

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



Laboratoire de recherche



« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

Mémoire

Présenté par : HACHEMI Rim

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

**L'étude du pouvoir antioxydant des extraits des graines de
Fenugrec.**

Soutenu le 27 Juin 2024 devant le jury :

Dr. MEDJDOUB Houria	MCA	Président	Université de Tlemcen
Dr. BELKACEM Nacéra	MCA	Examinateur	Université de Tlemcen
Dr. ADIDA Houria	MCA	Encadrant	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

Je souhaite tout d'abord exprimer ma gratitude à Dieu, le tout puissant et miséricordieux, pour m'avoir accordé la force et la patience nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon encadrante, **M^{me} ADIDA Houria**. Maître de conférences A au département de Biologie, Faculté SNV, Université de Tlemcen, pour avoir accepté de superviser ce travail. Sa gentillesse, ses conseils constructifs, son intérêt, son dévouement.

Je remercie également **M^{me} MEDJDOUB Houria**. Maître de conférences A au département de Biologie, Faculté SNV, Université de Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury.

Je suis également reconnaissant envers **M^{me} BELKACEM Nacéra**. Maître de Conférences A au département de Biologie, Faculté SNV, Université de Tlemcen, qui a eu la gentillesse d'accepter d'examiner et de discuter ce travail.

Un grand merci est adressé à tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et Activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leur gentillesse et leur aide.

Enfin, j'exprime ma profonde reconnaissance à toutes les personnes ayant, de près ou de loin, apporté leur contribution à l'accomplissement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*À mon cher père Mohamed Abd elkarim, que Dieu ait pitié de
lui, qui a été la raison de ma venue ici, que j'ai souhaité être
présent aujourd'hui,*

*À ma chère mère Hakima que Dieu lui donne longue vie, qui
m'a beaucoup soutenu et a été à la fois mère et père. Que Dieu
le tout puissant te préserve*

À mes frères bien-aimés

À mes chères sœurs Imane et Khadija

À mes chers Oncles Moussa et Ismail que j'aime beaucoup

À tous mes amis qui m'ont soutenu durant mes études.

المخلص

ركزت هذه الدراسة على التحليل الكيميائي النباتي وتقدير كمية المركبات الفينولية كذلك النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الميثانولية المائية والكلوروفورمية التي تم الحصول عليها عن طريق استخلاص سوكسليت من بذور الحلبة (*Trigonella foenum-graecum L*). ذات الاصول الجزائرية والهندية.

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي النباتي النوعي أن المستخلصات الميثانولية المائية من بذور الحلبة، سواء كانت من أصل جزائري أو هندي، غنية بشكل خاص بالمركبات الفينولية مثل الفلافونويدات والكينونات الحرة والعفص.

أظهرت التحاليل الكمية أن أعلى تركيز للبوليفينول الكلي تم الحصول عليه من مستخلص الماء/الميثانول من بذور الحلبة من الهند بقيمة 137.66 ميكروغرام مكافئ الغاليك لكل ملغ من المستخلص الجاف، بينما تم تسجيل أعلى تركيز للفلافونويدات في المستخلص المائي الميثانولي للبذور من الجزائر بمستوى 51.83 ميكروغرام مكافئ كاتيشين لكل ملغ من المستخلص الجاف.

أظهرت الاختبارات على النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلصات العضوية من هذه البذور قادرة على تحييد جذور DPPH واختزال الحديد. على وجه الخصوص، أظهر مستخلص الميثانولي المائي من البذور الهندية نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة، حيث بلغت قيمة التركيز المثبط 50 قدر 6,89 ميلغرام/مل، متفوقًا بذلك على البذور الجزائرية التي بلغت قيمة التركيز المثبط 50 قدر 9,85 ميلغرام/مل وبالمقارنة، أظهر حمض الأسكوربيك أعلى نشاط مضاد للأكسدة، حيث بلغت قيمة التركيز المثبط 50 قدر 0.51 ميلغرام/مل. فيما يتعلق بطريقة إرجاع الحديد FRAP ، أظهر المستخلص المائي الميثانولي للبذور الهندية أفضل قدرة على تقليل الحديد، حيث بلغت قيمة التركيز الفعال 50 قدر 6.20 ميلغرام/مل ، متجاوزًا بذلك البذور الجزائرية ومع ذلك، هذا النشاط لا يزال أقل من ذلك الذي تم الحصول عليه باستخدام حمض الأسكوربيك.

تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة على الخصائص الجيدة المضادة للأكسدة لحبوب الحلبة، مما يدل على إمكانات علاجية جيدة في مكافحة الإجهاد التأكسدي وأثاره الضارة بالصحة. إن استخدام الحلبة كمكمل غذائي أو كجزء من العلاجات النباتية يمكن أن يمثل نهجًا واعدًا للوقاية من هذه الحالات.

الكلمات المفتاحية: الحلبة، اختبارات الكيمياء النباتية، البوليفينول الكلي، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، FRAP و

DPPH.

Résumé

Cette étude porte sur l'analyse phytochimique, la quantification des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanoliques et chloroformiques, obtenus par extraction Soxhlet à partir de graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) provenant d'Algérie et d'Inde.

Les résultats de l'analyse phytochimique qualitative ont montré que les extraits hydro-méthanoliques des graines de fenugrec, qu'ils soient d'origine algérienne ou indienne, sont particulièrement riches en composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les quinones libres et les tanins.

Les analyses quantitatives montrent que la concentration la plus élevée de polyphénols totaux est obtenue par l'extrait eau/méthanol des graines de fenugrec de l'Inde avec une valeur de 137,66 ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$) tandis que la plus puissante concentration de flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait hydro-méthanoliques des graines d'Algérie avec un taux de 51,83 ($\mu\text{g Eq C/ mg ES}$).

Les tests sur l'activité antioxydante ont mis en évidence une capacité des extraits organiques de ces graines à neutraliser les radicaux DPPH[•] et à réduire le fer. Notamment, l'extrait hydro-méthanolique des graines indiennes a révélé une forte activité antioxydante par-rapport aux autres extraits, avec une valeur d'IC₅₀ de 6,89 mg/ml, surpassant celle des graines Algériennes, qui affichent une valeur d'IC₅₀ de 9,85mg/ml. En comparaison, l'acide ascorbique a montré la plus forte activité antiradicalaire, avec une IC₅₀ de 0,51 mg/ml. En ce qui concerne la méthode FRAP, l'extrait hydro-méthanolique des graines Indiennes a présenté la meilleure capacité de réduction le fer, avec une EC₅₀ de 6,20 mg/ml, dépassant celle des graines algériennes. Toutefois, cette activité reste inférieure à celle obtenue avec l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus dans cette étude confirment les bonnes propriétés antioxydantes des graines de fenugrec, qui démontrent un bon potentiel thérapeutique dans la lutte contre le stress oxydatif et ses effets néfastes sur la santé. L'emploi du fenugrec en tant que supplément alimentaire ou dans le cadre de traitements phytothérapeutiques pourrait représenter une approche prometteuse pour la prévention de ces affections.

Mots clés : *Trigonella foenum-graecum* L, tests phytochimiques, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, FRAP et DPPH.

Abstract

This study concerns the phytochemical analysis, the quantification of phenolic compounds and the evaluation of the antioxidant activity of hydro-methanolic and chloroformic extracts obtained by Soxhlet extraction from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) seeds from Algeria and India.

The results of the qualitative phytochemical analysis showed that the hydro-methanolic extracts of fenugreek seeds, whether of Algerian or Indian origin, are particularly rich in phenolic compounds such as flavonoids, free quinones and tannins.

Quantitative analyses show that the highest concentration of total polyphenols is obtained by the water/methanol extract of fenugreek seeds from India with a value of 137.66 ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$) while the highest concentration of flavonoids was recorded in the hydro-methanol extract of seeds from Algeria with a level of 51.83 ($\mu\text{g Eq C/ mg ES}$).

Tests on antioxidant activity showed that the organic extracts from these seeds were capable of neutralising DPPH• radicals and reducing iron. In particular, the hydro-methanolic extract of Indian seeds showed strong antioxidant activity, with an IC_{50} value of 6.89 mg/mL, surpassing that of Algerian seeds, which had an IC_{50} value of 9.85 mg/mL. In comparison, ascorbic acid showed the highest antiradical activity, with an IC_{50} of 0.51 mg/mL. With regard to the FRAP method, the hydromethanolic extract of Indian seeds showed the best capacity to reduce iron, with an EC_{50} of 6.20 mg/mL, exceeding that of Algerian seeds. However, this activity was still lower than that obtained with ascorbic acid.

