



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

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

Faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers

Département de Biologie

Mémoire

Présenté par

Rahmi Ismail

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie et Contrôle de Qualité

Thème

Activité antimicrobienne des extraits de *Trigonum foenum-graecum L*

Soutenu le 30/06/2021, devant le jury composé de :

Examineur 1 : BOUALI Waffa MCA Université de Tlemcen

Examineur 2 : ALLIOUA Meryem MCB ISTA Tlemcen

Encadreur : MKEDDER Ilham MCB Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2020/2021



Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu « Tout Puissant » de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens à la fin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Je remercie chaleureusement **Dr Ilham MKEDDER** d'avoir proposé ce thème et accepté de m'encadrer et pour son aide, ses orientations, ses conseils, et ses corrections sérieuses pour ce travail.

Je tiens à remercier **Dr Waffa BOUALI** Maitre de conférence classe A université de Tlemcen qui a acceptée d'examiner ce travail.

Je remercie également **Dr ALLIOUA Meryem** Maitre de conférence classe B ISTA-Tlemcen à avoir accepté de juger ce travail.

Nos remerciements sont aussi adressés à nos familles pour leur soutien financièrement et moralement, ainsi qu'à tous nos amis et collègues.

Nos vifs remerciements aussi à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cet ouvrage.





Dédicace

Avant tout je remercie Allah pour les tout, je dédie ce modeste travail :

À ma mère

Tu représentes pour moi le symbole de la patience, de courage et de soutien par excellence, et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

À mon père

Je ne peux pas décrire tous vos sacrifices pour moi. Tu es l'homme, qui m'a enseigné l'amour de la science et la persévérance pour cela.

À mes chers frères

À mes chères sœurs

À mes chers amis

À toute la famille

À tout la promotion de la 2^{ème} année Master
Microbiologie et Contrôle de Qualité.



Résumé

Le présent travail a été réalisé dans le cadre d'évaluer l'activité antibactérienne des graines de la plante *Trigonella foenum-graecum L.*

La comparaison entre les résultats de l'activité antibactérienne de la plante de fenugrec et les résultats de l'analyse phytochimique des extraits de fenugrec a montré que les extraits riches en phénols et flavonoïdes présentent le plus fort effet inhibiteur sur la croissance bactérienne.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique de graines de fenugrec avait un fort effet inhibiteur vers *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec un zone d'inhibition de 22 mm et 16 mm respectivement. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de cet extrait a été estimé de 50 µg/ml, suivi de l'extrait aqueux des feuilles de fenugrec qui a inhibé la croissance de *Serratia marcescens* et *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de 12.33 ± 0.57 mm et 11.33 ± 1.15 mm respectivement, dans une concentration de 100 mg/ml.

En conclusion, l'extrait éthanolique de graines de fenugrec et l'extrait aqueux de feuilles de fenugrec ont une forte activité antibactérienne contre certaines souches bactériennes à gram négatives et à gram positives.

Mots clés : activité antibactérienne, *Trigonella foenum-graecum L.*, phénols, flavonoïdes, l'extrait éthanolique de graines, l'extrait aqueux des feuilles.

Abstract

The present work was carried out to evaluate the antibacterial activity of the seeds of the plant *Trigonella foenum-graecum L.*

The comparison between the results of the antibacterial activity of the fenugreek plant and the results of the phytochemical analysis of fenugreek extracts showed that the extracts rich in phenols and flavonoids have the strongest inhibitory effect on bacterial growth.

The results obtained showed that the ethanolic extract of fenugreek seeds had a strong inhibitory effect towards *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with an inhibition zone of 22 mm and 16 mm respectively. The minimum inhibitory concentration (MIC) of this extract was estimated to be 50 µg/ml, followed by the aqueous extract of fenugreek leaves which inhibited the growth of *Serratia marcescens* and *Bacillus cereus* with an inhibition zone of 12.33 ± 0.57 mm and 11.33 ± 1.15 mm respectively, in a concentration of 100 mg/ml.

In conclusion, ethanolic extract of fenugreek seeds and aqueous extract of fenugreek leaves have strong antibacterial activity against some gram negative and gram positive bacterial strains.

Keywords: antibacterial activity, *Trigonella foenum-graecum L.*, phenols, flavonoids, ethanolic seed extract, aqueous leaf extract.

المخلص

وقد نفذ العمل الحالي لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا من بذور النبات تريجونيل *foenum-graecum L*. أظهرت المقارنة بين نتائج النشاط المضاد للبكتيريا في نبات الحلبة ونتائج التحليل الكيميائي النباتي لمستخلصات الحلبة أن المستخلصات الغنية بالفينولات والفلافونويدات لها أقوى تأثير مثبت على النمو البكتيري. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن استخراج الإيثانول من بذور الحلبة كان له تأثير مثبت قوي تجاه المكورات العنقودية أوريوس و *Pseudomonas aeruginosa* مع منطقة تثبيط من 22 ملم و 16 ملم على التوالي. قدر الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) لهذا المقتطف ب 50 ميكروغرام/مل، تليها استخراج مائي من أوراق الحلبة التي أعاققت نمو *serratia marcescens* وعصيات *cereus* مع منطقة تثبيط من 0.57 ± 12.33 ملم و 1.15 ± 11.33 ملم على التوالي، في تركيز 100 ملغم / مل. في الختام، استخراج الإيثانول من بذور الحلبة و استخراج مائي من أوراق الحلبة لديها نشاط مضاد للبكتيريا قوية ضد بعض السلالات البكتيرية السلبية غرام وغرام إيجابية.

الكلمات الرئيسية: النشاط المضاد للبكتيريا، تريجونيل *foenum-graecum L*، الفينولات، الفلافونويدات، استخراج بذور الإيثانول، مستخلص أوراق مائي.

Table des matières

Remerciements	I
Dédicace	II
Résumé	III
Abstract	IV
المخلص	V
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	X
Liste des abréviations	XI
Introduction Générale	XII
Synthèse Bibliographique	2
1 Les maladies infectieuses d'origine bactérienne	3
1.1 Traitement des maladies infectieuses	3
1.2 La phytothérapie	4
2 Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales	5
2.1 L'infusion	5
2.2 La décoction	5
2.3 La macération	6
2.3.1 La macération à l'huile froide	7
2.3.2 La macération à l'huile chaude	7
2.4 Le cataplasme	7
Trigonella foenum-graecum L	9
1 Trigonella foenum-graecum L	10
1.1 Historique	10
1.2 Distribution	11
1.3 Description botanique	11
1.4 Systématique	13
1.5 La composition chimique de la graine du fenugrec	13
1.5.1 Les acides phénoliques	13
1.5.2 Les flavonoïdes	13
1.5.3 Les tanins	13
2 Activités biologiques de fenugrec	15
2.1 Effets antidiabétiques	15

2.2	Effets hypocholestérolémiant.....	15
2.3	Effets anti-fertilité	16
2.4	Effets chez le mâle.....	16
2.5	Effets chez la femme	16
2.6	Ulcère gastrique et effets cicatrisants	17
2.7	Effets anticancéreux	17
2.8	Effets anti-microbiens	17
2.9	Effets antihelminthiques.....	18
2.10	Effets anti-nociceptifs.....	18
	Traitement des articles.....	19
1	Article 1	20
1.1	Titre	20
1.2	Objectif	20
1.3	Activités réalisées dans ce travail.....	20
1.4	Résultats	20
2	Deuxième article	22
2.1	Titre	22
2.2	Objectif	22
2.3	Activités réalisées dans ce travail.....	22
2.4	Résultats et interprétations	22
2.5	Discussion	23
3	Article 3	23
3.1	Titre	23
3.2	Objectif	23
3.3	Activités réalisées dans ce travail.....	23
4	Première partie.....	23
4.1	Résultats	24
4.2	Discussion	26
4	Article 4	26
4.1	Titre	26
4.2	Objectif	26
4.3	Activités réalisées dans ce travail.....	26
4.4	Les résultats	27
	Résultats.....	29
5	Résultats	30

Conclusion Générale35
Références Bibliographiques.....37

Liste des figures

Figure 1 : Infusion des feuilles	5
Figure 2 : Décoction des tiges et feuilles.	6
Figure 3 : Préparation des macérats huileux.....	7
Figure 4 : Le cataplasme.	8
Figure 5 : (a) : Trigonella fleurissante, (b) : pied de Trigonella, (c) : feuilles, (d) : gousses, (e) : graines. (Boudjnana et Mansour 2014).....	12
Figure 6 : Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de graines de fenugrec vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
Figure 7 : Résultats du Set 1 <i>Bacillus subtilis</i> et plaque de contrôle positif.....	27
Figure 8 : Résultats du Set 2 <i>Bacillus Subtilis</i> et plaque de contrôle positif	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : La composition chimique de la graine de fenugrec	14
Tableau 2 : Criblage de l'activité antimicrobienne des graines de fenugrec et des extraits de cals contre les microorganismes standards	21
Tableau 3 : Concentration minimale inhibitrice CMI des extraits de feuilles de <i>T. foenum - graecum</i> contre les bactéries testées.	25
Tableau 4 : CMI des extraits de feuilles de <i>T. foenum - graecum</i> contre les champignons.	25
Tableau 5 : Les extraits préparés dans les quatres articles traités.	30
Tableau 6 : Les tests d'activité antimicrobienne réalisés dans les quatres articles	31
Tableau 7 : L'activité antimicrobienne des graines de fenugrec et des extraits de cals.	32
Tableau 8 : Activité antimicrobienne des extraits éthanolique et aqueux des graines de fenugrec	32
Tableau 9 : Activité antimicrobienne des extraits de feuilles de fenugrec (ZOI)	33
Tableau 10 : Zone d'inhibitions des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif.....	33
Tableau 11 : Tests phytochimiques des extraits de graines et de cals de fenugrec et de quelques extraits de feuilles de fenugrec.....	33
Tableau 12 : Tests phytochimiques de l'extrait éthanolique à soxhlet et de l'extrait éthanolique par macération.	34

Liste des abréviations

MCF-7 : cellules du cancer du sein.

A-549 : Cellules du cancer du poumon.

HT-29 : cellules de l'adénocarcinome du côlon.

DMSO : Diméthyl sulfoxyde.

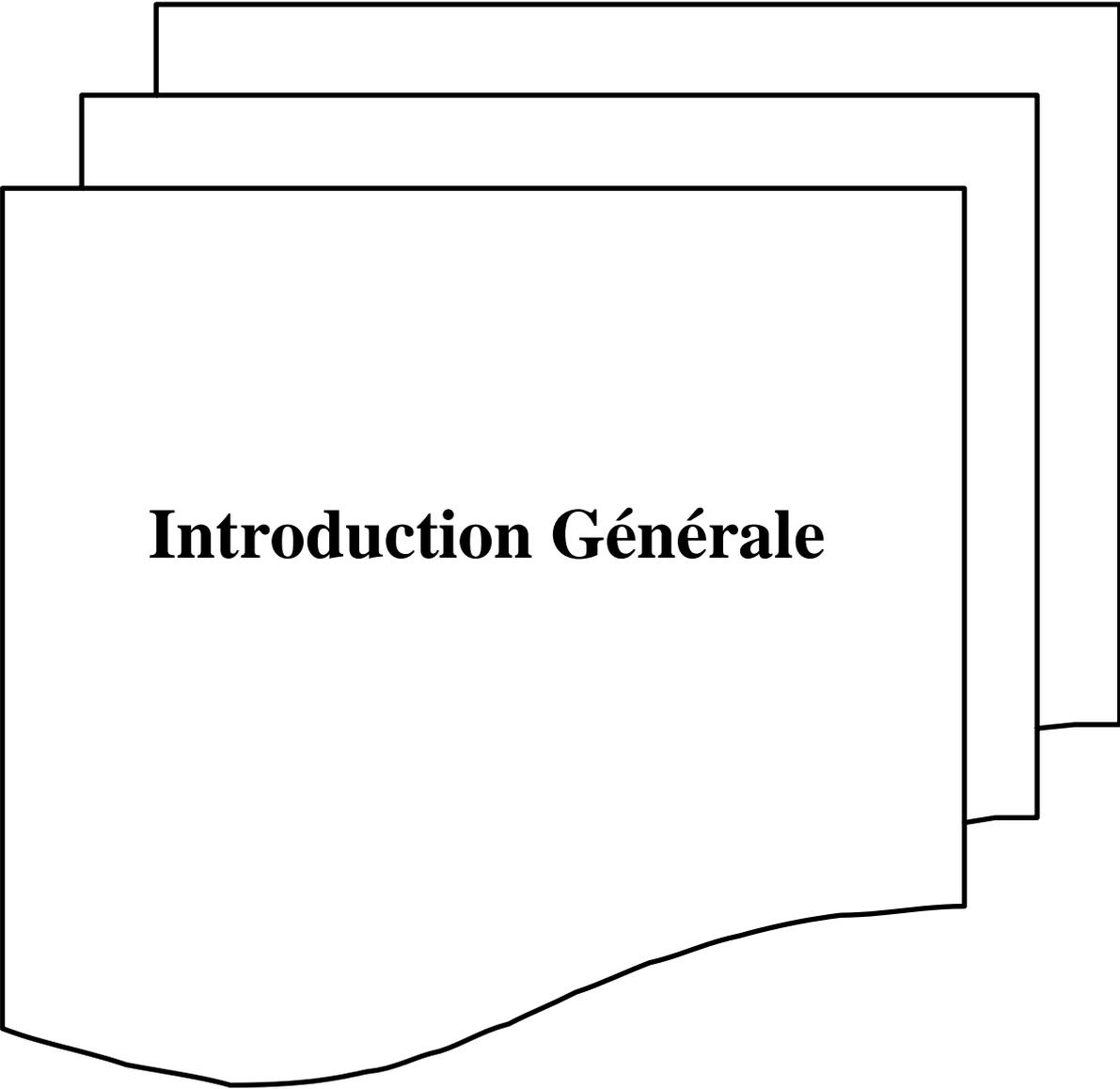
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

ZOI : Zone of Inhibition.

