



*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA**

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

## Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

## MASTER

**FILIERE : Biologie**

**OPTION : Biochimie appliquée**

## Thème

# **Etudes phytochimiques et biologiques du *Fenouil* sauvage**

Présenté par :

AMAMRI Khaoula

CHEIKH Mokhtar

Soutenu le : 02/06/2016

Jury de soutenance

Président :	Mme. RAIS Lynda (M.A.A)	Univ. Abbès Laghrou -Khenchela-
Encadreur :	Mr. MAAMAR Hichem (M.A.B)	Univ. Abbès Laghrou -Khenchela-
Examineur:	Mr. ABBA Abd Errahman (M.A.A)	Univ. Abbès Laghrou -Khenchela-
Invité	Mr. Habibatini Soufiane (M.A.A)	Univ. Abbès Laghrou -Khenchela-

Année universitaire : 2015-2016

---

**Le travail a été réalisé au Laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie -KHENCHELA-**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*“Les obstacles sont ces choses effrayantes  
que vous apercevez lorsque vous  
détournez les yeux de vos objectifs”.*

**Henry Ford**

*“La plus grande erreur que vous puissiez  
faire, dans la vie, c’est d’avoir peur de  
faire des erreurs”.* **John Fitzgerald**

**Kennedy**

*“Il faut viser la lune, parce qu’au moins, si  
vous échouez, vous finirez dans les  
étoiles”.* **Oscar Wilde**

# Remerciements

*Louange à Allah, nous Le glorifions, Lui demandons aide et invoquons Son pardon contre le mal de nos péchés, celui qui fut guidé personne ne peut l'égarer et celui qui est égaré personne ne peut le guider.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères gratitudee à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements vont en premier lieu à nos directeurs de Mémoire :*

***Mr. HABIBATNI SOFIANE**, pour avoir initié ce travail et pour son aide Inestimable dont on a bénéficié ; nous avons pu apprécier ses compétences professionnelles mais aussi ses qualités humaines. Bien qu'il soit malade, il a toujours su être présent, il nous a soutenu, encadré tout au long de cette mémoire, dans les bons moments, comme dans les périodes de découragement.*

***Mr. Maamar Hicham** pour nous avoir si bien nous encadrés lors de ce travail. Sincères remerciements pour les encouragements, les conseils et les suggestions tant scientifiques que techniques dont nous avons bénéficié lors de la réalisation de cette étude.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements aux membres de jury qu'ils ont accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et de participer au jury de notre soutenance. Aussi nous leur suis reconnaissant d'avoir accordé de leurs temps.*

*Au sein du laboratoire d'université de Khenchela, nous avons pu rencontrer de très nombreuses personnes qui nous ont apportés une aide considérable et nous les en remercions : enseignants, ingénieurs, techniciens et administrateurs, qui nous ont aidés, guidé et encouragé, que nous ne saurions assez remercier pour tout ce qu'ils ont fait.*

*Nous remercions également, **Mr. Boussaa** et **Mr. Zeriab** et **Mr. Falous** enseignants à l'université de Khenchela, qu'il trouve ici nos vifs remerciements et nos gratitudee pour ses aides si précieuses et pour ses encouragements tout le long de nos parcours.*

*Nos gratitudee vont également à tous nos amis(es) qui nous ont aidées par leur présence et leur amitié, particulièrement, Ghania, Wafaa, Meriem, Dalila, Rima, Dounia, Khalida et Zouhra.*

*Enfin, ne pouvant citer tous ceux et celles qui nous ont été d'un apport petit ou grand, nous leur adressons nos remerciements les plus sincères.*



# *Dédicace*

*À mes chers parents*

*À toute ma famille*

*À mes amis et mes collègues*

*À tous ceux qui aiment la science*

***Khawla & Mokhtar***

## ***Résumé***

Le fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare* Mill. Var. *sauvage*) est une plante aromatique et médicinale utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, elle est reconnue par leur vertu thérapeutique. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des composées présentes dans l'extrait méthanolique de cette plante, et une évaluation de ses activités antioxydante, antibactérienne et antipyrétique. Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des triterpènes, des composés phénoliques, des coumarines, des anthraquinones et des alcaloïdes.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait a révélé des teneurs **146,53 ± 0.81 mgEAG, 44,57 ± 0,04 mg EQ / g E** respectivement.

L'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée par la technique de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait peut agir en tant que piègeur de radicaux.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* a une activité inhibitrice sur toutes les bactéries testées.

L'étude de l'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique de fenouil sauvage sur l'hyperthermie induite chez les rats par la levure de bière a révélé les propriétés antipyrétiques de cet extrait, la dose 400mg/Kg a des effets similaire à celle d'aspirine a la dose 100mg/kg après 4h, tandis que la dose 200mg/kg et un peu plus efficace que celle de 400mg/kg.

Les résultats obtenus justifient l'utilisation traditionnelle de cette plante.

**Mots clés :** Fenouil sauvage, polyphénols, l'activité antibactérienne, activité antipyrétique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

## ملخص

الشمر البري (*Feoniculum vulgare Mill. Var. sauvage*) هو نبات عطري والطبية المستخدمة منذ القدم في الطب التقليدي، ومعروف بخصائصه العلاجية. يركز هذا العمل على دراسة المكونات الكيميائية والخصائص البيولوجية لمستخرج الميثانول لهذه النبتة، وتقييم نشاطه المضاد للأكسدة، و الجراثيم وكذا خافض للحرارة. وقد ساعد الفحص النوعي الكيميائي لها النبات على تأكيد وجود العفص والفلافونيدات، التربينات، المركبات الفينولية، الكومارين، انثراكوينونيس وقلويدات.

وقد أمكن التحليل الكمي للبوليفينول والفلافونويد في مستخرج الميثانول من تحديد الكميات التالي:  $0,04 \pm 44,57$  ما يعادل ملليغرام حمض الغال / غرام استخراج للفلافونويد ,  $0,81 \pm 146,53$  ما يعادل مليغرام كيرسيتين / غرام استخراج للبوليفينول.

تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة في المختبر عن طريق تقنية الحد من الجذور الحرة بواسطة المركب DPPH . وأظهرت النتائج أن المستخرج الميثانول لهذه النبتة يمتلك خاصية حبس الجذور.

وقد تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا على خمسة السلالات البكتيرية، وفقا لطريقة الانتشار القرصي. وتشير النتائج إلى أن المستخلص الميثانول لهذه النبتة لديه نشاط كاجح على جميع البكتيريا المستعمل.

كما أن دراسة النشاط خافض للحرارة للمستخلص الميثانول على ارتفاع الحرارة الفرنان عن طريق حقن الخميرة أظهر خصائص خافض للحرارة لهذا المستخرج، ويعد تأثير الجرعة 400مغ/ كغ لهذا المستخرج مماثلة لجرعة الأسبرين 100مغ / كغ بعد 4 ساعات، في حين أن تأثير الجرعة 200مغ / كغ، قليلا أكثر فعالية من 400مغ / كغ. هذه النتائج تبرر الاستخدام التقليدي لهذه النبتة.

**كلمات البحث:** الشمر البري (*Feoniculum vulgare sauvage*)، بوليفينول، مضاد للجراثيم، النشاط خافض للحرارة، النشاط المضادة للبكتيريا، النشاط المضادة للأكسدة.

## ***Abstract***

Fennel (*Foeniculum vulgare Mill*) is an important, well-known aromatic and medicinal herb. Used since the antiquity in traditional medicine, recognized by their therapeutic virtue. In this context, the present work concerns a phytochemistry study of the majority of composition contained in these plant, and an evaluation of their antioxidant, antipyretic and antibacterial activities.

Phytochemical screening revealed the presence of triterpenes and flavonoids, coumarins, tannins, antraquinones, phenolic compounds, and alkaloids.

The determination of total polyphenols and flavonoids contents in the extract revealed  $146.53 \pm 0.81$  mgEAG contents for polyphenols and  $44.57 \pm 0.04$  mg EQ / g E for flavonoids.

The antioxidant activity in vitro was been studied by the reduction technique of free radical DPPH. The results showed that the extract possesses an anti-radical activity (radical scavenger).

The antibacterial activity was determined on the five bacterial strains, according to the disc diffusion method. The results indicate that the methanol extract of *Foeniculum vulgare* has an inhibitory activity on all tested bacteria.

The study of antipyretic activity on methanol extract of *Foeniculum vulgare* induced hyperthermia in rats by the yeast showed the antipyretic properties of this extract, the dose 400mg / Kg has similar effects to that of aspirin has the dose 100mg / kg after 4 h, while the dose 200mg / kg and a bit more effective than 400mg / kg.

The results justify the traditional use of this herb.

**Keyword:** Fennel savage, polyphenols, antibacterial, antipyretic activity, antimicrobial activity, antioxidant activity.

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des annexes

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale .....1

## Partie I : Etudes bibliographiques

### Chapitre I : Généralité sur la plante étudiée

1. Généralités.....	3
2. Description morphologique .....	3
3. Classification botanique .....	4
4. Origine et répartition géographique.....	6
5. Propriétés thérapeutiques et domaine d'utilisation.....	6
5.1. Plante entière .....	7
5.2. Huile essentielle.....	8
a) Extraction et rendement .....	9
b) Composition chimique.....	10
c) Utilisation.....	11

### Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Composés phénoliques .....	12
1.1. Classification des polyphénols .....	12
1.1.1. Polyphénols simples.....	12
1.1.1.1. Acides phénoliques .....	12
1.1.1.2. Coumarines .....	14
1.1.1.2.1. Classification.....	14
1.1.1.2.2. Intérêt des coumarines .....	14

1.1.1.3. Les flavonoïdes .....	15
1.1.1.3.1. Structure chimique et classification des flavonoïdes .....	15
a) Les flavones .....	16
b) Les flavonols.....	16
c) Les flavanones.....	17
d) Les flavanols.....	17
e) Les chalcones .....	17
f) Les anthocyanidines.....	18
1.1.1.3.2. Biosynthèse des flavonoïdes .....	18
1.1.1.3.3. Localisation, distribution et biodisponibilité des flavonoïdes ....	20
1.1.1.3.4. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des flavonoïdes .....	20
a) Activité anti-inflammatoire des flavonoïdes.....	20
b) Flavonoïdes comme inhibiteurs enzymatiques .....	21
c) Flavonoïdes et les maladies cardiovasculaires .....	21
d) Propriétés antiradicalaires .....	21
e) Effet anticancéreux des flavonoïdes .....	23
f) Propriétés chélatrices des ions métalliques.....	23
g) Autres propriétés .....	24
1.1.2. Polyphénols complexes.....	25
1.1.2.1. Tanins .....	25
1.1.2.1.1. Classification des tanins.....	25
a) Tanins hydrolysables .....	25
b) Tanins condensés.....	25
1.1.2.1.2. Fonctions des tanins .....	26
2. Les saponosides .....	26

2.1. Propriétés biologiques des saponosides .....	26
3. Les Alcaloïdes .....	26
3.1. Propriétés biologiques des alcaloïdes.....	27
4. Les Terpenoïdes .....	27
4.1. Structure .....	27
4.2. Classification.....	28
4.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des terpenoides .....	28

### Chapitre III : Les activités biologiques étudiées

1. Activité antioxydant .....	29
1.1. Généralité.....	29
1.2. Définition du radical libre .....	29
1.3. Oxygène et espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	29
1.4. Conséquence du stress oxydatif.....	32
1.5. Les antioxydants .....	32
1.6. Les sources d'antioxydants .....	32
a) Les médicaments .....	33
b) L'alimentation.....	33
1. Les antioxydants naturels .....	33
1.7. Mécanismes d'actions des antioxydants .....	34
2. Activité antimicrobienne.....	34
2.1. Généralités.....	34
2.2. Culture des bactéries.....	34
2.3. Les antibiotiques .....	34
□ Classification des antibiotiques.....	35
2.4. Les actifs antibactériens.....	35
2.5. Description des bactéries utilisées .....	35

a) <i>Escherichia coli</i> .....	35
b) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	36
c) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	36
d) <i>Klebsiela oxytoca</i> .....	36
e) <i>Bacillus subtilus</i> .....	36
3. Activité anti pyrétique .....	37
3.1. L’hyperthermie et fièvre .....	37
3.2. Les antipyrétiques .....	37

## Partie II : Etude pratique

### Chapitre I : Matériels & Méthodes

I. Matériels utilisées.....	38
1. Matériel biologique (Echantillonnage).....	38
1.1. Matériel végétal.....	38
1.2. Les souches bactériennes testées.....	38
1.3. Matériel animale.....	38
2. Réactifs chimiques et instrumentations .....	III
II. Méthodes.....	39
1. Extraction .....	39
2. Détermination du rendement .....	40
3. Etude phytochimique de l’extrait .....	40
3.1. Analyses qualitatives .....	40
3.1.1. Essais de caractérisation en tube (Screening phytochimique).....	40
a) Recherche des Polyphénols.....	40
b) Recherche des Flavonoïdes .....	41
c) Recherche des Coumarines .....	41
d) Recherche des Tanins .....	41

e) Recherche des Anthraquinones .....	41
f) Recherche des Anthocyanines .....	41
g) Recherche des Saponosides.....	41
h) Recherche des Terpenoides.....	42
i) Recherche des Alcaloïdes .....	42
3.1.2. Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM) .....	42
3.1.2.1. Principe .....	42
3.1.2.2. Mode opératoire : .....	42
3.1.2.3. Révélation des plaques sous UV .....	43
3.1.2.4. Calcule du rapport frontal (Rf) .....	43
3.2. Analyses quantitatives.....	44
3.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	44
a. Principe .....	44
b. Mode opératoire.....	44
3.2.2. Dosage des flavonoïdes .....	44
a. Principe .....	44
b. Mode opératoire .....	44
4. Etude des activités biologiques .....	45
4.1. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire (test <i>in vitro</i> ).....	45
4.1.1. Le protocole expérimental.....	45
4.2. Etude de l'activité antibactérienne .....	45
4.2.1. Méthode d'évaluation (méthodes des disques) .....	45
4.2.2. Préparation de la suspension des souches de référence.....	46
4.2.3. Ensemencement .....	46
4.2.4. Application des disques.....	46
4.2.5. Lecture.....	47

4.2.6. Expressions des résultats .....	47
4.3. Etude de l'activité antipyrétique .....	47
5. Etude statistique .....	48
Chapitre II : Résultats & Discussion	
1. Résultat de l'Etude phytochimique .....	49
1.1. Extraction et calcul du rendement .....	49
1.2. Analyses qualitatives .....	49
1.2.1. Essais de caractérisation en tube (Screening phytochimique).....	49
1.2.2. Chromatographie sur couche mince .....	50
1.3. Analyse quantitative .....	53
1.3.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes : .....	53
2. Résultats des tests biologiques.....	54
2.1. Activité anti-oxydante par la méthode de DPPH.....	54
□ Détermination d'IC50 .....	57
2.2. Activité antibactérienne .....	57
2.3. Activité antipyrétique .....	60
Conclusion générale & Perspectives .....	63
Références bibliographiques	
Les annexes	

## Liste des abréviations

<b>%</b> : le pourcentage ;	<b>M</b> : Molaire ;
<b>°C</b> : Degré Celsius ;	<b>mg</b> : Milligramme ;
<b>AAS</b> : Acide Acétylsalicylique ;	<b>ml</b> : Millilitre ;
<b>AlCl<sub>3</sub></b> : Trichlorure d'Aluminium ;	<b>mm</b> : millimètre ;
<b>AMPC</b> : Adénosine monophosphate cyclique	<b>mn</b> : Minute ;
<b>ANOVA</b> : Analyse de variance ;	<b>Na Cl</b> : chlorure de sodium ;
<b>ATCC</b> : American Type Culture Collection ;	<b>NADH</b> : Nicotinamide adénine dinucléotide ;
<b>CCM</b> : Chromatographie sur couche mince ;	<b>NaOH</b> : Hydroxyde du sodium ;
<b>CH<sub>3</sub>-OH ou MeOH</b> : methanol;	<b>NH<sub>4</sub>OH</b> : hydroxyde d'ammonium ;
<b>CHCl<sub>3</sub></b> : chloroforme ;	<b>nm</b> : nanomètre ;
<b>cm</b> : Centimètre ;	<b>NO</b> : Monoxyde d'azote ;
<b>CO</b> : Cyclooxygénase ;	<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b> : Radical superoxide;
<b>Da</b> : Dalton ;	<b>OH<sup>-</sup></b> : Radical hydroxyl;
<b>DMSO</b> : Diméthylsulfoxyde	<b>ONOO<sup>-</sup></b> : Peroxynitrite;
<b>DPPH</b> : diphénylpicryl-hydrazyl ;	<b>ONOOH</b> : Acide du peroxynitrite;
<b>EM</b> : Extrait méthanolique ;	<b>PGE</b> : prostaglandine ;
<b>ERO</b> : Espèces Réactives de l'Oxygène ;	<b>R</b> : Rendement d'extraction % ;
<b>FeCl<sub>3</sub></b> : chlorure de fer ;	<b>Rf</b> : Rapport frontal ;
<b>FLO•</b> : radical flavoxyle ;	<b>SD</b> : Déviation standard ou écart type ;
<b>FV</b> : Foeniculum vulgare;	<b>Subsp. ou ssp</b> : Sous-espèce ;
<b>g</b> : Gramme	<b>Syn.</b> : Synonyme ;
<b>H ou h</b> : heure	<b>Kg</b> : Kilogramme ;
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> : Peroxyde d'Hydrogène ;	<b>T°</b> : Température ;
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> : Acide sulfurique ;	<b>TNF-α</b> : Facteur de nécrose tumorale ;
<b>HCl</b> : Acide chlorhydrique ;	<b>UV</b> : Ultraviolet ;
<b>I %</b> : pourcentage d'inhibition ;	<b>V/V</b> : Volume/ Volume ;
<b>IC<sub>50</sub></b> : concentration inhibitrice 50 % ;	<b>Var.</b> : Variété ;
<b>Ip</b> : Intra-péritonéale ;	<b>µg</b> : microgramme ;
<b>KOH</b> : Hydroxyde de potassium (potasse) ;	<b>µl</b> : microlitre ;
<b>LO</b> : Lipooxygénase ;	<b>µm</b> : micromètre.

## **Liste des annexes**

Annexe I : Résultats de l'activité antipyrétique.....	I
Annexe II : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique et de quercitine.....	II
Annexe III : Réactifs chimiques et instrumentations.....	III
Annexe IV : Photos du matériel animale et végétale utilisé.....	IV

## Liste des figures

Figure 1 : Foeniculum-vulgare- adulte de jardin botanique ( <a href="http://fr.wikipedia.org">fr.wikipedia.org</a> , 2016).....	4
Figure 2 : Une ombelle séchée ( <a href="http://fr.wikipedia.org">fr.wikipedia.org</a> , 2016). .....	4
Figure 3 : Fleur de fenouil sauvage ( <a href="http://fr.wikipedia.org">fr.wikipedia.org</a> , 2016). .....	4
Figure 4 : Fenouil d'âne ( <a href="http://www.lepage-vivaces.com">www.lepage-vivaces.com</a> , 2016).....	5
Figure 5 : fenouil doux ( <a href="http://www.ecoaldea.com">www.ecoaldea.com</a> , 2016). .....	5
Figure 6 : Structure chimique du trans-anethole (a), de l'estragole (b) et du fenchone(c) ( <a href="#">Vienna et al., 2005</a> ). .....	11
Figure 7 : Structure chimique des acides hydroxybenzoïques ( <a href="#">Bruneton, 2008</a> ). .....	13
Figure 8 : Structure chimique des acides hydroxy cinnamiques ( <a href="#">Han et al., 2007</a> ).....	13
Figure 9 : Définition des différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane ( <a href="#">Bouzid, 2009</a> ). .....	15
Figure 10 : Structure de base des flavones ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ).....	16
Figure 11 : Structure de base des flavonols ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ). .....	16
Figure 12 : Structure de base des flavanones ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ).....	17
Figure 13 : structure de base des flavonols ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ). .....	17
Figure 14 : Structure de base des chalcones ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ).....	18
Figure 15 : Structure de base des anthocyanidines ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ).....	18
Figure 16 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes ( <a href="#">Remesy et al., 1996</a> ). .....	19
Figure 17 : L'étape clé de la formation des flavonoïdes ( <a href="#">Bruneton, 1999</a> ).....	19
Figure 18 : piégeage des espèces réactives de l'oxygène (R.) par les flavonoïdes et la formation d'une structure stable ( <a href="#">Tiqwari, 2001</a> ). .....	22
Figure 19 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydant des flavonoïdes ( <a href="#">Marfak, 2003</a> ).22	
Figure 20 : Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes ( <a href="#">Marfak, 2003</a> )...23	
Figure 21 : Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me <sup>+n</sup> ).....24	
Figure 22 : La molécule d'isoprène ( <a href="#">Loomis et Croteau, 1980</a> ). .....	28
Figure 23 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants. ....	29
Figure 24 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie ( <a href="#">Favier, 2003</a> ). .....	30
Figure 25 : Dommages causés par les ERO au niveau de l'ADN.....	32
Figure 26 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires. ( <a href="#">Tadeg et al., 2005</a> ). .....	39

Figure 27 : Photos des chromatogrammes sous lampe UV à 365 nm résultant de l'analyse de l'extrait méthanolique par CCM. ....	51
Figure 28 : Dosage des polyphénols totaux avec le réactif de Folin-Ciocalteu. ....	54
Figure 29 : Variations des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes. ....	55
Figure 30 : Décoloration de la solution du DPPH du violet en jaune en fonction de la concentration. ....	56
Figure 31 : Variations des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes. ....	56
Figure 32 : L'activité antibactérienne de l'EM de <i>Foeniculum</i> v exprimé en diamètres des zones d'inhibition (mm).....	59
Figure 33 : Evolution de la température rectale en fonction du temps.....	61

## Liste des tableaux

Tableau I : Classification de fenouil établie en 1980 par Lawrence, et actualisée en 1998 par Vogel et Angermann ( <b>Vogel et Angermann, 1998</b> ).....	6
Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques de l’huile essentielle de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill ( <b>Garnéro, 1996</b> ).....	10
Tableau III : Principaux types de coumarines ( <b>Macheix et al., 2005</b> ).....	14
Tableau IV : Systèmes de solvants d’analyse pour la CCM.....	43
Tableau V : Caractéristiques de l’extrait méthanolique de <i>Foeniculum vulgare</i> . ....	49
Tableau VI : Résultat d'essais de caractérisation en tube. ....	50
Tableau VII : Résultats de CCM avec les différents solvants utilisés.....	51
Tableau VIII : Résultats du dosage des Polyphénols totaux et des flavonoïdes. ....	53
Tableau IX : Les moyennes des deux mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs moyennes des deux pourcentages d’inhibition. ....	55
Tableau X : Résultats de l'activité antibactériennes de l’extrait méthanolique de <i>foeniculum vulgare</i> sauvage et le contrôle positif. ....	58
Tableau XI : Résultats de l'activité antipyrétique.....	61

# **Introduction générale**

### Introduction générale :

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques remonte depuis l'apparition de l'homme face aux différentes adversités de la nature. Au cours des millénaires, les connaissances de l'homme sur les plantes médicinales se sont constamment étendues et approfondies d'une civilisation à l'autre. De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies.

La phytothérapie, a constitué l'essentiel de l'arsenal thérapeutique (**Attisso, 1979**).

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides sous l'action des radicaux libres de l'oxygène (ROS) conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables. De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal conduit à l'apparition de souches bactériennes résistantes (**Mau et al., 2004**).

La médecine classique connaît aussi des échecs, l'affaire de la thalidomide en est un exemple dramatique. En 1962, en Allemagne et en Grande-Bretagne, 3000 enfants, dont les mères avaient pris des sédatifs durant leur grossesse, naissent avec des difformités. En effet, on se rend compte, brusquement, qu'un traitement à base de médicaments sophistiqués peut engendrer des effets secondaires catastrophiques. Ceci s'applique aussi aux plantes, car si ces dernières sont faciles à utiliser, certaines d'entre elles provoquent également des effets secondaires. Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités. (**Verdrager, 1978 ; Fernandez, 2003**).

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis l'antiquité pour la conservation et leurs propriétés médicinales, et pour donner l'arôme et la saveur aux aliments (**Edris, 2007**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Yano et al., 2006**). Récemment, l'attention s'est portée sur les

herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (Mata *et al.*, 2007).

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation.

Beaucoup d'études se sont intéressées à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle, c'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité biologique de la plante *Foeniculum vulgare* sauvage, qui est une plante appartenant à la famille des ombellifères (Apiaceae), connu et utilisé par l'homme depuis l'antiquité.