The results obtained in this study confirm the good antioxidant properties of fenugreek, demonstrating good therapeutic potential in the fight against oxidative stress and its harmful effects on health. The use of fenugreek as a dietary supplement or as part of phytotherapeutic treatments could represent a promising approach to the prevention of these conditions.

Key words: *Trigonella foenum-graecum L.*, phytochemical tests, total polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, FRAP and DPPH.

Table De Matières

الملخص	IV
Résumé	V
Abstract	VI
Liste des tableaux	X
Liste des figures	XI
Liste des abréviations	XIII
Introduction générale.....	1
Partie 01:Synthèse bibliographique	
I. Stress Oxydatif	
1. Généralités.....	5
2. Les radicaux libres	6
2.1. Origines des radicaux libres	6
2.1.1. Origine endogène	6
2.1.2. Origine exogène	7
2.2. Principaux radicaux libres	7
2.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :.....	7
2.2.2. Les espèces réactives de l'azote (ERN)	8
2.3. Rôles physiologiques des radicaux libres.....	9
2.4. Conséquences du stress oxydant.....	9
2.4.1. Oxydation de l'ADN	9
2.4.2. Oxydation des protéines	9
2.4.3. La peroxydation lipidique	9
II.Les antioxydants	
1. Les antioxydants.....	11

1.2. Les types d'antioxydants	11
1.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	11
1.2.2. Les antioxydants non enzymatiques :.....	11
1.3. Mécanisme d'action des antioxydants	13
1.3.1. Mécanisme d'action des antioxydants piégeurs	13
1.3.2. Mécanisme d'action des antioxydants préventifs.....	13
III.Métabolites secondaires	
1. Généralité	14
2. L'origine des métabolites secondaires	14
3. Classification des métabolites secondaire	14
3.1. Les composés phénoliques	15
3.1.1 Les flavonoïdes	15
3.1.2 Les tanins.....	16
3.1.3. Les coumarines.....	17
3.1.4 Les quinones.....	17
3.1.5. Les saponosides.....	17
3.2 Les terpénoïdes	18
3.3 Les alcaloïdes	19
IV.Plante d'étude	
1. Historique	21
2. Morphologie de <i>Trigonella foenum- graecum</i> L.....	21
3. Classification botanique	22
4. Localisation géographique	22
5. Constituants chimiques	23
6. L'usage thérapeutique de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	
7. Travaux préalables réalisés sur <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	24

Partie 02: Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	27
1.1. Préparation du matériel végétal	27
1.2. Extraction du matériel végétal	28
2. Calcul des rendements d'extraction :	30
3. Les tests phytochimique	30
4. Dosage des composés phénoliques	32
4.1. Dosage des polyphénols totaux	32
4.2. Dosage des flavonoïdes	33
5. Évaluation de l'activité antioxydante	35

Partie 03:Résultats et interprétations

1. Analyse phytochimique.....	40
1.1. Rendement des extraits de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	40
1.2. Criblage phytochimique	41
1.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes	42
2. L'activité antioxydante.....	44
2.1. Piégeage du radical libre DPPH [•]	44
2.2. Pouvoir réducteur du fer (méthode FRAP).....	47

Partie 04:Discussion

51

Partie 05:Conclusion et perspectives

56

Références bibliographiques

58

Liste des tableaux

Tableau N°01: Les principaux ROS générées dans les systèmes biologiques.....	8
Tableau N°0 2.: Exemples d'antioxydants présents dans les aliments	12
Tableau N°03:L'utilisation thérapeutique des graines de <i>Trigonella foenum- graecum</i> L.....	23
Tableau N°04: Tests de screening phytochimique.....	30
Tableau N°05 : Rendements, et caractéristiques des extraits de graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.....	40
Tableau N°06: Résultat de l'analyse phytochimique réalisé sur les extraits des graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	41
Tableau N° 07: Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits des graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L de deux variétés.	43
Tableau N°08: Les valeurs d'IC50 des extraits Hydro-méthanolique des graines de deux variétés de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L avec la molécule de référence (Acide ascorbique).	46
Tableau N° 09: Les valeurs d'EC ₅₀ des extraits Hydro-méthanolique des graines de deux variétés de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L avec la molécule de référence.....	49

