

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent

Institut des sciences
Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques
Option : Biochimie

Thème :

*Contribution à l'étude des activités antioxydante et anti-inflammatoire
de l'huile essentielle des graines de *Foeniculum Vulgare* Mill., de la région
d'Ain Témouchent.*

Présenté et soutenu par :

Le : 14/06/2020

Melle. BOUHADDA Imane

Melle. SADOUKI Hadjla

Devant le jury :

Président : Dr. Bennabi F.

Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Examinatrice: Dr. Benhabib O.

Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Encadrante: Dr. ZerriouhM.

Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Année universitaire : 2019/ 2020



Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier *DIEU*, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail qui sanctionnera nos efforts et servira à notre réussite.

Nous tenons aussi à remercier notre encadreur *Dr. ZERRIOUH Meriem* pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, pour sa rigueur, pour sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire et pour avoir accepté de donner de leur temps pour évaluer ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury le président **Dr. Bennabi F** et l'examinatrice **Dr. Benhabib O** pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous voudrions également remercier tous les membres du laboratoire de biochimie.

Nos remerciements vont également à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin par leur conseil leur suggestion et par leurs encouragements à la réalisation de ce travail.

Nous remercions également nos familles *BOUHADDA* et *SADOUKI* pour leur soutien et leur amour, pour l'éducation qu'ils nous ont prodiguée, pour leur présence permanente et leur disponibilité sans faille durant tous nos cursus du primaire à l'université.

Dédicace

À mes parents, pour votre amour, votre patience et générosité, je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et de mon éternel amour. Que Dieu vous donne longue vie.

À mon père et ma mère, à mes frères et sœurs, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

À mes amies et amis que j'ai vécus avec eux des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

*À toute la promotion 2019/2020 option **Master 2 BIOCHIMIE**.*

À Tous ceux et celle qui m'ont aidé.

HADJLA

Dédicace

Tous d'abord merci ALLAH de m'avoir donné la patience et le courage durant ces longues années d'études.

Je dédie ce modeste travail à ma mère qui m'a donnée la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite. Je suis à jamais reconnaissante pour tes multiples encouragements, tu as été présente à mes côtés tout au long de mes études.

À mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

À mes sœurs Wissem, Sirine et mon seul frère Rafik pour la confiance que vous m'avez donnée.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes grandes admirations, mes considérations et mes sincères affections pour vous. Quoiqu'il en soit, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi.

À mes amies et amis que j'ai vécus avec eux des beaux moments au cours de mon cursus à l'université

*À toute la promotion 2019/2020 option **master 2 BIOCHIMIE**.*

Que dieu les garde et les protège.

IMEN

Résumé

L'étude présente porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* de l'huile essentielle des graines de *Foeniculum vulgare Mill*, une espèce aromatique médicinale appartenant à la famille des *Apiaceae*.

La méthode de la réduction du radical DPPH• indique que l'huile essentielle des graines de *F. vulgare* a une activité antioxydante avec une IC₅₀ de 3220µg/ml. En outre, l'activité anti-inflammatoire étudiée en utilisant la méthode de la stabilisation membranaire des érythrocytes a montré une capacité anti-inflammatoire intéressante de notre huile essentielle, qui a été à certaines concentrations plus importante que l'activité de l'acide salicylique.

Mots clés : *Foeniculum vulgare Mill*, huile essentielle, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Summary

The present study concerns the evaluation of the *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Foeniculum vulgare Mill seeds*, a medicinal aromatic species belonging to the family *Apiaceae*.

The method for the reduction of the radical DPPH• indicates that the essential oil of *F.vulgare* seeds has an antioxidant activity with an IC₅₀ of 3220µg/ml. In addition, the anti-inflammatory activity studied using the method of membrane stabilization of erythrocytes, showed an interesting anti-inflammatory capacity of our essential oil, which was with some concentrations larger than salicylic acid activity.

Keywords: *Foeniculum vulgare Mill*, essential oil, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

المخلص

تتعلق الدراسة الحالية بتقييم نشاط مضاد الأكسدة في المختبر و نشاط مضاد الالتهاب للزيوت العطرية لبذور نبات *Foeniculum vulgare*، وهي عبارة عن أنواع عطرية طبيعية تنتمي إلى عائلة *Apiaceae*. تشير طريقة تقليل DPPH• الجذري إلى أن الزيت العطري لـ *F.vulgare* له نشاط مضاد للأكسدة مع IC₅₀ مساوي 3220µg/ml. بالإضافة إلى ذلك، أظهر النشاط المضاد للالتهابات الذي تم دراسته باستخدام طريقة تثبيت غشاء كريات الدم الحمراء، قدرة مثيرة للالتهابات لزيتنا الأساسي، والتي كانت مع بعض التركيزات أكبر من نشاط حمض الساليسيليك.

المفتاحية الكلمات : *Foeniculum vulgare*. زيت أساسي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Différents types des antioxydants naturels selon leur origine.....	4
Tableau n°2 : Principaux anti-inflammatoires non stéroïdiens disponibles sous forme orale.....	9
Tableau n°3 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>F.vulgare</i>	16
Tableau n°4 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique..	16
Tableau n°5 : Mode opératoire du test de la stabilisation membranaire par la chaleur.....	17
Tableau n°6 : Mode opératoire du test d'hémolyse.....	18
Tableau n°7 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>F.vulgare</i>	20
Tableau n°8 : Activité antioxydante de <i>F.vulgare</i> exprimée en pourcentage d'inhibition et IC ₅₀ ...	21
Tableau n°9 : Effet des huiles essentielles de <i>F.vulgare</i> contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires induits par la chaleur et par la solution hypotonique.	24

LISTE DES FIGURES

Figure n°1 : Origine des espèces réactives de l'oxygène.....	3
Figure n°2 : Aperçu de différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production.....	5
Figure n°3 : Schéma récapitulatif de la réponse inflammatoire	8
Figure n°4 : <i>Foeniculum vulgare Mill.</i>	10
Figure n°5 : Structures chimiques des composés bioactifs majoritaires de l'huile essentielle de <i>F.vulgare</i>	12
Figure n°6 : Aspect de <i>F.vulgare</i> à l'état sec.	13
Figure n°7 : Montage dans l'extraction par hydrodistillation de huile essentielle de <i>F. vulgare</i>	14
Figure n°8 : Piégeage du DPPH par l'acide ascorbique.....	22
Figure n°9 : Piégeage du DPPH par l'huile essentielle de <i>F .vulgare</i>	22
Figure n°10 : Mécanisme de piégeage des radicaux par le trans-anéthol.....	2

LISTE DES ABREVIATIONS

% :	Pourcentage
A:	Absorbance
AFNOR :	Association Française de Normalisation
CAT :	Catalase
COX :	Cyclo-oxygénases
DCI :	Dénomination commune internationale
DPPH :	2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
<i>F.vulgare</i>	<i>Foeniculum vulgare</i>
g :	Gramme
GR :	Récepteurs des glucocorticoïdes.
IC 50 :	Concentration d'inhibition de 50%
Ils :	Interleukines
ISO :	Organisation internationale de normalisation
Mg :	Milligramme
Min :	Minute
NO :	Monoxyde d'azote
SOD :	Superoxyde dismutase
µg:	Microgramme
µl:	Microlitre

SOMMAIRE

Introduction.....	1
CHAPITRE I : Stress oxydatif et l'activité antioxydante	2
1 Le stress oxydatif.....	2
1.1 Espèces réactives de l'oxygène.....	2
1.2 Activité anti oxydante.....	4
1.2.1 Définition des antioxydants.....	4
1.2.2 Mécanisme d'action des antioxydants	4
CHAPITRE II : Inflammation et l'activité anti-inflammatoire	6
1 Définition de l'inflammation	6
2 Différents types de la réponse inflammatoire	6
2.1 Inflammation aiguë.....	6
2.2 Inflammation chronique	7
3 Mécanisme de l'inflammation	7
4 Traitement de l'inflammation	8
4.1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	8
4.2 Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes	9
4.3 Anti-inflammatoires naturels	9
CHAPITRE III : <i>Foeniculum vulgare Mill</i>	10
1 Description botanique et systématique	10
2 Utilisation en médecine traditionnelle et activité biologique.....	10
3 Composition chimique de l'huile essentielle de <i>F. vulgare</i>	11
MATERIEL ET METHODES.....	13
1 Extraction de l'huile essentielle.....	13
1.1 Matériel végétal.....	13
1.2. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	13
2 Détermination des indices physicochimiques de l'huile essentielle de <i>F. vulgare</i>	14

2.1	La densité relative à 20 °C	14
2.2	L'indice de réfraction	15
3	Etude <i>in vitro</i> de l'activité biologique de l'huile essentielle de <i>F. vulgare</i>	15
3.1	Evaluation de l'activité anti oxydante	15
3.2	Evaluation de l'activité anti-hémolytique.....	16
RESULTATS ET DISCUSSION		20
1	Huile essentielle de <i>F. vulgare</i>	20
1.1	Le rendement en huile essentielle	20
1.2	Indice physico-chimiques de l'huile essentielle	20
1.2.1	Les propriétés organoleptiques	20
1.2.2	La densité relative à 20°C	21
1.2.3	L'indice de réfraction.....	21
2	Les activités biologiques de <i>F.vulgare</i>	21
2.1	L'activité antioxydante (<i>in vitro</i>)	21
2.2	L'activité anti-inflammatoire (<i>in vitro</i>).....	23
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		27

Depuis la nuit des temps, les hommes se sont soignés avec les produits naturels qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes et ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales afin de vaincre la souffrance et d'améliorer leur santé (**Iserin, 2001**). Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques qui synthétisent, de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires pour la protection contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes (**Cox et Balick, 1994**).