L'objectif de notre travail vise à déterminer la composition chimique de notre plante en métabolites secondaire (polyphénols, flavonoïdes...) et d'évaluer leurs propriétés biologiques. Pour cela notre étude englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction et la quantification des composés phénoliques, La second est consacré à une évaluation des activités biologiques ; antioxydante vis-à-vis du radical libre DPPH, antipyrétique et antibactérienne afin de déterminer ou confirmé l'efficacité et les propriétés de notre plantes.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties :

- La première partie qui représente une mise au point d'une synthèse bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude de la plante d'intérêt ; sa description son intérêt pharmacologique ainsi l'état de recherché sur cette plante. Le second chapitre traite les métabolites secondaires ou principe active de plantes, et enfin le 3<sup>ème</sup> chapitre qui décrit les activités biologiques qu'on va étudier par cette plante.
- Dans la seconde partie (pratique), qui renferme deux chapitres. Dans le premier chapitre décrit en détail le matériel (végétal, animale, appareil...) utilisé et les techniques et procédés (extraction, criblage chimique, dosage...) suivit pour l'étude biologique du fenouil. Le deuxième chapitre renferme les principaux résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

# **Partie I : Etudes bibliographiques**

# **Chapitre I :**

# **Généralités sur la**

# **plante étudiée**

## 1. Généralités

*Foeniculum vulgare* Mill, var. sauvage, généralement connue sous le nom de fenouil sauvage, est une plante aromatique méditerranéenne bien connue, avec une grande histoire d'utilisations médicinale et culinaire (**Hendawy et al., 2010**), et une des principales sources d'anéthole, principe des boissons anisées (**Desmarest, 1978 ; Hunault et al., 1988**).

Le nom de *Foeniculum* a été donné à cette plante par les Romains et est dérivé du mot latin *FENICULOS* qui signifie petit foin en raison de l'aspect linéaire de ses feuille et de son odeur aromatique (**Garnier, 1961 ; Verdon, 2002**).

Elle était bien connu aux anciens et a été cultivée par les Romains antiques pour ses graines aromatiques (**Vienna et al., 2005**). Le fenouil est communément appelé "besbes " par les populations locales. Ses huiles essentielles sont très utilisées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et également alimentaires (**Lazouni et al., 2007**).

## 2. Description morphologique

Le fenouil sauvage est une plante le plus souvent vivace (parfois bisannuelle), avec une racine fusiforme allongée de la taille d'un doigt, une tige arrondie, verte, dressée (0,5 à 2 m), souple et rameuse, qui porte des fleurs jaunes de petite taille pendant l'été, les fruits (akènes) deviennent bruns à maturité (**Volak et Stodola, 1998 ; Vienna et al., 2005 ; Kaur et Arora, 2010**). Elle fait partie de la même famille végétale que l'aneth, l'angélique, le persil, la carotte ou la ciguë qui se caractérise par son inflorescence en ombelle (**Murdock, 2002**).

Les feuilles alternes, vert à bleu-vert, ont un pétiole très engainant qui entoure la tige, elles sont finement divisées en un grand nombre des segments finaux filiformes (**Wichtl et Anton, 1999 ; Vienna et al., 2005**).

Les fleurs sont produites dans les ombelles, composés terminaux de 5-15cm de largeur, chaque section d'une ombelle contient 20-50 fleurs jaunes claires minuscules sur des courts pédicules, apparaissent de juillet à septembre (**Stefanini et al., 2006a**).

Les graines de fenouil sont variées infiniment en longueur, largeur, goût et d'autres caractères. En général, Elles ont une forme presque cylindrique avec une base arrondie et un sommet plus étroit couronnés avec un grand stylopode. Ce sont généralement de 3-12mm de longueur et de 3 à 4mm de largeur (**Vienna et al., 2005**) avec une odeur forte et douce et sont vert bleu d'abord au début, puis, elles se transforment en brun verdâtre quand elles sont mûris (**Bruton, 1999 ; Kaur et Arora, 2010**).

Toute la plante, quand on la froisse, et les fruits, dégagent une odeur anisée agréable, parfois un peu camphrée dans les variétés amères. Le fenouil se cultive facilement, il est répandu dans le monde entier même dans les pays froids où il est annuel.



Figure 1 : *Foeniculum-vulgare-* adulte de jardin botanique ([fr.wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org), 2016).



Figure 2 : Une ombelle séchée ([fr.wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org), 2016).



Figure 3 : Fleur de fenouil sauvage ([fr.wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org), 2016).

### 3. Classification botanique

*Foeniculum vulgare* Mill. (Syn. *Anethum foeniculum* L, et *Foeniculum officinale*) appartient à la famille d'Apiaceae (ou Umbellifères), cette dernière est considérée l'une des familles riche en huiles essentielles (Amimar *et al.*, 2001 ; Olle et Bender, 2010), le genre *Foeniculum* est très polymorphe et représenté seulement par cette espèce qui se divise en deux sous-espèces :

➤ **La sous-espèce piperitum (ou fenouil d'âne) :**

Elle est non cultivée et caractérisée par des segments glauques généralement courts et charnus ; et par l'essence des fruits principalement constituée de monoterpènes (Nahrsted et Butterweck, 1997).

➤ **La sous-espèce vulgare (Badoc *et al.*, 1995 ; Vienna *et al.*, 2005 ; EFSA, 2009) :** *Foeniculum vulgare* Mill. (subsp. Vulgare) est formée de trois variétés :

- ❖ **var. vulgare (fenouil amer, commun, sauvage ou médicinal) :** correspondant à des fenouils sauvages ou cultivés pour l'obtention du (E)-anéthol ; principe des boissons anisées, présentant des pétioles verts qui partent de la base des bulbes ainsi que des feuilles très découpées à leur extrémité.
- ❖ **var. dulce (fenouil doux) :** a des fruits de gout plus agréable. Il présente des feuilles vertes et sa partie bulbeuse est plus renflée que celle du fenouil amer. En revanche, le fenouil doux développe des graines très aromatiques et légèrement sucrées.
- ❖ **var. azoricum (fenouil bulbeux) :** se caractérise par le renflement des gaines des feuilles inférieures. Il est cultivé comme légume et non comme épice. Le fruit de cette variété mesure plus de 10cm et pèse jusqu'à 400g, il est formé par les feuilles basales qui ont grandi les unes avec les autres. (Amimar *et al.*, 2001 ; Vienna *et al.*, 2005 ; Kothe, 2008).



Figure 5 : fenouil doux  
([www.ecoaldea.com](http://www.ecoaldea.com), 2016).



Figure 4 : Fenouil d'âne  
([www.lepage-vivaces.com](http://www.lepage-vivaces.com), 2016).

Tandis que les deux variétés de fenouil présentées précédemment sont des plantes de jardin appréciées, le fenouil commun pousse également à l'état sauvage. On n'utilise en général que les graines de cette variété (Kothe, 2008).

Le fenouil était dans un premier temps rattaché au genre *anethum* puis séparé par De Candolle et placé dans un nouveau genre dénommé *Foeniculum*, genre adopté par l'ensemble des botanistes. Au moyen âge, la plante était connue sous le nom « fanculum » qui a donné naissance à son nom populaire alternatif « fenkel » (Middleton *et al.*, 2000).

La taxonomie du fenouil est représentée dans le tableau I :

Tableau I : Classification de fenouil établie en 1980 par Lawrence, et actualisée en 1998 par Vogel et Angermann (**Vogel et Angermann, 1998**).

Classification	
<b>Super règne</b>	<i>Eucaryote</i>
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta (plante vasculaires)</i>
<b>Phylum</b>	<i>spermatophyta (Plante a graines)</i>
<b>Sous-phylum :</b>	<i>Magnoliophyta Angiospermea (plantes à fleurs)</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida dicotiledone</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Apiales ombellales</i>
<b>Famille</b>	<i>Apiaceae ombellifères</i>
<b>Sous famille</b>	<i>apioidées (apioideae)</i>
<b>Genre</b>	<i>Foeniculum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Vulgare</i>
<b>Genre espèce</b>	<i>Foeniculum Vulgare</i>

#### 4. Origine et répartition géographique

Le fenouil vulgaire sauvage, celui qu'on rencontre dans toute la partie tempérée et chaude de l'Europe au bord des routes, des chemins, dans les remblais, les zones incultes et rocailleuses, les friches, assez souvent près de la mer, elle fait partie de la même famille végétale que l'aneth, l'angélique, le persil, la carotte ou la ciguë qui se caractérise par son inflorescence en ombelle (**Singh et al., 2006 ; EFSA, 2009 ; Aprotosoiaie et al., 2010**).

Elle est originaire de l'est du bassin méditerranéen et de Caucasic (**Marotti et Dellacecca, 1993 ; Vienna et al., 2005 ; Zahid et al., 2009 ; Aprotosoiaie et al., 2010**) ou elle pousse à l'état spontané dans les champs et sur les collines, Il s'adapte bien aux sols calcaires, argileux et pas trop secs. Elle est de nos jours, en Asie, dans certaines régions d'Afrique et en Amérique, elle est surtout cultivée à des fins médicinales (**Pauze-Shirey, 2002**).

Le fenouil est également trouvé aujourd'hui en Iran, Inde, Indonésie, Pakistan, Japon et en Chine. Il est cultivé à large échelle en Egypte, Inde, Chine, Australie et en Europe en France, l'Allemagne, la Hongrie et la Pologne (**Garnéro, 1996 ; Vienna et al., 2005 ; Zahid et al., 2009**). En Algérie, il est rencontré couramment aux bords des oueds et des chemins et s'adapte bien aux sols argileux.

#### 5. Propriétés thérapeutiques et domaine d'utilisation

Fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare*) est une plante annuelle, bisannuelle ou vivace, selon la variété, elle est originaire de la région méditerranéenne (**Piccaglia et Marotti, 2001**).

Le fenouil est connu depuis l'antiquité, comme plante médicinale et aromatique, communément utilisé pour les liqueurs de saveur, pains, poissons, salades et fromages (**Garcia-Jiménez et al., 2000**). Les propriétés du fenouil sont en générale analogues à celles de l'anis, du carvi et de la coriandre (**Valnet, 1984**).

Néanmoins, certaines propriétés sont attribuées à la plante entière, alors que d'autres sont attribuées à son huile essentielle :

### 5.1. Plante entière

Comme il a été signalé précédemment, le fenouil est une plante médicinale de la plus haute antiquité. Anciennement, elle était utilisée pour traiter l'indigestion, les troubles gastriques et les coliques. On lui attribuait également une action dans le traitement des maladies des yeux, de la goutte et pour la stimulation de l'écoulement du lait maternel (**Valnet, 1984 ; Girre, 1985**).

Actuellement, le fenouil est encore utilisé en médecine populaire pour ses effets, carminatifs (**Kothe, 2008 ; Zahid et al., 2009**), antispasmodiques, expectorants, laxatifs, stimulants l'appétit, stomachiques et diurétiques (**Simon et al., 1984 ; Chiei, 1984 ; Charles, 1993 ; Stefanini et al., 2006b ; Ebeed et al., 2010**).

Les propriétés analgésiques, anti-diarrhéiques, antispasmodiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires ont été également rapportées par plusieurs auteurs (**Tanira et al., 1996 ; Stefanini et al., 2006b ; Kothe, 2008 ; Pradhan et al., 2008**).

Les tisanes au fenouil sont indiquées pour le traitement des bronchites, des angines et du rhume. Elles sont parfois utilisées contre la rage des dents (**Wichtl et Anton, 1999**).

Les racines en décoction se révèlent excellentes contre les règles douloureuses (**Borel, 1997**) et facilitent les fonctions d'éliminations rénales et digestives et traitent les diarrhées douloureuses (**Bruneton, 1987**). Les racines sont réputées diurétiques et digestives (**Bruneton, 1993**).

Dans l'Antiquité, la propriété la plus réputée du fenouil était l'activité du suc dans les affections oculaires (**Ducourthial, 2003**). Une fiche d'utilisation thérapeutique est établie par Caudron et al. (1998). Par ailleurs, l'effet diurétique et hypotensif des extraits aqueux du FVM a été confirmé par une étude récente menée sur des rats hypertendus en 2001 (**El-Baradai et al., 2001**).

**Karnick (1994)** a montré l'effet bénéfique du fenouil contre la colique chez l'enfant en bas âge et l'explique par la présence de l'anéthole dont la structure chimique est semblable à celle d'un produit chimique naturellement présent dans le corps humain appelé « dopamine » et connu pour avoir une action de détente sur l'intestin.

L'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* présente des effets inhibiteurs contre les maladies inflammatoires aiguës et subaiguës et les réactions allergiques de type IV et a montré un effet analgésique central (Choi et Hwang, 2004).

L'action de l'extrait des graines de fenouil administré oralement provoque une augmentation du volume de la glande mammaire et une stimulation de sécrétion de lait chez la ratte (Malini et al., 1985). Les graines sèches de fenouil ont un goût aromatique et sont utilisées pour assaisonnement des potages et des sauces (Hendawy et al., 2010). Elles sont utilisées aussi pour assaisonner du pain, poisson, salade, fromage et pour la fabrication des conserves au vinaigre (Vienna et al., 2005 ; Zahid et al., 2009).

Beaucoup de travail ont récemment étudié le rendement et la composition des graines de fenouil (Katsiotis, 1988 ; Verghese, 1988 ; Arslan et al., 1989 ; Lawrence, 1989, 1992 ; Betts, 1992 ; Cavaleiro et al., 1993 ; Piccaglia et Marotti, 1993). En outre, l'influence des épices sur l'utilisation des protéines (Pradeep et Geervani, 1994), enquête microbiologique (Satchell et al., 1989), les effets des métabolites fongiques sur la germination (Sharma et Sharma, 1983), l'effet des traitements d'engrais sur le rendement (Abdallah et al., 1978) et la réactivité immunitaire (Schwartz et al., 1997) ont été testé. Aussi, l'effet de l'extrait de graines de fenouil sur les organes génitaux des rats mâles et femelles est étudié (Malini et al., 1985).

La médecine vétérinaire utilise fréquemment les fruits de fenouil comme arôme pour certaines pâtes médicamenteuses, pour augmenter les sécrétions lactées, calmer les coliques et pour stimuler l'appétit chez les bêtes (Bezanger, 1975).

Il est à noter que le fenouil sert à parfumer les mets comme le poisson, les omelettes et les olives (Bianchi et Corbetta, 1975) et est utilisé dans les industries pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires (Formacek et Kubbeczka, 1982).

## 5.2. Huile essentielle

Elle est principalement concentrée dans les méricarpes des graines (Stefanini et al., 2006a). L'huile essentielle de Fenouil est un mélange d'au moins une douzaine de différents produits chimiques, avec les principaux ingrédients de l'anéthol, le fenchone et l'estragole (Khare, 2008). Les Trans-anéthols sont souvent les constituants les plus répandus, compte pour le goût de l'anis, le fenchone fournit l'amertume, et l'estragole (methylchavicol) fournit la douceur (Guillen et Manzanos, 1994).

Sur le plan pharmacologique, de nombreuses activités biologiques des huiles essentielles ont été démontrées : l'activité anti-inflammatoire (Chainy et al., 2000 ; Ozbek, 2005), hépatoprotecteur (Ozbek et al., 2003), acaricide (Lee, 2004), analgésique (Ozbek et al., 2006),

antiostéoporotique (Fariba *et al.*, 2006), antithrombotique (Tognolini *et al.*, 2007), gastroprotective (Birdane *et al.*, 2007) et diurétique (Wright *et al.*, 2007). D'autres propriétés biologiques ont été encore prouvées récemment : anticorrosive (Lahhit *et al.*, 2011), anti-athérosclérotique (Oulmouden *et al.*, 2011), anti-diabétique (Neveen *et al.*, 2011 ; El-Soud *et al.*, 2011), antimutagène et antioxydante (Ruberto *et al.*, 2000 ; Barros *et al.*, 2009 ; Tripathi *et al.*, 2013), insecticide (Kutukoglu *et al.*, 2012 ; Ebadollahi, 2013) et antibactérienne et antifongique (Cantore *et al.*, 2004 ; Özcan *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2006 ; Diao *et al.*, 2014). Il a été rapporté également que l'huile essentielle de fenouil est utilisée dans la colique pédiatrique et certains troubles respiratoires en raison de son effet anti-spasmodique (Reynolds, 1982).

#### a) Extraction et rendement

La composition chimique de l'huile essentielle du fenouil collectée dans différentes régions du monde a été étudiée. Une grande variabilité dans le rendement et dans la composition chimique de l'huile essentielle a été observée (Damjanovic *et al.*, 2005 ; Anwar *et al.*, 2009 ; Aprotosoie *et al.*, 2010 ; Damayanti et Setyawan, 2012 ; Diao *et al.*, 2014). Ils dépendent considérablement de l'origine géographique (Diaz-Morto *et al.*, 2005) et du stade de maturation (Guillen et Manzanos, 1996 ; Telci *et al.*, 2009).

Les huiles essentielles des graines sèches et mûres de fenouil sont obtenues par hydrodistillation (Vienna *et al.*, 2005) et par entraînement à la vapeur (Garnéro, 1996 ; Clarke, 2008). L'huile essentielle obtenue par cette dernière méthode est référée en tant que « huile de fenouil », utilisée dans les pays occidentaux pour l'assaisonnement (Singh *et al.*, 2006).

Selon le matériel, la variété, l'origine, le lieu de production et d'autres facteurs extrinsèques et intrinsèques, le rendement en huile essentielle des graines de fenouil varie de 2,5 à 6 % avec une moyenne de 3,5 % (Garnéro, 1996 ; Kaur et Arora, 2010). Selon Olle et Bender (2010), les huiles essentielles aident la plante à s'adapter à son environnement, par conséquent, les plantes les produisent en quantité plus élevée quand elles sont cultivées dans des conditions extrêmes.

Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* sont présentées dans le tableau II :

Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* Mill (Garnéro, 1996).

	Caractères
Aspect	Liquide mobile, limpide ; Couleur jaune pâle ; Odeur aromatique anisée, épicée, légèrement camphrée.
Densité (d)	0,889 à 0,921
Indice de réfraction $n^{20}$	1,484 à 1,508
Pouvoir rotatoire $\alpha^{20}$	+ 20° à + 68°

### b) Composition chimique

Les proportions des constituants de l'huile essentielle des graines de fenouil dépendent des facteurs extrinsèques et intrinsèques comme : les conditions climatiques et environnementales, la saison de collection, l'étape de la maturation des fruits, les données génétiques...etc. Quel que soit la variété de fenouil, les principaux constituants de l'huile essentielle de fenouil sont : le Trans-anéthol, le Fenchone, l'Estragole et le Limonène (Özcan et Akgül, 2001 ; Mimica-Dukic *et al.*, 2003 ; Özcan *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2006 ; Pitasawat *et al.*, 2007 ; Silano et Delbò, 2008 ; Clarke, 2008 ; Aprotosoiaie *et al.*, 2010 ; Kaur et Arora, 2010).

Le trans-anéthol compte pour le goût d'anis, l'estragole fournit la douceur, alors que le fenchone donne le goût amer (Stefanini *et al.*, 2006a ; Olle et Bender, 2010). Le fenchone est un liquide sans couleur possédant une odeur et un goût piquant et camphrée, ce serait le constituant responsable des propriétés biologiques, par conséquent, seulement les variétés de fenouil contenant une bonne proportion de fenchone conviennent pour exploiter leurs activités biologiques (Vienna *et al.*, 2005).

D'autres hydrocarbures monoterpéniques sont également présents en proportions mineurs : l' $\alpha$  et le  $\beta$  fenchène, l' $\alpha$ -pinène, le camphène, le sabinène, le terpinolène, le  $\delta$ -3-carène, les  $\alpha$  et  $\beta$  phellandrène, le cis et le trans-ocimène, le limonène ; le linalol ; le camphre ; le terpin-1-én-4-ol ; le foeniculine ; l' $\alpha$ -terpinéol, l'aldéhyde anisique...etc. (Garnéro, 1996 ; Silano et Delbò, 2008 ; Clarke, 2008 ; Chowdhury *et al.*, 2009 ; Ebeed *et al.*, 2010).

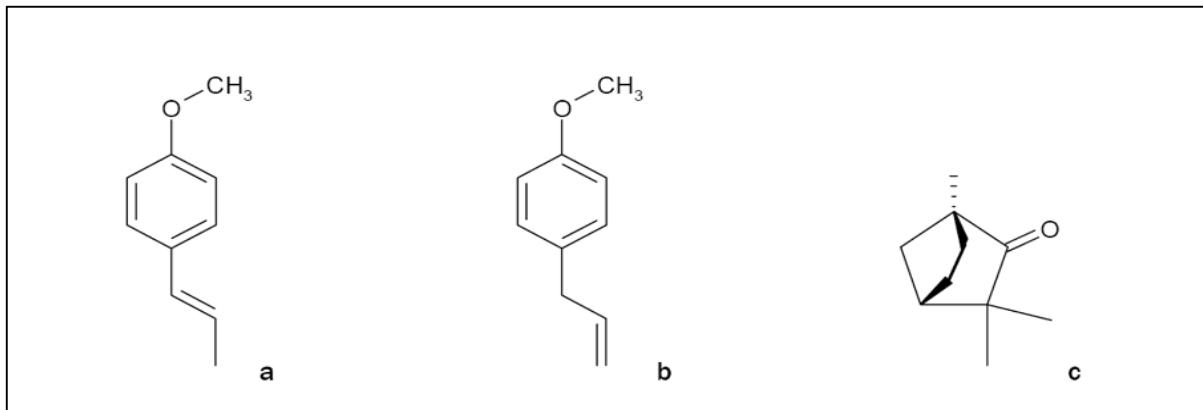


Figure 6 : Structure chimique du trans-anethole (a), de l'estragole (b) et du fenchone(c) (Vienna *et al.*, 2005).

### c) Utilisation

Les huiles essentielles de fenouil sont employées en tant qu'aromatisants dans des produits alimentaires comme constituants des produits pharmaceutiques et cosmétiques. (Aprotosoie *et al.*, 2010). Elles sont également employées pour assaisonner les aliments préparés comprenant de la viande, de la crème glacée et des sucreries...etc.

Plusieurs composants de l'huile essentielle de cette plante ont des applications importantes, à savoir :

- le fenchone est employé comme contre-irritant ;
- le limonène est employé comme agent de dissolvant, de résine, de mouillage et de dispersion ;
- le trans-anéthol est employé comme aromatisant en parfumerie, en produits de beauté, dans le savon ;
- l'estragole (méthyle-chavicol) est employé en parfumeries et comme saveur dans les aliments ;
- l' $\alpha$ -pinène est utilisé dans la fabrication du camphre, des insecticides, de dissolvants et comme bases des parfums (Stefanini *et al.*, 2006b).

# **Chapitre II : Les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe sur la croissance et le développement des plantes (Amlan, 2010). Les métabolites secondaires constituent un ensemble de molécules qui ne sont pas strictement nécessaires à la survie d'une plante, d'une bactérie ou d'un champignon. Il s'agit majoritairement de molécules de tailles et de masses faibles comparées aux molécules du métabolisme primaire (glucides, lipides et acides aminés). Elles sont principalement la source d'odeurs jouant des rôles à la fois comme répulsif contre les prédateurs (concurrents écologiques), ou d'attractif : des pigments permettant de capter le rayonnement solaire mais aussi de protéger la plante contre ce rayonnement (Sylvain, 2010).

## 1. Composés phénoliques

Haslam *et al.*, (1996) ont proposé la première définition complète du terme "polyphénol", en l'attribuant exclusivement à des composés phénoliques solubles dans l'eau ayant des masses moléculaires de 500 à 3000-4000 Da et possédant 12 à 16 groupes hydroxyles phénoliques et 5 à 7 cycles aromatiques par 1000 Da.

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués, possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 9000 structures différentes connues (Bahorun, 1997), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tanins (Akowuah *et al.*, 2004).

### 1.1. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Clifford, 1999).

#### 1.1.1. Polyphénols simples

##### 1.1.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Bruneton, 2008).

➤ **Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)**

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides (**Bruneton, 2008**). Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (**Manach et al., 2004**). Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus répandus sont illustrés dans la figure suivante :

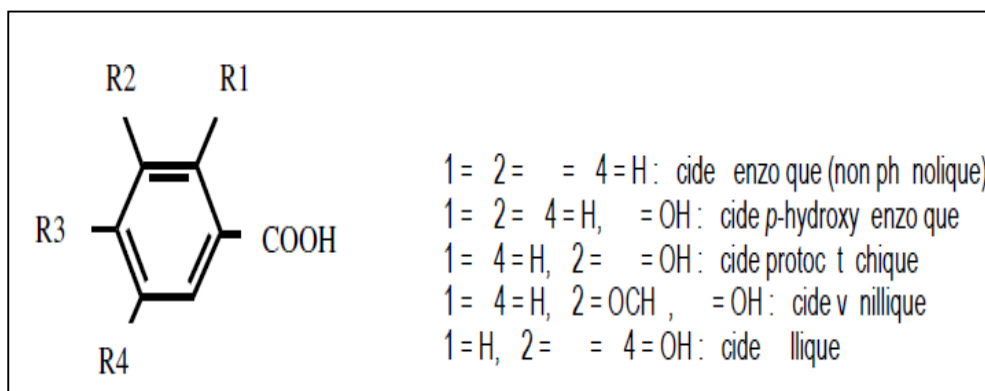


Figure 7 : Structure chimique des acides hydroxybenzoïques (**Bruneton, 2008**).