Liste des figures

Figure N°01 : Une illustration de l'équilibre oxydant / antioxydant	5
Figure N°02 : Sites de production endogène des ERO).....	6
Figure N°03 : Classification des métabolites secondaires	14
Figure N°04: Différentes classes des composés phénoliques.	15
Figure N° 05 : Structure de base des flavonoïdes	16
Figure N° 06 : Les structures moléculaires caractéristiques des tanins	16
Figure N°07: La base structurale des coumarines.....	17
Figure N°08 : Structure de base des quinones.....	18
Figure N°09 : Structure générale de saponosides.....	18
Figure N° 10 : Structure générale de molécule isoprène.....	18
Figure N°11: Les structures stéréochimiques des alcaloïdes	20
Figure N° 12: Graines <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	21
Figure N°13: Feuilles de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	22
Figure N°14: Graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. d' Algérie (A) et importées d'Inde(B).....	27
Figure N°15: Broyat de Graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	28
Figure N°16: Protocole de préparation des extraits hydro-méthanolique et chloroformique. .	29
Figure N° 17: Protocole utilisé pour le dosage des polyphénols totaux.....	33
Figure N°18: Protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes	34
Figure N°19: Réaction du piégeage du radical libre DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl...	35
Figure N° 20: Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH.....	36
Figure N° 21: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	42
Figure N° 22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.	43
Figure N° 23: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de fenugrec Indienne.	44

Figure N° 24: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de fenugrec Algérienne.	45
Figure N° 25: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l'extrait chloroformique des graines Indienne.	45
Figure N° 26: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l'extrait chloroformique des graines Algérienne.....	45
Figure N° 27: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	46
Figure N° 28: Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Hydro-méthanolique de fenugrec Indienne.....	47
Figure N° 29: Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Hydro-méthanolique de fenugrec Algérienne.	48
Figure N° 30 : pouvoir de réduction de fer par l'extrait chloroformique des graines Indienne.	48
Figure N° 31: pouvoir de réduction de fer par l'extrait chloroformique des graines Algérienne.	48
Figure N°32: pouvoir de réduction de fer par l'acide ascorbique.....	49

Liste des abréviations

$1O_2$: oxygène singulet

CAT: Catalase

DPPH: 2-2-diphénylepicécyldrazyl

EC₅₀: Concentration efficace à 50%

E/MeOH : Hydro-méthanolique

ERN: Espèces réactives de l'azote

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

GPx: Glutathion peroxydase

GSSG: Glutathion oxydé

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO• : Radical hydroxyle

HO₂•: Radical perhydroxyle

IC₅₀: Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH•

NaNO₂ : Nitrite de sodium

O₂^{•-}: Radical anion superoxyde

OH•: Radical hydroxyle

Redox : Réduction/oxydation

RLs : Les radicaux libres

ROO•: Radicaux libres peroxydes

SOD: Superoxyde dismutase

µg Eq AG/mg ES : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec.

µg Eq C/mg ES : Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec.

Introduction générale



Introduction générale

Depuis la nuit des temps, les plantes ont joué un rôle crucial non seulement comme source de nutriments essentiels, mais également comme remèdes traditionnels pour traiter une multitude de problèmes de santé. Cette pratique est abondamment documentée dans les littératures anciens des civilisations arabe, chinoise, égyptienne, hindoue, grecque et romaine (Kamatou *et al.*, 2017).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) reconnaît l'importance des plantes médicinales, en particulier dans les régions du monde où l'accès aux soins de santé modernes est limité. En effet, ces plantes offrent des solutions thérapeutiques souvent plus accessibles et abordables pour les populations défavorisées et les pays en développement (OMS, 2013).

De nombreuses études scientifiques ont démontré que le stress oxydatif est à l'origine au développement de diverses pathologies humaines (Gutteridge, 1993). Ce stress oxydatif se caractérise par l'incapacité de l'organisme à se protéger contre les attaques des radicaux libres en raison d'un déséquilibre résultant soit d'une augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène soit d'une diminution de la capacité de défense antioxydant (Sies, 1991). Les dommages oxydatifs sont causés par l'attaque des radicaux libres sur différentes biomolécules, notamment les protéines, les lipides et l'ADN, entraînant ainsi la dégradation et la mort des cellules (Pan *et al.*, 2008). Ces dommages peuvent provoquer de nombreuses maladies, telles que le vieillissement, le cancer, l'athérosclérose, le diabète, l'asthme et la rhinite (Eberhardt *et al.*, 2000; Finkel et Holbrook, 2000).