La région méditerranéenne, avec son climat doux et ensoleillé, est riche en plantes aromatiques médicinales à propriétés thérapeutiques remarquables, et a été pendant longtemps la source principale de matière première pour la médecine moderne (**Ould El Hadj et al., 2003**).

Parmi les plantes aromatiques, *Foeniculum vulgare* Mill., est une plante méditerranéenne connue depuis l'antiquité, ses utilisations thérapeutiques sont attribuées en grande partie à son huile essentielle, dont la composition et les effets thérapeutiques ont fait l'objet de plusieurs études (**Guillén et Manzanos, 1996**).

L'objectif de notre travail est d'étudier *in vitro* le pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire de l'huile essentielle des graines de *F.vulgare*, une plante appartenant à la famille des *Apiacées*.

Le présent travail, inclut en premier une synthèse bibliographique sur le stress oxydatif et le pouvoir antioxydant, l'inflammation et l'activité anti-inflammatoire et sur la description botanique de *F. vulgare* et la composition chimique de son huile essentielle ; en deuxième une partie matériel et méthodes qui contient la description des tests biologiques réalisés sur l'huile essentielle des graines de la plante et en troisième une partie résultats et discussion, suivie par une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I : Stress oxydatif et l'activité antioxydante

1 Le stress oxydatif

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives d'oxygène, et les défenses antioxydantes de l'organisme, dû à un mode de vie désorganisé par le tabagisme, l'alcoolisme, l'alimentation riche en sucres et en lipides et la sédentarité (**Halenget al., 2007**). D'autres facteurs sont aussi à l'origine de ce stress oxydant, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, et le rayonnement (**Tamer, 2003**).

Le stress oxydatif a des effets néfastes sur la santé de la population générale et de certains groupes de patients avec des maladies chroniques et aiguës (**Berger, 2006**), il conduit à de nombreuses pathologies notamment, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'athérosclérose, le cancer, le syndrome de Down et la lésion ischémique de reperfusion dans différents tissus, notamment le cœur, le foie, le cerveau, les reins et le tractus gastro-intestinal (**Govindarajanel al., 2005**).

1.1 Espèces réactives de l'oxygène

La formation des espèces réactives de l'oxygène comme les radicaux superoxyde et hydroxyle est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'homme, elle joue un rôle dans les voies de transduction du signal et l'expression des gènes, et aussi le rôle de messagers pour les cellules dans l'apoptose et dans la défense (**Human et al., 2002**). Toutefois, un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydante conduit à un stress oxydatif pouvant entraîner des altérations moléculaires et cellulaires (**Goudable et Favier, 1997**).

D'après Gardès-Albert et ces collaborateurs (**2003**), les espèces réactives de l'oxygène se forment par deux processus :

- Rupture hétérolytique accompagnée d'un transfert monoélectronique, cette réaction nécessite une grande énergie, elle peut se produire sous l'effet de décharges électriques ou de radiations ionisantes.

La rupture hétérolytique $A : B \longrightarrow A^+ + B^-$. (Ions).

- Rupture homolytique, qui consiste à une scission de la liaison covalente et partagent des deux électrons entre les deux atomes liés, avec naissance de deux radicaux libres, c'est une réaction qui se produit par absorption de rayonnements.

La rupture homolytique $A : B \longrightarrow A^\cdot + B^\cdot$. (Radicaux libres).

Il existe ainsi plusieurs réactions enzymatiques qui donnent naissance aux espèces réactives de l'oxygène, on en distingue le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, l'activité NAD(P)H oxydase membranaire, la xanthine oxydase et la famille des cytochromes P450 (Migdal et Serres, 2011). La figure 1 schématise l'origine des espèces réactives de l'oxygène au niveau de la chaîne respiratoire, avec les réactions correspondantes à leur formation.

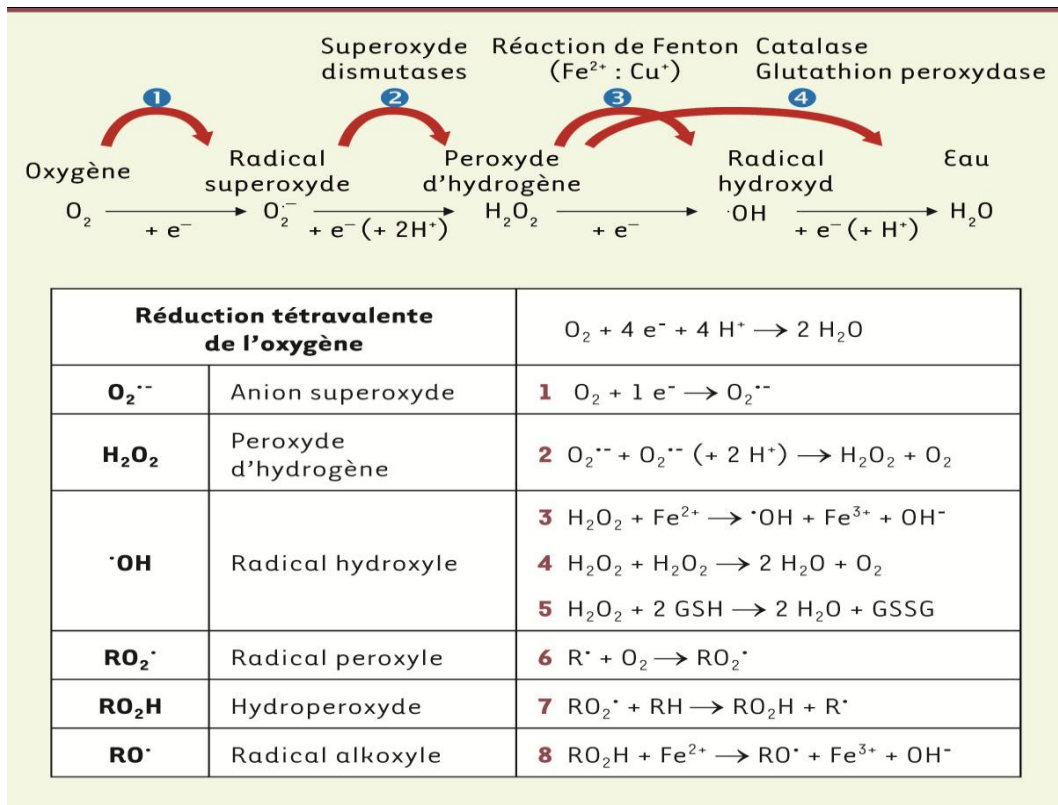


Figure n°1 : Origine des espèces réactives de l'oxygène.

Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées. La réduction tétravalente de l'oxygène en eau, se fait en plusieurs étapes successives, qui donnent naissance à des intermédiaires potentiellement réduits, appelés radicaux primaires ou espèces réactives de l'oxygène, notamment le radical superoxyde et le radical hydroxyle. La dégradation de ces radicaux est contrôlée par des systèmes de défense, les antioxydants comme la superoxyde dismutase et la catalase. Il existe aussi des espèces réactives d'oxygène, dits secondaires comme le radical peroxyde, l'hydroperoxyde et le radical alkoxyde (Migdal et Serres, 2011).

1.2 Activité antioxydante

1.2.1 Définition des antioxydants

Les antioxydants sont définis comme étant toute substance qui lorsqu'elle est présente à faible concentration retarde ou inhibe considérablement l'oxydation des molécules produite sous l'effet des espèces réactives de l'oxygène, et qui peut éventuellement endommager ou détruire la cellule (Shebis *et al.*,2013). Les antioxydants représentent ainsi un système de protection cellulaire face à la réactivité des espèces oxydantes (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les antioxydants peuvent être d'origine synthétique ou naturelle, ces derniers sont en particulier des enzymes et des protéines endogènes, ou bien des molécules exogènes apportées par alimentation (tableau n°1) (Haleng *et al.*, 2007).

Tableau N°1 : Différents types des antioxydants naturels selon leur origine Haleng *et al.*, 2007.