➤ **Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)**

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés (**Skerget et al., 2005**) et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (Figure 8) (**Bruneton, 2008**).

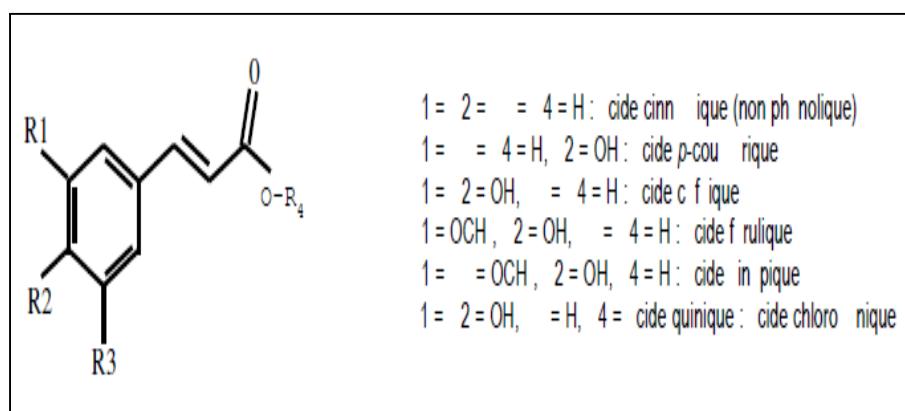


Figure 8 : Structure chimique des acides hydroxycinnamiques (**Han et al., 2007**).

L'acide caféique est le principal représentant de cette catégorie. Il est présent dans de nombreux végétaux (graine de café, tomate, olive et pomme), en particulier dans les fruits. Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxycinnamiques de la majorité des fruits, principalement sous forme d'ester de l'acide quinique (acide chlorogénique) (**Manach et**

*al.*, 2004). L'acide chlorogénique est présent en très forte concentration dans la pomme (430 mg/kg) (Podsedek *et al.*, 2000) et dans le café, une seule tasse peut en contenir de 70 à 350 mg (Manach *et al.*, 2004).

### 1.1.1.2. Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues, ce sont des composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H)-1 pyranone-2. Ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide CIS cinnamique oxygéné en C-2 (Harkati, 2011).

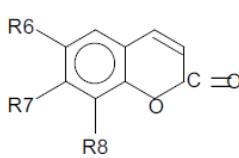
Historiquement, le nom de coumarine vient de «cumaru» qui est dans une langue amazonienne le nom de l'arbre de tonka (*dipteryx odorata willd*, fabaceae), dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine. Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820. On les trouve aussi dans le miel, le thé vert...etc. (Hamimed, 2009)

#### 1.1.1.2.1. Classification

Les coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle.

Les auteurs ont classé les coumarines selon la nature des substituants sur leurs structures en cinq catégories (tableau III) :

Tableau III : Principaux types de coumarines (Macheix *et al.*, 2005).

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aesculol
	OCH3	OH	H	Scopolétole
	OCH3	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

#### 1.1.1.2.2. Intérêt des coumarines

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrone (Hamimed, 2009).

Les coumarines sont indiqués dans le cas de lymphoedème du membre supérieure après traitement radiochirurgical du cancer du sein .Concernant les dérivés coumariniques, certains d'entre eux possèdent des activités pharmacologiques, principalement anticoagulantes. Les plus connus sont le dicoumarol et l'esculoside, deux composants veinotoniques et vasculoprotecteurs (Harkati, 2011).

### 1.1.1.3. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", qui signifie "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet, plus de 6500 structures ont été identifiées (Yakhlef, 2010).

#### 1.1.1.3.1. Structure chimique et classification des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane, qui est constitué de deux noyaux aromatiques A ; B et d'un hétérocycle oxygéné central C (Bouzide, 2009) (Figure 9).

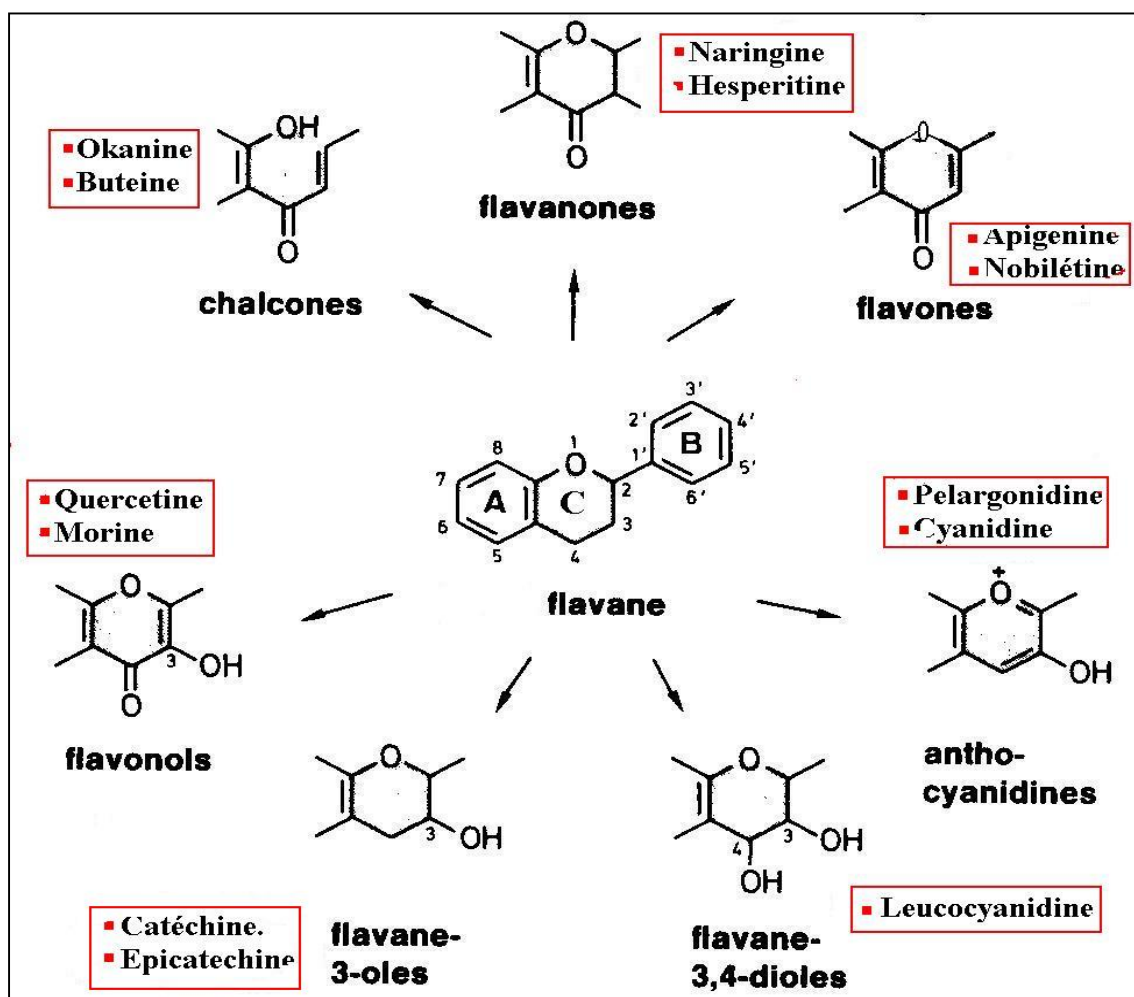


Figure 9 : Définition des différents types de flavonoïdes à partir du squelette flavane (Bouzid, 2009).

### a) Les flavones

Le noyau flavone est dérivé du noyau flavane de base, dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) par la fixation à la position 4 d'un atome d'oxygène relié au carbone par une double liaison.

Les principaux flavones sont l'apigénine et la lutéoline. Elles ont dans la majorité des cas la forme de glycosides.

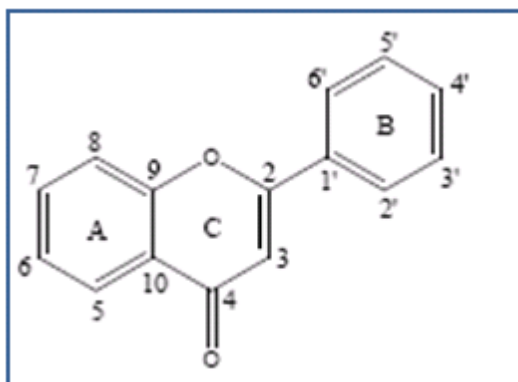
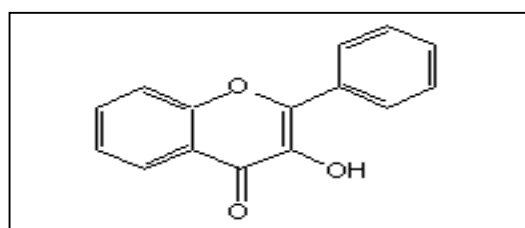


Figure 10 : Structure de base des flavones (Bruneton, 1999).

### b) Les flavonols

Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement -OH en position C-3. En plus de ce radical -OH, les diverses molécules de flavonols en comprennent deux, trois, quatre ou cinq autres radicaux. Les flavonols sont beaucoup plus abondants dans le règne végétal que les flavones et leurs concentrations sont plus élevées. Les principaux sont la quercétine, kaempférol et myricétine.



	5	7	3'	4'	5'
Quercétine	OH	OH	OH	OH	-
Kaempférol	OH	OH	-	OH	-
Myricétine	OH	OH	OH	OH	OH

Figure 11 : Structure de base des flavonols (Bruneton, 1999).

### c) Les flavanones

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en position 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie. 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 hydroxylés ou méthoxylés. Le cycle B peut aussi être substitué en position 3', 4', 5' et 6'. Les deux principales flavanone sont la Naringénine et l'hespérétine (Figure 12) (Havsteen, 2002).

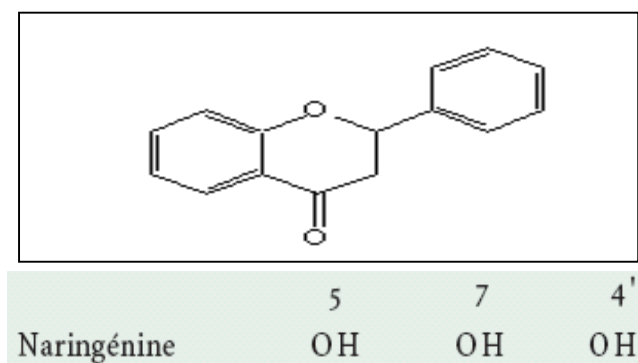


Figure 12 : Structure de base des flavanones (Bruneton, 1999).

### d) Les flavanols

Ils se caractérisent par l'absence de l'atome d'oxygène dans la position 4, c'est la différence entre les flavanones et les flavanols. Les flavanols les plus connus sont le catéchine et L'épicatéchine (Figure 13) (Cowan, 1999).

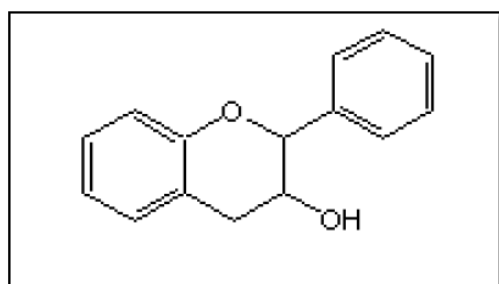


Figure 13 : structure de base des flavonols (Bruneton, 1999).

### e) Les chalcones

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

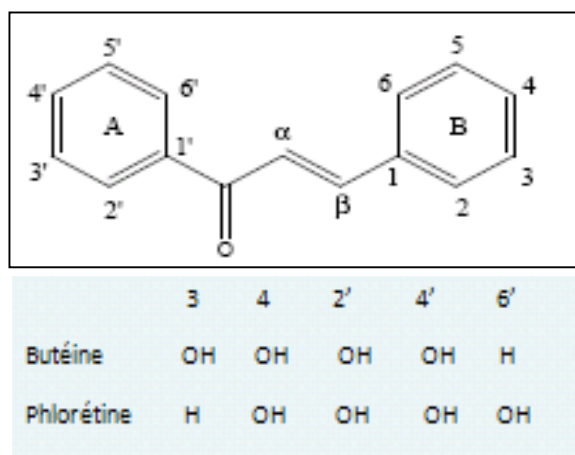
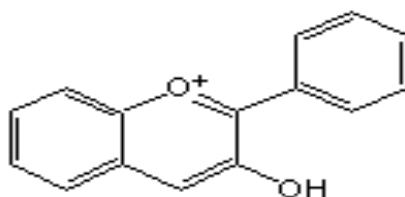


Figure 14 : Structure de base des chalcones (Bruneton, 1999).

### f) Les anthocyanidines

Les anthocyanidines ne possèdent pas de groupe -OH à la position 4 et ont une double liaison entre les positions 3 et 4. Les plus importants sont les pélagonidines, les cyanidines et les péonidines (figure 15).



	3'	5'
pélagonidine	H	H
cyanidine	OH	H
péonidine	OCH <sub>3</sub>	H

Figure 15 : Structure de base des anthocyanidines (Bruneton, 1999).

#### 1.1.1.3.2. Biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune : ils possèdent le même élément structural de base : le phényl-2 chromane.

L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation. Cette dernière est catalysée par la chalcone synthase formée d'une unité phényle propanoïde (4-coumaroyl-CoA) avec trois unités malonyl-CoA. La structure de base en C-15 sous forme d'une chalcone soit 4,2',4',6'-tetrahydroxychalcone (Figure 17) (Bruneton, 1999).

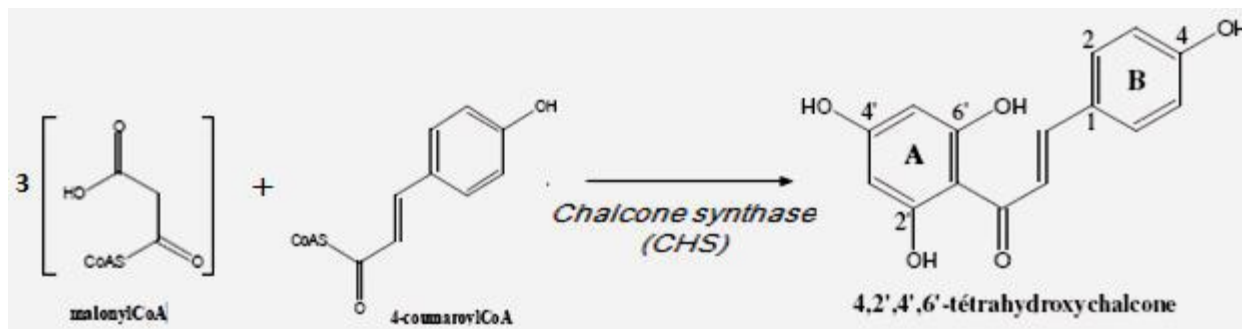


Figure 17 : L'étape clé de la formation des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes. Elle est en équilibre avec les flavonoïdes. Cet équilibre étant contrôlé par une enzyme « la chalcone isomérase », cette dernière induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une flavanone. Elle est le précurseur de toutes les classes de flavonoïdes comme le montre la figure 16 (Remesy *et al.*, 1996).

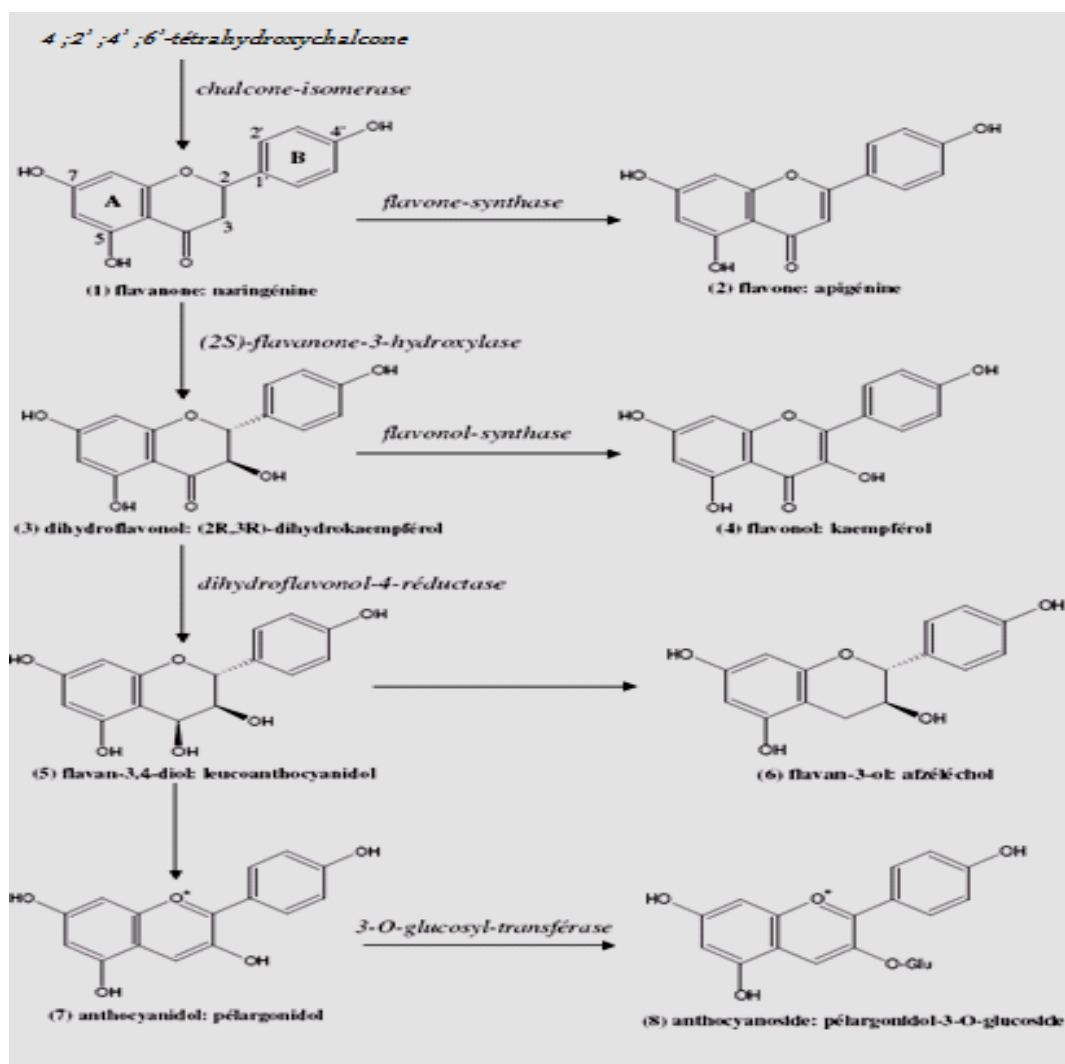


Figure 16 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Remesy *et al.*, 1996).

### 1.1.1.3.3. Localisation, distribution et biodisponibilité des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules ont été identifiées dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce (Lee *et al.*, 1994). Les flavonoïdes sont trouvés dans les fruits, les légumes, les noix, les herbes et les épices. Ils sont consommés régulièrement avec l'alimentation humaine qui nous apporte environ 75 mg de flavonoïdes par jour. En effet, le thé, les agrumes, les pommes, l'huile d'olive, les oignons, le cacao et plusieurs autres fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes, les flavanols et les flavonols y seraient les plus abondants (Schewe et Sies, 2003).

La majorité des flavonoïdes apportés par l'alimentation sont sous forme glycosylée, ils peuvent occasionnellement y être présents sous forme de aglycone (Ishii *et al.*, 2003).

La plupart des flavonoïdes aglycones sont hydrophobes et peuvent donc traverser passivement les membranes biologiques. Alors que la liaison d'un groupement glucidique à un composé phénolique diminue son hydrophobicité et limite sévèrement sa diffusion passive (Williamson *et al.*, 2000). Il semblait alors que l'absorption des flavonoïdes glycosylés ne pouvait pas avoir lieu au niveau de l'intestin grêle. Cependant, Hallman et ses collaborateurs (1995 et 1997) ont montré chez l'Homme que l'absorption des formes glycosylées de la quercétine administrées oralement étaient plus importantes (52%) que celle de la quercétine aglycone (24%). Ces auteurs ont alors suggéré que la partie glucidique associée aux flavonoïdes facilite leur passage dans les entérocytes via le système de transport des glucides (Hallman *et al.*, 1997).

### 1.1.1.3.4. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composants naturels hautement actifs. Plusieurs études ont démontré une large gamme des effets biochimiques et pharmacologiques de ces molécules :

#### a) Activité anti-inflammatoire des flavonoïdes

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Milane, 2004). Sous l'action de la cyclooxygénase (CO) et la lipooxygénase (LO), l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires (Formica et Regelson, 1995 ; Marfak, 2003). Les flavonoïdes inhibent la synthèse des eicosanoïdes par inhibition de l'activité de LO et CO, aussi ils provoquent l'inhibition de la peroxydation non enzymatique des acides gras poly insaturés nécessaires pour l'activation de ces oxygénases ce qui provoque

un effet anti-inflammatoire. Par ailleurs, les flavonoïdes ont un effet palliatif sur l'inflammation dû à ses effets inhibiteurs sur la synthèse des leucotriènes et la libération de l'histamine, et ses activités comme piègeurs de superoxyde (**Formica et Regelson, 1995**).

#### **b) Flavonoïdes comme inhibiteurs enzymatiques**

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques, ils inhibent plusieurs enzymes intervenant dans divers mécanismes biologiques.

Ils inhibent l'histidine décarboxylase, l'élastase, la hyaluronidase ce qui permet de conserver l'intégrité de la substance fondamentale de la gaine vasculaire ; ils inhibent aussi d'une manière non spécifique la catéchol-O-méthyltransférase, ce qui augmente la quantité de la catécholamine disponible et donc provoque une élévation de la résistance vasculaire.

En plus, les flavonoïdes inhibent la phosphodiesterase de l'AMPC, ce qui pourrait expliquer leur activité anti-agrégante plaquettaire ; aussi, ils inhibent l'aldose réductase qu'est impliquée dans la pathogénie de la cataracte (**Bruneton, 1999**).

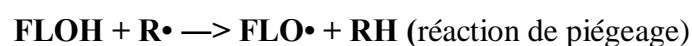
#### **c) Flavonoïdes et les maladies cardiovasculaires**

Les flavonoïdes sont des composés veinoactifs, ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance. Cette action est appelée « vitaminique P » (**Bruneton, 1999**).

D'ailleurs, ils ont un effet protecteur contre les maladies cardiovasculaires. Ils induisent la vasodilatation et provoquent la relaxation des muscles lisses cardiovasculaires, ce qui engendre une activité anti-hypertensive et des effets antiarythmiques. En plus les flavonoïdes protègent le LDL de l'oxydation et par conséquent empêchent la formation des plaques athérosclérotiques, aussi, ils ont des effets anti-thrombotiques à travers l'empêchement de l'agrégation plaquettaire (**Formica et Regelson, 1995**).

#### **d) Propriétés antiradicalaires**

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction représentée ci-dessous :



Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle (FLO•). Ce dernier va subir un changement de structure par résonance ; redistribution des électrons

impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux R•. En outre, les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs (figure 18) (Amić *et al.*, 2003).

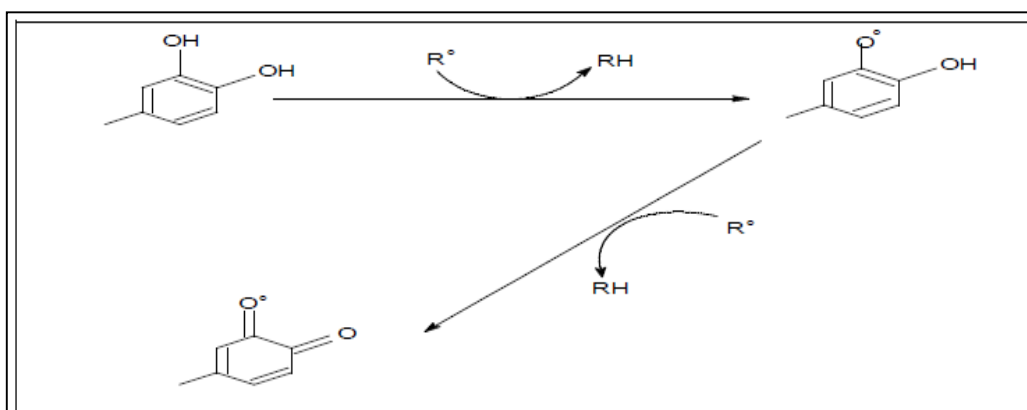
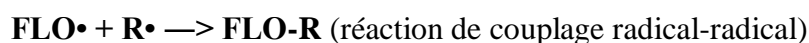


Figure 18 : piégeage des espèces réactives de l'oxygène (R•) par les flavonoïdes et la formation d'une structure stable (Tiqwari, 2001).