Au cours des dernières années, les recherches sur les activités antioxydantes des plantes médicinales ont considérablement augmenté en raison d'un intérêt croissant pour leur potentiel en tant que source riche et naturelle d'antioxydants (Atmani *et al.*, 2009; El Hachi *et al.*, 2012). En outre, ces plantes offrent une alternative intéressante pour le traitement et les soins, sans le risque de provoquer de nouvelles maladies, contrairement aux antioxydants synthétiques. Cela souligne leur potentiel en tant que ressource précieuse pour le développement de nouveaux traitements (Heinrich *et al.*, 2020), par plusieurs mécanismes qui peuvent stopper ou ralentir ces réactions en neutralisant les radicaux libres et en inhibant leurs actions (Halliwell, 1990).

Dans ce contexte, notre travail se focalise sur l'étude de l'activité antioxydante de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum L.*, une importée d'Inde et l'autre cultivée en Algérie. Cette recherche est divisée en deux parties : la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique couvrant les différents aspects du sujet, tandis que la deuxième partie est dédiée à l'expérimentation, incluant le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.

Introduction générale

Ensuite, nous exposerons les résultats expérimentaux obtenus ainsi que leurs interprétations, suivis d'une discussion générale. Enfin, une conclusion résumera l'ensemble de l'étude, mettant en évidence les résultats pertinents et suggérant des perspectives pour de futures recherches dans ce domaine.

Partie: 01

Synthèse bibliographique



1. Généralités

Le stress oxydatif est causé par l'action des radicaux libres et des métabolites réactifs dans l'organisme (Saidi, 2019). L'accumulation de radicaux libres non neutralisés par les systèmes de défense naturels entraîne des altérations significatives au niveau moléculaire au sein de nos cellules, en induisant des dysfonctionnements dans l'expression génétique et la signalisation membranaire, ainsi que des perturbations dans la régulation cellulaire, dans l'immunité et l'accumulation de protéines anormales dans les tissus (Favier, 2006).

Le stress oxydatif se détermine par un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, dû d'une part à la formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'autre part à la réduction du taux d'élimination de ces espèces par le système de défense antioxydant (Marreiro *et al.*, 2017).

L'oxydation biologique entraîne une augmentation de la formation des radicaux libres, causant des dommages oxydatifs aux structures et composants cellulaires, tels que la dépolymérisation des sucres et la dégradation des hydrates de carbone, conduisant à la mort cellulaire (Victor *et al.*, 2023)(Figure N°01).

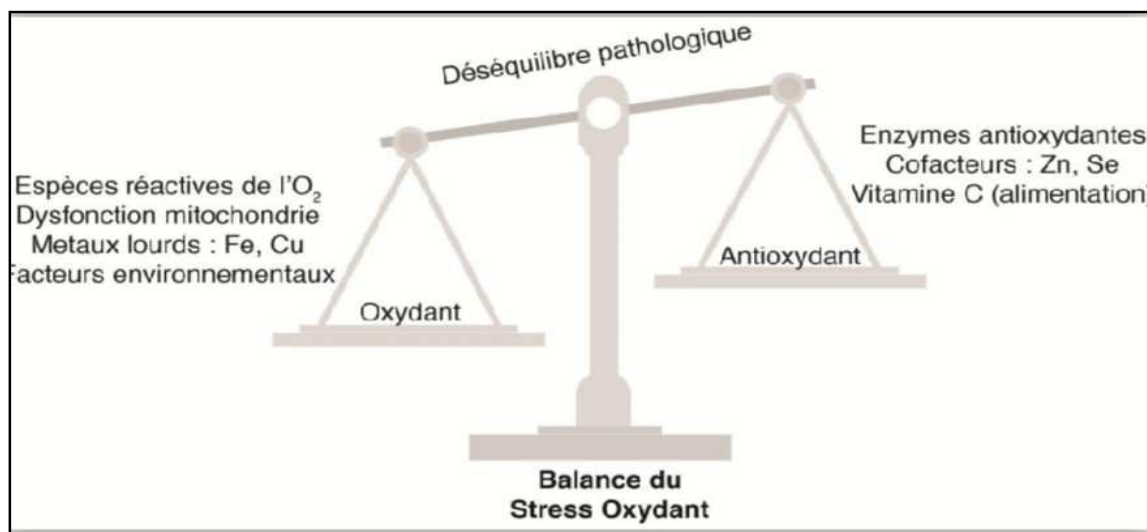


Figure N°01 : Une illustration de l'équilibre oxydant / antioxydant (Garrel et Bigard, 2017).