IC50 : concentration de l'extrait (mg/ml) qui inhibe la formation de radicaux DPPH.

ATCC : American Type Culture Collection (Collection américaine des cultures type).



Introduction Générale

Introduction générale

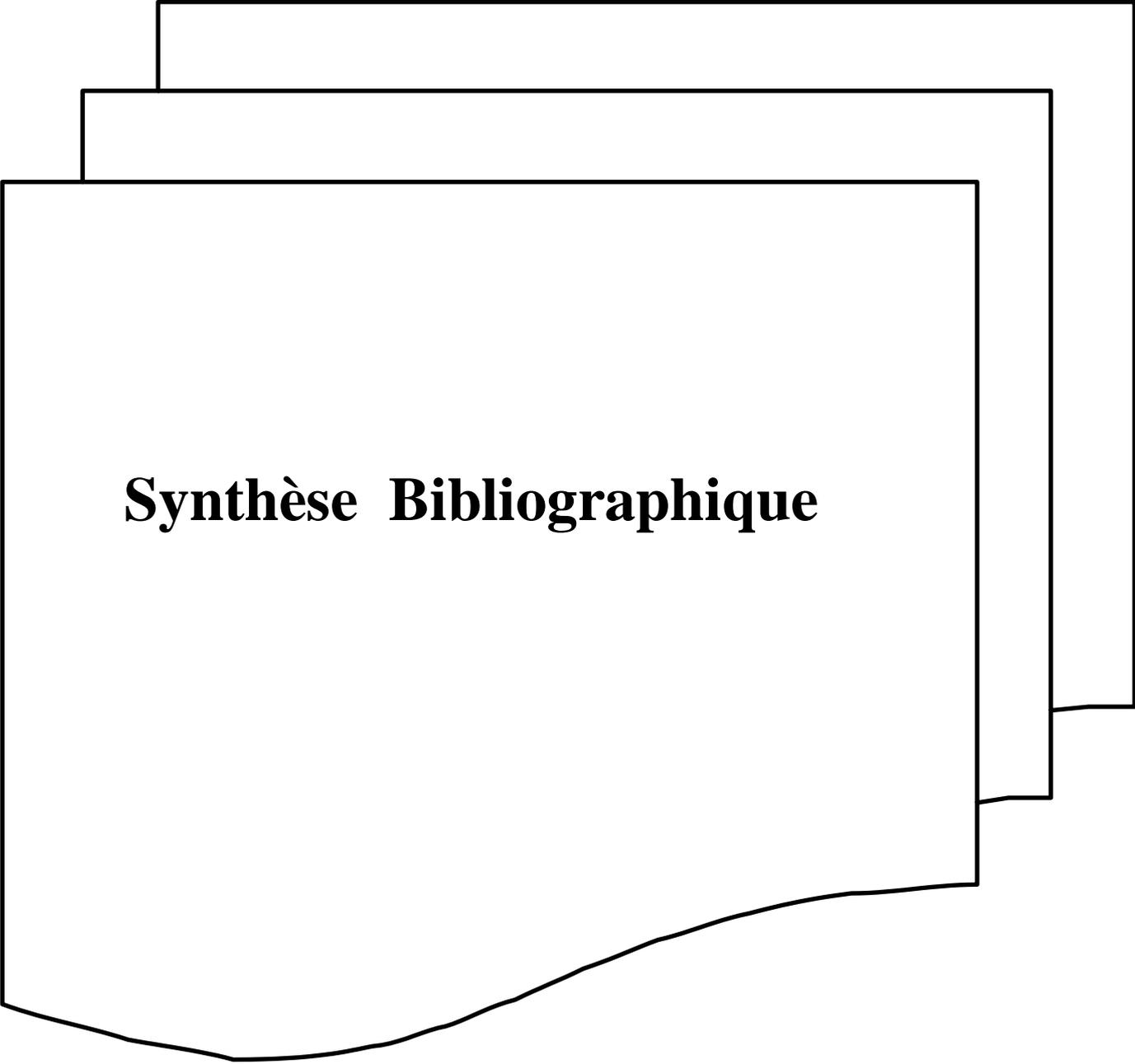
Les antibiotiques sont considérés comme le traitement de base des infections bactériennes depuis leurs découvertes, mais leur utilisation excessive a conduit à l'émergence de souches bactériennes résistantes qui ont affaibli l'efficacité de ces antibiotiques (**Goossens *et al.*, 2005**). La résistance est due à leurs flexibilité génétique, dont certaines bactéries pathogènes ont pu développer une multi-résistance vis-à-vis plusieurs antibiotiques (**Chaudhary, 2016**).

Cette situation a incité les chercheurs à se tourner vers de nouvelles molécules issues des plantes médicinales, la discipline qui se concentre sur l'utilisation de plantes ou de parties de plantes pour la prévention ou le traitement de certaines troubles fonctionnelles et/ou cas pathologiques est appelée la phytothérapie (**Wichtl *et Anton*, 2003**).

Cette étude vise à faire la lumière sur l'utilisation de plantes médicinales aux propriétés antimicrobiennes pour réduire l'usage excessif d'antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes et aussi pour réduire les effets indésirables des antibiotiques. Nous avons choisi pour cette étude la plante médicinale *Trigonella foenum-graecum L* en raison de son abondance afin d'évaluer l'effet inhibiteur de certains extraits de fenugrec et de déterminer les plus efficaces d'entre eux contre certaines souches bactériennes.

Ce travail s'articule sur trois chapitres :

Le premier chapitre représente la synthèse bibliographique, il a abordé des généralités sur des infections bactériennes et l'utilisation des antibiotiques dans leur traitement, il a indiqué l'inefficacité de ces antibiotiques à cause de leur utilisation accrue, le concept de la phytothérapie, les méthodes de préparation et les modalités d'utilisation. Le deuxième chapitre comprenait une définition de *Trigonella foenum-graecum L*, son histoire d'utilisation, sa répartition géographique, la systématique, les métabolites, ainsi que les activités biologiques du fenugrec. Le dernier chapitre a également présenté une analyse des études précédentes sur les activités biologiques de certains extraits de fenugrec, suivi d'une conclusion générale afin de valoriser le potentiel antimicrobien de cette plante et leur possibilités d'utilisation dans le domaine de la phytothérapie à travers les résultats obtenus dans l'ensemble de ces études.



Synthèse Bibliographique

1 Les maladies infectieuses d'origine bactérienne :

Les maladies infectieuses sont causées principalement par des bactéries, virus, champignons et parasites. Plus d'un tiers des malades atteints par une infection, ils reçoivent au moins un antibiotique lors de leur hospitalisation. **(Labayle , 2001)**

Chez les enfants, la principale cause de la mortalité est la pneumonie, elle est provoquée aussi par la maladie d'immunodéficience acquise (SIDA), la tuberculose et le paludisme.

La pneumonie peut être causée par plusieurs agents infectieux dont les plus communs sont *Streptococcus pneumonies*, *Haemophilus influenzae* type b et le virus respiratoire syncytial.

A l'échelle mondiale, la mortalité est provoquée par d'autres agents pathogènes, parmi eux : *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella enterica* sérovar Typhi et sérovar Paratyphi, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* entérotoxiques et *Treponema pallidum*. **(Luciano, 2015)**

Plusieurs facteurs favorisent l'émergence et la résurgence des maladies infectieuses dont certains facteurs sont liés à l'agent pathogène comme l'évolution de son potentiel pathogène et la résistance aux antimicrobiens, d'autres facteurs dépendent de l'hôte. L'augmentation du nombre de personnes immunodéprimés liés à certains comportements sexuelles ou à la toxicomanie

(Luciano, 2015).

Certains gènes de virulence rendent les bactéries pathogènes comme *Escherichia coli*. Certains bactéries résidentes révèlent leur potentiel pathogène si elles accèdent aux tissus profonds, par exemple : *Staphylococcus epidermidis* qui a le pouvoir de former un biofilm sur un cathéter et provoquer des infections sévères. Certains bactéries saprophytes deviennent pathogènes chez un hôte immunodéprimé, comme l'agent responsable de la listériose, *Listeria monocytogenes*. **(Luciano, 2015).**

1.1 Traitement des maladies infectieuses :

Pour traiter les maladies infectieuses causées par les bactéries, les scientifiques avaient découvert des molécules efficaces contre les maladies bactériennes, qu'ils appelaient des antibiotiques. Dans la lutte contre le bacille de l'anthrax, B. Gosio a utilisé une molécule toxique extraite à partir d'un champignon du genre *Penicillium*, après sa purification. La recherche de molécules pour inhiber les maladies infectieuses fait partie de la chimie anti-infectieuse depuis les années 1990, mais cela est dû à la recherche qui a commencé à partir des travaux d'Alexander Fleming sur les caractéristiques de la croissance des Staphylocoques, où il a été placé en milieu solide, et sur une boîte de pétri

ensemencée de staphylocoques et après son absence du laboratoire pendant un certain temps. Il a remarqué la formation d'une moisissure bleu verdâtre, dont le mycélium avait éliminé les bactéries autour de lui. Au-delà, Fleming a annoncé l'hypothèse que le champignon avait produit une substance bactéricide qui, par diffusion, pourrait inhiber la croissance des bactéries. Après cette hypothèse, de nombreuses études se sont poursuivies jusqu'à ce que E.B.Chain et H.W.Florey découvrent la pénicilline, qui est devenue largement utilisée par les forces anglaises et américaines pendant la seconde guerre mondiale. En 1944, S.A.Waksman et ses collaborateurs ont découvert la streptomycine, et à partir de cette date, une nouvelle ère de médecine dans la lutte contre les maladies infectieuses a commencé. **(Luciano, 2015)**.

Cependant, et en 1940, **Abraham et Chain** ont remarqué en travaillant sur la pénicilline qu'il existait des extraits de bactéries capables de détruire la pénicilline, qui n'avait pas encore été utilisée à des fins thérapeutiques. En 1949, Mary Barber a fait l'observation que les staphylocoques résistants à la pénicilline perdaient spontanément et à une fréquence relativement élevée la capacité de produire la pénicillinase, alors que le retour de ces souches et la restauration de la production d'enzymes ne se produisaient pas. De plus, les théories génétiques basées sur la sélection par mutation classique n'ont pas été en mesure d'expliquer ce phénomène. Au fil du temps, l'utilisation thérapeutique croissante des antibiotiques appartenant aux entérobactéries, a conduit à l'émergence de résistance à l'ampicilline (Tnl).

Les antibiotiques peuvent devenir inefficaces dans certains cas en raison de leur utilisation accrue, ce qui peut conduire à l'émergence de bactéries résistantes, il est donc nécessaire de recourir à d'autres méthodes de traitement qui peuvent inhiber la croissance des germes et ne pas nuire significativement à la santé de l'homme, parmi ces méthodes nous pouvons utiliser la phytothérapie.

1.2 La phytothérapie

La phytothérapie est le traitement par les plantes **(Bruneton, 1999)**, c'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et / ou certains états pathologiques au moyen de végétaux, de parties de végétaux ou de préparations à base de végétaux, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe **(Wichtl et Anton, 2003)**.

Elle est basée sur l'utilisation de plantes médicinales à des fins thérapeutiques. En médecine traditionnelle, les fabricants de médicaments s'appuient sur l'extraction de principe actif des plantes, car les médicaments traditionnels régulent les fonctions du corps et le soulagent de la nécessité de se guérir, de même que dans la phytothérapie qui utilise des plantes comme des

médicaments pour réguler les fonctions de l'organisme. Le phytothérapeute estime que la maladie est causée par un déséquilibre de l'équilibre interne de l'organisme vivant qui doit constamment s'adapter à son environnement. La phytothérapie analyse les organes internes de l'organisme : les systèmes neuroendocrinien, hormonal, immunitaire, le système de drainage... **(Devoyer, 2012)**.