Antioxydants naturels	Exemples
Endogènes	Superoxyde dismutase Catalase Glutathion peroxydase Ferritine Transferrine Céruleoplasmine Albumine
Exogènes	Acide ascorbique (vitamine C) Tocophérol (vitamine E) Caroténoïdes Flavonoïdes Ubiquinone Acide lipoïque

1.2.2 Mécanisme d'action des antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des espèces réactives de l'oxygène, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Fig. 2), on peut les classer en :

- **Système de défense non enzymatique :** Comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, qui agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables(Kinsky, 1989).

- **Système de défense enzymatique** : sont des composés endogènes qui empêchent la production des espèces réactives de l'oxygène comme la peroxydase ou la catalase (Huang et al., 2005).

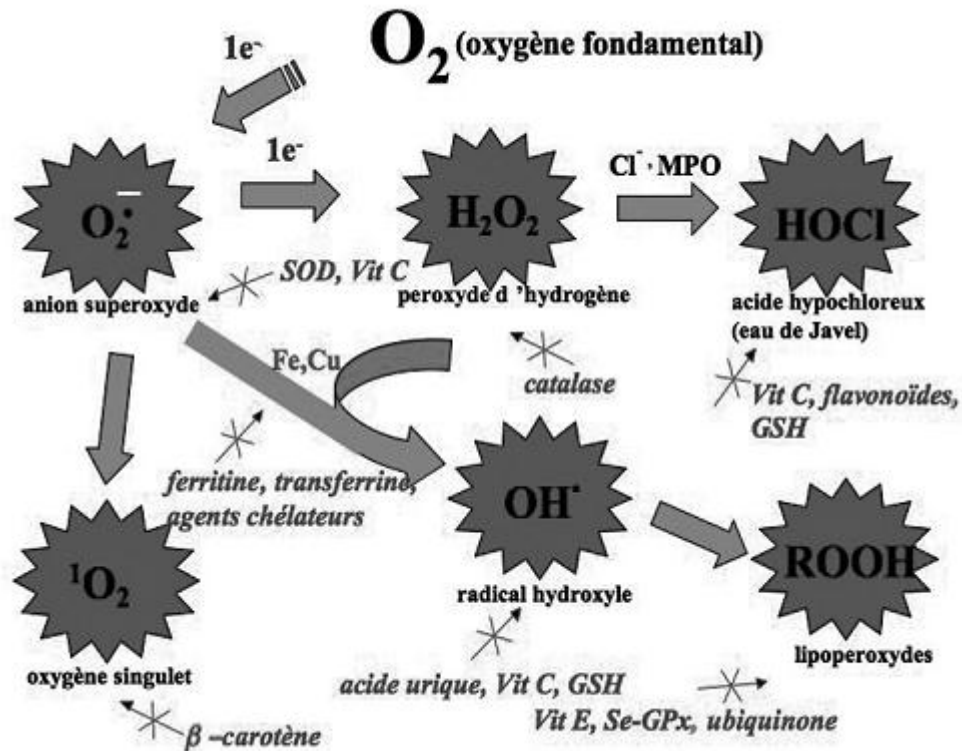


Figure n°2 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng et al., 2007).

CHAPITRE II : Inflammation et l'activité anti-inflammatoire

1 Définition de l'inflammation

La réponse inflammatoire est une série de mécanismes dynamiques et ensemble de réactions du système immunitaire contre une agression externe ou interne (**Gokhale et al., 2002**), avec le but d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires (**Nathan, 2002**). Les symptômes de l'inflammation sont caractérisés par la douleur, la rougeur, la chaleur locale et l'œdème (**Rousselet et al., 2005**). Il existe plusieurs facteurs qui peuvent être la cause de cette réaction, on en distingue:

- ✓ Les facteurs physiques comme la chaleur, le froid (gelure), les rayonnements ionisants.
- ✓ Les facteurs solides exogènes ou endogènes comme les microbes, un dard d'insectes ou des microcristaux (cristaux d'urate).
- ✓ Les facteurs chimiques qui peuvent être des acides, des bases ou des substances toxiques.
- ✓ Les facteurs biologiques comme les toxines, les produits de dégradation tissulaire, et aussi des composés issus de la réaction immunitaire (anticorps _ cytokine).

Quelle que soit la nature du stimulus, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes, c'est l'intensité des manifestations et leur durée qui changent et qui conditionnent les effets bénéfiques ou délétères de la réaction inflammatoire (**Bernard et al., 2003**).

2 Différents types de la réponse inflammatoire

On distingue deux types d'inflammation selon la durée et la cinétique du processus inflammatoire :

2.1 Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à l'agent agresseur, elle est de courte durée (en quelques jours). Cette réaction est caractérisée par un phénomène de vasodilatation intense (**Serhan et al., 2010**), puis elle diminue graduellement à moins que l'agent responsable ne puisse être éliminé par les phagocytoses, les monocytes et les neutrophiles. L'inflammation aiguë repose sur trois phases principales en relation les uns avec les autres :

- **phase vasculaire** : consiste en une vasoconstriction extrêmement brève de quelques minutes sous l'action du système nerveux sympathique, elle est très rapidement

ressentie puisque douloureuse avec la libération de l'histamine, sérotonine et quinine (Weill *et al.*, 2003).

- **Phase cellulaire :** commence par une accumulation d'un grand nombre de polynucléaires, de macrophages, et des plaquettes au site de l'inflammation (Pasquier, 1995).
- **Une phase de résolution et de cicatrisation :** qui en quelques jours 24h à 48h, est à l'origine de la réparation tissulaire (Ward *et al.*, 2002).

2.2 Inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à un échec de l'inflammation aiguë qui évolue en inflammation chronique, c'est le cas des maladies auto-immunes et du cancer (Signal, 2004 ;Roussel,2005), elle est caractérisée par des destructions tissulaires mal réparées (Raynaud,2008).

3 Mécanisme de l'inflammation

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure (Yougbaré-Ziébrouet *al.*,2016). L'initiation de l'inflammation est médiée par les cellules immunitaires résidentes par des récepteurs de reconnaissance d'agents pathogènes (PRR) tels que les récepteurs de type Toll (TLR), conduisant à la synthèse de médiateurs solubles tels que les cytokines pro-inflammatoires, qui activent les voies de signalisation pro-inflammatoires, cette signalisation induit l'activation de cellules immunitaires supplémentaires (Feehan et Gilroy, 2019).

La réponse inflammatoire implique de nombreux enzymes parmi lesquels les lipoxgénases et les cycloxygénases (COX 1 et COX 2) qui synthétisent des médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (Yougbaré-Ziébrouet *al.*,2016).

Les macrophages activés jouent un rôle important dans les mécanismes de défense de l'hôte et l'inflammation et sécrètent un certain nombre de médiateurs inflammatoires différents (NO, TNF α , IL1b et IL-6) (Moro *et al.*, 2012).

La figure n°3 illustre les différentes étapes de la réponse inflammatoire.

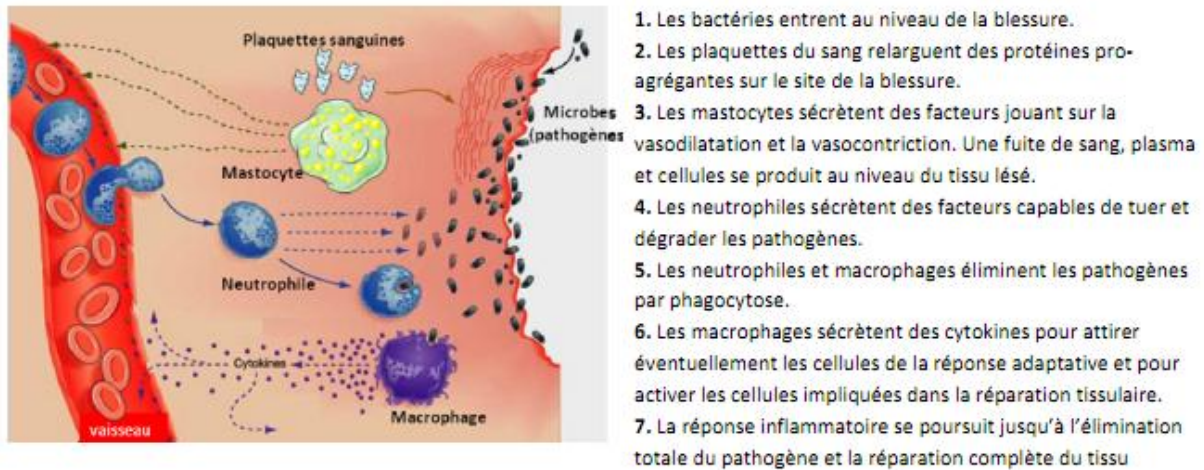


Figure n °3 : Schéma récapitulatif de la réponse inflammatoire (Mathieu et Guimezanes, 2012).

4 Traitement de l'inflammation

Le terme anti-inflammatoires est connue comme pour désigner le traitement actuel de l'inflammation, il concerne deux types de molécules, les stéroïdiennes (les glucocorticoïdes) et les non stéroïdiennes. Bien que ce traitement est efficaces, mais à long terme de son utilisation il présente le plus souvent des effets indésirables qui peuvent le gêner (Rahmani *et al.*,2016).