La propriété antiradicalaire des flavonoïdes est étroitement liée à leur structure, en particulier au phénomène de résonance électronique stabilisant exercé par les noyaux aromatiques, cette activité nécessite :

- La structure ortho dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo
- La présence du groupe 3OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

A titre d'exemple, la quercétine satisfait à tous ces critères et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (figure 19) (Marfak, 2003).

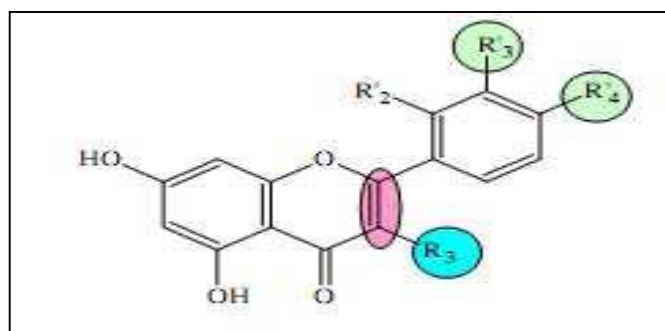


Figure 19 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydant des flavonoïdes (Marfak, 2003).

La propriété antiradicalaire des flavonoïdes est dirigée principalement vers HO $\cdot$  et O $_2$ , aussi, les radicaux peroxy et alkoxy.

En plus, comme ces composants présentent une forte affinité pour les ions du fer (catalysent plusieurs processus conduisant à l'apparition des radicaux libres), leur activité antiperoxydative peut être aussi attribuée à une capacité concomitante de chélation du fer (**Saija et al ., 1995**).

Par ailleurs, l'inhibition des enzymes présente un autre mécanisme de l'activité antioxydant, les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent, peuvent faire régresser la maladie de la goutte en réduisant à la fois les concentrations d'acide urique et celle du radical superoxyde dans les tissus humains.

Une étude faite a montré que les flavonoïdes sont aussi des bons inhibiteurs d'autres enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (figure 20) (**Marfak, 2003**).

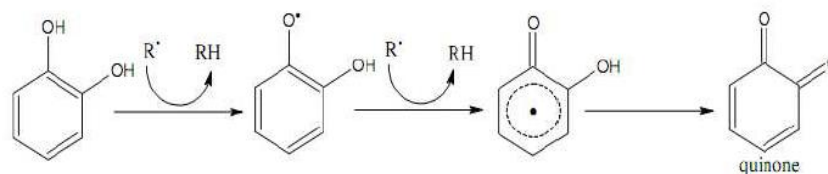


Figure 20 : Piégeage des espèces réactives oxygénées par les flavonoïdes (**Marfak, 2003**).

#### e) Effet anticancéreux des flavonoïdes

Certains flavonoïdes possèdent une activité antitumorale et anticancérogène significative, par blocage de la production de la tumeur de la peau, la quercétine peut être considérée effective dans la prévention du cancer de la peau. L'inhibition de la glyoxylase I par la quercétine peut expliquer son activité anticancérogène, car ; le système glyoxylase joue un rôle dans la production de D lactate et la régénération du glutathion, des facteurs importants dans l'induction de la tumeur et la croissance (**Formica et Regelson, 1995**).

D'ailleurs, la quercétine inhibe la croissance cellulaire en empêchant certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones (**Marfak, 2003**).

#### f) Propriétés chélatrices des ions métalliques

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physio-cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé, ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple le cuivre Cu $^{+2}$  est un stimulateur de la peroxydation des LDL (**Tiqwari, 2001**).

Grâce à leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques en créant des composés complexes inactifs (Malešev et Kuntić, 2007).

La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux (figure 22) :

- Site situé entre le groupe 3' OH et le groupe 4' OH du cycle B
- Site situé entre le groupe 3OH et 4 C=O de l'hétérocycle C
- Site situé entre le groupe 5OH du cycle A et le groupe 4C=O de l'hétérocycle C.

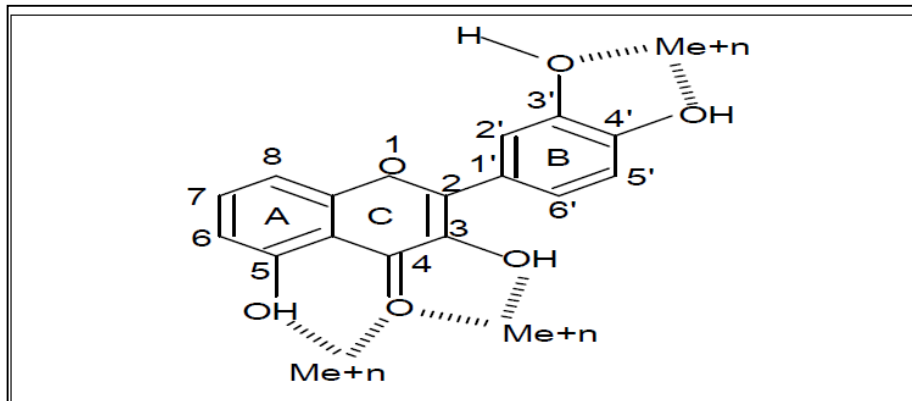


Figure 21 : Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me+n).

### g) Autres propriétés

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale.

D'après Middleton *et al.*, (2000), les composants suivants : quercétine, morine, rutine, dihydroquercétine, dihydrofisetine, leucocyanidine, apigénine, catéchine, hespéridine et la naringine possèdent une activité antivirale contre 11 types de virus. L'activité antivirale semble être associée aux composés non glycosylés et l'hydroxylation en position 3 est apparemment nécessaire à cette activité.

La myricétine empêche la croissance de *Burkholderia cepacia* multi-résistante, *enterococci* vancomycine-résistante, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus epidermidis* (Hodek *et al.*, 2002). Les Flavanones et quelques dihydroflavonols empêchent la croissance du *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*.

Lahouel et ses collaborateurs, (2004) ont évalué l'effet des flavonoïdes donnés par voie orale pendant 14 jours, vis-à-vis la toxicité hématologique et hépatique du cyclophosphamide et de la vinblastine, ainsi que la toxicité hépatique du paracétamol. Chez les rats prétraités par les flavonoïdes, il apparaît une nette amélioration dans les effets toxiques.

La quercétine et la rutine une fois administrées oralement aux souris hyper-uricémique induit par l'oxonate de potassium, réduisent les niveaux d'acide urique dans le sérum, mais avec un profil pharmacologique partiellement différent de celui de l'allopurinol. Ces effets hypo-uricémiques sont partiellement dus à l'inhibition des activités de la xanthine déshydrogénase et la xanthine oxydase XDH/XO (Zhu *et al.*, 2004).

Selon (Tieppo *et al.*, 2007) la quercétine et les flavonoïdes protègent contre les cataractes diabétiques, empêchent l'agrégation plaquettaire et l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL).

Les Flavonoïdes peuvent être des : antispasmodiques, hypocholestérolémiants, diurétiques, (Bruneton, 1999), analgésiques (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007). Quelques flavonoïdes montrent également une variété d'effets biologiques tels qu'antiinflammatoire, antiallergique, ainsi que la capacité de stimuler le système immunitaire (Merken et Beecher, 2000).

### 1.1.2. Polyphénols complexes

#### 1.1.2.1. Tanins

Les tanins sont un groupe hétérogène de composés phénoliques de haut poids moléculaire, ils ont la capacité de former des complexes réversibles et irréversibles avec des protéines (principalement), des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pectine...etc.), des alcaloïdes, des acides nucléiques et des minéraux (Schofield *et al.*, 2001).

##### 1.1.2.1.1. Classification des tanins

En général, les tanins sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Khababae et Ree, 2001).

#### a) Tanins hydrolysables

Ce sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol. Il s'agit souvent d'un D-glucose sur lequel les groupements hydroxyles sont en partie ou en totalité, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotanins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitanins).

#### b) Tanins condensés

Les tanins condensés sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavonoïdes. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), liés entre eux par des

liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse. Les tanins condensés sont appelés proanthocyanidines parce que leur oxydation en milieu alcool-acide entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines (à partir de procyanidines) et les delphinidines (**Khababae et Ree, 2001**).

#### 1.1.2.1.2. Fonctions des tanins

Les tanins sont un groupe de composés secondaires de plantes qui sont connus et employés par l'homme pendant des siècles (**Harborne, 1999 ; Schofield et al., 2001**). Ils possèdent des activités antidiurétiques, antidiarrhéiques, antiinflammatoires, antioxydantes et hémostatiques (**Dolara et al., 2005**), antibactériennes, antivirales, antiinflammatoires et antimutagènes et sont utilisés encore contre les blessures et les brûlures.

Encore, ils ont un effet vasoconstricteur et hémostatique et sont utilisés dans le traitement des hémorroïdes (**Bruneton, 1999**).

## 2. Les saponosides

On entend par saponosides (mot latin « sapon », savon ; « saponaire », l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale (**Robinet, 1951**).

### 2.1. Propriétés biologiques des saponosides

Les saponosides ont une activité expectorante, ils rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration. De plus, ils sont de puissants hémolysants, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (**Bruneton, 1999**).

D'autre part, les travaux de **Ghedira (2005)** ont mis en évidence l'activité antifongique de saponosides triterpéniques, extraits du lierre sur les levures et les dermatophytes. Dans un même ordre d'idée, les saponosides l' $\alpha$ -hédérine ont montré une activité antitumorale et antibactérienne (**Ghedira, 2005**).

Les fonctions principales attribuées à ces polyphénols chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV, dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant aussi (**Lebham, 2005**).

## 3. Les Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Leur structure

chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple). Il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation (**Judd et al., 2002**).

### 3.1. Propriétés biologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques. Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique (**Bruneton, 1999**). Les alcaloïdes sont aujourd'hui nommés d'après la plante qui les a fournis, toujours avec une terminaison en « ine ». D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs (**Bruneton, 1999**).

Les alcaloïdes sont utilisés dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétylcholine, norépinephrine, acide  $\alpha$  aminobutyrique (GABA), la dopamine et la sérotonine, d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (résérpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), problèmes cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (**Badiaga, 2011**).

## 4. Les Terpenoïdes

### 4.1. Structure

Les terpenoïdes sont des composés constituant l'un du plus grand groupe de produits naturels expliquant plus de 40000 différents composés, avec plusieurs nouveaux composés étant découverts chaque année (**Sacchetti et Poulter, 1997**).

Les terpènes sont des hydrocarbures avec une structure soit cyclique ou bien à chaîne ouverte, leur formule est  $(C_5H_X)_n$ , le X est variable selon le degré d'insaturation de la molécule, la valeur de X est de 1 à 8, mais chez les polyterpènes cette valeur peut atteindre jusqu'à 100.

La molécule de base des terpenoïdes est l'isoprène  $C_5H_8$  (Figure 22) (**Loomis et Croteau, 1980**).

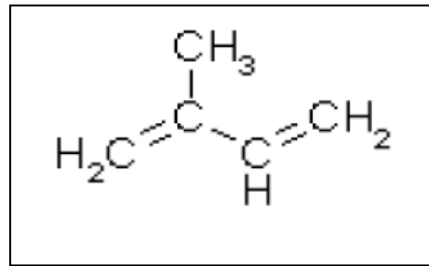


Figure 22 : La molécule d'isoprène (Loomis et Croteau, 1980).

La plupart des terpenoïdes sont d'origine végétale ; cependant, elles sont également synthétisées par d'autres organismes, tels que les bactéries et les levures en tant qu'éléments du métabolisme primaire ou secondaire (Rabi et Bishayee, 2009).

#### 4.2. Classification

Selon le nombre de répétition de l'unité d'isoprène, les terpenoïdes sont divisées en hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (Bruneton *et al.*, 1999).

#### 4.3. Propriétés biologiques et pharmacologiques des terpenoïdes

Les diverses fonctions des terpenoïdes leur confèrent un intérêt accru pour une utilisation commerciale. Les terpenoïdes sont avérées utiles dans la prévention et la thérapie de plusieurs maladies, y compris l'effet anticancéreux, l'effet antimicrobien, antifongique, antiparasitaire, antivirale, antiallergique, antispasmodique, anti hyperglycémique, anti-inflammatoire, et immunomodulatrice. Encore, les terpenoïdes peuvent être employés comme des substances protectrices surtout comme ils ont des propriétés insecticides (Rabi et Bishayee, 2009 ; Shah et Seth, 2010).

La diversité structurale des triterpènes confère des propriétés pharmacobiologiques variées parmi leurs effets : l'effet antinoceptif, cytoprotectif, antifongique et anti oedémateux (Shah et Seth, 2010).

# **Chapitre III : Les activités biologiques étudier**

## 1. Activité antioxydant

### 1.1. Généralité

Des molécules pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (figure 23). Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (**Papazian et Roch, 2008 ; Christophe et Christophe, 2011**). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et de l'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptibles de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une importante perte de poids (**Poirier, 2004 ; Médart, 2009**).

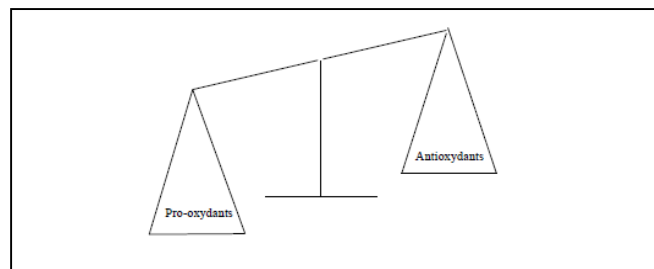


Figure 23 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.

### 1.2. Définition du radical libre

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante « libre » en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Goudable et Favier, 1997**).

### 1.3. Oxygène et espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène (**Edeas, 2005**).

L'oxygène (figure 24) peut s'avérer délétère en raison de son caractère oxydant, il est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène (Ichai *et al.*, 2011).

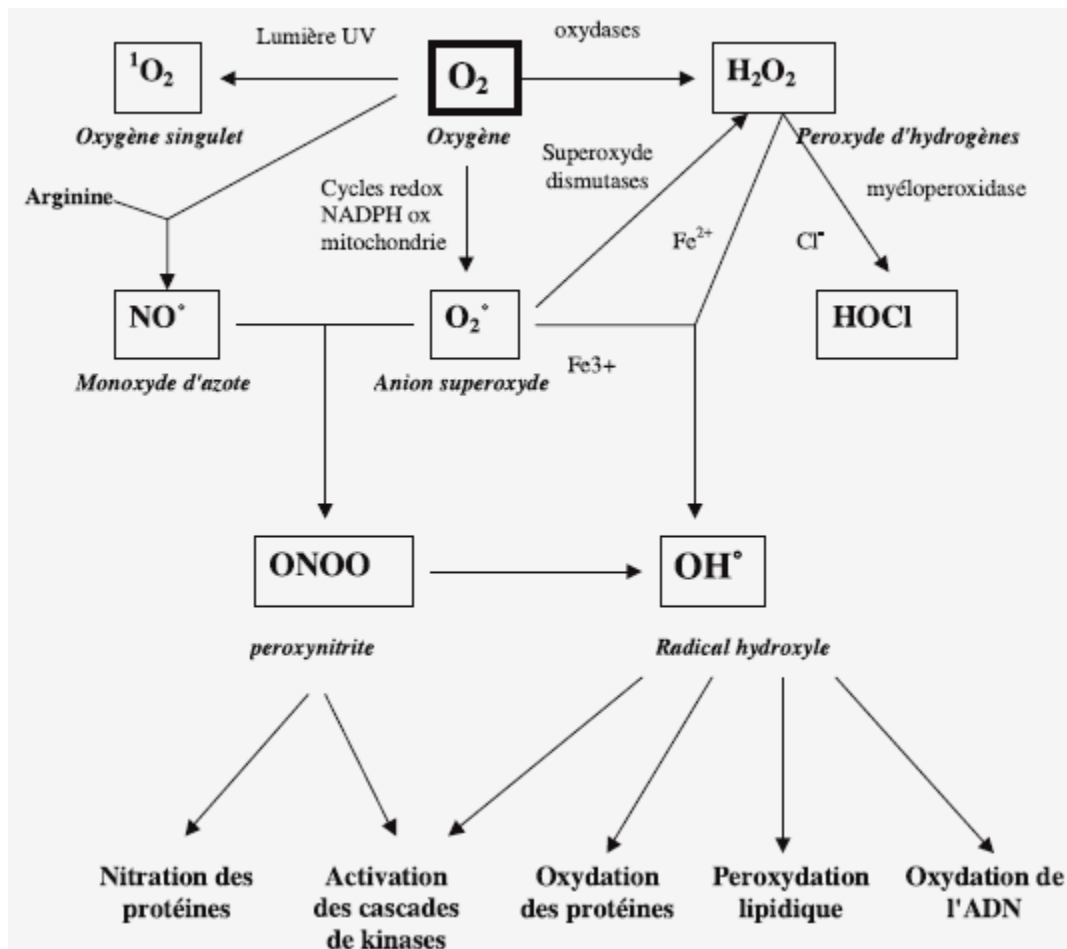


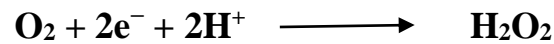
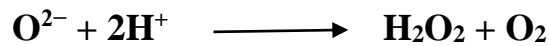
Figure 24 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie (Favier, 2003).

#### ✚ Radical superoxyde ( $O_2^-$ )

Dans l'organisme, une partie de l'oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors la formation du chef de file des espèces oxygénées réactives : l'anion superoxyde ( $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$ ) (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

#### ✚ Peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$

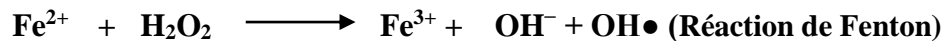
Le Peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  qui n'est pas un radical libre peut être formé secondairement à la dismutation de ( $O_2^-$ ) par la superoxyde-dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acyl CoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase...etc. (Karp, 2010).



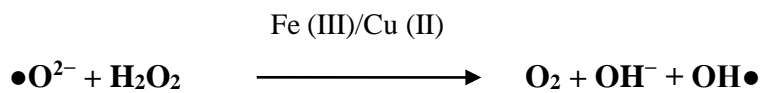
Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif ; c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp, 2010).

#### ✚ Le radical hydroxyle

Le radical hydroxyle (OH●) est formé principalement par la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de métaux de transition sous leur forme réduite, ainsi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associé à du fer ferreux conduit à la réaction de Fenton.

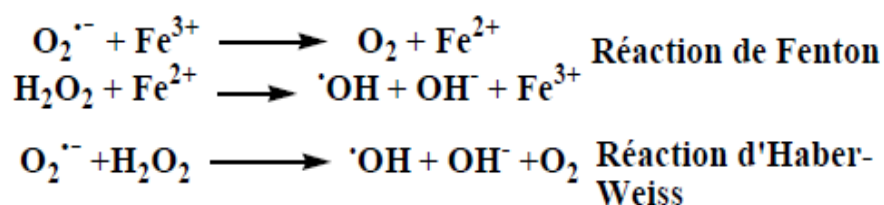


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut également réagir avec le radical superoxyde, aboutissant là encore à la production du OH●, ce mécanisme réactionnel est appelé réaction d'Haber et Weiss (Sorg, 2004).



D'autres voies de formation de l'OH● sont : la décomposition de l'acide peroxonitrique et la réaction de l'acide hypochloreux avec O<sub>2</sub>●<sup>-</sup> (Bartosz, 2003).

Avec une demi vie de l'ordre de la nanoseconde, le radical hydroxyle est le plus réactif de toutes les espèces dérivées de l'oxygène, il réagit avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant dans son voisinage (protéine, lipide, ADN) entraînant ainsi de multiples dommages, il apparaît comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeur dans la cytotoxicité des radicaux libres (Guetteridge, 1993).



#### ✚ D'autres espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés, mais aussi, les radicaux libres dérivent d'autres espèces que l'oxygène par exemple : l'acide hypochloreux (HClO), le monoxyde d'azote NO, qui se combine aisément avec le O<sup>2-</sup>

pour former le peroxy nitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) (Moussard, 2006), agent non radicalaire à la fois oxydant et nitrosant (Beaudeux *et al.*, 2006).

#### 1.4. Conséquence du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN (Hadj Salem, 2009), les lipides (peroxydation), les protéines (Jacob, 2007)...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...etc.) (Pincemail et Defraigne, 2003) et la dégradation des cellules et des tissus (Bonnet *et al.*, 2010). La figure 25 représente un exemple des dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène au niveau de l'ADN.

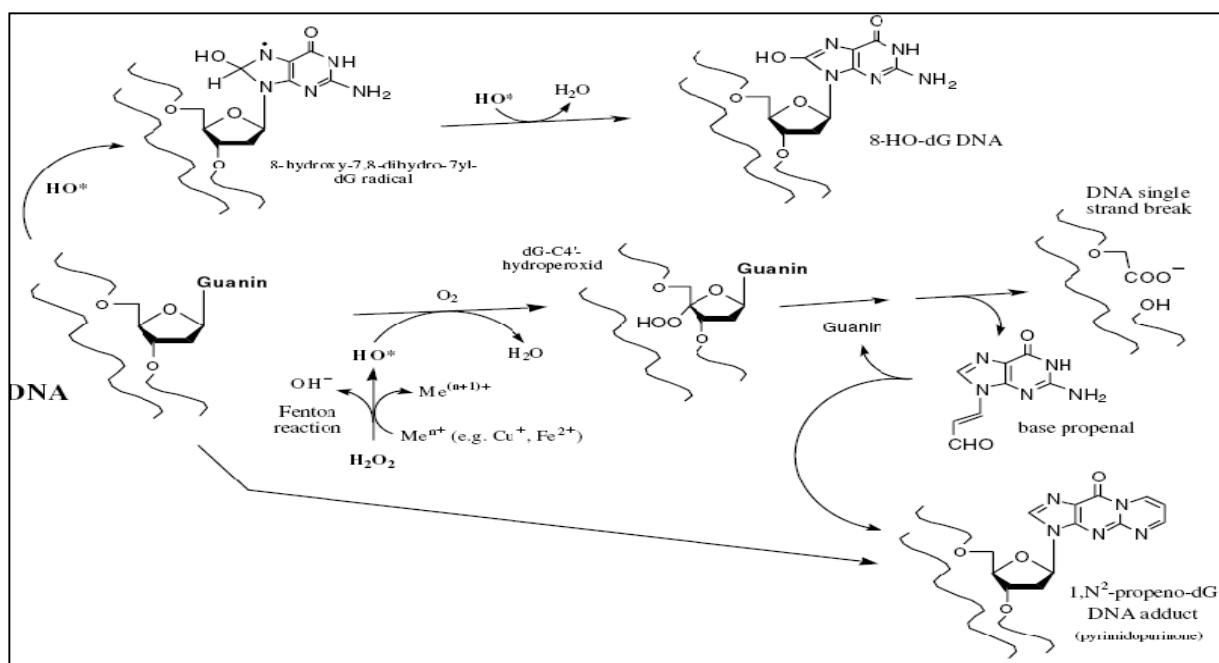


Figure 25 : Dommages causés par les ERO au niveau de l'ADN.

#### 1.5. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques des ERO (Vansant, 2004).

Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

#### 1.6. Les sources d'antioxydants

Les antioxydants sont d'origine médicamenteuse et alimentaire :

### a) Les médicaments

Actuellement, plusieurs agents thérapeutiques notamment les antihypertensifs, les bêtas bloquants et les anti-inflammatoires non stéroïdiens ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes. On cite les exemples :

- ✚ **Le Probucol** agit comme un antioxydant en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de basse densité.
- ✚ **La N-acétylcystéine** agirait de manière significative dans la régénération d'un antioxydant connu : le glutathion (**Calvin, 2001**).

### b) L'alimentation

#### 1. Les antioxydants naturels

De nombreuses molécules possédant des propriétés antioxydantes ont été isolées du monde végétal particulièrement le resvératrol (raisin), les polyphénols du Ginkgo, l'épicatéchine du thé vert, du vin rouge, l'hydroxytyrosol de l'huile d'olive (**Hennebelle et al., 2004**).

Les fruits et les légumes composants notre alimentation sont généralement riches en antioxydants naturels tels que :

- ✚ **La vitamine E** (tocophérol) prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est retrouvée dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (**Aouissa, 2002**).
- ✚ **Le  $\beta$  carotène** possède, outre l'activité provitaminique A, la capacité de capter l'oxygène singulet. Il est présent dans les légumes verts, les épinards, les carottes, la papaye et d'autres fruits jaunes.
- ✚ **La vitamine C** est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (**Sies et Stahl, 1995**). Elle est présente dans les légumes, le chou, le persil, les agrumes et le kiwi.
- ✚ **Le sélénium** est un antioxydant essentiel. Il agirait comme une coenzyme pour la glutathion Peroxydase, enzyme antioxydant capable de réduire les lipides oxydés des membranes cellulaires. On le trouve dans la viande, le poisson et les céréales.
- ✚ **Les composés phénoliques** (ont été décrits au chapitre II).