La phytothérapie est pratiquée sous diverses formes et ne s'applique qu'aux maladies bénignes. Bien sûr, pour traiter de nombreux symptômes, vous devez utiliser des antibiotiques ou d'autres médicaments lourds. Dans d'autres cas, pour le traitement, les plantes peuvent également être utilisées comme une solution alternative reconnue en médecine, qui est exempte de tout effet toxique sur l'organisme **(Berlencourt, 2008 ; Berlencourt, 2017)**.

2 Modes de préparation et d'utilisation des plantes médicinales

2.1 L'infusion

L'infusion se fait en utilisant les fleurs et les feuilles des plantes, les racines et l'écorce peuvent être aussi utilisées. La méthode est basée sur le versement d'eau bouillante sur la plante (une cuillère à café par tasse), ensuite vous devez effectuer une infusion pendant dix à vingt minutes, l'infusion peut être conservée au réfrigérateur jusqu'à 48 heures, il est préférable de ne pas sucrer les tisanes.

(Nogaret-Ehrhart, 2003). (figure 01)



Figure 01 : Infusion des feuilles.

2.2 La décoction

Cette méthode est destinée parties souterraines de la plante, telles que les racines et sur l'écorce, qui ne libèrent pas leurs principes actifs en Infusion. A titre d'exemple, on retrouve la réglisse et la racine de ginseng est souvent utilisée en ébullition. Afin d'obtenir les principes actifs de ces plantes, mettez une cuillère à soupe de plantes par tasse dans une casserole, faites bien infuser et mettez sur

le feu pendant vingt minutes jusqu'à ébullition, puis retirez-la du feu et laissez-la infuser et refroidir pendant une heure avant de filtrer. Vous pouvez conserver le bouilli au réfrigérateur pendant trois jours. (Nogaret-Ehrhart, 2003).



Figure 02 : Décoction des tiges et feuilles.

2.3 La macération

La macération consiste à faire tremper les plantes dans de l'eau froide pendant plusieurs heures. Vous avez besoin d'une cuillère à café de la plante pour une tasse d'eau, une grande cuillère à soupe pour un bol et trois cuillères à soupe par litre. Les plantes peuvent également être imbibées d'alcool, de glycérine ou de tout autre solvant, à condition que le solvant liquide retienne les principes actifs de la plante. Le solvant doit être soigneusement sélectionné en fonction de la plante utilisée. (Nogaret-Ehrhart, 2003).



Figure 03 : Préparation des macérats huileux.

2.3.1 La macération à l'huile froide

Cette technique consiste à remplir un grand récipient en verre de plantes, puis à les recouvrir d'huile. Les herbes et l'huile sont placées dans un bocal puis fermées. Faites ensuite tremper pendant deux semaines dans un endroit ensoleillé. (Nogaret-Ehrhart, 2003).

2.3.2 La macération à l'huile chaude

Cette méthode est utilisée dans la fabrication d'huiles et de crèmes de massage, vous pouvez faire tremper les herbes dans de l'huile chaude. Il est recommandé d'utiliser de l'huile d'olive et de l'huile d'amande douce. (Nogaret-Ehrhart, 2003).

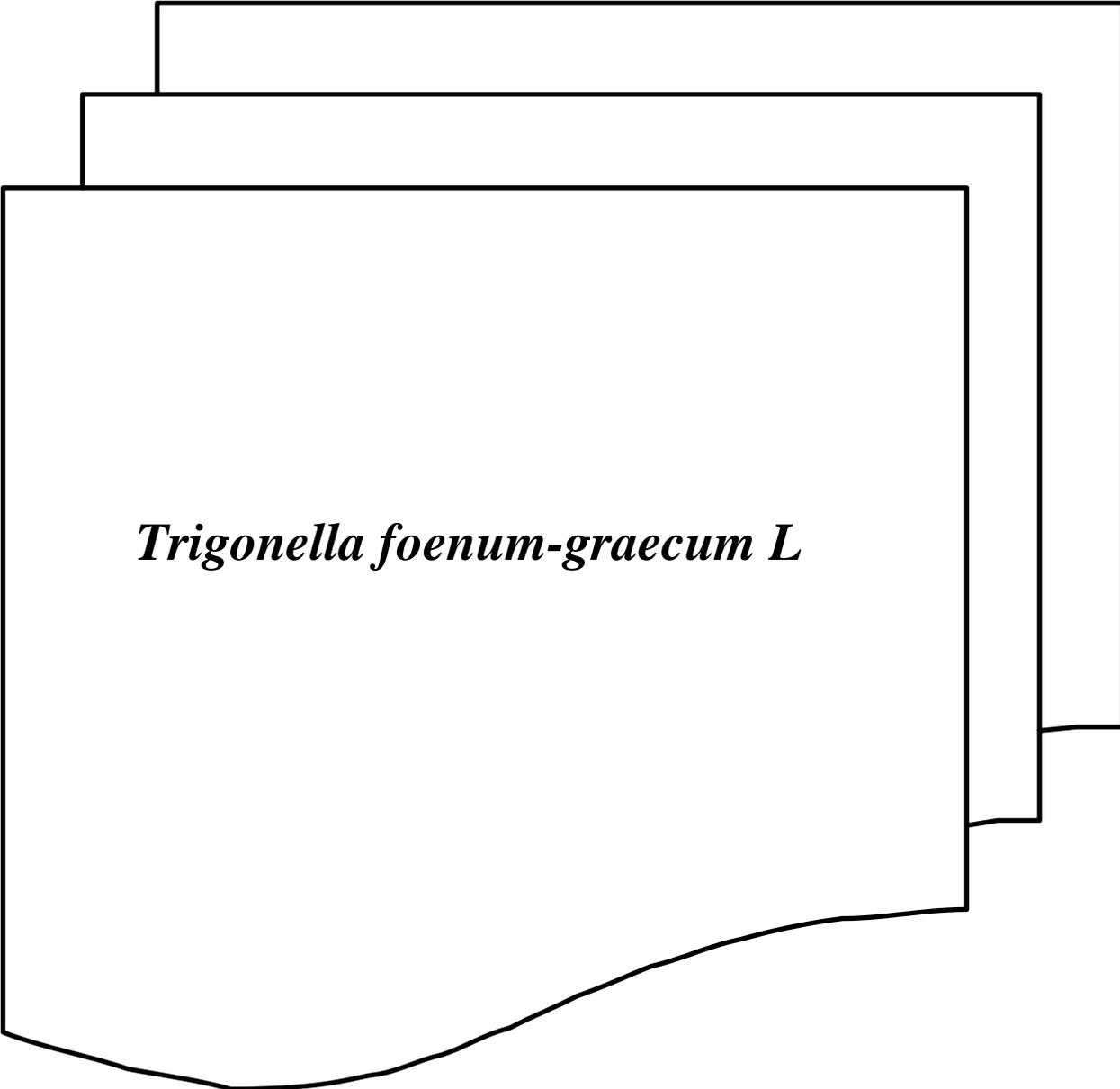
2.4 Le cataplasme

Il est basé sur le même principe que les compresses, sauf que les herbes sont utilisées directement, et non pas l'infusion. Coupez les plantes, mettez-les sur le feu dans une casserole et faites cuire à feu doux pendant deux à trois minutes.

Pressez les herbes et appliquez-les sur place pour guérir, en les recouvrant de ruban ou d'un morceau de gaze. Ces herbes doivent être changées toutes les heures et la compresse peut être conservée pendant trois à quatre heures. **Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart, (2003). (figure 04)**



Figure 04 : Le cataplasme.



Trigonella foenum-graecum L

1 *Trigonella foenum-graecum* L

Le fenugrec est une plante annuelle, herbacée, appartient à la famille des fabaceae, du nom arabe l'helba. Son nom botanique est *Trigonella foenum-graecum* L. Elle est aussi nommée : trigonelle, sénégrain, trigonelle fenugrec, etc. Sa semence est appelée graine joyeuse.

Le nom du genre *Trigonella* vient du latin *trigonus* qui signifie triangle, par allusion à la forme prismatique des graines du fenugrec. Le mot fenugrec a un origine latin *foenum graecum* signifiant «foin grec» (**Rahmani et al., 2015**).

La région méditerranéenne est considérée comme l'habitat naturel du genre *Trigonella*. Les espèces sauvages du genre existent dans les pays d'Europe, l'Afrique du Nord, les îles Canaries, l'Afrique du sud, l'Asie centrale et de l'Australie. Généralement, la culture du *Trigonella* est souvent sub-spontanée en Algérie (**Rahmani et al., 2015**).

1.1 Historique

Les plantes du genre *Trigonella* et en particulier de l'espèce cultivée *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec) étaient connus et utilisées dans des buts différentes dans les temps anciens, surtout en Grec et en Egypte (**Rouk et Mangasha, 1963**). En Afrique du Nord, la culture du Fenugrec se fait autour des oasis sahariennes depuis très tôt (**Duke, 1986**).

Hidvegi et al (1984) a montré que les références détaillant l'utilisation du fenugrec reviennent à 1578 : des informations détaillées sur la plante sont collectées par **Melius (1578)** dans le célèbre Herbar de Kolozsvár. Dans cet herbar de Transylvanie, des chercheurs ont trouvés que le tombeau de Toutankhamon contient des graines de fenugrec (**Manniche, 1989**). Lors la période de roi de la Syrie Antiochus Epiphane, tous les participants dans le gymnase où les jeux étaient consacrés aux parfums d'or venant des plats contenant du fenugrec et d'autres plantes aromatiques (**Leyel, 1987**). Les Egyptiens utilisaient les feuilles du fenugrec comme parfume dans leurs rituels de fumigation et d'embaumement (**Rosengarten, 1969**).

Miller (1969) a montré que le fenugrec a été utilisé comme plante d'épice dans les textes classiques.

Le fenugrec est parmi les premières plantes connues pour leur propriétés médicinales, elle occupa une place importante dans les pensées d'Hippocrate (**Lust et al., 1986**). Dans la période pharaonique, les Egyptiens ont prescrit le fenugrec pour ses propriétés rajeunissantes (**Manniche, 1989**). Le fenugrec était la première plante introduit dans la médecine chinoise pendant la dynastie Sung (**Jones, 1989**).

Dioscorides, un médecin grec et père de la pharmacologie, a écrit dans son examen de la définition et la fonction des épices dans sa *Materia Medica* que le fenugrec est un composant actif des onguents (Miller, 1969). Il décrit un mélange de graines de fenugrec sert à traiter la vulve. Au XVIIe siècle, les graines de fenugrec ont été conseillées pour faciliter l'expulsion du placenta des femmes après l'accouchement (Howard, 1987). L'herbe été un favori des arabes et elle a été étudiée dans l'école de Salermo par les médecins arabes (Stuart, 1986). Dans la grec antique, le fenugrec était connu et cultivé comme fourrage. Théophraste lui avait donné les noms (Voukeras) et (Tilis) qui a été utilisé pour produire l'huile de Tilis.

1.2 Distribution

Le genre *Trigonella* ayant comme habitat naturel la région méditerranéenne, les espèces sauvages du genre se trouvent dans les pays d'Europe, Macronesia (îles Canaries), Nord et Sud d'Afrique, Asie centrale et Australie (Anonyme, 1994).

Des espèces indigènes de ce genre ont été signalées (Anonyme, 1994) : six pour l'Asie : (*T. caelesyriaca*, *T. calliceras*, *T. emodi*, *T. geminiflora*, *T. glabra*, *T. kotschyi*), cinq pour l'Europe (*T. graeca*, *T. striata*, *T. polycerata*, *T. monspeliaca*, *T. procumbens*), un pour l'Afrique (*T. laciniata*) et un pour l'Australie (*T. suavissima*) qui s'adapte bien à la vie dans les marécages (Allen et Allen, 1981). Le reste des espèces existent sur plus d'un continent dont vingt-trois espèces vivent en Europe (Ivimey-Cook, 1968), parmi eux quinze espèces se produisent dans la région des Balkans (Polunin, 1988), quatorze espèces pour la Grèce (Kavadas, 1956), et quatre vit sur l'île de Céphalonie (Phitos et Damboldt, 1985).

Parmi les espèces de genre *Trigonella* le plus cultivé est l'espèce *Trigonella Foenum-graecum* appelée aussi fenugrec.

1.3 Description botanique

Le fenugrec est une plante annuelle de 30 à 60 cm d'hauteur, les feuilles ont un longueur de 20 à 25 mm (Moradi Kor et al., 2013). Il est caractérisé par des fleurs blanchâtres ou jaune pâle, les variétés sauvages et cultivés existent avec 1 à 2 fleurs axillaires, sessiles blanchâtres au jaune citron. (Moradi Kor et al., 2013).

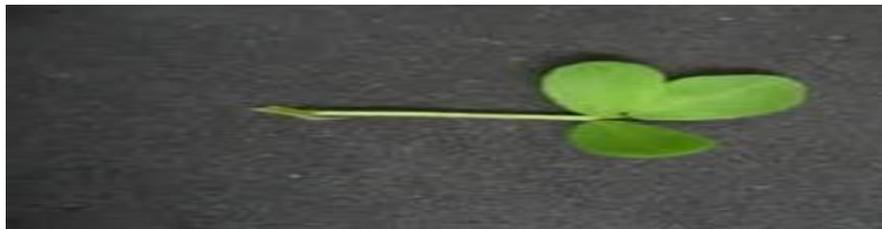
La gousse a une longueur de 5 à 7 cm avec un bec persistant, chaque gousse porte 10 à 20 petites graines dur et jaune brunâtre, dont la longueur de celui-ci est estimée de 5 mm. (Moradi Kor et al., 2013).