4.1 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des acides faibles lipophiles et regroupent des molécules ayant, malgré une hétérogénéité structurale, un même mode d'action (Vaubourdolle, 2007). Ils peuvent être des analgésiques ou des antipyrétiques (Charpentier *et al.*,2004).

Ces anti-inflammatoires agissent tous en inhibant une enzyme membranaire, la cyclo-oxygénase (COX), diminuant ainsi la production des prostaglandines E2 et I2, médiateurs importants des phénomènes inflammatoires (Dangoumau *et al.*, 2006).Les principaux AINS disponibles sous forme orale sont représentés dans le tableau n°2.

Tableau n°2: Principaux anti-inflammatoires non stéroïdiens disponibles sous forme orale
(Bouvenot *et al.*, 2012).

Famille chimique	Dénomination commerciale internationale	Spécialité (exemples)
Arylpro-pioniques	Acide tiorofénique*	Surgam®
	Ibuprofène *	Profénid ®
	Acétylsalicylate de lysine	Aspégic®
Coxibs	Célécoxib	Celebrex ®
	Étoricoxib	Arcoxia ®
Arylacétat	Diclofénac *	Voltarène ®
	Acéclofénac*	Cortrex ®
Oxicams	Méloxicam*	Mobic ®

4.2 Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes

Les médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, les glucocorticoïdes traversent librement les membranes cellulaires, se fixent sur des récepteurs spécifiques qui appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires aux stéroïdes et migrent vers le noyau et agissent directement sur l'ADN en se fixant sur des séquences spécifiques, dites GRE (Glucocorticoid Response Element). Ils peuvent augmenter la transcription des gènes anti-inflammatoires et inhiber l'action de certaines protéines nucléaires transactivatrices et inhiber ainsi l'expression de nombreuses cytokines pro-inflammatoires et aussi l'expression de plusieurs gènes inflammatoires (Barnes., 1998).

4.3 Anti-inflammatoires naturels

Les plantes médicinales sont riches en métabolites secondaires à effet anti inflammatoire, ils sont présumés d'agir en bloquant les voies de l'acétylsalicylate et la lipoxigénase ainsi que par d'autres mécanismes, l'intérêt de ce traitement naturel est qu'en plus de son efficacité, il ne présente pas des effets secondaires (Barnes., 1998).

CHAPITRE III : *Foeniculum vulgare* Mill

1 Description botanique et systématique

Foeniculum vulgare Mill., est une espèce connue sous le nom vernaculaire du fenouil (Français), du besbes (Arabe) et de Shomar (Jordan) (**Shamkant et al.,2014**), elle appartient à la famille des *Apiacées*, elle est employée par l'homme depuis l'antiquité, et a été cultivée dans chaque pays entourant la mer Méditerranée en raison de sa saveur (**Muckensturm et al., 1997**).

F. vulgare(Fig.4) est une plante vivace très aromatique, cette plante herbacée est annuelle ou pérenne pouvant atteindre plus de 2.5 m de hauteur et à longue racine fuselée (**Teusher., 2003**), la tige est dressée, rigide et robuste, finement striée, brillante, rameuse dans le haut, devenant creuse avec l'âge, s'imbrique à la base pour former la pomme consommable ou le bulbe (**Heller, 1969**). Elle porte des feuilles alternes et pétiolées et une graine très développée, charnue et sucrée (**Babulka,2004**), avec des fleurs régulières et radicales (**Teusher, 2003**).

Selon Dupont et Guignard, (**2007**) et Abou El-Soud1(**2011**), *Foeniculum vulgare* Mill., est classée selon la systématique suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphyte

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Astérideés

Sous classe : Euastérideés

Ordre :Apiales

Famille :Apiaceae (Umbelliferae)

Genre :*Foeniculum*

Espèces : vulgare

Nom binomial : *Foeniculum vulgare* Mill.



Figure n°4 : *Foeniculum vulgare* Mill., (Gurinder et Daljit, 2010).

2 Utilisation en médecine traditionnelle et activité biologique

F.vulgare Mill est une plante aromatique qui a beaucoup d'usages en médecine traditionnelle, les feuilles et les graines séchées, sont couramment utilisées pour les remèdes maison. Elle est utilisée pour son action anti-inflammatoire, pour activer la sécrétion du lait chez les nourrices, réguler le cycle menstruel (**Choi et Hwang, 2004**), elle a aussi une action apéritive, laxative et vermifuge. C'est une plante efficace pour combattre la formation des gaz intestinaux, de

nausées et de hoquets, elle est également identifiée en tant que remède contre les symptômes du tractus gastro-intestinal et respiratoire (**Raffo et al., 2011**). *F. vulgare* est recommandée pour la bronchite et la toux chronique, les calculs rénaux, la dysménorrhée, les vomissements et la diarrhée, et la déféction du sperme (**Weiping et Baokang, 2011**).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur *F. vulgare*, pour prouver l'activité biologique de la plante, et étudier sa relation avec sa composition chimique. Ces travaux ont montré que l'activité biologique de *F. vulgare* est due à l'effet synergique entre ses composants, et non pas seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

L'huile essentielle extraite à partir des fruits du *F.vulgare* a montré un effet antibactérien contre les microbes pathogènes portés par les aliments tels qu'*Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* et *Staphylococcus aureus* (**Mohsenzadeh, 2007**). L'activité anti-inflammatoire a été aussi prouvée par l'administration de la plante par voie orale (**Choi et Hwang, 2004**), la capacité antioxydant de *F. vulgare in vivo*, a été aussi étudiée (**Ruberto et al., 2000**).

3 Composition chimique de l'huile essentielle de *F.vulgare*

Une huile essentielle est un liquide odoriférant d'aspect fluide à épais et de couleur variable selon les plantes dont elle est extraite. Selon les normes ISO et AFNOR, d'octobre 1987, une huile essentielle est définie comme étant : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, après séparation de la phase aqueuse par procédés physiques ; soit par entraînement de la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche » (**Toninoli et Meglioli, 2013**).

La composition de l'huile essentielle de *F.vulgare* a été bien étudiée, elle présente une diversité considérable selon la méthode d'extraction et l'origine géographique, il a été aussi noté que le contenu de l'huile essentielle diminue avec la maturité du fruit (**Rather et al., 2012**). Cette huile essentielle est composée d'un mélange de plusieurs monoterpènes et phénylpropanoïdes, avec le trans-anéthol, le méthyl chavicol (estragole), le fenchone et l'alpha-phellandrene, et le para-anisaldéhyde comme composés majoritaires (Fig.5).

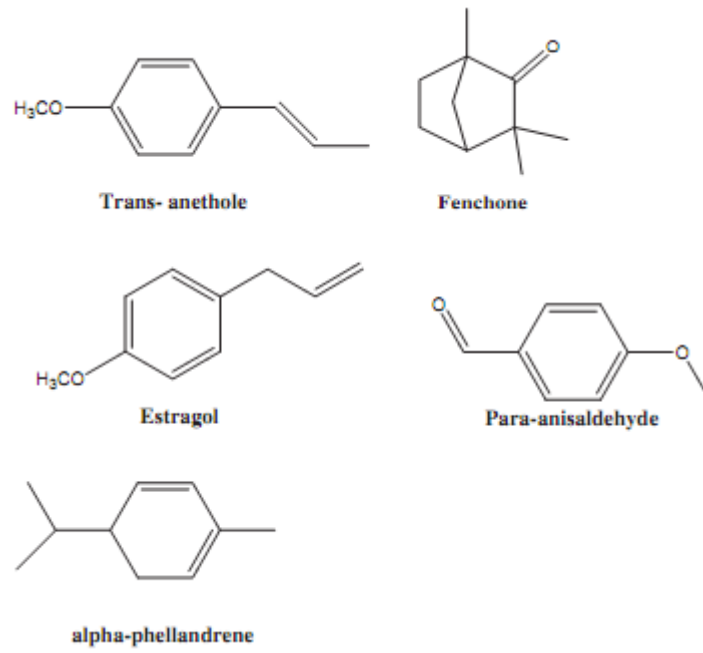


Figure n° 5: Structures chimiques des composants bioactives majoritaires de l'huile essentielle de *F.vulgare* (Rather *et al.*, 2012).

MATERIEL ET METHODES

1 Extraction de l'huile essentielle

1.1 Matériel végétal

Foeniculum Vulgare a été récoltée en novembre 2019, quand les fruits des ombelles supérieures sont matures et de couleur gris-vert (Teusher, 2003). La récolte a été faite dans la région d'Ain Arba une commune dans la wilaya d'Ain Témouchent, Mr Amara Mohamed (Maître de conférences au CUBBAT), a confirmé l'identification botanique de la plante. Les graines ont été récupérées et séchées à l'ombre et à l'abri de l'humidité pendant 25 jours, pour être utilisées dans l'extraction de leurs huiles essentielles (Fig.6).



