouard**

**Titre de la thèse : Le Houblon : Culture, phytochimie, et applications thérapeutiques actuelles**

**Mots-clés :** Houblon, phytochimie, indications, chalcones, flavanones, acides amers, huiles essentielles, plante médicinale, bière, production.

---

**Résumé :** Les inflorescences femelles d'*Humulus lupulus* L. (cônes) sont largement connues pour être utilisées en tant qu'agent d'amertume et aromatique dans l'industrie brassicole, et employées depuis les temps anciens en médecine traditionnelle pour traiter principalement les troubles du sommeil.

Cette activité sédative, grâce aux expérimentations actuelles a pu être confirmée par de nombreux tests réalisés *in vitro* et *in vivo* en laboratoire. Toutefois, en dehors de cette indication traditionnelle, et grâce à l'amélioration croissante des techniques d'investigation, les chercheurs sont parvenus à identifier un grand nombre d'autres constituants chimiques aux potentialités diverses. Les molécules les plus intéressantes sont le xanthohumol, flavanone prénylée connue pour ses propriétés anticancéreuses ou la 8-prénylnaringénine qui est l'un des phytoestrogènes les plus puissants isolés à l'heure actuelle.

L'objectif de ce travail a donc notamment pour but de mettre en parallèle l'usage traditionnel du houblon en tant que plante médicinale avec les données pharmacologiques actuelles et de découvrir son origine, ses caractéristiques botaniques, sa production, ses propriétés phytochimiques, et ses applications thérapeutiques actuelles. Enfin, quelques spécialités à base de plantes et compléments alimentaires commercialisés à l'officine y seront présentés.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Sahpaz Sevser, Professeur des universités, Laboratoire de pharmacognosie de la faculté de pharmacie de Lille 2.

**Assesseur (conseiller de thèse) :** Rivière Céline, Maître de conférences, Laboratoire de pharmacognosie de la faculté de pharmacie de Lille 2.

**Membre extérieur :** Dumortier Alain, Docteur en pharmacie, Lillers.