(a)



(b)



(c)



(d)



Figure 05 : (a) : *Trigonella* fleurissante, (b) : pied de *Trigonella*, (c) : feuilles, (d) : gousses, (e) : graines.(Boudjnana *et* Mansour 2014).

1.4 Systématique

Elle présente la systématique suivante (**Ghirdia et al., 2010**)

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Famille : Fabaceae

Genre : *Trigonella*

Espèce : *Trigonella foenum-graecum* L.

1.5 La composition chimique de la graine du fenugrec

Les principaux constituants des graines sont :

1.5.1 Les acides phénoliques

Sont les principaux polyphénols alimentaires (**Watson et al., 2013**), ils se trouvent dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale en polyphénols de l'alimentation. (**Sharma et al., 2015**). Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés naturels qui ont des activités pharmacologiques, ils se distinguent par la présence d'antioxydants, ainsi que par des propriétés antivirales et antibactériennes. (**Cazes, 2005**). Les acides phénoliques existent sous deux formes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. (**Watson et al., 2013**).

1.5.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes combinent une très large gamme de polyphénols composés d'un squelette basique de 15 atomes de carbone ayant une structure commune C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane.

Sa fonction principale est les couleurs qu'il peut créer dans les plantes. Les plantes flavonoïdes ont des propriétés biologiques importantes et largement répandues. (**Ngene et al., 2015**).

1.5.3 Les tanins

Les tanins sont des polyphénols solubles dans l'eau de masse moléculaire oscillant entre 500 et 3000 (**Gazengel et Orecchioni, 2013**). Ce sont des molécules hautement hydroxylées qui ont la capacité de former des complexes insolubles lorsqu'elles sont associées à des glucides,

des protéines et des enzymes digestives, ce qui conduit à une moindre digestibilité des aliments. Il peut être lié à la cellulose et à de nombreux autres éléments minéraux. (Alkurd *et al.*, 2008).

Tableau 01 : La composition chimique de la graine de fenugrec.

Classe de constituants chimiques	Constituants chimiques
Protéines (28 – 30 %)	Nucléoprotéines
Glucides (20 – 45 %)	Fibres : cellulose, hémicellulose ; mucilages : galactomannane ; phytine : (inositol hexaphosphate de Ca et de Mg)
Sapogénines et saponosides stéroïdiques (4,5 %)	Foenugraecine, trigofenoside A et autres hétérosides de la diosgénine, de la trigogénine et de la yangogénine ; nombreuses sapogénines stéroïdiques
Coumarine	Scopolétine
Flavonoïdes	Vitexine, vicénines, dérivés de l'orientine
Acides aminés	4-hydroxyisoleucine
Autres	Amide de l'acide nicotinique, trigonelline (méthylbétaine, 0,37 %), gamma schizandrine, phosphore, calcium, fer, β - carotène
Lipides, huile grasse (dans l'embryon) : (6 – 10 %)	Acide linoléique, acide linoléique et lécithine

2 Activités biologiques de fenugrec

2.1 Effets antidiabétiques :

Depuis longtemps, l'action antidiabétique des graines de fenugrec est bien connue (**Moissides, 1939, Mishkinsky et al., 1967**). **Fourier (1948)** a marqué que les graines de fenugrec bien moulues améliorent le diabète chez les sujets humains. Les chercheurs ont confirmé cette propriété par la réalisation d'une expérience sur les rats alloxane-diabétiques, ils ont utilisé l'extrait de pépins qui induit un effet hypoglycémiant (**Bever et Zahnd, 1979 ; Khosla et al., 1995a**), tout comme la trigonelline, principale alcaloïde de fenugrec (**Shani et al., 1974**).

Ghafghazi et al., (1977) ont montré qu'un extrait de fenugrec a un effet préventif contre l'hyperglycémie induite par le cadmium et l'alloxane chez le rat. **Amin et al., (1988)** ont prouvé que les animaux diabétiques qui ont passé par un régime à 20 % de fenugrec pendant 5 semaines, et injecté avec le streptozotocine (STZ) présentent un bon état clinique en comparant avec les animaux traités avec streptozotocine seulement.

L'hyperglycémie, les triglycérides, les acides gras libres, et le cholestérol ont été réduits. En plus, si le diabète est induit et il n'y a pas une utilisation d'un régime supplémentaire de fenugrec, il n'y aura pas une amélioration dans l'état diabétique. Encore, le diabète peut avoir un effet préventif contre le diabète induit chimiquement.

2.2 Effets hypocholestérolémiant

Une étude sur les rats a montré que l'utilisation des graines du fenugrec apporte un effet hypocholestérolémiant (**Singhal et al., 1982 ; Sharma, 1984 ; 1986a. Stark et Madar, 1993 ; Khosla et al., 1995b**) et chez les chiens (**Valette et al., 1984**). L'augmentation du taux de cholestérol chez le rat a été inhibée par l'ajout de 15 à 60 % du fenugrec a un régime induisant l'hypercholestérolémie (**Sharma, 1984**). Il a aussi un effet considérable sur le cholestérol exogène lorsqu'il est administré avec un régime hypocholestérolémiant contenant 1 % de cholestérol que sur le cholestérol endogène quand le fenugrec est administré avec un régime alimentaire sans cholestérol (**Sharma, 1984**). L'utilisation de fenugrec dégraissé dans le régime alimentaire des sujets hyperlipidémiques non diabétiques a réduit les taux sériques de cholestérol total, de LDL et de lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et de triglycérides dans les lipoprotéines de très haute densité (HDL) (**Sharma et al., 1991**).

Le fenugrec est capable à réduire sélectivement la fraction LDL et VLDL du cholestérol total, ce qui peut être bénéfique dans la prévention contre l'athérosclérose. Les fibres de celui-ci a un effet

sélectif similaire sur le cholestérol LDL telles que le son d'avoine (**Kirby et al., 1981**) et la gomme de guar (**Jenkins et al., 1980**). **Throwel (1972)** rapporte que les glucides naturels riches en fibres sont efficaces contre l'hyperlipidémie et les cardiopathies ischémiques.

2.3 Effets anti-fertilité

Les chercheurs ont fait des grands efforts pour comprendre les effets contraceptifs et anti-fertilité de l'utilisation d'extraits bruts de différentes plantes de fenugrec chez les femmes (**Rao et al., 1988, Sethi et al., 1990, Desta, 1994**). L'utilisation de fenugrec dans la contraception a été démontrée par un nombre important des études qui ont été fait sur ce point.

2.4 Effets chez le mâle

L'activité spermicide du fenugrec a démontré après son utilisation in vitro sur sperme humain (**Setty et al., 1976**). L'extrait n-butanol de fenugrec exerce un certain degré d'activité spermicide, par conséquent il a été signalé comme un agent spermicide, cette activité est en relation avec les saponines. (**Setty et al., 1976**). En plus, le test de fertilité qui a été réalisé a donné des résultats négatifs à 100 % (**Kamel et al., 1993**). La réduction du poids des organes reproducteurs peut être considérée comme un signe de la diminution des taux d'androgènes (**Chinoy et al., 1982**).

En outre, les extraits de fenugrec peut avoir un effet négatif sur la fertilité des rats d'albinos mâle (**Kamel et al., 1993**).

2.5 Effets chez la femme

En Inde, il est fortement recommandé aux femmes d'utiliser de graines de fenugrec pendant l'allaitement (**Nadkarni, 1954**). Aussi, l'étude menée par **Mital et Gopaldas (1986)**, qui reposait sur le fait de donner aux rats femelles 5 à 20 % de la poudre de graines du fenugrec au cours d'un régime de 21 jours, où il a été constaté qu'il n'y avait aucun effet sur le nombre d'implants et le nombre de résorptions ou sur le poids fœtal ou placentaire par rapport aux groupes témoins. L'étude de Mital et Gopaldas n'a pas montré un effet bénéfique des graines de fenugrec sur la lactation, par contre l'étude antérieure d'**El Ridi et al., (1954)**, qui a indiqué que l'huile extrait de la plante de fenugrec peut contenir un agent favorisant la lactation.

Contrairement, d'autres études faites par **Khare et al., (1983)** dans lesquelles l'extrait éthérique de la plante de fenugrec a été utilisé sur des rats femelles Ont montré l'absence d'implants fœtaux comme preuve d'un effet anti-fertilité.

2.6 Ulcère gastrique et effets cicatrisants

Dans la médecine traditionnelle chinoise, la plante de fenugrec a été utilisée sous forme de thé pour traiter la gastrite (**Duke et Ayensu, 1985**). L'étude d'Al-Meshal *et al.*, 1985, qui utilisait l'extrait de fenugrec comme un traitement prophylactique pendant 5 jours, n'a eu aucun effet protecteur contre les lésions infectieuses causées par phénylbutazone et la réserpine chez les rats, cependant elle était utilisée comme un traitement curatif pendant 5 jours consécutifs. Chez les rats prétraités avec des doses ulcérées de phénylbutazone, il a conduit à une cicatrisation plus rapide de l'ulcère. **Al-Meshal et al., (1985)** rapporte que l'extrait de fenugrec se caractérise par un effet léger relaxant sur les muscles lisses du duodénum isolées de lapins lorsqu'il a été ajouté au bain d'organe à 0,5 mg / ml. En plus, l'action anticholinergique du fenugrec a été suggérée comme la propriété responsable de l'efficacité du fenugrec dans la promotion de la guérison des ulcères causés par la phénylbutazone. Les graines de fenugrec ont également des caractéristiques qui les aident à guérir les plaies d'excision et à éliminer les plaies à espace mort chez les rats

(**Taranalli et Kuppast, 1996**).

2.7 Effets anticancéreux

L'utilisation de l'extrait éthanolique de *Trigonella foenum-graecum*, avec une DE50 inférieure à 10 µg / ml dans le test de cytotoxicité de la crevette saline, a montré une activité antimicrobienne contre trois types de cancers, y compris le cancer du poumon A-549, cancer du sein MCF-7 et contre les lignées cellulaires d'adénocarcinome du côlon HT-29 (**Alkofahi et al., 1996**).

2.8 Effets antimicrobiens

En tant que bienfait supplémentaire de cette plante médicinale, les extraits aqueux et d'éthanol des graines de fenugrec présentent une activité anti-bactérienne (**Bhatti et al., 1996**). Les polyphénols ont une activité antibactérienne importante, probablement en raison de leur diversité structurale. (**Cowan, 2009**). Ces composés ont un rôle inhibiteur, sachant qu'ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne, mais agissent plutôt sur un mécanisme interne. Les polyphénols synthétisent probablement les protéines, ADN et ARN. (**Ulanowska et al., 2008**).

Ils ont également la capacité de supprimer un certain nombre de facteur de virulence microbiens tels que l'inhibition de la formation de biofilms, en plus de réduire l'adhésion aux ligands hôtes et d'éliminer les toxines bactériennes, de plus ils sont capables de former un synergisme avec certains antibiotiques. (**Daglia, 2011**).

2.9 Effets antihelminthiques

Mishra *et al.*, (1965) rapporte que les graines de fenugrec ont été utilisées comme antihelminthiques contre les nématodes. **Ghafgazi *et al.*, (1980)** ont montré que l'extrait aqueux de graines de fenugrec avait une activité antihelminthiques sur les cestodes et les nématodes.

2.10 Effets anti-nociceptifs

Les tests de flick-tail et de formol menés par **Javan *et al.*, (1997)**, ont montré l'effet anti-nociceptif d'un extrait aqueux préparé à partir de la plante de fenugrec et administré par voie intrapéritonéale.



Traitement des articles

1 Article 1

1.1 Titre

Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*), **Mawahib et al., (2015).**

1.2 Objectif

L'objectif de cette étude est de :

Réaliser des tests phytochimiques des extraits méthanoliques et l'extrait d'éther de pétrole des graines et de cals de *Trigonella foenum-graecum L.*

Rechercher l'effet antimicrobien (antibactérien et antifongique) de tous les extraits.

1.3 Activités réalisées dans ce travail

1^{ère} partie : préparation des extraits bruts (extrait méthanolique, extrait d'éther de pétrole) des graines broyées et des cals de Fenugrec par la méthode de Soxhlet.

2^{ème} partie : l'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *Bacillus subtilis* NCTC 8236, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), en utilisant la méthode de diffusion sur disque de papier (**Kil et al., 2009**).

L'évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis de *Aspergillus niger* ATCC 9763 et *Candida albicans* ATCC 7596.

3^{ème} partie : la recherche de la présence de métabolites secondaires, tels que : les alcaloïdes, les saponines, les flavonoïdes, les tannins, ...etc

4^{ème} partie : l'analyse statistique des résultats.