Figure n° 6: Aspect de *F. vulgare* à l'état sec (photo originale).

1.2. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

➤ Principe

L'hydrodistillation consiste à immerger le matériel végétal dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition, la chaleur provoque l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans les cellules végétales. Le mélange volatil est ensuite refroidi, condensé puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique qui constitue l'huile essentielle (Tremblin, 2016).

➤ Mode opératoire

Dans la figure n°7, est illustré le schéma de l'appareillage utilisé pour l'obtention de l'huile essentielle de *F.vulgare* par hydrodistillation, la procédure suivie est :

Dans un ballon en verre de 500 ml, sont introduites 40 g des graines sèches et entières de *F. vulgare*, puis sont additionnées de 240 ml d'eau distillée, le ballon ne doit pas être complètement rempli, afin d'éviter les débordements au moment de l'ébullition. L'ensemble est portée ensuite à ébullition pendant 3 heures, les huiles sont évaporées et sont récupérées par condensation en contact avec la surface froide du réfrigérant. Par la suite, l'huile

essentielle est séparée par décantation puis récupérée dans des flacons opaques bien scellés, et enfin conservée à température basse (4-5 C°).



Figure n°7 : Montage utilisé dans l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *F. vulgare* (photo originale).

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage de matière sèche est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{Px}{Py} \times 100$$

R : rendement exprimé en pourcentage %(g/g).

Px : poids de l'huile en g.

Py : poids de la plante en g.

2 Détermination des indices physicochimiques de l'huile essentielle de *F.vulgare*

En premier, on a procédé à la détermination des différents caractères organoleptiques de l'huile essentielle, notamment : l'aspect, la couleur et l'odeur. Ensuite sa densité optique et son indice de réfraction ont été déterminés.

2.1 La densité relative à 20 °C

➤ Principe

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau à la même température (**Baser et Buchbauer, 2015**).

➤ **Mode opératoire**

- A l'aide d'une balance, peser un certain volume de l'huile essentielle, noter le poids correspondant à ce volume. Faire la même chose pour l'eau (le volume de l'eau doit être égal à celui de l'huile).
- Calculer le rapport $\rho = \frac{m}{v}$ pour l'huile et pour l'eau.
- Mesurer la densité de l'huile essentielle en calculant le ratio $\rho_{\text{huile}}/\rho_{\text{eau}}$.

2.2 L'indice de réfraction

➤ **Principe**

Indice de réfraction est représenté par le rapport du sinus de l'angle d'incidence (SINi) au sinus de l'angle de réfraction (SINe) d'un faisceau lumineux passant d'un milieu moins dense à un milieu plus dense, comme de l'air à l'huile essentielle (**Baser et Buchbauer, 2015**).

$$\frac{\text{SINi}}{\text{SINe}} = \frac{N}{n}$$

N : indice de réfraction du milieu le plus dense.

n : indice de réfraction du milieu le moins dense.

➤ **Mode opératoire**

L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre Abbe AR3/AR4 (KRUSS, A.KRUSS OPTRONIC, Germany), en suivant les étapes suivantes :

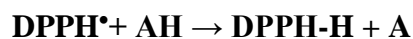
- Appliquer quelques gouttes d'eau distillée sur le prisme à l'aide d'une pipette, et régler le zéro de l'appareil à 1,3330nD, la température doit être stable.
- De même, quelques gouttes de l'huile sont appliquées sur le prisme à l'aide d'une pipette, et l'indice de réfraction est lu directement sur l'écran.

3 Etude *in vitro* de l'activité biologique de l'huile essentielle de *F. vulgare*

3.1 Evaluation de l'activité antioxydante

➤ **Principe**

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *F. vulgare* a été évaluée par le test du DPPH, selon la méthode décrite par **Molyneux (2004)**. Le DPPH• (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl), est un radical stable de couleur violette, une fois réduit par une espèce anti-oxydante(AH), il change de couleur et vire au jaune. L'intensité de la coloration est mesurée entre 515 et 520nm (**Molyneux, 2004**).



(violet)

(jaune)

➤ **Mode opératoire**

Les tableaux n°3 et n°4 résument le mode opératoire et les différentes étapes suivies pour la détermination de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique utilisé comme un contrôle positif.

2ml de l'huile essentielle de *F. vulgare*, ou de l'acide ascorbique préparés à différentes concentrations, sont additionnés de 2ml de la solution éthanolique du DPPH à 2.5%. Le mélange est bien agité, et laissé incuber à température ambiante pendant 30 min pour l'acide ascorbique et 120min pour l'huile essentielle. La lecture de l'absorbance est réalisée à 517nm, par un spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY).

Tableau n°3 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *F.vulgare*.

Concentration de l'huile essentielle (µg/ml)	50	100	200	300	400	500
Volume de l'huile essentielle (ml)	2	2	2	2	2	2
Volume du DPPH 2,5% (ml)	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 120 min.						
La lecture de la densité optique 517 nm						

Tableau n°4 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique.

Concentration de l'acide ascorbique (µg/ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume de l'acide ascorbique (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volume du DPPH 2,5% (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 30 min.										
Lecture de la densité optique 517nm										

La concentration de l'antioxydant (l'huile essentielle ou l'acide ascorbique) qui provoque la réduction de 50% du DPPH, appelée la concentration inhibitrice à 50% (**IC₅₀**), est calculée

par l'équation suivante (**Molyneux., 2004**):

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100.$$

(Abs : absorbance).

3.2 Evaluation de l'activité anti-hémolytique

➤ **Principe**

L'activité anti-inflammatoire des extraits de végétaux, comme les huiles essentielles peut être étudiée in vitro par l'utilisation des érythrocytes. En fait les membranes de ces derniers

représentent des similitudes avec celles des lysosomes, ainsi l'effet sur la stabilisation de la membrane érythrocytaire pourrait être extrapolé à la stabilisation de la membrane lysosomale (Shobana et Vidhya, 2016). Dans notre étude, nous avons utilisé deux tests, un test de stabilité par la chaleur et un test d'hémolyse, en se basant sur la méthode suivie par Shinde et ses collaborateurs (1999).

➤ **Mode opératoire**

a. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang a été prélevé d'un volontaire sain qui n'a pas pris des médicaments anti-inflammatoires pendant 15 jours avant le prélèvement. L'obtention des globules rouges du sang total a été effectuée comme suit :

- Le sang total est centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm.
- Le culot est récupéré, et est lavé trois fois avec une solution de NaCl (0,9%), et ensuite reconstitué dans une solution tampon iso-saline (pH=7.4), à 40% (v/v).

b. Test de la stabilisation membranaire par la chaleur

Le tableau n°5, résume les différentes étapes utilisées dans le test de la stabilisation membranaire par la chaleur. Deux séries de tubes ont été utilisés pour ce test, une est incubée à 54°C et l'autre à 0° C. Chaque tube contenant 0.5 ml de l'huile essentielle de *F. vulgare* à différentes concentrations (50,100 et 250µg/ml), a été additionné de 4.5ml d'une solution tampon phosphate (pH=7.4), et de 30µl de la suspension érythrocytaire à 40%(v/v). Après incubation des tubes et récupération des surnageants, l'absorbance est mesurée à 540nm. En parallèle, l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif.

Tableau n°5 : Mode opératoire du test de la stabilisation membranaire par la chaleur.

Concentrations de l'huile essentielle (µg/ml)	-	50	100	250	-
Acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	500
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Ethanol (ml)	0.5	-	-	-	-
Solution tampon phosphate (pH=7.4)	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Volume de la suspension érythrocytaire 40% (µl)	30	30	30	30	30
Chaque tube est préparé en deux exemplaires ; un est incubé à 54° dans un bain Marie et l'autre à 0°, pendant 20min.					
Centrifugation 3min à 1300g					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à540nm.					

➤ **Calcul du pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = 100 \times \left(1 - \frac{DO2-DO1}{DO2'-DO1'}\right)$$

DO1 : Echantillon à 0°C.

DO2 : Echantillon à 54°C.

DO1' : Contrôle négative à 0°C. DO2' : Contrôle négatif à 54°C.

c. Test d'hémolyse

Le tableau n°6, résume le mode opératoire utilisé dans le test d'hémolyse. Deux séries de tubes ont été utilisées, une a été traitée par une solution tampon phosphate isotonique (pH=7.4) et l'autre par une solution tampon hypotonique (pH=7.4). Chaque tube contenant 0.5 ml de l'huile essentielle de *F.vulgare* à 50,100 et 250µg/ml, a été additionné de 4.5 ml d'une solution tampon phosphate isotonique ou hypotonique, et de 30µl de la suspension érythrocytaire à 40%. Après incubation des tubes et récupération des surnageants, l'absorbance est mesurée à 540nm. En parallèle, l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif.

Tableau n°6 : Mode opératoire du test d'hémolyse.