### 1.7. Mécanismes d'actions des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Diallo, 2005**).

## 2. Activité antimicrobienne

### 2.1. Généralités

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car, elles ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (*Bacteria*) et bactéries primitives (*Archaea*). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux *Bacteria*. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leurs structures ne sont visibles qu'en microscope électronique (**Nauciel et Vildé, 2005**).

### 2.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C. En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie peut se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe). L'emploi des milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (**Nauciel et Vildé, 2005**).

### 2.3. Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des

champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Elghozi et Duval, 1992).

#### ❖ Classification des antibiotiques :

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible ou la famille chimique. Cette dernière est la plus fréquemment rencontrée. Les principales familles chimiques des antibiotiques sont : Bêtalactamines : pénicilline, céphalosporines ; Aminosides : streptomycine, gentamycine ; Chloramphénicol et thiamphénicol ; Cyclines : tétracyclines, doxycycline. Macrolides et apparentés : érythromycine et oléandomycine (Cohen et Jacquot, 2001).

#### 2.4. Les actifs antibactériens

Les composants avec des structures polyphénoliques comme les flavonoïdes et les tannins étaient fortement actifs contre les microorganismes testés. Les membres de cette famille sont connus pour être, selon la concentration utilisée, soit bactéricides ou bactériostatiques. Les polyphénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utilisés dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation (Chaumont *et al.*, 2001).

Les alcools monoterpéniques (monoterpénols), viennent immédiatement après les phénols, sont connus pour avoir une action plus bactéricide que bactériostatique. Des molécules à large spectre, elles sont utilisées dans de nombreuses infections bactériennes, elles agissent comme des agents dénaturants des protéines ou comme des agents déshydratants (Onawunmi, 1984).

#### 2.5. Description des bactéries utilisées

##### a) *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif (Patrick *et al.*, 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$  (Steven *et al.*, 2004).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (Patrick *et al.*, 1988).

**b) *Staphylococcus aureus***

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries est immobile, asporulé, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré (**Patrick et al., 1988**). *S. aureus* est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (**Steven et al., 2004**).

**c) *Pseudomonas aeruginosa***

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de longueur et 0.5 à 0.8 µm de largeur. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ».

*P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3<sup>ème</sup> rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1<sup>er</sup> rang pour les infections pulmonaires basses et le 3<sup>ème</sup> rang pour les infections urinaires (**Richard et Kiredjian, 1995**).

**d) *Klebsiella oxytoca***

Le genre *Klebsiella* (klebsielles), de la famille des entérobactéries, comporte cinq espèces dont l'espèce type est *Klebsiella pneumoniae* qui est la plus fréquente des bactéries à Gram négatif, ces bactéries causent jusqu'à 5 % des infections urinaires communautaires et 9 % des nosocomiales (**François et al., 2007**).

**e) *Bacillus subtilis***

C'est une bactérie à Gram positif. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Elle est aérobic stricte, sa température optimale est de 40 °C (espèce mésophile) et son type trophique est chimioheterotrophe. Enfin, son temps de génération est d'environ 26 minutes. Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH compris entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10 °C à 50 °C (**François et al., 2007**).

### 3. Activité anti pyrétique

#### 3.1. L'hyperthermie et fièvre

La fièvre est l'élévation de la température corporelle centrale au-delà de 38°C due à une modification du point d'équilibre thermique. On parle de fièvre aiguë quand le symptôme dure depuis moins de 5 jours ; au-delà de 21 jours on parle de fièvre prolongée ou de fièvre au long cours. C'est un symptôme extrêmement fréquent car il accompagne un grand nombre de maladies infectieuses, le plus souvent bénignes et particulièrement banales dans la petite enfance. Ainsi, la fièvre est le premier motif de consultation chez l'enfant et le premier motif d'admission dans les services d'urgences pédiatriques (**Pontuall et Gaudelus, 2002**).

#### 3.2. Les antipyrétiques

Ce sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations douloureuses ou de la fièvre sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations. Ils constituent une famille hétérogène du point de vue chimique et pharmacologique (**Igor, 2003**). Ils sont soit périphériques, agissant à l'endroit de la douleur, soit centraux, agissant sur le système nerveux central (dans le cas de la fièvre) (**Denis, 2010**).

# **Partie II : Etude pratique**

# **Chapitre I :** **Matériels &** **Méthodes**

L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de Biochimie, Université Abbés Laghrour - Khenchela.

## I. Matériel utilisée

### 1. Matériel biologique (Echantillonnage)

#### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes (tige, feuille, fleur) de *Foeniculum vulgare*, La récolte a été effectuée au mois de juin 2015 des environs de la ville de Khenchela. L'opération de séchage est effectuée dans l'ombre, et loin de l'humidité. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée par Mr Zeraib Azeddine (MAA biologie végétale université Abbés Laghrour Khenchela). Après séchage, la partie aérienne a été broyée pour obtenir une poudre fine, qui a servi pour la préparation de l'extrait.

#### 1.2. Les souches bactériennes testées

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne de l'extrait de *Foeniculum vulgare sauvage* sont des souches référentielles de type ATCC (l'American Type Culture Collection). Les souches bactériennes utilisées sont :

- ✓ *Escherichia coli* (ATCC25922) (Gram -);
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) (Gram -);
- ✓ *Klebsiella oxytoca* (ATCC25922) (Gram -) ;
- ✓ *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) (Gram +) ;
- ✓ *Bacillus subtilis* (ATCC21332) (Gram +).

Toutes ces souches sont fournies par le laboratoire de microbiologie, université Abbés Laghrour Khenchela.

#### 1.3. Matériel animale

L'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique a été réalisée sur des rats femelles *wistar* dont le poids varie entre 150 et 200g provenant du laboratoire de l'université de Khenchela. Les animaux sont répartis en 4 lots ayant libre accès à l'eau et à la nourriture où la température moyenne varie entre 20-25°C.

## II. Méthodes

### 1. Extraction

L'extrait méthanolique de différente partie de *Foeniculum vulgare* a été préparé selon la méthode de **Tadeg et ses collaborateurs (2005)**.

300g de la poudre de *Foeniculum vulgare* sont mises à macérer pendant une nuit à température ambiante, dans un mélange méthanol et eau distillé (7:3 V/V), L'extrait hydro-alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange par pompe à vide (filtration sec), l'opération est refaite 2 fois avec renouvellement du solvant. Le filtrat est ensuite concentré (élimination de méthanol) par évaporation sous pression réduite dans un évaporateur rotatif (HAHNVAPOR) à une température de 40°C. L'extrait obtenu a été conservés à 4° C jusqu'à son utilisation.

Les différentes étapes du protocole d'extraction sont résumées dans la Figure 26.

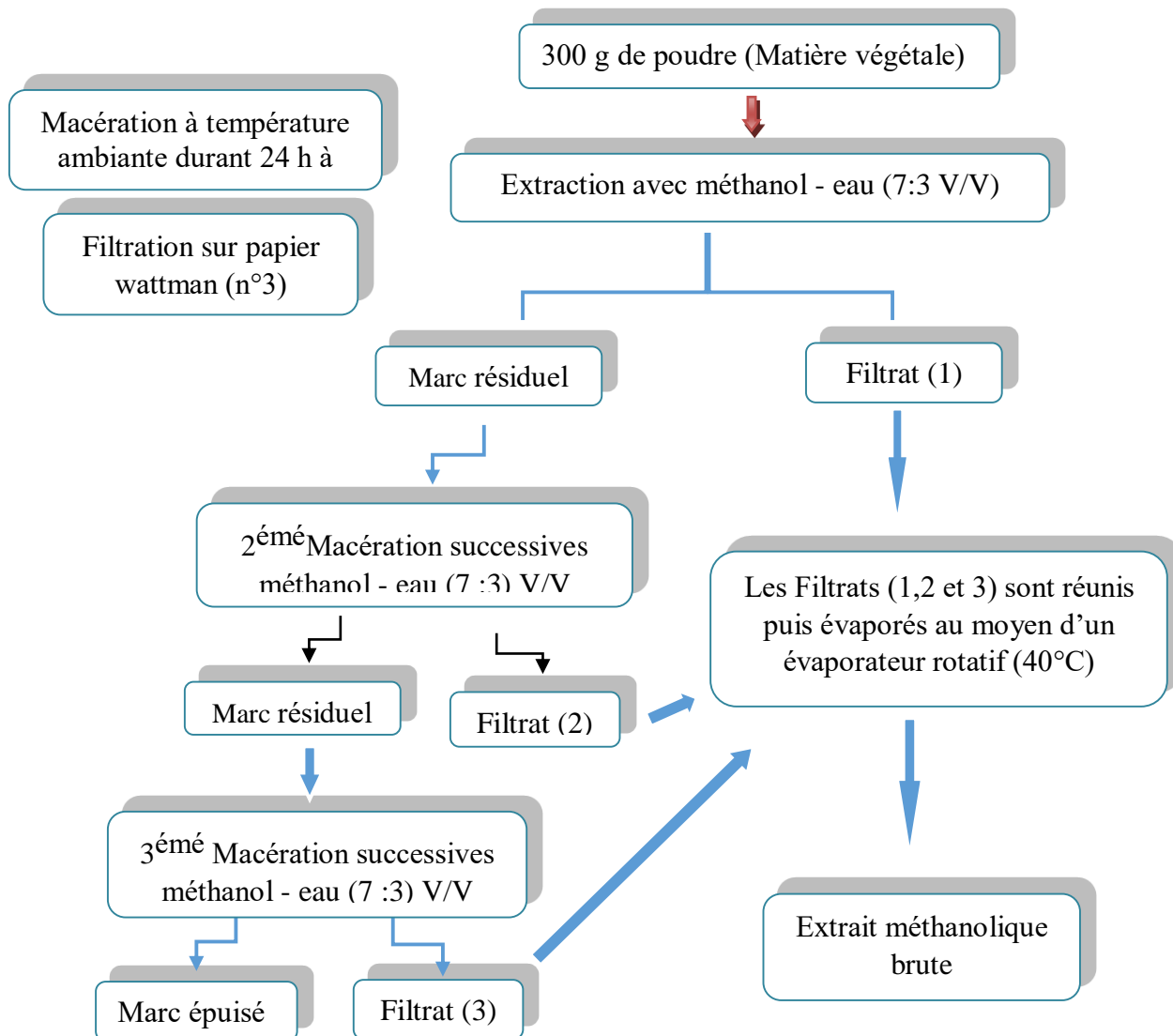


Figure 26 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires. (Tadeg *et al.*, 2005).

## 2. Détermination du rendement

Le rendement d'extrait méthanolique (R) est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée (Ennadir *et al.*, 2014). Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{P_e}{P_p} \times 100$$

Ou :

R : Rendement d'extraction %.

P<sub>e</sub> : Poids ou masse de l'extrait sec en gramme (g).

P<sub>p</sub> : Poids ou masse de la poudre en gramme (g).

## 3. Etude phytochimique de l'extrait

Dans le but de caractériser l'extrait préparé à partir de la partie aérienne de *Foeniculum vulgare*, des analyses qualitatives et quantitatives ont été effectuées.

### 3.1. Analyses qualitatives

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (polyphénols, flavonoïdes...) dans notre extrait. Les essais de caractérisation en tube permettent une recherche grossière des composants chimiques.

#### 3.1.1. Essais de caractérisation en tube (Screening phytochimique)

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait méthanolique.

##### 3.1.1.1. Méthode

###### a) Recherche des Polyphénols

La caractérisation des polyphénols est faite selon la réaction au chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>). Pour 2 ml de chaque extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique 2% a été rajoutée. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols (N'Guessanet *et al.*, 2009).

**b) Recherche des Flavonoïdes**

5 ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d' $\text{AlCl}_3$  (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (**N'Guessan et al., 2009**).

**c) Recherche des Coumarines**

Parmi les composés réducteurs on note les coumarines, la mise en évidence de ces dernières se fait selon la méthode décrite par (**Benmahdi, 2001**). Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0,5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines.

**d) Recherche des Tanins**

Pour 1ml de chaque extrait, nous avons rajouté le  $\text{FeCl}_3$  à 1 %. La couleur vire au bleu noir, ce qui indique la présence de tanins galliques et la couleur brune verdâtre indique la présence de tanins catéchiques (**Dohou et al., 2003**).

**e) Recherche des Anthraquinones**

L'extrait (0,1 g) a été ajouté à 4 ml du mélange éther-chloroforme (1:1 v/v). La solution ainsi obtenue a été traitée avec 4 ml de soude 10% et l'apparition d'une coloration rouge a indiqué la présence des anthraquinones (**Bruneton, 1999**).

**f) Recherche des Anthocyanines**

L'extrait (0,1 g) a été ajouté à 5 ml d'une solution d'acide sulfurique 1%. L'apparition d'une coloration orange a montré la présence des anthocyanines (**Bruneton, 1999**).

**g) Recherche des Saponosides**

➤ Test 1 : 5 ml de l'extrait brut méthanolique sont mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (**Bruneton, 1999**).

➤ Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (**Benmahdi, 2001**).

### **h) Recherche des Terpenoïdes**

Pour 0,5 g de chaque extrait ; nous avons rajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré. La présence de la couleur brune rougeâtre à l'interface indique la présence des terpénoïdes (Ayoola *et al.*, 2008).

### **i) Recherche des Alcaloïdes**

1 ml de chaque extrait est testé avec 5 gouttes de réactif de Mayer (Potassium Mercuric Iodide), la formation d'un précipité jaune indique la présence des alcaloïdes (Tiwari et Kakkar, 1990).

## **3.1.2. Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM)**

L'analyse de l'extrait brut par chromatographie sur couche mince (CCM, TLC en anglais) nous permet dans un premier temps d'avoir une idée sur les différentes classes de composés contenus dans l'extrait méthanolique brut.

### **3.1.2.1. Principe :**

La CCM est une technique analytique simple, rapide et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur les phénomènes d'adsorption et de partage, où les molécules à séparer s'adsorbent à la surface d'un support (phase stationnaire) et seront entraînées à travers ce dernier par un éluant (phase mobile), donc la séparation est fonction des différences d'adsorption des composants de l'échantillon sur la phase stationnaire et des différences de leur solubilité dans la phase mobile (Braithwaite et Smith, 1999).

### **3.1.2.2. Mode opératoire :**

Le développement de la plaque s'effectue dans la cuve en verre contenant l'éluant approprié. Nous utilisons des plaques de Silice prêtes à l'emploi à support en aluminium. Les témoins et les échantillons sont déposés sous un faible volume (2- 4µl).

Le tableau IV renferme les différents systèmes des solvants (éluant) utilisé lors de l'analyse de CCM, notons que tous ces systèmes ont été rencontrés dans la littérature, et chacun est utilisé pour la séparation d'un type spécifique de molécules.

Tableau IV : Systèmes de solvants d'analyse pour la CCM.

Systèmes	Solvant
<b>Système 1</b>	éthyle acétate/acide formique/AAG / eau (100 : 11 : 11 : 26 v/v)
<b>Système 2</b>	Acétone /eau (1 :1 v/v)
<b>Système 3</b>	n-butanol/eau/acide acétique glacial (10 : 5 : 5 v/v)
<b>Système 4</b>	Chloroforme/acide acétique glacial/méthanol/eau (64 : 32 : 12 : 8 v/v)
<b>Système 5</b>	Chloroforme/acétone/ammoniaque 10% (80 : 40 : 15 v/v)
<b>Système 6</b>	Chloroforme/Acétate d'éthyle/acide formique (50 :40 :10 v/v)

On place la plaque en position verticale ou légèrement inclinée dans une cuve en verre ; elle repose contre l'une des parois et est immergée d'environ 0,5 cm dans la phase mobile, qui est constituée d'un ou de plusieurs solvants, et dont les vapeurs auront préalablement saturé la cuve fermée. L'échantillon à étudier, déposé à l'état liquide par appositions successives au moyen d'une micropipette en verre et éventuellement séché par ventilation sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque. Le déplacement de chaque molécule sur la plaque dépend des interactions existant entre soluté, phase mobile et phase stationnaire.

### 3.1.2.3. Révélation des plaques sous UV

Après développement dans une cuve en verre et séchage, les plaques ont été observées sous lampe UV à 254 et 365 nm. Les couleurs des spots ont été enregistrées avant et après l'observation sous l'UV.

### 3.1.2.4. Calcul du rapport frontal (Rf)

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son Rf (*Rate factor* ou Rapport frontal) qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant) et qui peut donc être compris entre 0 et 1.

$$Rf = \frac{\text{La distance parcourue par le constituant}}{\text{La distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

### 3.2. Analyses quantitatives

#### 3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

##### a. Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton *et al.*, 1999**): ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et charpentier, 2006**).

##### b. Mode opératoire

1 ml de réactif de Folin 2M (10 fois dilué) est ajouté à 200  $\mu$ l d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage. Toutes les mesures sont faites en 3 répétitions.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-160  $\mu$ g/ml) et est exprimée en  $\mu$ g d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu$ g EAG/mg d'extrait).

#### 3.2.2. Dosage des flavonoïdes

##### a. Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (**Kosalec *et al.*, 2004**) légèrement modifiée a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait méthanolique.

##### b. Mode opératoire

1 ml de la solution d'extraits (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1 ml d' $AlCl_3$  à 2% dans le méthanol, le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm.

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine (0-40 $\mu$ g/ml).

La teneur en flavonoïdes est exprimée mg équivalent quercétine par gramme d'extrait mgEQ/gE).

#### 4. Etude des activités biologiques

##### 4.1. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire (test *in vitro*)

La détermination de l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de *Feoniculum vulgare* a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH (effet scavenger). Le principe de cette méthode Spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Koleva *et al.*, 2002) Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

##### 4.1.1. Le protocole expérimental

Pour cela, 30 µl de différente dilution de l'extrait méthanolique (40, 24, 16, 8 et 4 mg/ml) a été incubés avec 3 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.04M). Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances ont été lire et enregistrées à 517 nm. Le contrôle négatif est composé de 30µl de méthanol et de 3ml de la solution de DPPH. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par l'extrait de *Feoniculum vulgare* a été calculé comme suit :

$$I\% = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

**Ou :**

**AC** : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif : DPPH seul)

**AE** : absorbance en présence de l'inhibiteur (le contrôle positif : DPPH avec l'extrait méthanolique de l'espèce *Feoniculum vulgare*).

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC50%) de l'extrait a été par la suite calculée à partir de la courbe qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en µg / ml.

#### 4.2. Etude de l'activité antibactérienne

##### 4.2.1. Méthode d'évaluation (méthodes des disques)

L'effet antimicrobien est évalué selon la méthode de diffusion en milieu solide (Essawi Srour, 2000 ; Celiktas *et al.*, 2007).

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique a été identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement de l'antibiotique par l'extrait méthanolique de *Feoniculum vulgare*.

#### 4.2.2. Préparation de la suspension des souches de référence

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive. Après 18h d'incubation à 37°C, des suspensions microbiennes d'une densité optique de 0.5 Mc Farland et été préparées, pour chaque microorganisme, dans 5 ml d'eau distillée stérile.

#### 4.2.3. Ensemencement

L'ensemencement a été faite sur un milieu Géloses Muller Hinton (MH), coulées en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (Les géloses sont séchées avant emploi), les étapes de l'ensemencement sont résumées comme suivant :

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- ✓ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- ✓ Une série de dilutions (1/1 ; 1/2 ; 1/4 et 1/8) de l'extrait méthanolique (MeOH) dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) est réalisée à partir d'une solution mère 200mg d'E-MOH préalablement dissouts dans un ml DMSO.

#### 4.2.4. Application des disques

L'opération d'application des disques au niveau de boîtes de Pétrie est résumée dans les étapes suivant :

- ✓ Des disques de papier filtre de 6,0 mm de diamètre (Wattman n° 1) sont imprégnés individuellement avec 15 µL d'extrait à différentes concentrations ;
- ✓ A l'aide d'une pince stérile on applique les disques à la surface des milieux déjà ensemencés ;
- ✓ Un disque de l'antiboitque (Gentamicine 30µl) est placé dans la boîte de Pétri comme contrôle positif ;

- ✓ Un disque imprégné de 5 µl de DMSO est utilisé comme témoin négatif ;
- ✓ Chaque test est réalisé en trois répétitions ;
- ✓ Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 37 °C /24 h.

#### 4.2.5. Lecture

La lecture se fait après 18 à 24 h d'incubation à 37°C, l'obtention d'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance microbienne. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en mm incluant le diamètre du disque.

Cette sensibilité est classée selon **Ponce *et al.*, (2003)** comme suit :

- Non sensible pour un diamètre inférieur à 8 mm ;
- Sensible pour un diamètre de 9-14 mm ;
- Très sensible pour un diamètre de 15-19 mm ;
- Extrêmement sensible pour diamètre supérieur à 20 mm.

#### 4.2.6. Expressions des résultats

Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues ± l'écart type (SD).

### 4.3. Etude de l'activité antipyrétique

16 Rats *wistar* femelle sont utilisés pour l'évaluation de l'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare*. Les rats sont placés à jeun pendant 16h avant l'expérience.

Les rats sont répartis en 04 lots de 04 rats

- Lot (01) : Solution physiologique NaCl 9 % (Témoin).
- Lot (02): Aspirine 100mg/kg.
- Lot (03) : 200 mg/kg d'extrait de *Foeniculum vulgare*.
- Lot (04) : 400mg/kg d'extrait de *Foeniculum vulgare*.

Après la prise de température rectale, les rats femelles ont reçu, par gavage les différentes doses de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare*, une heure après l'administration des extraits par gavage, la prise de température a été faite de nouveau avant la provocation de l'hyperthermie.

L'hyperthermie est induite par l'injection sous-cutanée dans la région dorso-latérale d'une suspension aqueuse de levure (20 %) en raison de 1 ml pour 100g de poids corporel (**Sawadogo, Boly, Lompo *et al.*, 2006**). Les températures rectales sont prélevées 30mn après l'injection de

levure à l'aide d'un thermomètre. Après la prise de température rectale, celle-ci a été prise de nouveau chez chaque rat toutes les heures pendant quatre heures.

## **5. Etude statistique**

Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel statistique Mini-tab et Microsoft Excel. Les expériences *in vitro* ont été faites en triple et d'autres en double, Les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type ( $n = 2$  ou  $3$ ) pour chaque cas. Les résultats quantitatifs des différentes évaluations réalisées *in vivo* sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. Ces résultats sont traités statistiquement par le test d'ANOVA et teste t de student ( $\alpha=5\%$ ).

# **Chapitre II : Résultats & Discussions**

Ce chapitre présente tous les résultats obtenus au cours des expériences effectuées ainsi que leurs discussions.

## 1. Résultat de l'Étude phytochimique

### 1.1. Extraction et calcul du rendement

L'extrait a été préparé à partir de la poudre de la partie aérienne de *Foeniculum vulgare*. Les résultats sont représentés dans le Tableau V.

Tableau V : Caractéristiques de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare*.

Plante	Masse de la poudre	Extrait	Masse	Aspect	Couleur	Rendement (R%)
<i>Foeniculum vulgare</i>	300g	MeOH	48,239g	Pâte collante	Marron foncé	16,079%.

En comparaison avec les résultats d'**Anwar et al (2009)**, qui ont trouvés un rendement de l'ordre de 12,11%, il apparaît que seul de notre extrait brut est légèrement supérieur dans ce présent travail.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car, le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques des plantes, ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et durée de stockage, la période de la récolte et aussi aux méthodes d'extractions appliquées.

### 1.2. Analyses qualitatives

#### 1.2.1. Essais de caractérisation en tube (Screening phytochimique)

Les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* révèlent la présence de plusieurs familles de composés dont les résultats sont présentés dans le Tableau VI.

Tableau VI : Résultat d'essais de caractérisation en tube.

Composés	Réaction, réactif	l'extrait MeOH (F.v)
<b>Polyphénols</b>	FeCl <sub>3</sub> à 2%	+
<b>Flavonoïdes</b>	AlCl <sub>3</sub> (1%).	+
<b>Coumarines</b>	NH <sub>4</sub> OH (10%) UV	+
<b>Tanins</b>	FeCl <sub>3</sub> à 1 %	+
<b>Anthraquinones</b>	NaOH (10%)	+
<b>Anthocyanines</b>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1%	-
<b>Saponosides</b>	La mousse	-
<b>Terpenoïdes</b>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1%	+
<b>Alcaloïdes</b>	Réactif de Mayer	(±)

(+) Réaction positive, (±) Trace, (-) Réactions négatives.

Ces résultats ont montré que la plante est très riche en polyphénols et flavonoïdes. On note aussi la présence des tanins, des anthraquinones, des composés réducteurs (coumarines) et des traces des alcaloïdes sels. Alors qu'on a constaté l'absence totale des saponosides et des anthocyanines dans l'extrait méthanolique.