1.4 Résultats

L'extrait de graines préparé dans l'éther de pétrole montre la meilleure activité antibactérienne et antifongique en comparant avec les autres extraits.

L'extrait méthanolique des graines et l'extrait d'éther de pétrole des cals n'ont aucune activité.

L'extrait méthanolique des cals est efficace vis-à-vis de *E.coli* et *S.aureus*

Traitement des articles

Tableau 02 : Criblage de l'activité antimicrobienne des graines de fenugrec et des extraits de cals contre les microorganismes standards.

Parties utilisés (extraite)	Extraits		Zone d'inhibition (mm) + SE			
			Gram +		Gram -	
		Concentration	B.s	S.a	E.c	Ps.a
Graine	Ether de pétrole	250 mg/ ml	-	15 ± 0.57	17 ± 0.33	-
		125 mg/ ml	-	11 ± 0.60	12 ± 0.00	-
	Méthanol	250 mg/ ml	-	-	-	-
		125 mg/ ml	-	-	-	-
Hypocotyles cals	Ether de pétrole	250 mg/ ml	-	-	-	-
		125 mg/ ml	-	-	-	-
	Méthanol	250 mg/ ml	-	11 ± 0.00	10 ± 0.00	-
		125 mg/ ml	-	10 ± 0.00	8 ± 0.00	-
Cotylédons cals	Ether de pétrole	250 mg/ ml	-	-	-	-
		125 mg/ ml	-	-	-	-
	Méthanol	250 mg/ ml	-	12 ± 0.57	10 ± 0.00	-
		125 mg/ ml	-	10 ± 0.00	-	-

.SE : moyenne d'erreur standard

B.s: *Bacillus subtilis*, **S.a :** *Staphylococcus aureus*, **E.c :** *Escherichia coli*, **Ps. a :** *Pseudomonas aeruginosa*

Les tests phytochimiques réalisés indiquent :

La présence de tous les métabolites secondaires testés dans l'extrait méthanolique des graines.

L'absence des tannins et des composés phénoliques dans les extraits méthanoliques de cals.

La présence des stéroïdes et terpenoïdes et l'absence des autres métabolites secondaires.

2 Article 2

2.1 Titre

Antibacterial and anticancer activities of fenugreek seed extract (Lina A Naser Al-Timimi., 2019).

2.2 Objectif

L'étude menée vise à évaluer le pouvoir antibactérien et anticancéreux de l'extrait éthanolique et aqueux de graines de *Trigonella foenum-graecum L.* (fenugrec).

Dans notre mémoire, on s'intéresse au traitement de la partie parlant de l'activité antibactérienne.

2.3 Activités réalisées dans ce travail

1^{ère} partie : préparation de l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux des graines broyées de fenugrec par macération pendant 24h.

2^{ème} partie : isolement des six souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Vibrio parahaemolyticus*, à partir de selles, infections de plaies, urine, et des lésions cutanées des malades hospitalisés.

Identification des souches par la microscopie, et des tests biochimiques conventionnels à l'aide du système automatisé système automatisé Vitek2.

3^{ème} partie : évaluation de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des six souches par la méthode de diffusion par puits sur gélose, et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Bansode et Chavan., 2013).

2.4 Résultats et interprétation

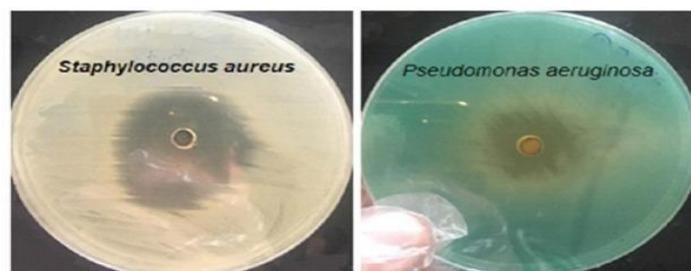


Figure 06 : Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de graines de fenugrec vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Traitement des articles

Nous remarquons que l'extrait éthanolique de graines de fenugrec a un effet important vis-à-vis de *S.aureus* et *P.aerugosa*.

Le diamètre de la zone d'inhibition résultant de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique *S.aureus* est supérieur à celui obtenu avec *P. aeruginosa*.

L'extrait a une activité modérée vis-à-vis de *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*. La plupart des bactéries ont été inhibées à une CMI de 50 µg/ml.

Cependant, aucune des concentrations préparées de l'extrait éthanolique n'a montré une activité positive sur *V.parahaemolyticus* et *E.coli*. En revanche l'extrait aqueux a montré des activités faibles à modérées sur les bactéries, à l'exception de *S. aureus* et *E. coli*.

2.5 Discussion

L'extrait d'éthanol a présenté une activité plus élevée sur la plupart des souches bactériennes, à l'exception d'*E. coli*, ceci peut être expliqué par la richesse de cet extrait en métabolites secondaires doués d'activité antibactérienne.

3 Article 3

3.1 Titre

Evaluation of antibacterial and antifungal activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Extracts (DHARAJIYA *et al.*, 2016)

3.2 Objectif

Cette étude a été réalisée afin d'évaluer le potentiel antimicrobien des extraits de feuilles de *Trigonella foenum-graecum* et d'élucider la présence de substances phytochimiques responsables de son activité biologique.

3.3 Activités réalisées dans ce travail

4 1^{ère} partie

Préparation des extraits à partir des feuilles de fenugrec par macération à froid en utilisant quatre solvants : l'hexane, l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau distillée (Dharajiya *et al.*, 2014).

2^{ème} partie : Tests de l'activité antimicrobienne

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia coli* MTCC n°448, *Pseudomonas aeruginosa* MTCC n°424, *Serratia marcescens* (isolée) et *Bacillus cereus* MTCC n°135, en utilisant la méthode de diffusion par puits sur gélose (Dharajiya *et al.*, 2014 ; Thakur *et al.*, 2015).

Évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium chrysogenum* et *Trichoderma viridae*, en utilisant la méthode de diffusion par puits sur gélose (Dharajiya *et al.*, 2015).

Détermination de la concentration minimale inhibitrice des différents extraits à l'égard de différentes bactéries et champignons a été déterminée par la méthode de dilution en bouillon (Dharajiya *et al.*, 2014).

3^{ème} partie

La recherche des substances phytochimiques dans les extraits tel que : alcaloïdes, tanins, saponines, stéroïdes, flavonoïdes,...etc.

4.1 Résultats

Selon les résultats obtenus, tous les extraits ont montré un potentiel antibactérien contre les différentes bactéries testées, cependant les meilleurs extraits sont l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique. En revanche, une activité limitée des autres extraits : l'hexane et acétate d'éthyle.

S. marcescens semble la bactérie la plus sensible à l'extrait aqueux ($12,33 \pm 0,57$ mm), *B. cereus* est la plus sensible à l'extrait méthanolique ($ZOI = 11,50 \pm 0,57$ mm). Dans le cas de la bactérie résistante *P.aeruginosa*, l'extrait aqueux et le méthanol montrent un faible effet contre cette bactérie.

Les meilleures valeurs de CMI ont été obtenu avec l'extrait aqueux contre *S. marcescens* (CMI = 6.25 mg/ml), suivi de l'extrait méthanolique contre *P.aeruginosa* (CMI = 12.5 mg/ml) (**Tableau 03**)

Traitement des articles

Tableau 03 : Concentration minimale inhibitrice CMI des extraits de feuilles de *T. foenum - graecum* contre les bactéries testées.

Les microorganismes testés	CMI en mg/ml			
	Hexane	Acétate d'éthyle	Méthanol	Aqueux
<i>Serratia marcescens</i>	25	NA	25	6.25
<i>Bacillus cereus</i>	NA	25	12.5	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NA	NA	25	25
<i>Escherichia coli</i>	NA	NA	25	12.5

CMI: concentration minimale inhibitrice (mg/ml), **NA :** not assessed (pas évalué).

Les extraits méthanolique, aqueux celui préparé dans l'acétate d'éthyle sont très efficaces pour inhiber la croissance de *T. viridae*. Ainsi, l'acétate d'éthyle était capable d'inhiber la croissance d'*A. oryzae*. L'hexane a également inhibé trois types de champignons : *A. niger*, *T. viridae* et *A. flavus* respectivement. Cependant, aucun extrait n'est efficace contre *Penicillium chrysogenum*. (Tableau 4)

Tableau 4 : CMI des extraits de feuilles de *T. foenum - graecum* contre les champignons.

Les organismes testés	CMI en mg/ml			
	Hexane	Acétate d'éthyle	Méthanol	Aqueux
<i>A. niger</i>	50	NA	NA	NA
<i>A. flavus</i>	100	NA	NA	NA
<i>A. oryzae</i>	NA	100	NA	NA
<i>P. chrysogenum</i>	NA	NA	NA	NA
<i>T. viridae</i>	50	12.5	6.25	50.0

CMI: concentration minimale inhibitrice (mg/ml), **NA :** not assessed (pas évalué).

L'analyse phytochimique a indiqué la richesse des extraits méthanolique et aqueux en métabolites secondaires en comparaison avec les autres extraits préparés dans l'hexane et l'acétate d'éthyle

4.2 Discussion

En analysant tous les résultats obtenus nous pouvons conclure que le pouvoir antimicrobien dépend de la teneur des extraits en métabolites, en effet les extraits aqueux et méthanoliques contiennent plus de métabolites, ce qui explique leur activité antibactérienne élevée.

4 Article 4

4.1 Titre

Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activity determination of *Trigonella foenum-graecum* seeds, (Chua *et al.*, 2019).

4.2 Objectif

L'objectif de cette étude est:

Evaluer les constituants phytochimiques par macération et extraction Soxhlet.

Evaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante de la graine de *T. foenum-graecum*.

4.3 Activités réalisées dans ce travail

1^{ère} partie : préparation des extraits de graines de *T. foenum-graecum* par la macération et l'extraction Soxhlet en utilisant de l'éthanol à 95 %.

2^{ème} partie : l'analyse phytochimique de l'extrait éthanolique à soxhlet et l'extrait éthanolique à macération comprenait plusieurs tests : tests aux alcaloïdes, test aux sucres réducteurs, test aux saponines, test de Salkowski, test à l'antraquinone, test aux glycosides, test aux tanins, test aux flavonoïdes, test au glucides et test aux phénols.

3^{ème} partie : évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Trigonella foenum-graecum* sur les microorganismes standards : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en utilisant la méthode de diffusion en puits de gélose.

4^{ème} partie : détermination des propriétés antimicrobiennes relatives de l'extrait en effectuant les tests de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et les tests de la concentration minimale bactéricide (CMB).

5^{ème} partie : évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de *Trigonella foenum-gaecumL* par le test d'activité de piégeage des radicaux libres DPPH en utilisant le radical stable DPPH, et aussi

Traitement des articles

le test de Folin-Ciocalteu (FC) pour déterminer le contenu phénolique totale dans la plante de fenugrec.

4.4 Les résultats

L'extrait végétale était efficace vis-à-vis *Bacillus subtilis* seulement.

L'analyse phytochimique a montré que la concentration minimale inhibitrice est 20 mg/ml, ainsi quand la concentration de l'extrait augmente son activité antibactérienne augmente aussi et cela est dû au fait qu'il contient des composés phénoliques.

L'extrait n'a pas montré une bonne activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* dans la plaque d'agar même quand la concentration de l'extrait est égale à 100 mg/ml.