Concentrations de l'huile essentielle (µg/ml)	-	50	100	250	-
Acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	500
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Ethanol (ml)	0.5	-	-	-	-
Chaque tube est préparé en deux séries, une est additionnée d'une solution tampon phosphate hypotonique (pH=7,4) et l'autre d'une solution tampon isotonique (pH=7.4)					
Volume de la suspension érythrocytaire 40% (µl)	30	30	30	30	30
Incubation à la température ambiante pendant 10min					
Centrifugation 3min à 1300g					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à540nm.					

➤ **Calcul du pourcentage d'inhibition**

- Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = 100 \times \left(1 - \frac{DO2-DO1}{DO2'-DO1'}\right).$$

DO1 : Echantillon traité par la solution isotonique.

DO2 : Echantillon traité par la solution hypotonique.

DO1' : Contrôle négative traité par la solution isotonique.

DO2' : Contrôle négatif traité par la solution hypotonique.

➤ **Analyses statistiques**

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes (m) accompagnées de leur indice de dispersion qui est l'erreur standard à la moyenne (ESM): **m ± ESM**.

$$\text{Moyenne (m)} \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

$$\text{Ecart type } (\sigma) \quad \sigma = \sqrt{\text{variance}}$$

$$\text{Erreur standard de la moyenne (ESM)} \quad \text{ESM} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Pour comparer deux échantillons indépendants, on applique le test de Student à un degré de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon.

La différence entre deux moyennes est significative à $P \leq 0,05$ (*).

RESULTATS ET DISCUSSION

1 Huile essentielle de *F. vulgare*

1.1 Le rendement en huile essentielle

Les graines de *Foeniculum vulgare* Mill récoltées au niveau de la Wilaya d'Ain Témouchent en mois de novembre, contiennent 2,08% (g/g de graines sèches) de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation après 3h d'extraction. Des études réalisées sur les graines de la même espèce et récoltées dans le même mois ont montré des rendements plus faibles que le nôtre, de 1,53% wilaya de Bejaïa (Menasria et al., 2017), et de 0,72% Inde (Grieve,1995) mais aussi des rendements plus grands de 2.1% France, et 2,81% Pakistan (Anwar et al.,2009).

Le rendement d'une huile essentielle obtenue à partir de la même espèce, peut être différent et dépend de plusieurs facteurs tels que la période de récolte, par exemple, *F. vulgare* a un meilleur rendement lorsqu'elle est collectée au stade végétatif aux mois de mars-avril (Anwar et al., 2009). La zone géographique joue un rôle très important, il a été observé que les plantes cultivées dans les régions tempérées comme le Sud algérien ont un rendement plus faible par rapport aux plantes cultivées dans le nord (Hamoudi, 2012). De plus d'autres facteurs influencent le rendement des huiles essentielles comme le climat, la qualité et la quantité de lumière, la température et l'indice de pluviométrie (Teucher, 2003).

1.2 Indice physico-chimiques de l'huile essentielle

1.2.1 Les propriétés organoleptiques

Les huiles essentielles sont responsables des senteurs émises par les plantes aromatiques, elles ont différentes utilisations dans les domaines de la parfumerie, de la médecine, de l'alimentation et de l'agriculture (Burt, 2004). Le tableau n°7, regroupe les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *F.vulgare* comparées avec les normes standards données par AFNOR

Tableau n°7 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *F. vulgare*.

Propriétés organoleptiques	L'huile essentielle <i>F.vulgare</i>	Norme (AFNOR, 1986)
Aspect	Liquide huileux, mobile	Liquide, mobile et limpide
Couleur	Incolore	Presque incolore à jaune pale
Odeur	anisée	Fraîche, plus ou moins anisé

1.2.2 La densité relative à 20°C

La densité est une caractéristique de chaque huile essentielle. La densité de l'huile essentielle de *F.vulgare* extraite dans la présente étude est de 0,893, et elle est dans les normes décrites dans la littérature qui sont comprises entre 0,879 - 0,978 (Padrini, 1997).

1.2.3 L'indice de réfraction

La mesure de l'indice de réfraction a pour objectif la détermination de la pureté d'une huile essentielle, la présence d'imputées même à faible quantité modifiée considérablement cet indice (Bernard et al.,2014). *F.vulgare* a un indice de réfraction égale à 1,467 à 19,5 °C en revanche, Lazouni et ces collaborateurs(2006) ont trouvé un indice plus grand de l'ordre de 1,689à 20°C.

2 Les activités biologiques de *F.vulgare*

2.1 L'activité antioxydante (*in vitro*)

Les résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *F.vulgare* in vitro et de l'acide ascorbique, exprimés en pourcentage d'inhibition ainsi que les valeurs d'IC₅₀, calculées sont présentées dans le tableau n°8.

Tableau n°8 : Activité antioxydante de *F. vulgare* Mill, exprimée en pourcentage d'inhibition et en IC₅₀.

	Concentration (µg/ml)	Activité antioxydante (% d'inhibition)	IC ₅₀ (µg/ml)
Acide ascorbique	2	60,36	1,6
	3	80,18	
	4	89,19	
<i>F. vulgare</i> (Huile essentielle)	1000	27,84	3220
	2000	33,47	
	4000	60,62	

Les graphes suivants représentent le piégeage du DPPH par l'acide ascorbique (Fig.8) et par l'huile essentielle de *F. vulgare*(Fig.9).

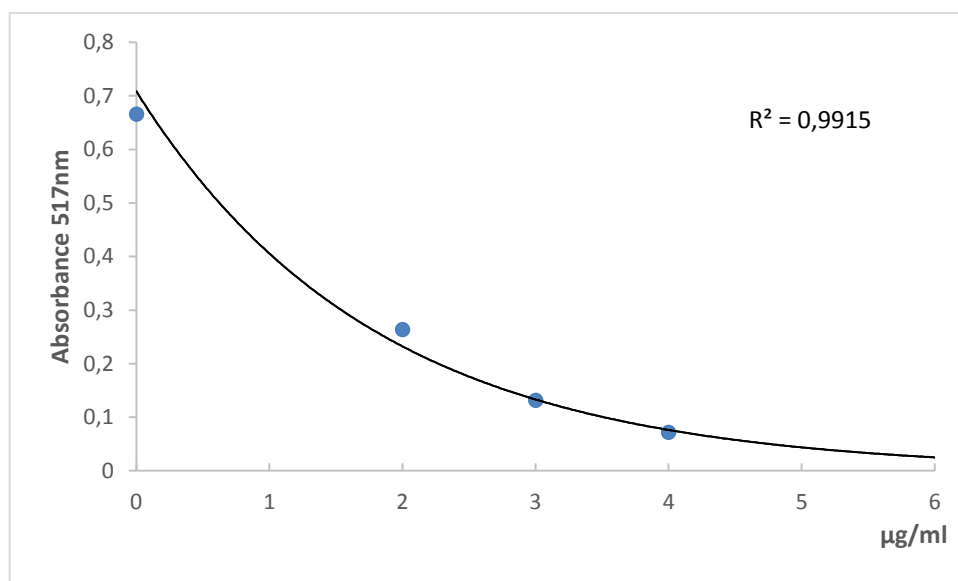


Figure n° 8: Piégeage du DPPH par l'acide ascorbique.

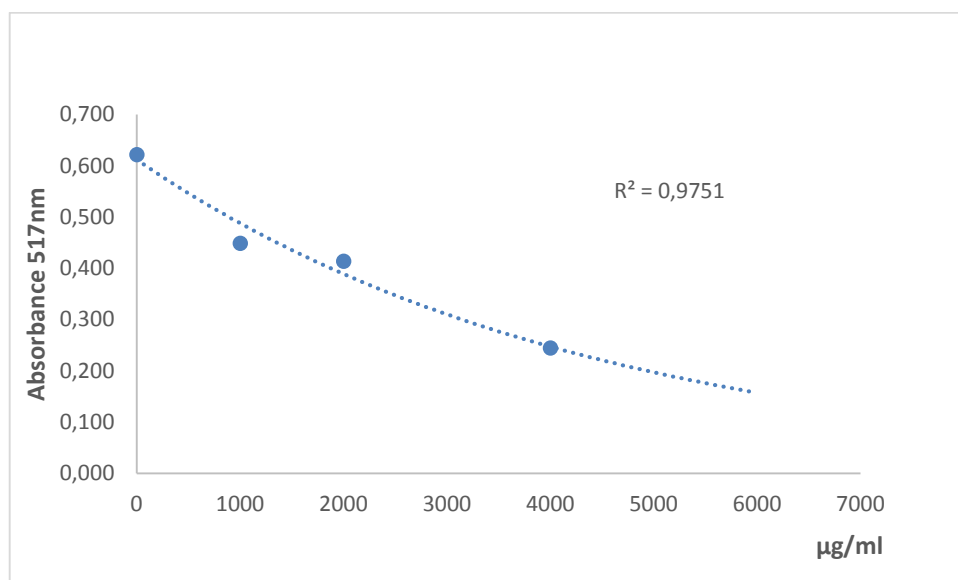


Figure n° 9: Piégeage du DPPH par l'huile essentielle de *F. vulgare*.