### 1.2.2. Chromatographie sur couche mince

Le développement de la méthode pour la CCM commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation, mais aussi le choix de la phase stationnaire, la technique de développement choisie, la dimension de la chambre de développement et de l'espace vapeur ont un effet prononcé sur la séparation (Yrjonen, 2004). Six systèmes de solvant ont été utilisés, les chromatogrammes résultants comportent une série de spots (Figure 27), l'identification des composés était basée sur la comparaison des R<sub>f</sub>s et couleurs observés sous lampe UV des taches apparues sur CCM.

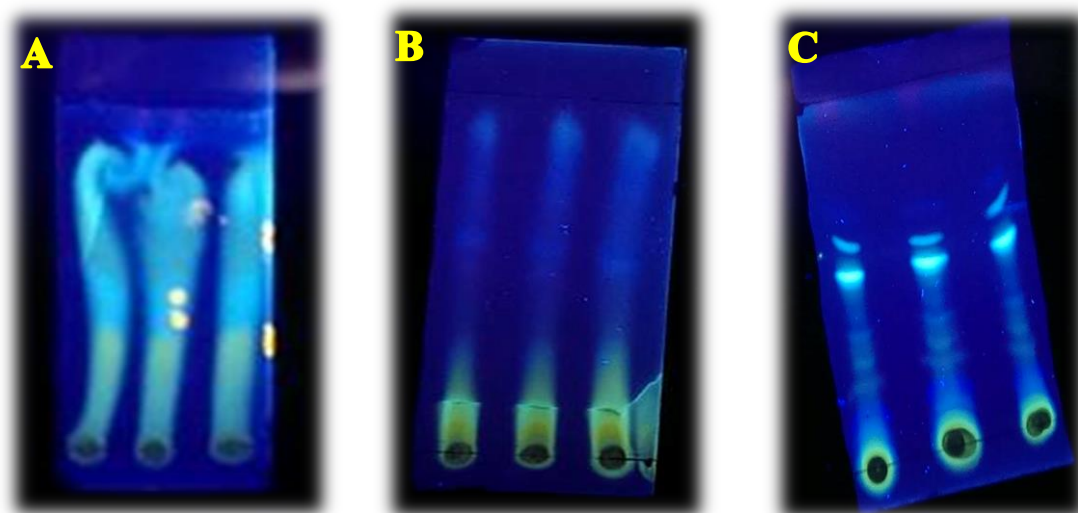


Figure 27 : Photos des chromatogrammes sous lampe UV à 365 nm résultant de l'analyse de l'extrait méthanolique par CCM.

A : photo du chromatogramme sous lampe UV à 365nm, montrant des taches de couleurs différentes, qui se sont séparées après développement de la plaque par le biais du système solvants S3 : n-butanol/eau/acide acétique glacial : (10 : 5 : 5 v/v) ;

B : Photo du chromatogramme résultant de la migration de dépôt de l'EMB par le biais du système de solvant S5 : chloroforme/acétone/ammoniaque 10% : (80 : 40 : 15 v/v) ;

C : Photo du chromatogramme résultant de CCM dont l'éluant est formé par le système de solvant S6 : Chloroforme/Acétate d'éthyle/acide formique (50 :40 :10 v/v).

Les résultats de la CCM de l'extrait sont résumés dans le tableau VII. Il s'agit des informations sur les facteurs de rétention des constituants chimiques, ainsi que leur comportement à la lumière UV (à 254nm et à 365nm), un ensemble de spots a été obtenu par les différents systèmes solvants.

Tableau VII : Résultats de CCM avec les différents solvants utilisés.

Système de solvant	Nombre de spot	Rapport frontale (Rf)	Observation à 254 nm	Fluorescence à 365 nm	Type de phénol/ flavonoïde possible (Markham, 1982)
<b>S1</b>	1	0.84		Jaune claire	Acide phénol, flavonol
	2	0.40		Jaune claire	Flavonol
	3	0.30		Jaune orange	Flavonol
<b>S2</b>	0	0			
<b>S3</b>	1	0.41		Viole claire	Flavones
	2	0.27	Tache noire	Gris claire	

<b>S4</b>	1	0.59	Tache noire	Gris claire	
	2	0.509		Violet claire	Flavones, Flavonols, acide phénol
<b>S5</b>	1	0.89	Tache noire	Bleu	Acide phénol, flavones
	2	0.56-0.58		Violet	Acide phénol, favones
	3	0.14	Tache noire	Gris	
	4	0.072		jaune	Flavonols
<b>S6</b>	1	0.68-0.65	Tache noire	Bleu balnc fluorescence	Flavonols, flavones, isoflavone, flavonones
	2	0.60-0.56	Tache noire	Bleu balnc fluorescence	Isoflavone, flavonones, flavonols, flavones
	3	0.51		Jaune blanc	Flavonols
	4	0.34-0.35		Violet claire	Flavones, acide phénol
	5	0.26-0.28		Jaune	Flavonols,
	6	0.21	Tache noire	Jaune	Flavonols,
	7	0.14-0.11		Violet	Flavones, acide phénol
	8	0.054		Bleu claire	Acide phénol,

Avant tout commentaire, il est important de signaler que les valeurs de R<sub>f</sub>s observés sont difficilement reproductibles, car, ils sont influencés par de nombreux facteurs tels que la température, l'humidité, la qualité de la plaque et la quantité de l'extrait déposé...etc.

Le système de solvant utilisé qui a permis d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots, c'était seul de S6, avec 8 spots (Figure 27), suivit de système S5 (4 spots), puis S1 avec 3spots, puis S3 et S4 avec 2 spots, alors que le système S2 n'a pas pu donner des spots visibles à UV.

Le premier et le sixième système de solvant séparent essentiellement les flavonoïdes, alors que les systèmes de solvants S2, S3 et S4 sont adaptés respectivement à la séparation des alcaloïdes, les tanins et les saponosides, tandis que l'acétone/eau (système S5) est adopté à la séparation des anthocyanidines et leurs familles.

L'analyse de l'extrait MeOH de la plante FV a montré après observation à l'UV (254 et 365 nm) une richesse en constituants chimiques. A 254 nm, la majorité des spots apparaissent sombres. A 365 nm, les spots apparaissent en différentes colorations (vert, jaune, violet, gris...). Tout ce nombre de spots élevé et de couleurs variés constitue une indication sur la présence de

plusieurs types de substances chimiques. Selon **Bruneton (1993)**, la fluorescence à 365 nm pourrait indiquer la présence des coumarines, des stérols ou des triterpènes.

A l'œil nu, les taches à Rf égaux à 0.02, 0.07, 0.18 et 0.87 apparaissent vertes. Les colorations vertes de certaines taches à l'œil nu de l'extrait sont typiques des chlorophylles.

La CCM nous a permis de contrôler la qualité de notre extrait, même si elle n'est pas suffisante pour identifier un constituant précis, elle nous a permis d'obtenir des renseignements utiles sur les éléments constitutifs de notre extrait (fluorescence, coloration, facteur de rétention...).

### 1.3. Analyse quantitative

#### 1.3.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes :

Le dosage des polyphénols totaux effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu montre que la plante contient **146,53 ± 0.81 mgEAG/gE** (mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait), tandis que la détermination du taux des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révèle la présence de **47,57 ± 0.53mgEQ/gE** (mg équivalent quercétine par gramme d'extrait) de flavonoïdes. Les résultats sont résumés dans le tableau VIII (Chaque valeur représente la moyenne ± SD avec n=3).

Tableau VIII : Résultats du dosage des Polyphénols totaux et des flavonoïdes.

Extrait	Rendement (%)	Polyphénols totaux (µg EAG/mg d'extrait)	Flavonoïdes mg EQ / g E
EM de <i>Foeniculum v</i>	<b>16,079%.</b>	<b>146,53 ± 0.81</b>	<b>44,57 ±0,04</b>

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare*, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

On constate que la teneur en polyphénol est supérieure à celle des flavonoïdes. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Roby et al (2013)**.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des plantes leur sont attribués.

Les polyphénols sont estimés par plusieurs méthodes, comme la méthode de bleu de Prusse (**Graham, 1992**), mais la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit par les phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**).

En présence des polyphénols, le complexe Folin-Ciocalteu change sa couleur du jaune au bleu, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à longueur d'onde de 765 nm (**Huang et al., 2005**).

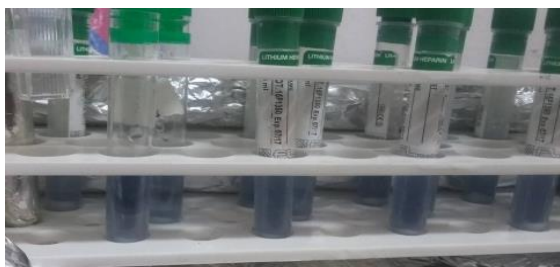


Figure 28 : Dosage des polyphénols totaux avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Aganga, 2001**).

Les résultats obtenus par l'étude phytochimique nous a donné une bonne prévision concernant l'activité biologique de la plante, bien qu'elle soit générale et imprécise, elle reste encourageante surtout que ces composés phytochimiques dont on a prouvés la présence sont connus par leurs effets pharmacologiques et d'être impliqués dans de nombreuses activités biologiques.

## 2. Résultats des tests biologiques

### 2.1. Activité anti-oxydante par la méthode de DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par la méthode spectrophotométrique en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

Les moyennes des deux mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs moyennes des deux pourcentages d'inhibition sont représentées dans le tableau IX.

Le pourcentage d'inhibition est calculé avec la formule déjà donnée dans le protocole expérimental :

$$I\% = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

**AC = 0.767** : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif : DPPH seul).

**AE** = absorbance de l'échantillon (DPPH avec l'extrait méthanolique).

Tableau IX : Les moyennes des deux mesures des absorbances de chaque solution interne ainsi que leurs moyennes des deux pourcentages d'inhibition.

Concentration interne (DPPH avec l'extrait) (mg/ml)	Les moyennes des deux Absorbances	Les moyennes des deux pourcentages d'Inhibition
0.396	0,537	97,91±0,36
0.237	0,338	86,44±0
0.158	0,263	65,71±2,39
0.079	0,104	55,86±0,46
0.039	0,016	29,98 ±2,58
<b>AC = 0,767</b>		

Les figures 30 et 29 représentent respectivement l'histogramme et la courbe qui montrent la variation des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes.

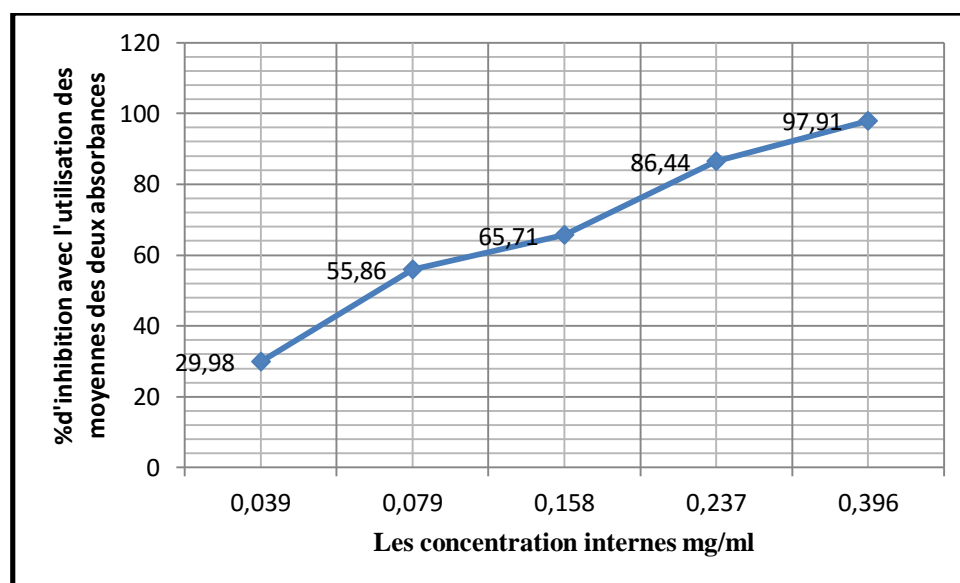


Figure 29 : Variations des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes.

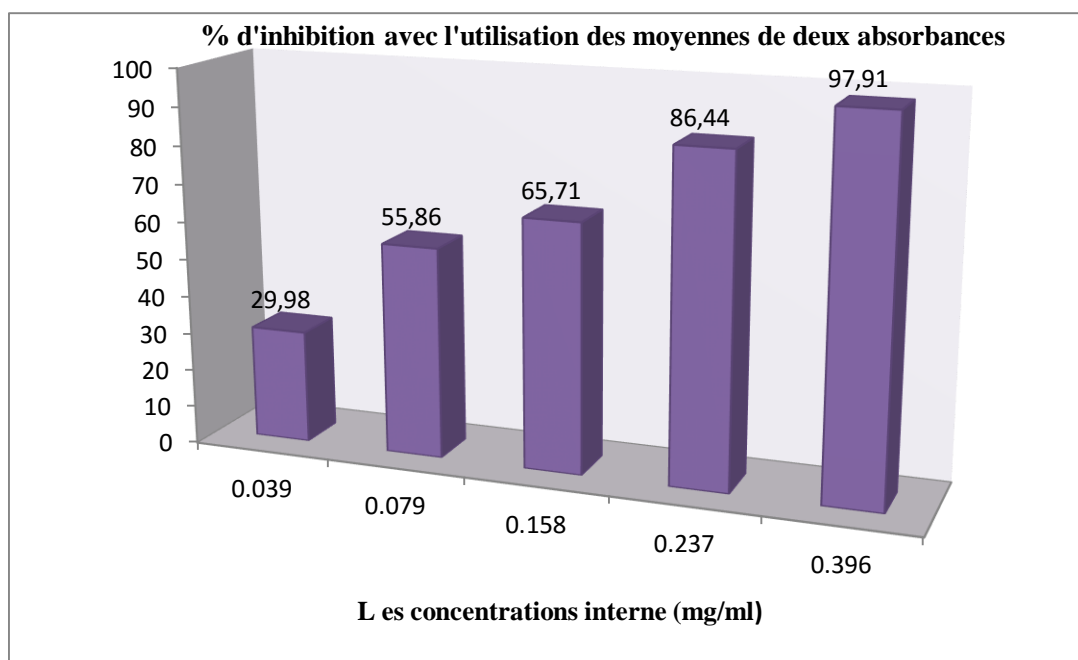


Figure 31 : Variations des moyennes des deux pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations internes.



Figure 30 : Décoloration de la solution du DPPH du violet en jaune en fonction de la concentration.

D'après la figure 31, qui représente la décoloration du DPPH en fonction des différentes concentrations d'EMFV, on constate que le passage du radical DPPH à un état stable DPPHH conduit à cette décoloration, ce qui confirme le pouvoir antioxydant du *Feoniculum vulgare*. Le profil d'activité antiradicalaire obtenu révèle que notre extrait possède une activité dose dépendante.

### ❖ Détermination d'IC50

A partir de la figure (5), on a pu déterminer graphiquement la valeur d'IC50, celle-ci exprime la concentration de l'échantillon exigée pour réduire le DPPH· en solution de 50 % (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

IC50 de l'EM de *Feoniculum v* = 76 ug/ml

Nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par **Bettaieb et al.** (2016), qui ont montré que l'IC50 de l'EM de *Feoniculum vulgare* du Maroc (Ouazzane) est de l'ordre de (76,67 ug/ml).

Il est nécessaire de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction enrichie est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque d'un produit, d'une part, et d'autre part, sa quantité relative dans l'extrait. Ainsi, l'activité marquée d'un extrait peut tout aussi bien provenir d'une faible quantité de constituants très actifs, que d'une grande quantité de constituants peu actifs. De plus, il se peut qu'une activité observée résulte de la somme d'activités de plusieurs constituants (Cavin, 2007 ; Sokol-Letowska *et al.*, 2007). En effet, plusieurs études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre le contenu en polyphénols du matériel végétal et sa capacité antioxydante (Vinson *et al.*, 1995 ; Burda et Oleszek, 2001).

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Tawaha *et al.*, 2007). Cette activité est suffisamment importante pour permettre l'utilisation de la plante de fenouil comme une nouvelle source naturelle d'additifs alimentaires et d'antioxydants puissants en industrie alimentaire.

En conclusion, il convient de dire bien que les teneurs en composés phénoliques constituent un facteur de valorisation de la capacité antioxydante des espèces végétales, la qualité de ces molécules serait beaucoup plus intéressante puisqu'elle détermine l'ampleur de leurs propriétés biologiques (Bettaieb *et al.*, 2016).

## 2.2. Activité antibactérienne

La méthode de disque a permis de déterminer l'action des extraits de la plante dissouts dans le DMSO sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone

d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait comme témoin de l'absence de croissance bactérienne dans cette zone.





Nous avons évalué l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Feoniculum v*, cette activité a été révélée sur cinq souches bactériennes à savoir (*Escherichia coli* (ATCC2592), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Klebsiela oxytoca* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) et *Bacillus subtilus* (ATCC21332).

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'une dose à une autre. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau X :

Tableau X : Résultats de l'activité antibactériennes de l'extrait méthanolique de *foeniculum vulgare sauvage* et le contrôle positif.

		Diamètres d'inhibition (mm) incluant le diamètre du disque (6mm) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures $\pm$ SD.				
		Gram positif			Gram négatif	
<i>S B</i>		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiela oxytoca</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilus</i>
Dose mg/ml						
D0		13,25 $\pm$ 1,5 (+)	13,75 $\pm$ 0,72 (+)	12,25 $\pm$ 0,60 (+)	11,5 $\pm$ 1,29 (+)	10,5 $\pm$ 0,14 (+)
D1		9,25 $\pm$ 1,25 (+)	12 $\pm$ 2,88 (+)	11,75 $\pm$ 1,25 (+)	10,75 $\pm$ 0,95 (+)	10,75 $\pm$ 0,95 (+)
D2		9 $\pm$ 1,41 (+)	8 $\pm$ 1,82 (-)	10,5 $\pm$ 1,29 (+)	9,25 $\pm$ 2,21 (+)	8,75 $\pm$ 0,95 (+)
D3		7 $\pm$ 0 (-)	7,33 $\pm$ 1,04 (-)	-	-	-
Contrôle positif		18,25 $\pm$ 4,99 (++)	15,37 $\pm$ 1,04 (++)	17,5 $\pm$ 2,5 (++)	21,25 $\pm$ 1,41 (+++)	18,75 $\pm$ 4,03 (++)

Cette sensibilité est classée selon **Ponce et al, (2003)** comme suit :

-  Non sensible (-) pour un diamètre inférieur à 8 mm.
-  Sensible (+) pour un diamètre de 9-14 mm.
-  Très sensible (++) pour un diamètre de 15-19 mm.
-  Extrêmement sensible (+++) pour diamètre supérieur à 20 mm.

Le contrôle positif des gentamicines est extrêmement efficace sur toutes les bactéries testées Gram (+) et Gram (-), avec des diamètres d'inhibition allant de 15 jusqu' à 21mm.

Comme contrôle négatif, le DMSO (5%) n'a pas affecté la croissance des souches bactériennes comme le montre la figure 8. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Gachkar et al (2006)**.

On note que l'extrait méthanolique de *Foeniculum v* a une activité inhibitrice sur toutes les bactéries testées.

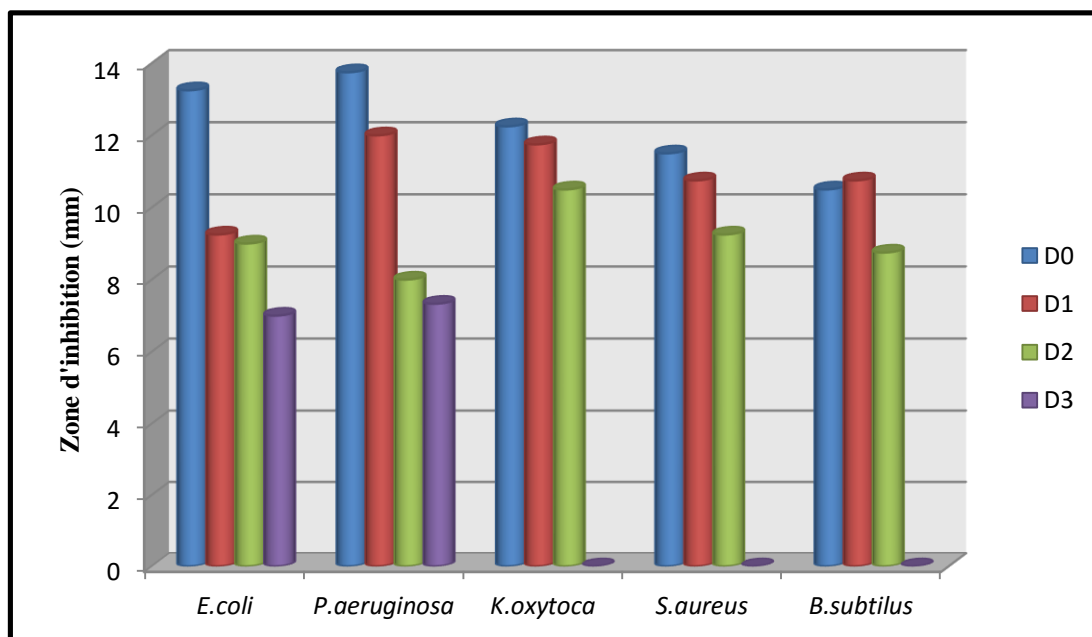


Figure 32 : L'activité antibactérienne de l'EM de *Foeniculum v* exprimé en diamètres des zones d'inhibition (mm).

Selon la figure 32, la plus grande surface d'inhibition est enregistrée par la souche *P. aeruginosa* (13,75mm), suivie par *E. coli* (13,25mm).

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches et de la concentration, les effets inhibiteurs augmentent considérablement avec la concentration de l'extrait. La comparaison de l'effet des doses utilisées est notée dans le tableau XI. Il est remarquable de souligner que la D3 n'exerce pas une activité inhibitrice.

L'EM *Foeniculum v* étudiée s'est montrée active et a inhibé tous les microorganismes testés à la dose la plus concentrée D0 suivie par D1, ainsi qu'il est remarquable de souligner que toutes les souches bactériennes sont sensibles à D3 sauf *Pseudomonas aeruginosa*. La dose la moins concentrée D4 n'exerce aucun effet inhibiteur. Certaines études ne révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (**Guesmi et Boudabous,**

2006). Ces résultats rejoignent les travaux des plusieurs chercheurs qui ont démontré que le *Foeniculum vulgare Mill.*, présente un effet inhibiteur contre une large éventail d'espèces de bactéries (Delaquis, 2000 ; Stavri, 2005).

Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10mm. (Ponce *et al.*, 2003). Les flavonoïdes et les alcaloïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont des puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase en inhibant la multiplication bactérienne. Une étude récente a montré l'effet bactéricide de certains flavonoïdes sur *S. aureus* (Sato *et al.*, 1995 ; Hatano *et al.*, 2005). Notre étude a révélé la présence d'une quantité plus ou moins importante des flavonoïdes, donc la présence de ce type de composés chimiques actifs dans l'EM peut être la responsable de cette activité.

Il a été rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne semblent être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire de l'extrait de plante (Fernandez-Lopez *et al.*, 2005). Ceci pourrait expliquer la modeste activité de notre extrait polaire. Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (Balansard, 2007).

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare Mill.*, sur la croissance *in vitro* de cinq souches bactériennes impliquées dans les pathologies humaines. Ainsi, les résultats émanant des tests sur les souches bactériennes montrent que l'extrait organique testé a une activité antibactérienne et possède un pouvoir inhibiteur plus ou moins prononcé sur la croissance *in vitro* des espèces précitées. Dans une certaine mesure, cette étude nous a permis de confirmer les propriétés antimicrobiennes de l'EM de *Foeniculum vulgare Mill.* et de valider scientifiquement l'usage de cette plante dans la médecine traditionnelle contre les maladies infectieuses.

### 2.3. Activité antipyrétique

L'activité antipyrétique a été évaluée par la méthode préventive ; c.-à-d. voir est ce que l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* administré 1h avant l'injection de suspension de levure peut inhiber ou diminuer l'hyperthermie induite par cette injection !

L'objectif est de suivre l'élévation de la température des rats qui ont reçu l'extrait 1h avant l'injection de suspension de levure et de la comparer avec celle des rats de contrôle négatif (qui ont reçu de l'eau physiologique), ainsi que celle des rats de contrôle positif (qui ont reçu

l'Aspirine à 100mg/kg). Les résultats de l'activité antipyrétique sont regroupés dans le tableau XI et la figure 33 ; et représentés par le moyenne  $\pm$  l'écart type.

Tableau XI : Résultats de l'activité antipyrétique.