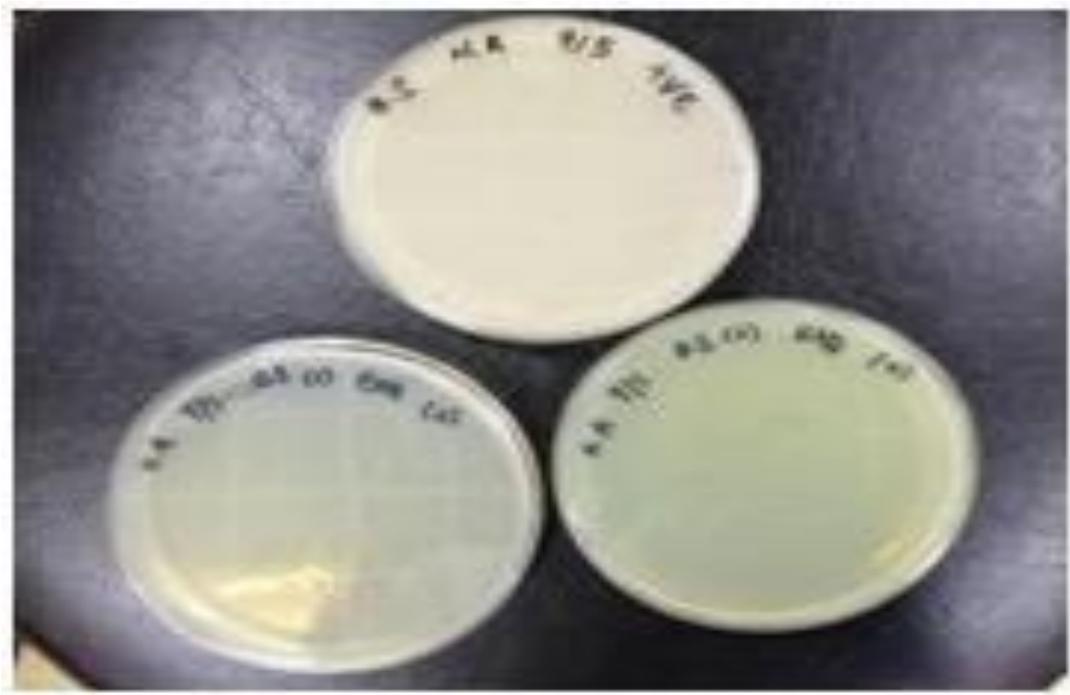
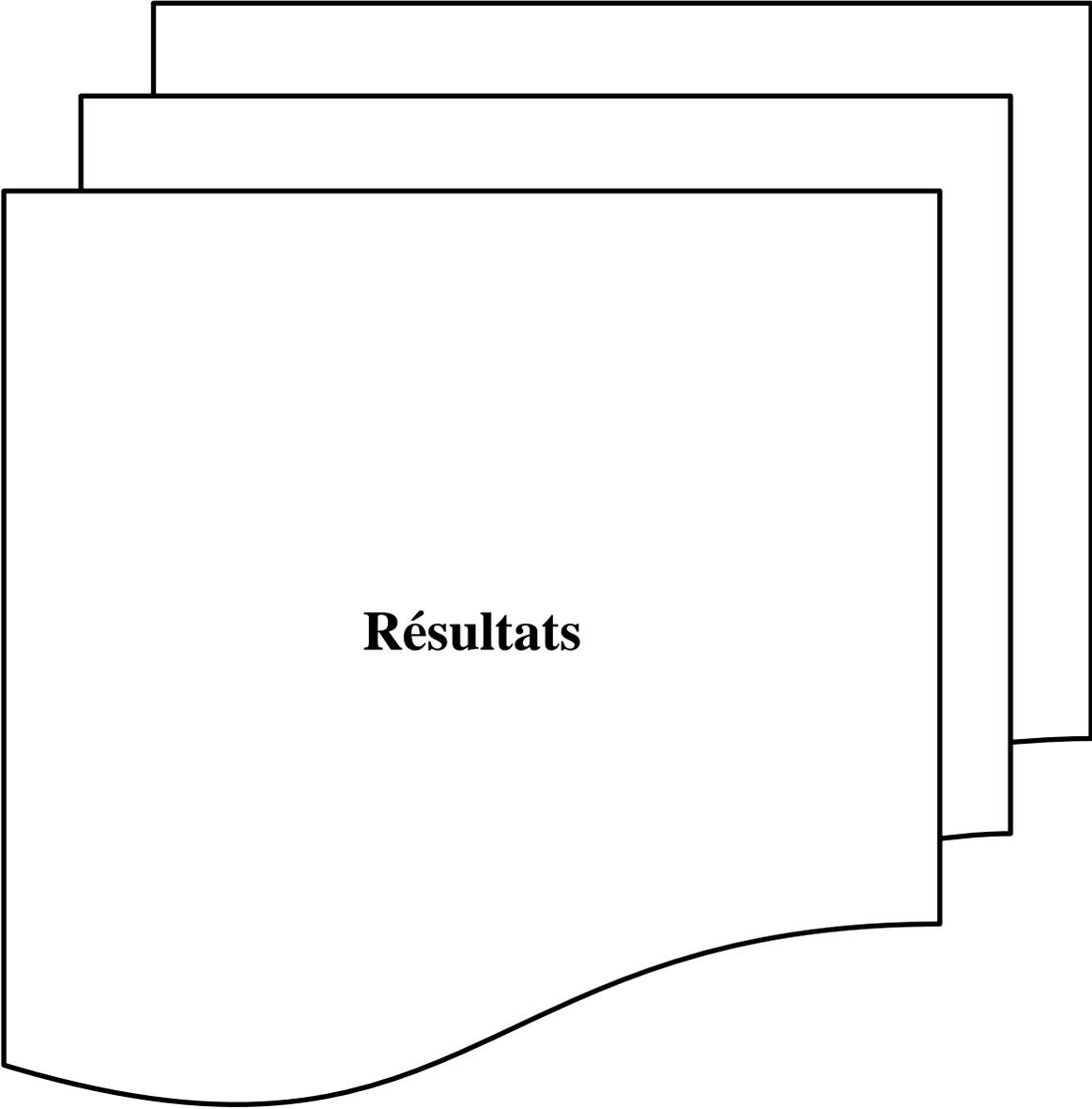


Figure 07 : Résultats du Set 1 *Bacillus subtilis* et plaque de contrôle positif.



Résultats

Résultats

Tableau 05 : Les extraits préparés dans les quatre articles traités.

Titre	Auteurs / Année	Matériel végétal	Extraits	Méthode d'extraction
Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (<i>Trigonella foenum-graecum</i>)	Mawahib E.M. El Nour, Ammar M.A. Ali and Badr Eldin A.E.Saeed, (2015).	Graines, cals	Extrait méthanolique, Extrait d'éther de pétrole	Méthode de Soxhlet
Antibacterial and Anticancer Activities of Fenugreek Seed Extract	Lina A Naser Al-Timimi, (2019).	Graines	Extrait éthanolique, Extrait aqueux	Macération
Evaluation of antibacterial and antifungal activity of fenugreek (<i>Trigonella foenum-graecum</i>) Extracts	Darshan Dharajiya, Hitesh Jasani, Tarun Khatrani, Manthan Kapuria, Karen Pachchigar, Payel Patel, (2016).	Feuilles	Hexane, Acétate d'éthyle, Méthanol, Aqueux	Macération à froid en utilisant 4 solvants : l'hexane, acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau distillée
Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activity determination of <i>Trigonella foenum-graecum</i> seeds.	Chua Yoke Hwa, Nabila Perveen, Neeraj Paliwal, Naeem Hasan Khan, (2019).	Graines	L'extrait éthanolique à Soxhlet et l'extrait éthanolique par macération	La méthode Soxhlet et la macération

Tableau 06 : Les tests d'activité antimicrobienne réalisés dans les quatre articles.

Extraits	Tests de l'activité antimicrobienne	Souches utilisées	Résultats
L'extrait méthanolique, L'extrait d'éther de pétrole	Diffusion sur disque de papier	<i>B. subtilus</i> NCTC 8236, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>A. niger</i> ATCC 9763, <i>Candida albicans</i> ATCC 7596	Activité de l'éther de pétrole de graines et de l'extrait méthanolique de cals seulement contre <i>E.coli</i> et <i>S. aureus</i> .
L'extrait éthanolique, L'extrait aqueux	Diffusion par puits sur gélose	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	L'extrait éthanolique de graines : activité élevée contre <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> et modérée contre <i>P. mirabilis</i> et <i>S. typhi</i> , sans effet sur <i>V. parahaemolyticus</i> . Activité faible à modérée avec les autres bactéries à l'exception de <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i> , et efficace contre <i>V. parahaemolyticus</i> .
Hexane, Acétate d'éthyle, Le méthanol, Aqueux	Diffusion par puits sur gélose	<i>E. coli</i> MTCC n° 448, <i>P. aeruginosa</i> MTCC n° 424, <i>Serratiamarcescens</i> , <i>B. cereus</i> MTCC n° 135,	<i>S. marcescens</i> sensible à l'extrait aqueux, <i>B. cereus</i> sensible à l'extrait méthanolique, <i>P. aeruginosa</i> résistant à l'extrait aqueux et le méthanol. Extrait méthanolique préparé dans l'acétate d'éthyle inhibe <i>T. viridae</i> . Acétate d'éthyle inhibe <i>A. oryzae</i> . L'hexane inhibe <i>A. niger</i> , <i>T. viridae</i> et <i>A. flavus</i> .

Résultats

Extrait éthanolique à Soxhlet, Extrait éthanolique par macération	Diffusion en puits sur gélose	<i>S. a</i> ATCC 29737, <i>E. c</i> ATCC 8739, <i>Ps. a</i> ATCC 27853, <i>B. s</i> ATCC 6633	L'extrait végétale a enregistré une ZOI = 27 mm à une concentration de 100 mg/l. CMI et CMB : résultats négatifs indique une inefficacité de l'extrait.
--	-------------------------------	--	--

(**S. a**) : *Staphylococcus aureus*, (**E. c**) : *Escherichia coli*, (**Ps. a**) : *Pseudomonas aeruginosa*, (**B. s**) : *Bacillus subtilis*, **A. niger** : *Aspergillus niger*, **A. flavus** : *Aspergillus flavus*, **T. viridae** : *Trichoderma viridae*.

Tableau 07 : L'activité antimicrobienne des graines de fenugrec et des extraits de cals.

Extraits	Zone d'inhibition (mm) + SE			
	Gram positif		Gram négatif	
	B. s	S. a	E. c	Ps. a
Ether de pétrole de graines	-	15 ± 0.57	17 ± 0.33	-
	-	11 ± 0.60	12 ± 0.00	-
Méthanol des hypocotyles (cals)	-	11 ± 0.00	10 ± 0.00	-
	-	10 ± 0.00	8 ± 0.00	-
Méthanol des cotylédons (cals)	-	12 ± 0.57	10 ± 0.00	-
	-	10 ± 0.00	-	-

(-) : pas de zones d'inhibitions ; SE : moyenne d'erreur standard.

Tableau 08 : Activité antimicrobienne des extraits éthanolique et aqueux des graines de fenugrec.

Extraits	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)					
	Gram positif	Gram négatif				
	S. aureus	Ps. a	S. typhi	P. mirabilis	E. coli	V. parahaemolyticus
Extrait éthanolique de graines	22 mm	16 mm	13 mm	11 mm	4 mm	4 mm
Extrait aqueux de graines	12 mm	14 mm	7 mm	3 mm	3 mm	3 mm

Résultats

Tableau 09 : Activité antimicrobienne des extraits de feuilles de fenugrec (ZOI).

Classification	Souches bactériennes	Zone d'inhibition (mm)		Concentration minimale inhibitrice (CMI)	
		Extrait méthanolique	Extrait aqueux	Méthanol	Aqueux
Gram +	<i>B. cereus</i>	11.50 ± 0.50	11.33 ± 1.15	12.5	25.0
Gram -	<i>S. marcescens</i>	10.00 ± 1.00	12.33 ± 0.57	25.0	6.25
	<i>P. aeruginosa</i>	9.50 ± 0.50	9.33 ± 0.57	25.0	25.0
	<i>E. coli</i>	9.33 ± 0.57	10.50 ± 0.50	25.0	12.5

Tableau 10 : Zone d'inhibitions des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif.

Concentration (mg / ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)				
	Gram positif			Gram négatif	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
10	-	-	-	-	-
20	-	7.375	-	-	-
40	-	9.75	-	-	-
60	5.75	15	-	-	-
80	7.75	20	-	-	-
100	8.75	27.5	-	-	-

Tableau 11 : Tests phytochimiques des extraits de graines et de cals de fenugrec et de quelques extraits de feuilles de fenugrec.

Tests phytochimiques	Extraits de fenugrec							
	Extrait méthanolique		Ether de pétrole		Hexane	Acétate d'éthyle	Méthanol	Aqueux
	graines	cals	graines	cals				
Alcaloïdes	+	+	-	-	+	+	+	+
Saponines	+	+	-	-	+	+	+	+
Tannins	+	-	-	-	-	-	+	-
Flavonoïdes	+	+	-	-				
Composés phénoliques	+	+	-	-				
Stéroïdes et les terpénoïdes	+	+	+	+				
Stérols					-	+	+	+
Glycosides cardiaques					+	+	+	+
Phénols					+	-	+	+