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *F. vulgare* a une efficacité de piéger le radical de DPPH avec une IC_{50} de 3220 $\mu\text{g/ml}$, par contre l' IC_{50} de l'acide ascorbique était très petite est de l'ordre de 1,6 $\mu\text{g/ml}$. Cette grande différence indique que l'huile essentielle de *F. Vulgare* a une activité antioxydante très faible par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Des travaux réalisés sur l'huile essentielle de *F.vulgare*, et qui utilisent la méthode de DPPH, montrent des IC₅₀ plus petites que celle trouvée dans notre étude, de 872 µg/mL (Ouis, 2015) et de 280 µg/ml (Menasria et Mellikeche, 2017). Cette différence peut être expliquée par une composition chimique différente (chénotype), due à différents facteurs tels que les facteurs environnementaux et la période de la récolte ((Menasria et Mellikeche, 2017 ; Moghaddam et al., 2015).

D'autre part, il a été démontré que l'huile essentielle de *F.vulgare* joue le rôle d'un antioxydant primaire qui réagit avec les radicaux libres qui peuvent causer des altérations cellulaires dans le corps humain (Abdelaaty et al., 2011).

L'huile essentielle des graines *F.vulgare* est composée d'un mélange de plusieurs monoterpènes et phénylpropanoïdes, avec le trans-anéthol, le méthylechavicol (= estragole), le fenchone et le limonène comme constituants majoritaires (Miguel et al., 2010). Cependant l'activité antioxydante de l'huile a été reliée à la concentration du trans-anéthol, qui a la capacité de réduire des radicaux libres, en formant facilement un radical cation conjugué stable (Fig.10.) (Abdelaaty A, et al., 2011).

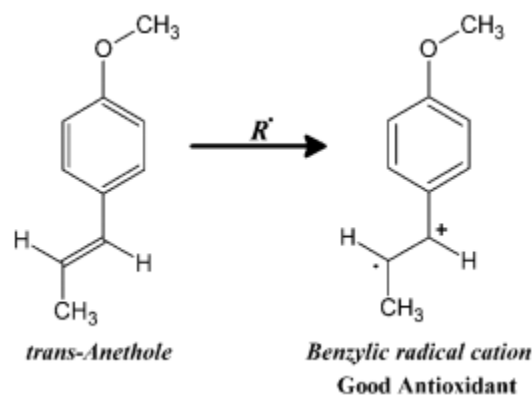


Figure n°10 : Mécanisme de piégeage des radicaux par le trans-anéthol.

2.2 L'activité anti-inflammatoire (*in vitro*)

Si les huiles essentielles sont capables de piéger des radicaux libres, elles peuvent aussi réagir comme des agents anti-inflammatoires, car une des réactions de la réponse inflammatoire est l'explosion oxydative qui a lieu dans plusieurs cellules (monocytes, neutrophiles, éosinophiles et macrophages) et qui est accompagnée par la libération des radicaux actifs de l'oxygène (Miguel, 2010). Ainsi nous sommes intéressés à l'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle *F.Vulgare*, qui a prouvé une activité antioxydante. Pour

tester l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *V. vulgare*, nous avons traité les globules rouges par la chaleur et par une solution hypotonique, les deux procédés provoquent l'hémolyse, la présence de molécules anti-hémolytiques peut prévenir cette hémolyse. L'acide salicylique est utilisé comme un anti-inflammatoire de référence. Les résultats sont montrés dans le tableau n°9.

Dans cette expérience, l'utilisation des érythrocytes offre plusieurs avantages, notamment que ce sont des cellules exemptes d'organelles intracellulaires, et tout effet d'une substance sur l'hémolyse hypotonique pourrait d'une manière justifiable être interprété comme effet sur la membrane elle-même (Seeman et Weinstein, 1966).

Tableau n°9 : Effet de l'huile essentielle de *F. vulgare Mill.*, contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induite par la chaleur et par la solution hypotonique.

Traitement	Concentrations (µg/ml)	% d'inhibition de l'hémolyse	
		Chaleur	Solution hypotonique
<i>F. vulgare Mill.</i> (Huile essentielle)	50	61.90±0.07*	39.57±0.31
	100	28.57±2.38	34.78±6.15
	250	88.10±0.17*	41.30±16.91
Acide salicylique	500	45.24±4.76	37.81±2.81

* P<0.05.

D'après les résultats de l'activité anti-inflammatoire induite par la chaleur, l'huile essentielle des graines de *F.vulgare* présente des pourcentages d'inhibition de l'hémolyse égaux à 61.90±0.07%, 28.57±2.38% et 88.10±0.17% aux concentrations de 50µg/ml, 100µg/ml et 250µg/ml respectivement. Ce résultat montre que la plante a une activité anti-inflammatoire significativement importante avec les concentrations de 50µg/ml et de 250µg/ml, en la comparant avec l'activité de l'acide salicylique qui a donné un pourcentage d'inhibition de 45,24±4,76% à une concentration de 500µg/ml.

D'autre part, l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle des graines *F.vulgare* testée par la solution hypotonique, montre des pourcentages d'inhibition de l'hémolyse égaux à 39.57±0.31%, 34.78±6.15% et 41.30±16.91% aux concentrations de 50µg/ml, 100µg/ml et 250µg/ml respectivement. Ces pourcentages sont comparables au pourcentage d'inhibition de l'acide salicylique qui est de 37,81±2,81% à une concentration de 500µg/ml.

L'activité anti-hémolytique de l'huile essentielle de *F.vulgare* peut être expliquée par un effet cytoprotecteur sur la membrane des érythrocytes qui pourrait être dû à la capacité de l'huile essentielle à modifier l'afflux de calcium dans les érythrocytes (**Shinde et al., 1999**).

Dans une autre étude, l'huile essentielle de *F. vulgare* a montré une activité anti-inflammatoire *in vivo*, et qui a été attribuée à ses composés le limonène, le α pinène et le β pinène, bien que l'auteur a aussi suggéré la contribution de tous les autres constituants (**Ozbek, 2005**). L'activité anti-inflammatoire d'une huile essentielle *in vivo* peut être expliquée par l'effet antioxydant de l'huile essentielle d'une part et par l'interaction avec la cascade de signalisation qui implique les cytokines et les facteurs de transcription et l'expression des gènes pro-inflammatoires d'autre par (**Miguel, 2010**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail a pour but l'évaluation *in vitro* de l'activité biologique de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare Mill.*, une espèce qui pousse dans la région d'Ain Témouchent, et qui est largement utilisée par la population comme remède naturel contre plusieurs maladies.

L'obtention de l'huile essentielle à partir des graines sèches de *F. vulgare* par hydrodistillation a montré un rendement important, ce qui confirme l'efficacité de la méthode d'extraction utilisée.

L'évaluation des activités biologiques *in vitro* de l'huile essentielle de *F.vulgare*, a montré qu'elle possède un pouvoir antioxydant, qui piège le DPPH, et aussi un pouvoir de protection des membranes érythrocytaires contre l'hémolyse induite par la chaleur et le milieu hypotonique.

En perspectives ; il serait intéressant d'élargir l'étude des extractions à d'autres parties de *F.vulgare*, et d'étudier les activités antioxydantes et anti-inflammatoires *in vitro* et *in vivo*, ainsi d'établir la relation entre les extraits bioactives de la plante et leur mécanisme d'action. En parallèle, une caractérisation des composés chimiques par GC-MS ou d'autres techniques est nécessaire pour identifier les composés responsables des différentes activités et les tester séparément.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. Abdelaaty, A., Shahat, Abeer, Y., Ibrahim, Saber, F., Hendawy, Elsayed A. Omer, Faiza M. Hammouda, Fawzia, H., Abdel-Rahman and Mahmoud, A. Saleh. (2011). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Organically Cultivated Fennel. *Cultivars* :1420-3049- 328.
2. Abou el-soud 1, N., El-laithy, N., el-saeed, G., Wahby, M.S., Khalil M., Morsy, F Shaffie, N. (2011). Antidiabetic activities of *Foeniculum vulgare mill.* Essential oil in streptozocin-induced Diabetic rats. *Macedonian journal of Medical sciences*. 4(2):139-146
3. A.F.N.O.R. (Association française de normalisation). (1986) « Recueil des normes françaises « Les huiles essentielles » ». Ed. A.F.N.O.R., Tour Europe, 2ème Ed. Paris.
4. Anwar, F., Ali M., Hussain, A.I., et Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) seeds from Pakistan. *FlavourFragr. J.* 24: 170–176.