Température rectale (°C) avant et après le traitement							
Lots	Au début	1h Après L'extrait	30mn après levure	1h	2h	3h	4h
Témoin	34,66 $\pm$ 0,865	35,70 $\pm$ 0,5	36,94 $\pm$ 0,288	37,46 $\pm$ 0,321	37,96 $\pm$ 0,182	38,18 $\pm$ 0,438	38,68 $\pm$ 0,444
Aspirine	36,1 $\pm$ 0,3	36,54 $\pm$ 0,740	37,38 $\pm$ 0,286	36,8 $\pm$ 0,717	38,42 $\pm$ 0,356	37,92 $\pm$ 0,311	37,42 $\pm$ 0,432
Dose 200mg/kg	37,1 $\pm$ 0,548	36,1 $\pm$ 0,753	36,125 $\pm$ 0,607	36,45 $\pm$ 0,443	37,075 $\pm$ 0,736	37,46 $\pm$ 0,5	37,92 $\pm$ 0.1
Dose 400mg/kg	37,35 $\pm$ 0,943	35,95 $\pm$ 0,835	34,575 $\pm$ 1,436	34,8 $\pm$ 1,116	35,375 $\pm$ 1,261	36,65 $\pm$ 1,33	37,45 $\pm$ 1,047

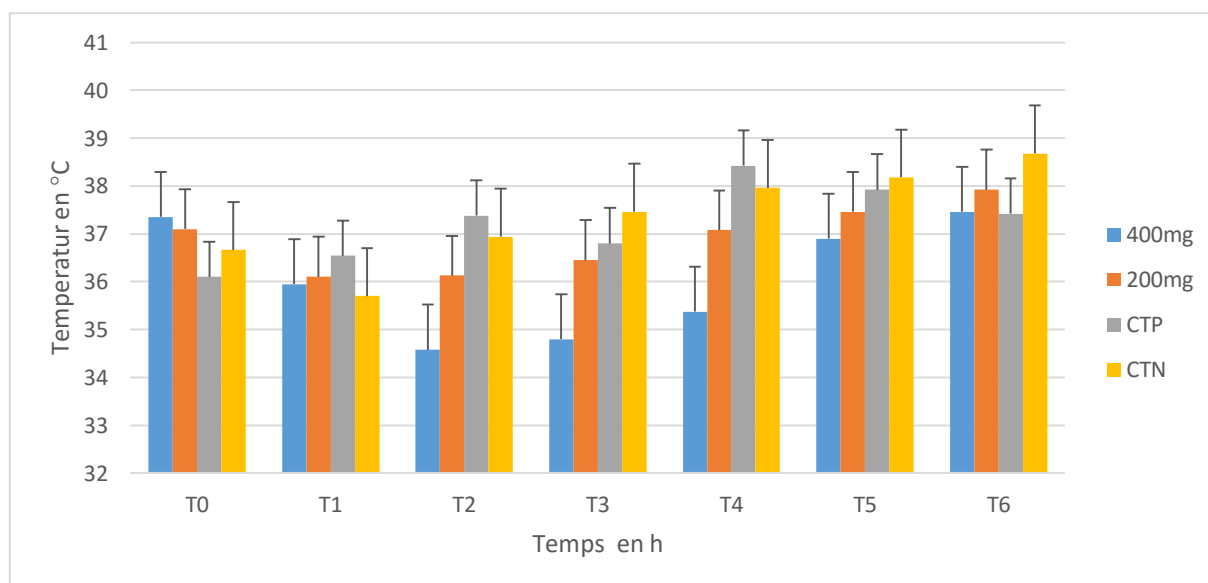


Figure 33 : Evolution de la température rectale en fonction du temps.

L'évaluation de l'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* a été l'une de nos objectives dans le présent travail. L'hyperthermie a été induite chez les rats par l'injection sous cutanée dans la région dors latérale d'une suspension aqueuse de levure de bière à 20%, cette levure provoque chez ces animaux une hyperthermie. L'étude de cette hyperthermie induite par la levure de bière après administration de l'aspirine une molécule antipyrétique de référence et l'extrait méthanolique de *Foeniculum v.*, a révélé les propriétés

antipyrétique de ces deux substances. L'administration de l'extrait chez les rats a provoqué une hypothermie significative ( $P < 0.001$ ) de l'ordre de 2 °C pour la dose 400mg/kg et de 1 °C pour la dose 200 mg/kg, alors que l'aspirine a provoqué une simple hyperthermie de l'ordre de 0.5 °C (tableau XI). Nous constatons que la dose 400 mg/kg est plus efficace que la dose 200 mg/kg, bien qu'elle a des effets similaires à ceux de l'aspirine à la dose 100 mg/kg.

L'hyperthermie induite par la levure de bière est liée à des mécanismes complexes mettant en jeu des réactions immuno-inflammatoires, avec libération des pyrogènes endogènes et de prostaglandines (**Bourin M et al., 1993 ; Eschalié et al., 1990 ; Nakamura, 1983**).

Il est possible que les propriétés antipyrétiques de FV, comme celles des acides salicylés tels que l'acétylsalicylate de lysine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens, soient dues à des interférences sur la biosynthèse des prostaglandines (**Deraedt, 1980 ; Dubinsky et Schupsky, 19984**). La libération des cytokines par le système immunitaire est la cause principale de l'hyperthermie, qui ayant atteint les vaisseaux sanguins stimulent la biosynthèse des prostaglandines (PGE) aux environs du centre hypothalamique thermorégulateur (**Ribeiro et al., 2010 ; Sajeli, 2010**).

L'effet antipyrétique de l'EM de *Foeniculum v* est du probablement à la présence des alcaloïdes et les flavonoïdes. Ces derniers sont connus par leur effet antipyrétique par suppression des TNF- $\alpha$  (**Adesokan et al., 2008**).

En conclusion, l'efficacité optimale d'un extrait peut être due non seulement à un constituant actif principal, mais aussi à l'action combinée (synergie) des différents composés à l'origine de cet extrait (**Essawi et Srour, 2000**).

# **Conclusion générale & Perspectives**

Les plantes aromatiques et médicinales riches en principes actifs trouvent des applications dans de nombreux domaines notamment dans le domaine alimentaire et médical. La tendance actuelle à chercher des produits naturels, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour les substances issues de ces plantes.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'étude phytochimique et pharmacologique (évaluation des activités, antioxydants, antibactériennes et antipyrétiques) de l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare*.

L'extraction de la partie aérienne de la plante nous a permis d'obtenir un rendement important de l'ordre de 16,079%. La criblage phytochimique effectué sur l'extrait méthanolique a permis aussi de mettre en évidence la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des anthraquinones, des triterpènes et des alcaloïdes.

La présence des polyphénols et des flavonoïdes dans notre extrait est confirmée par CCM, ainsi que par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait qui a révélé des teneurs de **146,53 ± 0.81 mgEAG**, **44,57 ± 0,04 mg EQ / g E** respectivement pour les polyphénols et les flavonoides.

L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée par la méthode de réduction du radical libre DPPH. Le profil de l'activité obtenue révèle que notre extrait possède une activité dose dépendante avec un **IC50=76 ug/ml**.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur cinq souches de référence, selon la méthode de diffusion disque, les résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* a une activité inhibitrice sur toutes les bactéries testées.

L'étude de l'activité antipyrétique par la méthode préventive a révélé la présence de l'effet antipyrétique de la plante.

Malgré les résultats obtenus, cette étude nécessite d'autres tests pour mieux comprendre le mode d'action et les principaux actifs de cette plante. Même des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, d'une part les composés du *Foeniculum vulgare* qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme absolu par lequel ces composées accomplissent leurs rôles.

# **Références bibliographiques**

## A

- Abdallah N, El-Gengaihi S, Sedrak E. (1978).** The effect of fertilizer treatments on yield of seed and volatile oil of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*), *Die Pharmazie*. 33: 607-608.
- Abdulghani A. S., et Amin R. (1988).** The vascular action of aqueous extracts of *Foeniculum vulgare* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 24, 213–218.
- Adesokan A.A., Owoyele B.V., Akanji M.A. and Soladoye A.O. (2008).** Effect of administration of aqueous and ethanol extracts of *Enantia chlorantha stem* bark on brewer's yeast induced pyresis in rats. *Journal of Biochemistry*; 2(7):165-169.
- Aganga A.A. and Mosase K.W.(2001).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91,pp.107-113
- Akowuah G. A., Zhari I., Norhayati I., Sadikun A. and Khamsah S. M. (2004).** Sinensetin, eupatorin, 3'-hydroxy-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of *Orthosiphon stamineus* from Malaysia. *Food Chemistry*, 87 (4), pp.559-566.
- Amimar, Z., Lamarti A., Badoc A., Reduron J.P., Ouahabi S. and Muckensturm B.(2001).** Clonage du fenouil doux par culture d'apex. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 140, pp.43-58.
- Anwar F., Ali M., Hussain A. I. and Shahid M. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) seeds from Pakistan, *Flavour and Fragrance Journal*, 24, pp. 170-176.
- Aouissa I.W. R. (2002).** Etude des activités biologiques et de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako. p.127.
- Aprotosoiaie A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V. and Stanescu U. (2010).** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare Mill.*). *FARMACIA*, Vol. 58 (1); pp. 46-54.
- Arslan N., Bayrak A., et Akgul A. (1989).** The yield and component of essential oil in fennel of different origin (*Foeniculum vulgare Mill.*) grown in Ankara conditions. *Herba Hungarica*, 28, pp.27–31.
- Attiso M. A. (1979).** Une matière première de grande consommation. Le courrier de L'UNESCO-ONU, Paris, 7-8.

**Ayoola G.A., Coker H.A., Adesegun S.A., Adepoju A.A. , Obaweya K. , Ezennia E.C.(2008).** Atangbayilal Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **7**.(3), pp.1019-1024.

**B**

**Badoc A., Amimar Z., Lamarti A. and Deffieux G., (1998).** Action de la colchicine lors de lamicropropagation du fenouil (*Foeniculum vulgare Mill.*) sur l'huile essentielle des fruits.*Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **137**, pp. 25-36.

**Bahorun T., (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius.* pp. 83-94.

**Balansard G., (2007).** Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la

**Bartosz G., (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. **9** : pp. 5-21.

**Beaudeau J.-L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. & Peynet, J., (2006).** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose.*Immuno-analyse & Biologie spécialisée* **21**, pp.144–150.

**Benmahdi A., (2001).** Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie*, **6**, pp. 11-27.

**Bérubé-Gagnon J., (2006).** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec.

**Bettaieb Rebey L.,Sriti J., Besbes B.,Mkaddmini Hammi I.,Hamrouni A. Sllami B.,Marzouk B. and Ksouri R .,(2016).**Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composes phénoliques et les potentialities antioxydantes des grains de fenouil (*Foeniculume vulgare Mill*).*Journaal of New Sciences*,**27**(4),pp.1478-1487

**Betts T. J. (1992).** Possible value for the gas chromatographic analysis of essential oils of some unusual phase commercial capillaries. *Journal of Chromatography*, **626**, pp.294–300.

**Bezanger B.I., Pinkas M. (1975).** Torck M. Les plantes dans la thérapeutique modern. Ed. Maloine. Paris.

**Bianchi F., Corbetta F.N. (1975).** Atlas des plantes médicinales. Ed. Française. Paris

- Boizot N., and Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp
- Boizot N., and Charpentier J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp79-82.
- Bonet A.M., Parada M., Selga A. and Valle`s J. (1999).** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'Alt Emporda` and Les Guilleries (Catalonia, Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology*, **68**:pp.145–168.
- Bonnet C., Alamigeon F. and Micheels P. (2010).** Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. *Edition Eyrolles*, p 14.
- Borel M. (1997).** La gastronomie : le fenouil, saveur d'origine. Ed. Dunod. Paris.
- Bourin M., Lievre M., Allain H. (1993).** Cours de pharmacologie(3<sup>e</sup>édition), Edition marketing, pp. 134-5
- Braithwaite A., Smith F. J. (1999).** Chromatographic Methods. *5ème Ed Kluwer Academic Publishers* London. p. 548
- Bruneton J. (1987).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales .Ed. Lavoisier. Tec. Et Doc. Paris
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3<sup>ème</sup> éd).Tec et Doc (Ed), Paris. p. 1120.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. &Doc.* Lavoisier, 2<sup>ème</sup> édition, Paris. p.915.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, p. 575.
- Burda S. et Oleszek W. (2001).** Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49** : 2774-2779.

## C

- Calvin A. (2001).** Investigation phytochimique de trois plantes indonesiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. *Tinospora crispa, Merremia emarginata et Orophea enne-andra*. Thèse de doctorat. Université de Lausanne, p.243.

**Cantore P.L., Iacobellis N.S., De Marco A., Capasso F. and Senatore F. (2004).** Antibacterial Activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare* (Miller) Essential oils, *J. Agric. Food chem.*, **52**, pp.7862-7866.

**Cavaleiro, C. M. F., Roque O. L., Proenca D. A., et Cunha A. (1993).** Contribution for the characterization of Portuguese fennel chemotypes. *Journal of Essential Oil Research*, **5**, pp. 223–225.

**Charles D.J., Morales M.R., Simon J.E.(1993).** essential oil content and chemical composition of finocchiofennel. In Janick J. and Simon J.E. Ed. *New crops*. Wiley, Newyork, pp.570-573.

**Chaumont J.P., Mandin D., Sanda K., Koba and De Sousa C. (2001).** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielle de lamiacées togolaises vis- à-vis de germes représentatifs de la microflore cutanée. *Acta Bol. Gall*, **148** ,pp. 93-101.

**Chiei R. (1984).** The Macdonal encyclopedia of medicinal plants. Macdonald et co. London.

**Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Ed :Springer*. **6** , pp .75-82

**Chowdhury J.U., Mobarok H. Bhuiyan N.I. and Nandi N.C. (2009).** Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Foeniculum vulgare* Mill. Cultivated in bangladesh. *BangladeshJ. Bot.* **38**(2), pp.181-183.

**Christophe P. and Christophe S. (2011).** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*, p. 84.

**Clarke S. (2008).** Chemistry of essential oil. First edition *ELSEVIER*. British, p.302.

**Clifford M.N. (1999).** Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea *Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida*. **41** (5), pp. 393-397.

**Cohen Y et Jacquot C. (2001).** Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. p.350.

## D

**D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. and Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. **43**(4), pp.348-361

**Dacosta Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. *Ed Yves Dacosta. Paris*, 317

**Dadalioglu I. and Evrendilek G.A. (2004).** Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish

lavender (*Lavandula stoechas* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) on common foodborne pathogens. *J Agric Food Chem* **52**, pp. 8255-8260

**Damayanti A. and Satyawan E. (2012).** Essential Oil Extraction of Fennel Seed (*Foeniculum vulgare*) Using Steam Distillation, *Int. J. Sci. Eng.*, 3(2) 12-14.

**Damjanovic B., Lepojevic Z., Zivkovic V. and Tolic A. (2005).** Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO<sub>2</sub>: comparaison with hydrodistillation, *Food Chem.*, **92**, pp. 143-149.

**Deciga- Campos M. and Lopez-Munoz F.J. (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* **111** pp.476-482

**Delaquis P.J. Stanich K. Girard B. and Mazza G. (2002) .** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol* .,74, pp.101-109.

**Denis S. (2010).** Pharmacologie B.P : classes pharmacologique. Livre, 4ème édition, France, p84.

**Densiov E.T., Afanas'ev I.B. (2005).** IN: *Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology*. Eds: *Taylor & Francis Group* (U.S.A), Pp: 703-861.

**Deraedt R., Jouquet S., Delevalere F., Flahaut M. (1980).** Release of Prostaglandins E and F in allogenic reaction and its inhibition. *Eur J Pharmacol* 61:17-24

**Desmarest P. (1978).** New aspects of fennel cultivation in France. – *Acta Hortic.*,**73**, pp.289-295.

**Diallo A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (*MYRTACEAE*). Thèse de Doctorat. Mali.

**Diao W.R., Hu Q.P., Zhang H., Xu J.G. (2014).** Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control.* **35**, pp.109–116.

**Diaz-Maroto M.C., Diaz-Maroto H.I.J., Sanchez-Palomo E. and Pérez-Coello M.S. (2005).** Volatile compenents and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, pp. 5385-5389.

**Dohou N ., Yani K ., Thahrouch S ., Idrissi Hassani L.M ., Badoc A ., mira G .N.(2003).** Screeming phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroïdes*.*Bull..Soc.Pharm.Bordeaux*, **142**, pp. 61-78.

**Dolara P ., Luceri C ., De Filippo C ., Femia AP ., Giovannelli L ., Carderni G ., Cecchini C., Silvi S ., Orpianesi C . and Cresci A ., (2005).** Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats. *Mutation Research*, 591, pp. 237–246.

**Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S., Kukic J. (2007).** Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol.* **109**, pp.458 -463 .

**Dubinsky B., Schupsky .J.J. (1984).** Mechanism of action of suprofen, a new peripheral analgesic as demonstrated by its effects on several nociceptive mediators. *Prostaglandins* 28:241-52

**Dubois M.K.A., Gilles Y.K., Hamilton P.A. (1956).** *Colemetry method for determination of sugar and related substance. Anal. and Chem. Jour.* **28**,pp. 350-356.

### E

**Ebadollahi, A. (2013).** Plant Essential Oils from Apiaceae Family as alternatives to conventional Insecticides, *Ecologia Balkanica*, **5** Issue 1.

**Ebeed N.M., Abdou H.S., Booles H.F., Salah S.H., Ahmed E.S. and Fahmy K. (2010).** Antimutagenic and chemoprevention potentialities of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) hot water crude extract. *Journal of American Science*, **6** (9), pp.831-822.

**Edeas M. (2005).** Les secrets de santé du thé : c'est naturel, c'est ma santé. *Alpen Editions s.a.m.*, p 18.

**Edris, A.E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res.* **21**, 308-323.

**EFSA, (2009).** EFSA Scientific cooperation (ESCO) working group on botanicals and botanical preparations; Advice on the EFSA guidance document for the safety assessment of botanicals and botanical preparations intended for use as food supplements, based on realcase studies on request of EFSA. *EFSA Journal*, **7** (9), 280, p.104.

**El-Baradai S., Lyousssi., Wibmo M., Morel N. (2001).** Pharmacological evidence of hypotensive activity of marrubium vulgare and foeniculum vulgare in spontaneously hypertensive rat. *CLIN. AND EXPER. HYPERTENSION*, **23** (4) pp. 329-343.

**Elghozi J.L., Duval D. (1992).** Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. p. 289.

**El-Soud N.A., EL-Laithy N., EL-Saeed G., Wahby M.S., Khalil M. and Morsy F. (2011).** Antidiabetic activities of *Foeniculum vulgare* Mill. Essential oil in streptozotocin induced diabetic rats, *Macedonian Journal Medical Sciences*, **173**, pp.1857-5773.

**Eschalier A., Fialip J., Courteix C. (1990).** Pharmacologie des antalgiques antipyrétiques : aspirine, paracétamol, ibuprofène comparaison dynamique cinétique. *Lettre Pharmacol 4(Suppl I)* : 11-4

**Essawit T. and Srour M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharm.* **70**,pp.343-349.

**Eun-Mi Choi, Jae-Kwan Hwang. (2004).** Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia*, **75**,pp. 557– 565

### F

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, pp.108-115.

**Fernandez M. (2003).** De Quelques plantes dites médicinales et de leurs fonctions. Ed. Aenigma. P 09.

**Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A., Kuri, V. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science.* **69** ,pp. 371-380.

**Ferrari, J. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des *Thymelaeaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.

**Formacek V., Kubbeczka K.H. (1982).** Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, John Wiley and sons, New-York. ALNAP Database ref : I.D. p. 171.

**Formica J-V et Regelson W. (1995).**Review of the Biology of quercétin and related Bioflavonoids.*Fd Chem.Toxic*, **33**, pp.1061-1080.

### G

**Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., (2007).**Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* M. H. H. Roby, M. A. Sarhan, K. A. Selim, and K. I. Khalel, "Antioxidant and antimicrobial

activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.),” *Industrial Crops and Products*, 44, pp. 437–445.

**Garnéro J. (1996).** Huiles essentielles. *Techniques de l'Ingénieur*, traité Constantes physicochimiques , **345** (1), p.39.

**Garnier G., Bezanger B.L., Debraux G. (1961).** Ressources médicinales de la flore française. Tome2. Ed. Vigot frères. ParisIV pp.900-902.

**Ghedira K.(2005)** Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function andtherapeutic uses. *Phytothérapie*, **3**(4), pp.162-169.

**Girre L. (1985).** Nouveau guide des vieux remèdes naturels. Ed. Lechevalier.

**Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Guetteridge, J.M. (1993).** free radicals in disease processes : a complication of cause and consequence. *Free radical research communications*. **19**, pp. 141-158.

**Goudable J. & Favier A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **11**, pp.115-120.

**Graham H.D. (1992).** Stabilisation of the Prussian blue colourin the determination of polyphenols.*J. Agric. Food Chem.***40**, pp.801-805.

**Guesmi A., Boudabous A. (2006).** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*. Numéro spécial : pp. 224-230.

**Guillén M.D., Manzanos M.J. (1996).** A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest, *Food International*, 29 85-88.

**Guillen MD, Manzanos MJ. (1994).** *Chem Mikrobiol Technol Lebensm*,**16**,141.

**Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R. (2005).** Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*. Pp . 554-558.

### H

**Hadj Salem J. (2009).** Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE.

**Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research*. **30**, pp. 07.

**Harborne J.B . (1999).** An overview of antinutritional factors in higher plants. In: Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding Caygill JC and Mueller-Harvey I.eds. *Nottingham Univ Press, UK*; pp: 7-16.

**Hostettmann, K., Potteray, O. and Wolfender, J. L. (1998).** The potential of higher plants as a source of new drugs. *Chimie*, 52, 10-17.

**Harkati B. (2011).** « Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille ASTERACEAE : Scorzonera Undulata », thèse de doctorat Université Mentouri Constantine.

**Haslam E ., (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. *J Nat Prod*,**59**, pp.205–215

**Hatano T., Kusuda M., inada K., Ogawa T.O., Shiota S., Tsuchiya T., Yoshida T.(2005).** Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, **66**, pp.2047-2055.

**Hendawy S.F. and Ezz El-Din A.A. (2010).** Growth and yield of *Foeniculum vulgare* var. *azoricum* as influenced by some vitamins and amino acids. *Ozean Journal of Applied Sciences* **3**(1), pp.113-122.

**Hodek P., Trefil P., Stiborova M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*. **139**: 1-21.

**Hunault H., Desmarest P., Du Manoir J. (1988).** -XI *Foeniculum vulgare* Miller: Cell Culture, Regeneration, and the Production of Anethole. - In Bajaj (Y.P.S.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry 7, Medicinal and Aromatic Plants II*, Berlin Heidelberg, Springer, pp.185-212.

## I

**Igor P. L. B.(2003).** Etude des activités biologiques de fagara.

## J

**J. Ennadir, R. Hassikou, F. Bouazza, M. Arahou, G. Al Askari, K. Khedid. (2014).** Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. *Phytothérapie (Lavoisier SAS 2014)* 12:302-308

**Jacob, L. (2007).** L'insuffisance rénale aiguë. *Edition Springer*, p 88

**Jacqueline Ahou K. (2009).** Etudes des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *guierasenegalensis* j. F. Gmel (combretaceae). Thèse pour l'obtention du Grade de Docteur en Pharmacie ; Université de Ouagadougou; p 59.

**Jadot G. (1994).** Antioxydants et vieillissement, *Edition John Libbey Eurotext*, p .35.

### K

**Karnick C.R. (1994).** Pharmacopocial standards of herbal plantes. Delhi : sri. Atguru. Publications, **72**(2) , pp.139-141.

**Katsiotis S. T. (1988).** Study of different parameters influencing the composition of hydrodistilled sweet fennel oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **4**, pp.221–224.

**Kaur G.J. and Arora D.S. (2010).** Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family Umbelliferae - Current status. *Journal of Medicinal Plants Research* , **4**(2), pp. 087-094.

**Khababae K. et Ree T.V. (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.*, **18** : 641–649.

**Kirsh, M. & De Groot, H. (2002).** Formation of peroxy nitrite from reaction of nitroxyl anion with molecular oxygen. *Journal of Biological Chemistry* , **277**(16), pp.13379-13388.

**Koleva I-I., Van Beck T-A., Linsen J-P-H., Groot A and Evstatieva I-N. (2002).** Screening of plant extract for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phyt.l Anal.*, **13**, pp 8–17.

**Kothe H.W. (2008).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre editions. Toulouse, p.328.

**Kutukoglu F., Girisgin A.O. and Aydin L. (2012).** Varroacidal efficacies of essential oils extracted from *lavandula officinalis*, *Foeniculum vulgare*, and *laurus nobilis* in naturally infested honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **36**(5) .pp.554-559.

### L

**Lahhit N., Bouyanzer A., Desjobert J.M., Hammouti B., Salghi R., Costa J., Jama C., Bentiss F. and Majidi L. (2011).** Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Essential Oil as Green Corrosion Inhibitor of Carbon Steel in Hydrochloric Acid Solution, *Portugaliae Electrochimica Acta*, **29**(2), pp. 127-138.

**Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J.P. (2004).** The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipidperoxydation and increasing liver glutathione concentration. *Pathologie Biologie*. **52** , pp. 314-322.