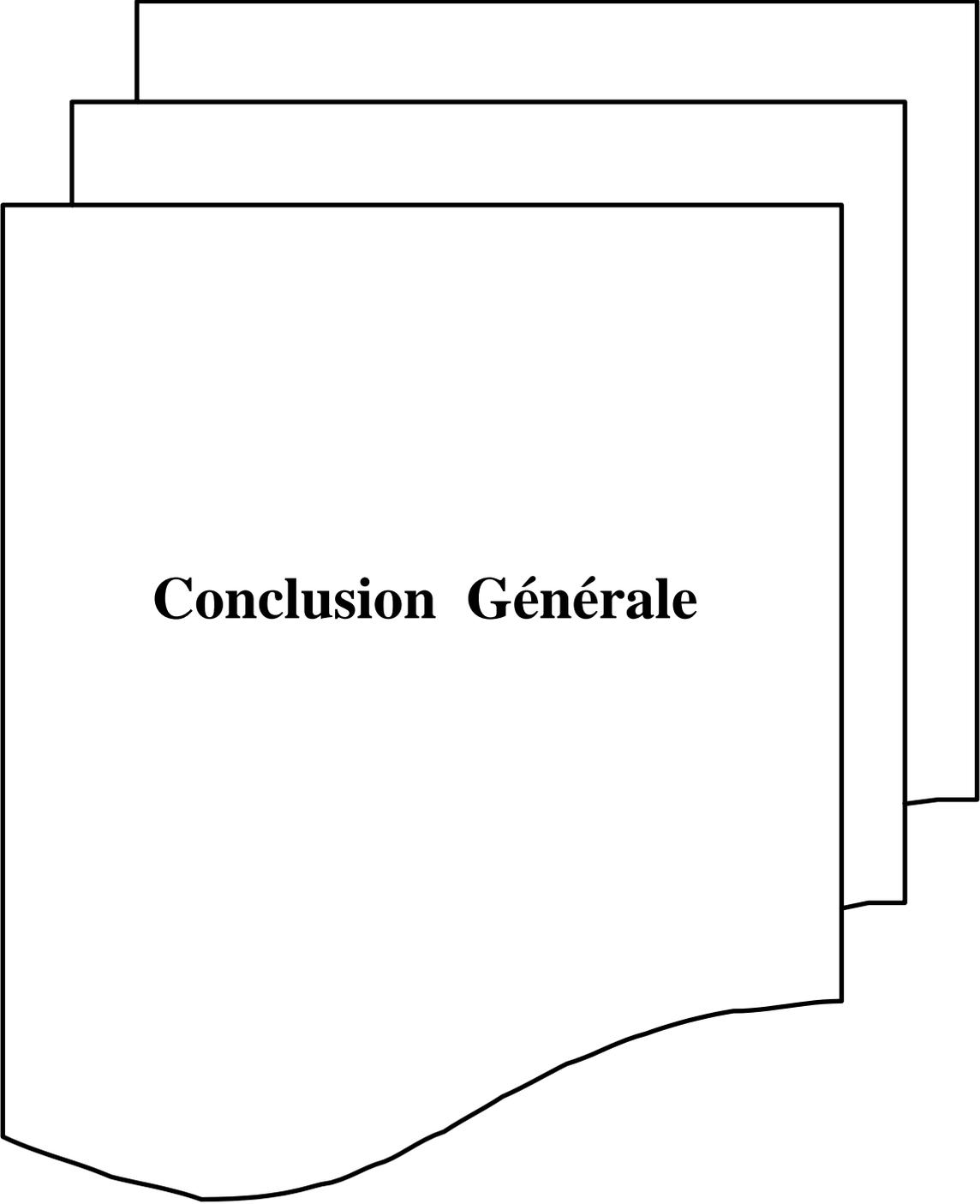
(+) : Présence, (-) : Absence.

Résultats

Tableau 12 : Tests phytochimiques de l'extrait éthanolique à soxhlet et de l'extrait éthanolique par macération.

Tests phytochimiques	Extrait éthanolique à Soxhlet	Extrait éthanolique par macération
Alcaloïdes	+	+
Sucres réducteurs	-	-
Saponines	+	+
Terpénoïdes ou Stéroïdes	+	+
Anthraquinone	+	+
Glycoside	+	+
Tannins	+	+
Flavonoïdes	-	-
Carbohydrate	+	+
Phénol	+	+

(+) : Présence, (-) : Absence.



Conclusion Générale

Conclusion générale

L'objectif de cette mémoire est déterminer l'activité antimicrobienne de quelques extraits de la plante médicinale *Trigonella foenum-graecum L* vis-à-vis certaines souches bactériennes pathogènes.

On n'a pas pu réaliser la partie pratique à cause de la pandémie de Covid-19, les laboratoires sont fermés. Pour cela nous avons orientés notre travail vers le traitement de quatres articles portant sur l'activité biologique de quelques extraits de fenugrec et plus spécialement l'activité antimicrobienne.

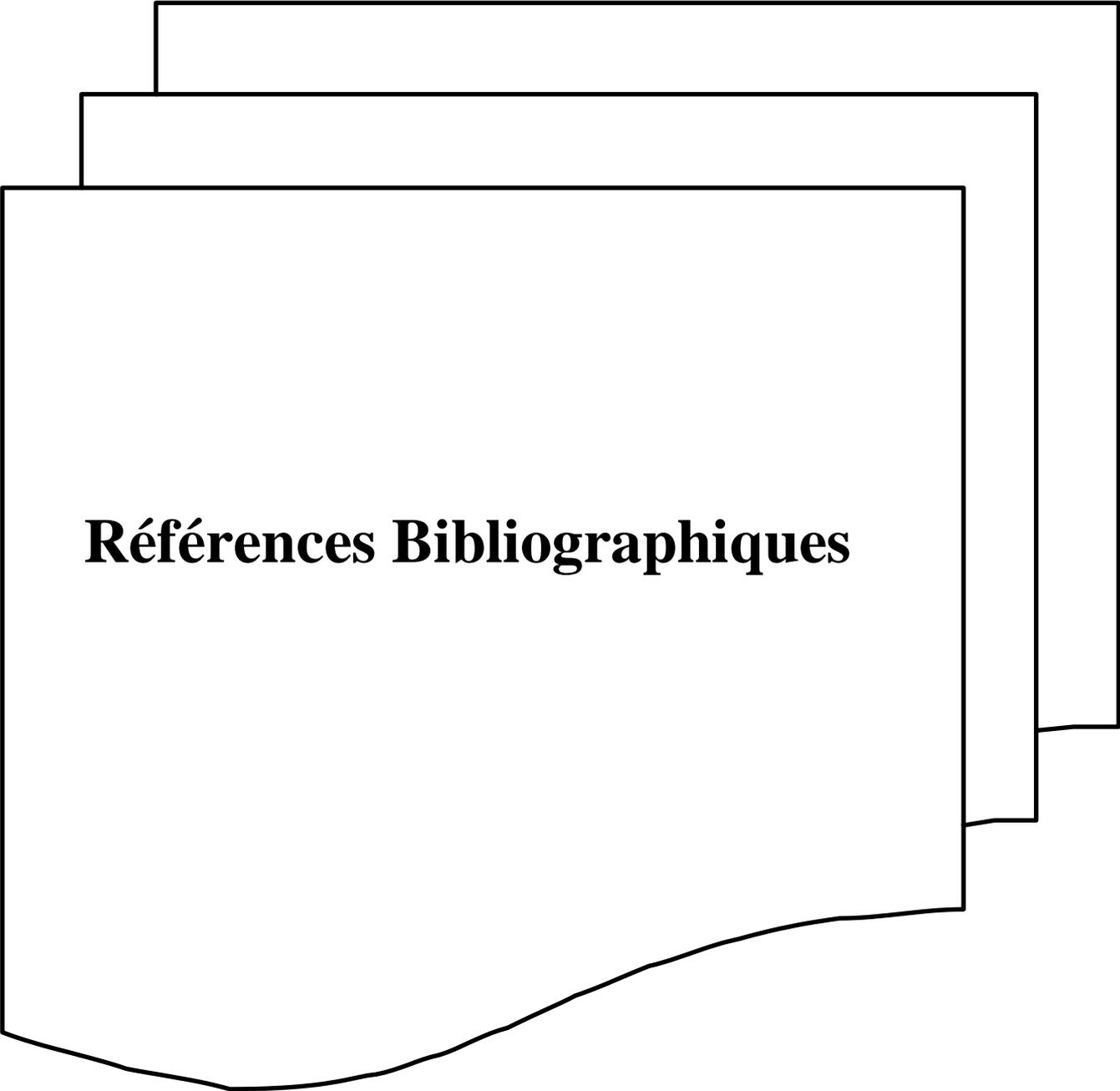
D'après le traitement des articles, on peut conclue que :

La meilleure partie végétale de *Trigonella foenum-gaecum L* est les graines, suivies par les feuilles de fenugrec.

Les meilleurs extraits sont l'extrait éthanolique de graines (actif contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) ; l'extrait aqueux de feuilles de fenugrec est actif contre *Serratia* et *Bacillus cereus* à gram positif à une concentration de 100 mg/ml.

Les tests phytochimiques indiquent que les extraits de fenugrec sont riches en métabolites douées d'activité antibactérienne, les alcaloïdes, saponines, tannins, sesquiterpénoïdes et les terpénoïdes et les phénols. Ce résultat justifie l'utilisation de cette plante contre les maladies infectieuses.

Comme perspectives, il sera intéressant d'isoler et de quantifier chacune de molécule, d'étudier leur effet antibactérien mais également leur effet antibiofilm.



Références Bibliographiques

A

- 1) **Anne-Sophie Nogaret-Ehrhart, (2003)** La phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes Groupe Eyrolles, 2003, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. 25 - 30.
- 2) **Allen, O.N. and Allen, E.K. (1981)** The Leguminosae, Macmillan Ca, London. Anonymous (1994) Plants and Their constituents, Phytochemical Dictionary of the Leguminosae, Vol.1, Cherman & Hall, London.
- 3) **Alkur, A., Hamed, T.R. and Al-Sayyed, H., (2008).** Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4: 265 – 274.
- 4) **Amin, R., Abdul-Ghani, A.S. and Suleiman, M.S. (1988)** Effect of fenugreek and lupin seeds on the developpement of experimental diabetes in rats. *Planta Medica*, 54: 286 - 90.
- 5) **Al-Meshal, I.A., Parmar, N.S., Tariq, M. and Aqeel, A.M. (1985).** Gastric anti-ulcer activity in rats of *Trigonella foenum-graecum* (Hu-Lu-Pa). *Fitoterapia* 56: 232 – 535.
- 6) **Alkofahi, A., Batshoun, R., Owais, W. and Najib, N. (1996).** Biological activity of some Jordanian medicinal plant extracts. *Phytotherapeutics*, 67: 435 – 42.

B

- 7) **Berlencourt AUDE., 2008 – 2013_** Huiles essentielles – *Aromathérapie Historical review of medicinal plants* 10. 4103/0973-7847. 95849).
- 8) **Boudjenana, A. et Mansour M. (2014).** Caractérisation phénotypique des bactéries hôtes de la légumineuse médicinale *Trigonella foenum-graecum L.* (fenugrec) ; Université de Constantin I Constantin. Pages 86. pp. 5-9.
- 9) **Bever, B.O. and Zahnd, G.R. (1979).** Plants with oral hypoglycaemic action. *Quartely Journal of Crude Drug Research*. 17: 139 -96;
- 10) **Bhatti, M.A., Khan, M.T.J., Ahmed, B., Jamshaid, M. and Ahmad, W. (1996).** Antimicrobial activity of *Trigonella foenum-graecum* seeds. *Fitoterapia* , 67 : 372 –374.
- 11) **Bolda VV, Botau D, Szöllôsi R, Petô A, Gallé A, Tari I (2011).** Studies on elemental composition and antioxidant capacity in callus cultures and native plants of *Vaccinium myrtillus L.* local populations. *Acta Biologica Szegediensis*, 55: 255 – 259.
- 12) **Bukhari SB. Iqbal Bhangar M, Memon S. (2018)** Antioxidative Activity of Extracts from Fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*). *Pakistan journal of analytical and Environmental Chemistry*, 9 : 78 –83.
- 13) **BRUNETON J., 1999** _ Pharmacognosie – Phytochimie, Plantes médicinales, édition Tec et Doc, éditions méd internationales, 1120 p. (ISBN 2-7430-0315-4).

C

- 14) **Cazes, J., (2005).** Encyclopedia of chromatograph. Second Edition. CRC Press, 1928 pages, pp 1250.
- 15) **Chinoy, N.J., Sheth, K.M. and Seethalakshmi, L. (1982).** Studies on reproductive physiology of Animals with special reference to fertility control. *Comparative physiology and ecology*. 7: 325 – 45.
- 16) **Cowan, M.M., (1999).** Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 : 564 – 582.

D

- 17) **DEVOYER J., 2012 _ Stéphane Korsia – Meffre,** rédacteur et coordinateur du Guide des plantes qui soignent (2d. Vidal). Publié le 28. 09. 2012.
- 18) **Duke, A.J. (1986).** Handbook of Legumes of World Economic Importance, Plenum Press, New York and London.
- 19) **Duke JA, Ayensu ES. (1985).** Medicinal Plants of China. 2 Vols. Reference Publications, Inc., Algonac, Michigan.
- 20) **Daglia, M., (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 : 1 – 8.
- 21) **Dharajiya D. Patel P, Patel M, Moitra N. (2014)** In vitro antimicrobial activity and qualitative phytochemical analysis of Withania somnifera (L) Dunal extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 27: 349 – 54.
- 22) **D. Labayle,** « Guide Pharmaco », édition Lamarre, 4^{ème} édition française, Paris, 2001. 1598 pages, 568.

E

- 23) **El-Ridi, M.S., Azouz, W.M. and Hay, A.E. (1954).** Isolation of a lactation promoting Factor in fenugreek oil. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische chemie 1950 Vol. 286 pp. 256 – 259.
- 24) **Evans W.C. (1997).** Pharmacology. Harcourt Brace and Company. Asia, Singapore, 226. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol 4, number 2 (2015) pp 147 – 157.