B

5. Babulka, P., 2004. L'anis vert (*Pimpinella anisum L.*). *Phytothérapie*, 2, 57-59.
6. Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*, 94(6), 557-572.
7. Baser, K. H. C. and G. Buchbauer (2015). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Boca Raton CRC press.
8. Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
9. Bernard Weill, Frédéric Batteux. (2003) Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bibliothèque Royale Albert. Bruxelles. Page : 12
10. Bouvenot, G., Caulin, C. (2012). Guide du bon usage du médicament. Lavoisier, Paris, page: 541.
11. Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223– 253.

C

12. Charpentier, B., Hamon, F., Lorleac, H., Harlay, A., Huard, A., Ridoux, L., et Chansallé, S. (2004). Guide du préparateur pharmacie, 2^{ème} Edition, Paris, Maloine, pp:40.
13. Choi, E. M., et Hwang, J. K. (2004). Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia* .75 (6): 557-565.

14. Cox, P. A., Balick, M. J. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*, 270(6): 82-87.

D

15. Dangoumau, J., Moore, n., Molimard, m., Fourrier-r a, l. K., Haramburu, f., Miremontsalame, g., et Titier, k. (2006). Pharmacologie générale. Copyright SBN.574p.

16. Dupont F, Guinard J L (2007). *Abréges botanique systématique moléculaire*. 14^{ème} édition révisée, Masson.

F

17. Favier, A. (2003). "Le stress oxydant." L'actualité chimique 108.

18. Feehan, K. T. and D. W. Gilroy (2019). "Is Resolution the End of Inflammation?" Trends in molecular medicine, 25(3), 198-214.

G

19. Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

20. Gokhale, A. B., Damre, A. S., Kulkarni, K. R., et Saraf, M. N. (2002). Preliminary evaluation of anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *S. lappa*, *A. speciosa* and *A. aspera*. *Phytomedicine*, 9(5), 433-437.

21. Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.

22. Govindarajan, R., Vijayakumar, M., & Pushpangadan, P. (2005). Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana' herbs of Ayurveda. *Journal of ethnopharmacology*, 99(2), 165-178.

23. Grieve, M. (1995) « Modern herbal ». Ed. Electric Newt. 101 – 105

24. Guillén, M. D. et Manzanos M. J. (1996). A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. *Food Research International*. 29(1): 85-88.

25. Gurinder, J. K., and Daljit, S. A., (2010). Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum mammi* belonging to the family Umbelliferae - Current status. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(2), 087-094.

H

26. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.

27. Hamoudi N (2012). *Caractéristiques des huiles essentielles et son application*

antimicrobienne de la plante « Ocimum basilicum ». Mémoire DEUA, Université Khemis-Miliana.

28. Heller, R. (1969). Nutrition et métabolisme. Biologie végétale. Nutrition et métabolisme. Paris, Masson. 578 p.

29. Huang, D., B. Ou, et al. (2005). "The chemistry behind antioxidant capacity assays." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6): 1841-1856.

30. Human (2002). Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Sci. Aging Know. Environ.* 37, 14.

I

31. Iserin, P.,(2001). Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation et soins, éd.Larousse

K

32. Kinsky, N.(1989)., Antioxydants function of carotenoides, *Free Rad. Biol. Med.*, 7, p. 617.

33. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygene, stress oxydant et supplementations antioxydantes ou un aspect different de la nutrition dans les maladies respiratoires.

L

34. Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.

35. Lazouni, H. A., Benmansour, A., Chabane. S., Smahi. M. (2006). Valeurs nutritives et toxicité du foeniculum vulgare miller. *Afrique Science*, 02(1) : 94-101.

M

36. Mathieu, M.,Guimezanes, A., (2012). Séminaire Ketty Schwartz: Inflammation et maladies : clés de compréhension. Rapport. Paris : Inserm, 2012, 72 p.

37. Menasria, W., & Mellikeche, T. (2017). *Evaluation des activités: antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles des graines de Foeniculum Vulgare* (Doctoral dissertation, Université de Bouira).

38. Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

39. Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.

- 40.** Moghaddam M., KhaleghiMiran S. N., Pirbalouti A. G., Mehdizadeh L., Ghaderi Y b(2015).Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products* 70 163–169.
- 41.** Mohsenzadeh, M., (2007). Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. *Pak. J. Biol. Sci.*10, 3693–3697.
- 42.** Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26(2): 211-219.
- 43.** Moro, C., Palacios, I., Lozano, M., D'Arrigo, M., Guillamón, E., Villares, A., . . . García-Lafuente, A. (2012). Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from edible mushrooms in LPS activated RAW 264.7 macrophages. *Food chemistry*, 130(2), 350-355.
- 44.** Muckensturm B., Foechterlen D., Reduron J.P., Dantont P. &Hildenbrand M. (1997).Phytochemical and Chemotaxonomic Studies of *Foeniculum vulgare*. *Biochemical Systematics and Ecology*.Vol. 25, No. 4, pp. 353-358.

N

- 45.** Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420: 846-852.

O

- 46.** Ouis, N. (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil*. Thèse de doctora en Sciences, Université d'Oran, 239 p.
- 47.** Ouled El Hadj, M .D.,Hadj-mhammed,M., Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du Savoir*. 03 : 47-51.
- 48.** Ozbek, H. (2005). The Anti-inflammatory Activity of the *Foeniculum vulgare* L. Essential Oil and Investigation of its Median Lethal Dose in Rats and Mice. *International Journal of Pharmacology*, 1(4), 329-331.

P

- 49.** Padrini.F, M.T. Lucheroni.(1997) ; « La nature des huiles essentielles ». Ed. Dexecchi343 – 345.
- 50.** Pasquier, C.(1995).Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*,N° 276.

R

- 51.** Raffo, A., Nicoli, S., Leclercq, C., (2011). Quantification of estragole in fennel herbal teas: implications on the assessment of dietary exposure to estragole. *Food and Chemical Toxicology* 49, 370-375.
- 52.** Rahmani, S., Belboukhari, N., Sekkoum, K., et Cheriti, A. (2016). Evaluation de l'activité anti inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles *Limoniastrum feei* (*Plumbaginacea*), J. Algerian journal of arid environment. Vol. 6, n°C1, p. 80-86.
- 53.** Rather, M.A., Dar, B.A., Sofi, S.N., Bhat, B.A. Qurishi M.A. (2012). *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*
- 54.** Raynaud, P. (2008). Anatomie pathologie et inflammation conception d'ensemble. *Anat. patho*, 1-5.
- 55.** Rousselet, M.C., Vignaud, J.M., Hofman, P. et Chatelet F.P. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire, Chapitre 3, p. 1-58.
- 56.** Ruberto, G., Baratta, M.T., Deans, S.G., Dorman, H.J.D., (2000). Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum aritimum* essential oils. *Planta Med.* 66, 687-69.

S

- 57.** Seeman, P., & Weinstein, J. (1966). I. Erythrocyte membrane stabilization by tranquilizers and antihistamines. *Biochemical Pharmacology*, 15(11), 1737-1752.
- 58.** Seignalet, J. (2004). *L'alimentation ou la troisième médecine*. 3. Paris ; François-Xavier de 658p.
- 59.** Serhan, C.N., Ward, P.A., and Gilroy, D.W. (2010). *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, 2-3.
- 60.** Shankant, B., Patel, Vainav V., et Bandivdekar, Atmaram, H. (2014) *Foeniculum vulgare Mill*: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. *BioMed research international*, 2014, vol. 2014.
- 61.** Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., et Yehoshua, Y. (2013). Antioxydants naturels: fonction et sources.
- 62.** Shinde, U., Phadke, A., Nair, A., Mungantiwar, A., Dikshit, V., & Saraf, M. (1999). Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70(3), 251-257.
- 63.** Shobana, S. and R. Vidhya (2016). "Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *Abutilon indicum* (linn.)." *World J Pharm Pharm Sci* 5: 1182-1196.

T

- 64.** Tamer, E. (2003). Incomplete simultaneous discrete response model with multiple equilibria. *The Review of Economic Studies*, 70(1), 147-165..
- 65.** Teucher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2003). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. : Lavoisier. P3.
- 66.** Toninoli, F., Meglioli, V. (2013). *Huiles essentielles : L'encyclopédie*. Djudena, France, 600p.
- 67.** Tremblin, M. (2016). Abrégé de biochimie appliquée - 2e édition. France EDP Sciences.

V

- 68.** Vaubourdolle, m.(2007). *Medicaments*. France :Wolters Kluwer France.

W

- 69.** Ward, C., Dransfield, I., Murray, J., Farrow, S. N., Haslett, C., et Rossi, A. G. (2002). Prostaglandin D2 and its metabolites induce caspase-dependent granulocyte apoptosis that is mediated via inhibition of I κ B α degradation using a peroxisome proliferator-activated receptor- γ -independent mechanism. *The Journal of Immunology*, 168(12) : 6232-6243.
- 70.** Weill, B., Batteux, F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.
- 71.** Weiping, H., Baokang, H. (2011). A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16) : 3595-3600.

Y

- 72.** Yougbaré-Ziérou, M., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., . . . Guissou, I. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.