**Lawrence B. M. (1989).** Progress in essential oils. *Perfume and Flavor*, **14**, 47–49.

**Lawrence, B. M. (1992).** Progress in essential oils. *Perfume and Flavor*, **17**, 44–46.

**Lazouni H.A., Benmansour A., Taleb-Bendiab S.A. & Chabane Sari D. (2007).** Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill. *Sciences & Technologie*, **25**, pp.7-12.

**Lebham. (2005).** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).

**Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y. (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **51**, pp. 7292-7295.

**Lee S.H. (2004).** Acaricidal activity of constituents identified in foeniculum vulgare fruit oil against Dermatophagoides spp. (Acari : Pyroglyphidae), *Journal of Agricultural and Food chemistry*, **52**, pp.2887-2889.

**leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007) .** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Biocell*. **39**: 44-84.

**Lhuillier, A. (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse.

**Linuma , M. et all. (1993).** Constituents of *Vancouveria hexandra* heterocycles (35) ,407.

**Loomis D. and Croteau R. (1980).** Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.). Academic Press, San Francisco, pp. 364-410.

## M

**Macheix J.J., Fleuriet A. et Allemand J.C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes*, P .4-5.

**Malini T., Vanithakumari G., Anusya S. Devik R., Elango V. (1985).** Effect of foeniculum vulgare Mill. Seed extract on the genital organs of male and female rats. *Indian journal of physiology and pharmacology*. pp. 216-229

**Malini T., Vanithakumari G., Megala N., Anusya S., Devi K., et Elango V. (1985).** Effect of *Foeniculum vulgare* Mill. seed extract on the genital organs of male and female rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, **29**, pp.21–26.

**Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. **79**: 727-747.

**Marfak A. (2003).** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES.187 p

**Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M. (2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem*. 103: 778-786.

**Mau J-L. Huang P-n. Huang S-J. and C-C. (2004).** Antioxydant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorata* mycelia. *Food Chemistry*. 86 : 25-31.

**Médart J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. *Editions De Boeck Supérieur*, p. 49.

**Merken H.M. and Beecher G.R. (2000).** Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones. *J Chromatography A*. **897**, pp.177-184.

**Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000)** .The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*. **52**, pp.673-751.

**Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000)** .The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*. **52**, pp. 673-751.

**Mimica-Dukic N., Kujundzic S., Sokovic M. and Couladis M. (2003).** Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytother. Res*. **17** (4), pp. 368-371.

**Mohamed M.AH. and Abdu M. (2004).** Growth and oil production of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.): effect of irrigation and organic fertilization. *Biol. A. & Hort.*, **22**, pp. 31-39.

**Murdock D.H. (2002).** The Encyclopedia of Foods: A Guide to Healthy Nutrition. Elsevier's Science & Technology. Oxford, UK ; p.529.

**N**

**N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traore D., Akéassi L. ,(2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* , 6 (1), pp.1-15.

**Nahrsted A. and Butterweck V. (1997).** *biologically active and other chemical constituents of the here of hypercuim perforatum.* L-Pharmacopsychiat,**30**, 129-134.

**Nakamura H., Yokoyama Y., Ishii K. (1983).** The pharmacological profile of 2-(8 methyl-10, 11 dihydro-11 oxodibenz (b,f) oxepin 2-Yl) propionicacid (AD 1590) a new non-steroidal antiinflammatory agent with potent antipyretic activity. *Arzneim-Forsch Drug Res* 33:1555-69

**Nauciel C., and Vildé J.L. (2005).** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson . Paris. pp.5-10.

**O**

**Olle M. and Bender I. (2010).** The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research*, 8 (3), pp.687-696.

**Onawunmi G.O. (1984).** Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citrate*. *Ethnopharmacol.* 12(3),pp. 279-86.

**Özbek H., Ugras S., Dülger H., Bayram I., Tuncer I. and Öztürk, G. (2003).** Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil, *Fitoterapia*, 74, pp. 317-319.

**Özcan M. and Akgül A. (2001).** Chemical composition of the essential oil of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum*). *J. Spices Arom. Crops* 10: pp. 49-50.

**Özcan M., Chalchat J.C., Arslan D., Ates A. and Ünver A. (2006).** Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum*) fruit oils obtained during different vegetation. *J. Med. Food* ,9 (4): pp.552-561.

**P**

**Papazian, L. & Roch, A. (2008).** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Edition Springer*, p .153.

**Patrick B., Jean L., and Michel S. (1988).** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.

**Piccaglia R., et Marotti M. (1993).** Characterization of several aromatic plants grown in northern Italy. *Flavor and Fragrance Journal*, **8**, pp.115–122.

**Pincemail, J. & Defraigne, J.-O. (2003).** Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* **18** (2),pp. 55-60.

**Pitasawat B., Champakaew D., Choochote W., Jitpakdi A., Chaithong U., Kanjanapothi D.,attanachanpichai E., Tippawangkosol P., Riyong D., Tuetun B. and Chaiyasit D. (2007).** Aromatic plant-derived essential oil: an alternative larvicide for mosquito control. *Fitoterapia*, **78**(3), pp.205-210.

**Podsdek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J. (2000).** Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*. **210**, pp.268-272.

**Poirier, J. (2004).** L'indispensable pour vivre en santé, *Edition Merlin*, p 72.

**Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C et Roura S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft + technologie*. **36**, 679-684.

**Pontual I. et gaudelus J.( 2002).** fièvre aiguë isolée chez l'enfant de 3 à 36 mois. *Médecine clinique pour les pédiatres*, **1**, 46-49.

**Pradeep K. U., et Geervani P. (1994).** Influence of spices on protein utilization of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) and horsegram (*Dolichos biflorus*). *Plant Foods for Human Nutrition*, **46**, pp.187–193.

**Pradhan M., Sribhuwaneswari S., Karthikeyan D., Minz S., Sure P., Chandu A.N., Mishra U., Kamalakannan K., Saravanankumar A. and Sivakumar T. (2008).** *In-vitro* Cytoprotection activity of *Foeniculum vulgare* and *Helicteres isora* in cultured human blood Lymphocytes and antitumor activity against B16F10 melanoma cell line. *Research J. Pharm. and Tech.*,**1**(4), pp.450-454.

## R

**Rabi T .et Bishayee A . (2009).** Terpenoids and breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Res Treat*; **115**, pp.223-23.

**Reynolds JEF. (1982).** Essential oils and aromatic carminatives. London: Martindale-The Extra Pharmacopeia, Royal Pharmaceutical Society,

**Reynolds JEF.(1982).**Essential oils and aromatic carminatives. London: Martindale-The Extra Pharmacopeia, Royal Pharmaceutical Society ,p10.

**Richard C. et Kiredjian M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des

**Roby M. H. H., Sarhan M. A., Selim K. A., and Khalel K. I.(2013).**“Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.),” *Industrial Crops and Products*, **44**, pp.437–445,

**Ruberto G., Baratta M.T., Deans S.G. and Dorman H.J.D. (2000) .** Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils, *Planta Medica*, **66** 687-693.

## S

**Sacchettini J.C . et Poulter C.D. (1997).** Creating isoprenoid diversity. *Science*, **277**, Pp.1788-1789.

**Sagdic O., Karahan A.G.,Ozcan M.,Ozcan G. (2003).**Effect of some spice extracts on bacterial inhibition.*Food Science and Technology International*,**9** (5), pp.353-356.

**Saija A ., Scalese M ., Lanza M ., Marzullo D ., Bonina F ., Castelli F.(1995).** Flavonoids as antioxidant agents importance of their interaction with biomembranes .*Free radical biology & medicine* ,**19**, pp.481-486.

**Satchell F. B., Bruce V. R., Allen G., Andrews W. H., et Gerber H. R. (1989).** Microbiological survey of selected imported spices and associated fecal pellet specimens. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, **72**, pp.632–637.

**Sato M., Tsuchiya H., Takase I., Kureshiro H., Tanigaki S.and Iinuma M.(1995).** Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics *Phytother. Res.* **9** (7),pp.509- 09.

**Schofield P., Mbugua D.M., Pell A.N.(2001).**Analyses of condensed tannins: a review *.Animal Food and Technology*,**91**, pp.21-40.

**Schwartz H. J., Jones R. T., Rojas A. R., Squillace D. L., et Yunginger J. W. (1997).** Occupational allergic rhino conjunctivitis and asthma due to fennel seed. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, **78**, pp.37–40.

**Shah B.N. et Seth A.K.,(2010).** Medicinal plants as a source of Anti-pyretic Agents.A Review *Advances in Bioresearch* ,**1**, pp.10-16.

- Sharma A. K., et Sharma K. D. (1983).** Effects of fungal metabolites on the germination of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seed. *Toxicology Letters*, **17**, pp. 81–84.
- Sies H. and Stahl W. (1995).** Vitamins E and C, carotene and other carotenoids as antioxidant. *Am. J. Clin.*
- Silano V. and Delbò M. (2008).** Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. *EMEA*, European Medicines Agency. London , p. 23.
- Simon J.E., Chedwick A.F., Craker L.E. (1984).** The scientific literature ou selected herbes, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. Archo books, Hamden, CT.
- Singh G., Maurya S., de Lampasona M.P. and Catalan C. (2006).** Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control*, **17**, pp.745–752.
- Singleton V.L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Method. Enzymol.* **299**, pp. 152-178.
- Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. et Knez Z. (2005).** Phenols proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89**, pp. 191-198.
- Sorg O.(2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* **327**, pp. 649-662.
- Soylu S., Soylu EM., Evrendilek G.A. (2009).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. Var. vulgare) and Dill (*Anethum graveolens* L.) against the growth of food-borne and seed-borne pathogenic bacteria. *Italian J Food Sci.* **21**, pp. 347–55
- Stavri M. and Gibbons S .(2005).** The anti mycobacterial constituents of Dill (*Anethum graveolens*). *Phytother Res* .19, pp. 938–41
- Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Facanali R., Meireles M.A.A., Moura L.S., Marchese J.A. and Sousa L.A. (2006b).** Essential oil constituents of different organs offennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*). *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, **8**, pp.193-198.
- Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Meireles M.A.A., Moura L.S. and Marchese, J.A., (2006a).** Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare* var. *dulcis* in the season of the year. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, **8**, pp.86-90.

**Steven. P., Rachel. C., Martha. E., Paul. H., Jane. S., and Peter W.J. (2004).** Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. Pp.71-132

**Subsamanian S., Stacey G. et Yu O. (2007).** Distinct crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in plant science.*, **12** (7) , pp.282-283.

### T

**Tanira M.M., Shah A.H., Mohsin A., Ageel A.M. and Qureshi S. (1996).** Pharmacological and toxicological investigations on *Foeniculum vulgare* dried fruit extract in experimental animals. *Phytotherapy Research*, **10**, pp.33-36.

**Telci I., Demirtas I. and Sahin A. (2009).** Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit during stages of maturity, *Ind. Crops Prod.*, **30**, pp. 126-130.

**Tieppo J., Vercelino R., Dias A.S., Silva Vaz M.F., Silveira T.R., Marroni C.A., Marroni N.P., Henriques J.A.P., Picada J.N. (2007) .** Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*. **45**, pp. 1140-1146.

**Tiqwari A. K. (2001).** Imbalance in antioxidant defence and human diseases : Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science.*, **81** (9) : 1179-1181.

**Tiwari and Kakkar H.P.A.(1990).** Phytochemical examination of *Spilanthus acemella* (Murr.). *Journal of the Indian Chemical Society*, **67** (9),pp.784–785.

**Tognolini M., Ballabeni V., Bertoni S., Bruni R., Impicciatore M. and Barocelli, E. (2007).** Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis, *Pharmacological Research*, **56** ,pp.254-260.

**Touchstone J, Dobbins M.F. (1983).** Practice of thin layer chromatography (2ème Ed), wiley-Interscience(Berlin); pp: 1-13.

### V

**Valnet J. (1984).** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences de plantes. Ed. Maloine S.A. Paris, pp. 197-199.

**Verdon M., Golgdmannt T., Collar M. (2002).** Le fenouil Ed. Le jardin mangeable.

**Verdrager J. (1978).** Ces médicaments qui nous viennent des plantes, Ed. Maloine S.A. P. 12-15.

**Verghese J. (1988).** Fennel. *Indian Cocoa Arecanut Species Journal*, **12**, pp.39–43.

**Vienna C.F, Bauer R, Carle R, Tedesco D, Tubaro A and Zitterl-Eglseer K., (2005).** Assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as "additives" for use in animal production. *FEEDAP*. p. 297.

**Vienna C.F., Bauer R., Carle R., Tedesco D., Tubaro A. and Zitterl-Eglseer K. (2005).** Assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as "additives" for use in animal production. *FEEDAP* , p.297

**Vogel G. and Angermann H. (1998).** Atlas de la biologie. Encyclopédie d'aujourd'hui, la photothèque. Librairie générale française.

## W

**Wichtl M. (1999).** Anton R. Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique-3eEd. Tecet Doc. pp. 189-190.

**Wikipédia 2016**

## Y

**Yang R. Y., Lin S. et Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition.*, **17** (S1), pp. 275-279.

**Yano Y., Satomi M., Oikawa H. (2006).** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International J. Food Microbiology*, 111: 6-11.

## Z

**Zahid N.Y., Abbasi N.A., Hafiz I.A. and Ahmad Z. (2009).** Genetic diversity of indigenous fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) Germplasm in pakistan assessed by RAPD markers. *Pak. J. Bot.*, **41**(4): pp.1759-1767.

**Zhu, J.X, Wang, Y., Kong, L.D., Yang, C., Zhang, X. (2004).** Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *J Ethnopharmacol.* **93**, pp. 133-140.

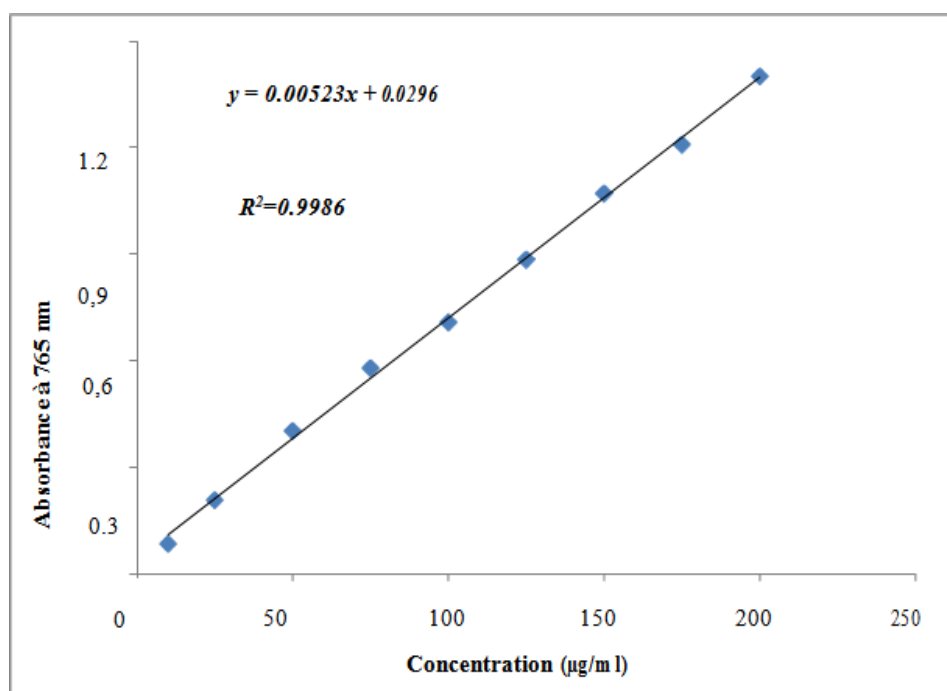
# Les annexes

Les annexes

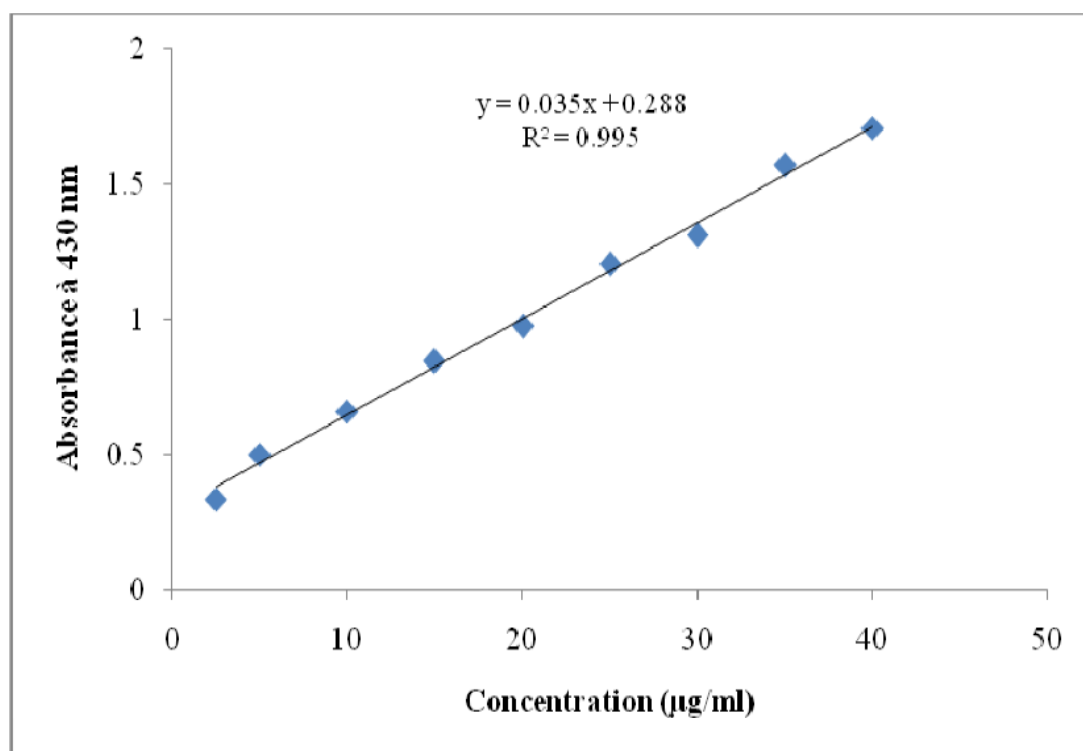
**1. Résultats de l'activité antipyrétique :**

Résultats du contrôle négatif							
N rat	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	36	36,7	37,1	37,6	38	38	38,6
2	34	35,2	36,6	37,2	38,2	38,8	39,2
3	34,4	35,5	36,7	37,1	37,7	38,3	38,9
4	33,9	34,8	37,3	37,9	38	37,6	38
5	35	36,3	37	37,5	37,9	38,2	38,7
Moy	34,66	35,7	36,94	37,46	37,96	38,18	38,68
SD	0,865	0,784	0,288	0,321	0,182	0,438	0,444
Résultats du contrôle positif							
N rat	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
1	35,9	36,4	36,9	37	38,7	38,4	38,1
2	36,5	36,9	37,6	37,3	38,8	38	37,1
3	35,1	35,4	37,4	36	38,3	37,7	37
4	36,8	37,4	37,6	36,1	37,9	37,6	37,5
5	36,2	36,6	37,4	37,6	38,4	37,9	37,4
Moy	36,1	36,54	37,38	36,8	38,42	37,92	37,42
SD	0,652	0,740	0,286	0,717	0,356	0,311	0,432
Dose 400mg/kg							
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
R1	37,6	35,7	35,1	35,7	36,2	37,5	37,9
R2	36	35	32,5	33,3	33,5	34,7	35,9
R3	37,6	37	35,8	34,6	35,8	36,9	37,8
R4	38,2	36,1	34,9	35,6	36	37,5	38,2
Moyenne	37,35	35,95	34,575	34,8	35,375	36,65	37,45
Ecartype	0,943	0,835	1,436	1,116	1,261	1,33	1,047
Dose 200mg/kg							
Rat	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
R1	37,7	36,5	35,9	36,6	37,6	37,4	37,6
R2	36,5	35,8	36,4	36,6	37,5	37,7	37,8
R3	37,4	36,9	36,8	36,8	37,2	37,6	37,9
R4	36,8	35,2	35,4	35,8	36	36,5	37,4
Moyenne	37,1	36,1	36,125	36,45	37,075	37,3	37,675
Ecartype	0,548	0,753	0,607	0,443	0,736	0,548	0,222

## 2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :



## 3. Courbe d'étalonnage de quercitine :



#### 4. Réactifs chimiques et instrumentations

Le tableau suivant renferme toutes les matériels et instrumentations (appareillage, solution de travail, produits chimiques...) utilisé lors de cette étude, rappelons que tous ces matériels provient de laboratoire de l'université.

Appareillage	Solutions de travail	Produits chimiques
✓ Balance électriques	✓ Ethanol	✓ AlCl <sub>3</sub>
✓ Rota vapeur	✓ Methanol(CH <sub>3</sub> -OH)	✓ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
✓ Autoclave	✓ Chloroform(CHCl <sub>3</sub> )	✓ FeCl <sub>3</sub>
✓ Etuve	✓ Hexane	✓ Gélose Mueller Hinton
✓ Vortex	✓ Acétate d'éthyle	✓ Gélose nutritive
✓ Thermomètre	✓ Acide acétique	✓ Gentamycine
✓ Plaque CCM	✓ Eau distillé	✓ (KOH)
✓ Spectrophotomètre UV-Vis.	✓ Réactif de Mayer	✓ NaCl
✓ Etuve.	✓ Réactif de folin	✓ NaOH
✓ Agitateur.	✓ Benzène	✓ Levure de bière
✓ Balance de précision.	✓ Ammoniac	
✓ Agitateur magnétique.	✓ DMSO	
✓ Vortex.	✓ Acide sulfurique	
	✓ Acide formique	
	✓ Acétone	

## 5. La plante avant la récolte et après la séchage



Photo de la plante avant récolte aux environs de Khenchela-Algérie.



Photo de la plante après séchage

## 6. Rats *wistar* dans leurs cages



Photo des rats *wistar* dans l'animalerie de laboratoire de l'université Abbes Laghrour-Khenchela

## Résumé

Amamri Khawla

Cheikh Mokhtar

Soutenu le : 02/06/2016

Master Académique en biologie

Option : Biochimie Appliquée

Etude Phytochimique et biologiques de fenouil sauvage

(*Foeniculum vulgare Mill*)

Le fenouil (*Foeniculum vulgare Mill*) est une plante aromatique et médicinale utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, elle est reconnue par leur vertu thérapeutique. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des composées présentes dans l'extrait méthanolique de cette plante, et une évaluation de ses activités antioxydante, antibactérienne et antipyrétique. Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des triterpènes, des composés phénoliques, des coumarines, des anthraquinones et des alcaloïdes.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait a révélé des teneurs **146,53 ± 0.81 mgEAG, 44,57 ± 0,04 mg EQ / g E** respectivement.

L'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée par la technique de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait peut agir en tant que piègeur de radicaux.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* a une activité inhibitrice sur toutes les bactéries testées.

L'étude de l'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique de *foeniculum vulgare* sur l'hyperthermie induite chez les rats par la levure de bière a révélé les propriétés antipyrétiques de cet extrait, la dose 400mg/Kg a des effets similaire à celle d'aspirine a la dose 100mg/kg après 4h, tandis que la dose 200mg/kg et un peu plus efficace que celle de 400mg/kg.

Les résultats obtenus justifient l'utilisation traditionnelle de cette plante.

**Mots clés :** Fenouil sauvage, polyphénols, l'activité antibactérienne, activité antipyrétique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

## Résumé

Amamri Khawla

Cheikh Mokhtar

Soutenu le : 02/06/2016

Master Académique en biologie

Option : Biochimie Appliquée

Etude Phytochimique et biologiques de fenouil sauvage

(*Foeniculum vulgare Mill*)

Le fenouil (*Foeniculum vulgare Mill*) est une plante aromatique et médicinale utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle, elle est reconnue par leur vertu thérapeutique. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique des composées présentes dans l'extrait méthanolique de cette plante, et une évaluation de ses activités antioxydante, antibactérienne et antipyrétique. Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des triterpenes, des composés phénoliques, des coumarines, des anthraquinones et des alcaloïdes.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait a révélé des teneurs **146,53 ± 0.81 mgEAG, 44,57 ± 0,04 mg EQ / g E** respectivement.

L'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée par la technique de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait peut agir en tant que piègeur de radicaux.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *Foeniculum vulgare* a une activité inhibitrice sur toutes les bactéries testées.

L'étude de l'activité antipyrétique de l'extrait méthanolique de *foeniculum vulgare* sur l'hyperthermie induite chez les rats par la levure de bière a révélé les propriétés antipyrétiques de cet extrait, la dose 400mg/Kg a des effets similaire à celle d'aspirine a la dose 100mg/kg après 4h, tandis que la dose 200mg/kg et un peu plus efficace que celle de 400mg/kg.

Les résultats obtenus justifient l'utilisation traditionnelle de cette plante.

**Mots clés :** Fenouil sauvage, polyphénols, l'activité antibactérienne, acgtivité antipyrétique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.