F

- 25) **Fourier, F. (1948)**. Plantes médicinales et vénéreuses de France. Paris 111, 495.
- 26) **Fraenkel, et Gottfried, S. (2007)**. The raison of secondary plant substances. *Science* 129: 1466 – 1470.
- 27) **Farooq M, Hozzein WN, Elsayed EA.(2014)** Identification of Histone deacetylase I protein complexes in lever cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14 : 915 – 921.
- 28) **Fair RJ, Tor Y.(2014)** Antibiotics and bacterial resistance in the 21 st century.*Perspectives in Medicinal Chemistry* ; 6: 25 – 64.

G

- 29) **Ghadira, K. Geotz, P. et Le jeune R. (2010)**. Fenugrec: *Trigonella foenum-graecum L.* (Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie*, 8, 180 –184.
- 30) **Gazengel, J.M. and Orecchioni, A.M., (2013)**. Le préparateur en pharmacie Guide théorique et pratique. 2^{ème} édition. Edition Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1174.
- 31) **Ghafghazi, T., Sheriat, H.S., Dastmalchi, T. and Barnett, R.C. (1977)**. Antagonism of cadmium and alloxane-induced hyperglycaemia in rats by *Trigonella foenum-graecum*. *Shiraz E-Medical Journal*, 8 : 14 – 25.
- 32) **Ghafghazi T, Farid H and Pourafkari A. 1980 – 81**. In Vitro Study of the anthelmintic action of *Trigonella foenum-graecum L.* grown in Iran.*Iranian Journal of Public Health* 9: 21 – 24
- 33) **Griffth A (2007)**. SPSS for Dummies. Wiley Publishing, Inc. Indiana Pdis, Indiana. pp. 363.

H

- 34) **Hidvegi, M., El Kady, A., Lásztity, R., Bekes, F. and Simon-Sarkadi, L. (1984)**. Contribution to the nutritional characterization of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*). *Acta Alimentaria*, 13: 315 – 24.
- 35) **Howard, M. (1987)**. Traditional Folk Remedies, A Comprehensive Herbal, Century, ISBN: 0712617310, 9780712617314, 229 pages.

- 36) **Harborne, J.B.A. (1992).** Guide to modern technique of plant analysis. London : Chapman and Hill – Phytochemical method. Pp. 279.

I

- 37) **Ivimey-Cook, R.B. (1968).** Trigonella L: In : Tutin, T.G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S. M. & Webb, D. A. (eds). Flora Europaea 2, Cambridge Univ Press, Cambridge, pp. 150 –152.

J

- 38) **Jones, C.P. (1989).** Extracts from Nature, Marks and Spencer P.L.C., Tigerprint, London.
- 39) **Jenkins, D.J.A., Reynolds, D., Salvin, B., Leeds, A.R., Jenkins, A.L. and Jepson, E.H. (1980).** Dietary fibre and blood lipids: treatment of hypercholesterolaemia with guar crispbread, AM. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 33: 575 – 581.
- 40) **Javan, M., Ahmadiani, A., Semnanian, S., Kamalinejad, M. 1997.** Anticeptive effects of Trigonella foenum-graecum Leaves extract. *Journal of Ethnopharmacology* , 58: 125 – 129.

K

- 41) **Kirby, R.W., Andreson, J. W., and Seiling, B. (1981).** Oat braintake selectively lowers serum low density lipoprotein cholesterol concentration of hypercholesterolaemic men. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 34: 824 – 829.
- 42) **Kamal, R., Yadav, R. and Sharma, J.D. (1993).** Efficacy of the steroidal fraction of fenugreek seed extract on fertility of mal albino rats. *Phytotherapy Research*, 7 : 134 – 138.
- 43) **Khare, A.K., Sharma, M.K. and Bhatnagar, V.M. (1983).** Mild anti-fertility effect of ethereal extract of seeds of *Trigonella foenum-graecum* (Methi) in rats. *Arogya - A Journal of Health Sciences* 9, 91 – 93. Ajouter le volume
- 44) **Kil, H.Y., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung, I.M., Kwon, S.S., Goh, E.J., Heo, K., Kim, M.J., Lim, J.D., Lee, D. and Yu, C.Y. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract, *Food Chemistry* , 115: 1234 – 1239.
- 45) **Kokate, C.K. (1999).** Practical Pharmacognosy. Prakashan Publication, New Delhi, India ; 111 – 116.
- 46) **Kokate, C.K. (1994).** Practical Pharmacognosy. 4 th edition, Vallabh Prakashan, New Delhi, India ; 124 – 125.

- 47) **Khosla, P., Gupta D.D. and Nagpal R.K. (1995b)** Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) on serum lipids in Normal and diabetic rats. *Indian Pharmacologists*. 27, 89 – 93.
- 48) **Khanra R, Atanu C, Singh BP, et (2010)**Antimicrobial activity of Ethanolic extract of *Trigonella foenum-graecum*. *International Research Journal of Pharmacy* . 13(3) : 295 – 307.

L

- 49) **Luciano Paolozzi et Jean-Claude Liébart, (2015)**. Lutte antimicrobienne, Luciano Paolozzi, p. 436. *Biologie des procaryotes et leurs virus*, Dunod, 2 ème édition, Paris, 512 pages.
- 50) **Luciano Paolozzi et Jean-Claude Liébart, (2015)**. Interactions hôtes / bactéries pathogènes, Luciano Paolozzi, p. 435. *Biologie des procaryotes et leurs virus*, Dunod, 2 ème édition, Paris, 512 pages.
- 51) **Luciano Paolozzi et Jean-Claude Liébart, (2015)**. Infection bactérienne et virulence, Luciano Paolozzi, page 434. *Biologie des procaryotes et leurs virus*, Dunod, 2 ème édition, Paris, 512 pages.
- 52) **Leyel, C.F. (1987)**. *Elixirs of Life*, Faber and Faber, London.
- 53) **Lust, J.B. (1986)**. *The Herb- Book*, Bantam Books Inc., New York.

M

- 54) **Melius, P. (1578)**. *Herbarium*, Heltai Gásparne Könyvnyomdája, Kolozsvár.
- 55) **Manniche, L. (1989)**. *An Ancient Egyptian Herbal*, British Museum Publ. Ltd., London.
- 56) **Miller, J.I. (1969)**. *The spice Trade of the Roman Empire 29 B.C to A.D. 641*, Clarendon Press, Oxford.
- 57) **Moradi Kor N., Didarschetaban M.B., Saeid H.R., (2013)**. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L). As a Nalable medicinal plant. *International Journal of Advance biological and Biomedical Research* 1(8) : pp 922 – 931.
- 58) **Moissides, M. (1939)**. Le fenugrec autrefois et aujourd'hui. *Janus* 43, 123 –30.
- Mishkinsky, J., Joseph, B. and Sulman, F. (1967)**. Hypoglycaemic effect of Trigonelline *Lancet* I, 1311 – 1312.

- 59) Mishra, S.S., Tewari, J.P. and Saxena, K.B. (1965). Anthelmintic activity of some Indian medical plants. *Indian Journal of Medical Sciences* 19, 398.
- 60) Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant. Phys.* 15 : 467 – 497.

N

- 61) Ngene, J-P., Ngoule, C.C., Pouka, K.C-M., Mvogo, O.B., Ndjib, R.C., Dibong, S.D., Mpondo, M.E., (2015). Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoids vendues dans les marches de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88, 8194 – 8210.
- 62) Nadkarni, K.M. (1954). *Indian Materia Medica*, Popular book depot, Bombay. Vol. I, pp. 1240 – 3.

P

- 63) Polunin, O. (1988) *Flowers of Greece and the Balkans, A Field Guide*, 1. Repr, Oxford University Press, Oxford, New York.
- 64) Phitos, D. and Damboldt, J. (1985). Die Flora der Insel Kefallinia (Griechenland). *Botanika Chronika*, 5(1 - 2), 1 – 201.
- 65) Peach, K., Tracey, M.V. (1956). *Modern methods of plant analysis*, Springer Verlag, Berlin, 3 : 125 – 27.

R

- 66) Rahmani, M. Toumi-Benali, F. Hamel, L. Dif, M (2015). Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* L. Lovosier sas, 2015.
- 67) Rouk, H.F. and Mangesha, H. (1963). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L). Its relationship, geography and economic importance, *Exper, Stat, Bull. No. 20*, Imper. Ethiopian College of Agric & Mesh Arts.
- 68) Rosengarten, F. (1969). *The Book of Spices*, Livingston Pub. Co. Wynnewood, Penns., USA. 489 pages.
- 69) Rao, V.S., Menezes, A.M. and Gadelha, M.G. (1988). Anti-fertility screening of some indigenous plants of Brazil. *Fitoterapia* LXI, 17 – 20. Sethi, N., Nath, D., Singh, R.K. and Srivastava, R.K. (1990). Anti-fertility and teratogenic activity of some indigenous med plants in rats. *Fitoterapia* LXI, 64 – 7.

S

- 70) **Stuart, M. (1986).** The Encyclopedia of Herbs and Herbalism. Orbis, London.
- 71) **Sharma, S., Sheehy, T., Kolahdooz, F. and Barasi, M., (2015).** Nutrition at a Galance. Second Edition Wiley Backwell, p 162.
- 72) **Shani, J., Goldschmidt, A., Joseph, B., Ahronson, Z., Sulma, F.G. 1974.** Hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum* and *Lupinus termis* (Leguminosae) seeds and their major alkaloid in alloxan diabetic and normal rats. Arch. Inter. Pharmacody. Therapeut. 210, 27 – 36.
- 73) **Singhal, P.C.,Gupta, R.K., and Joshi, L.D. (1982).** Hypocholesterolaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* (Methi). Curr. Sci.51, 136 – 137; **Sharma, 1984 ; Sharma, R.D. (1986a).** An evaluation of hypocholesterolaemic factor of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) in rats. Nutr. Rep. Int. 30, 221 – 31
- 74) **Stark, A. Madar, Z. (1993).** The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. *British Journal of Nutrition*. 69, 277 – 87
- 75) **Khosla, P., Gupta, D.D. and Nagpal, R.K. (1995b).** Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) on serum lipids in Normal and diabetic rats. Indian Pharmacologists. 27, 89 – 93.
- 76) **Sharma, R.D. (1984).** Hypocholesterolaemic activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) : an experimental study in rats. *Nutrition Reports International* 33, 669 – 77.
- 77) **Sharma, R.D., Raghuram, T.C., and Rao, V.D. (1991).** Hypolipidaemic effect of fenugreek seeds : a clinical study. *Phytother. Res.* 5, 145 – 147.
- 78) **Setty, B.S., Kamboj, V.P., Garg, H.S. and Khanna, N.M. (1976).** Spermicidal potential of saponins isolated from Indian medicinal plants. *Contraception* 14, 571 – 8.
- 79) **Singhal, P.C., Gupta, R.K., and Joshi, L.D. (1982)**Hypocholesterolaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* (Methi). Curr. Sci . 51, 136 - 137; **Khosla, P., Gupta, D.D., and Nagpal, R.K. (1995b).** Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) on serum lipids in normal and diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology* 27, 89 – 93.
- 80) **Spray reagents for thin layer chromatography laboratory handbook.** Academic Press inc. Publisher New York, USA. 491.
- 81) **Seasotiya L, Siwach P, Bai S, Malik A, Bharti P (2014).** Free Radical Scavenging Activity, Phenolic contents and Phytochemical Analysis of Seeds of *Trigonella foenum-graecum*. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*, 1: 219 – 226.
- 82) **Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A.(2014)** Cancer statistics, 2014. *CA Cancer Journal for Clinicians*. 64: 9 – 29.

T

- 83) **Trowell, H. (1972).** Ischaemic heart disease and dietary fiber. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 25(9), 926 – 932.
- 84) **Uchida, K., Takase, H., Nomura, Y., Takeda, K., Takeuchi, N. and Ischikawa, Y. (1984).** Changes in biliary and fecal bile acids in mice after treatments with diosgenin and beta-sitosterol 25 236-245.
- 85) **Taranalli, A.D. and Kuppast, I.J. (1996).** Study of wound healing activity of seeds of *Trigonella foenum-graecum* in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 58 117 – 119.
- 86) **Thakur S, Tiwari KL, Jadhav Sk. (2015)** Antimicrobial screening of root extract of *Asparagus racemosus* Willd, *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. 9 : 147 – 50.

U

- 87) **Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G. and Wegrzyn, G., (2008).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and Protein synthesis in some bacterial strains. *Archives of Microbiology* 184 : 271 – 278.

V

- 88) **Valette, G., Sauvaire, Y., Baccou, J.C. and Ribes, G. (1984).** Hypocholesterolaemic effect of fenugreek seeds in dogs. *Atherosclerosis* 50 : 105 – 111.

W

- 89) **WICHTL M., ANTON R., (2003)** _ Plantes thérapeutiques – Tradition, pratiques officinale, science et thérapeutique, 2 ème édition, ED. TEC & DOC, 2003.
- 90) **Waston, R.R., Preedy, V.R. and Zibadi, S., (2013).** Polyphenol in Human Health and Disease. 1er édition anglaise. Pages : 1488. P 643.
- 91) **Wolfe, K., Wu, X, and Liu, R.H. (2003).** Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ; 51: 609 – 614.