2. Les radicaux libres

Les radicaux libres jouent un rôle majeur dans le déroulement du stress oxydatif. Ils s'agit de groupes d'atomes ou de molécules dont les orbitales atomiques contiennent des électrons de valence non appariés, qui sont généralement instables et très réactifs avec d'autres composants (Li *et al.*, 2015). Cette instabilité n'est que transitoire et comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2007).

2.1. Origines des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent avoir des origines endogène ou exogène à l'organisme :

2.1.1. Origine endogène

Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production des radicaux libres dans l'organisme ont été identifiés, parmi ces mécanismes le cycle redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones (Favier, 2003).

Il existe d'autres sources de production des radicaux libres telles que : la xanthine oxydase, les peroxysomes contenant des enzymes produisant du peroxyde d'hydrogène, les lipooxygénases et les enzymes du réticulum endoplasmique (les enzymes du cytochrome p-450 et la diamine oxydase) (Delattre *et al.*, 2005)(Figure N°02).

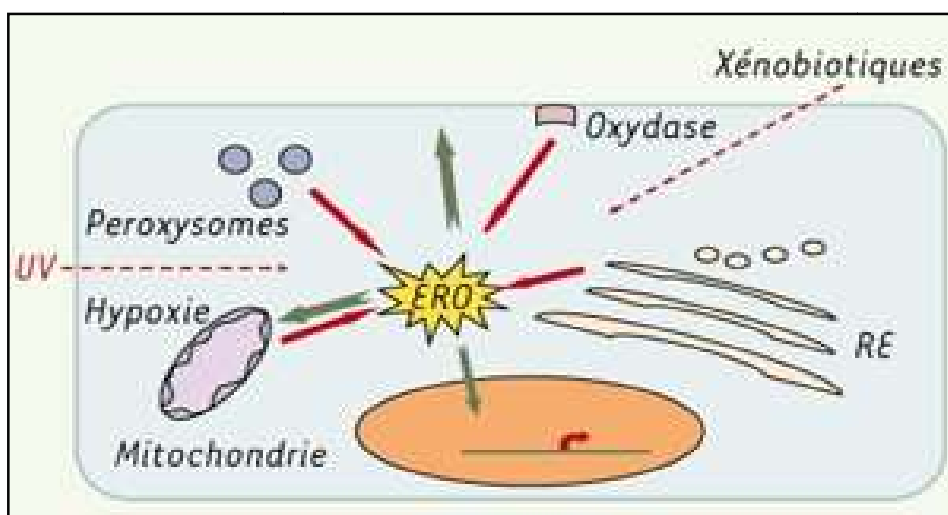


Figure N°02: Sites de production endogène des ERO (Barouki, 2006).

2.1.2. Origine exogène

En plus des radicaux oxygénés produits à l'intérieur du corps, il existe également des sources externes, qui peuvent générer ces molécules réactives dans l'organisme. Elles incluent notamment :

- L'exposition aux rayonnements ionisants tels que les rayons X et les rayons ultraviolets du soleil.
- La pollution atmosphérique.
- Les produits chimiques toxiques présents dans l'environnement, tels que les pesticides, les solvants et les métaux lourds.
- Les toxines présentes dans le tabac, la fumée de cigarette et d'autres substances addictives.
- Certains médicaments et produits pharmaceutiques.
- Les aliments transformés riches en additifs alimentaires, conservateurs et autres substances chimiques.
- Les radiations provenant de dispositifs électroniques tels que les téléphones portables et les micro-ondes.

Ces sources exogènes peuvent contribuer à un stress oxydatif accru dans le corps, ce qui peut entraîner des dommages cellulaires et des maladies associées [(Loin, 2008) ; (Victor *et al.*, 2023)].

2.2. Principaux radicaux libres

Les espèces radicalaires impliquent deux grandes familles: les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote(Wu *et al.*, 2013).

2.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des molécules et des ions contenant de l'oxygène hautement réactifs. Elles sont naturellement produites dans les cellules vivantes en tant que sous-produits normaux du métabolisme cellulaire, mais peuvent également être générées en réponse à divers stimuli environnementaux ou stressants. Parmi les ERO les plus courantes, on trouve les radicaux libres tels que le radical superoxyde ($O_2^{\circ-}$), le radical hydroxyle (OH°) et certains dérivés oxydés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Ghareeb et Sarhan,2014)(Tableau N°01).

Tableau N°01: Les principaux ROS générées dans les systèmes biologiques (Migdal et Serres, 2011).

Nom	Symbole	Réaction
Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\circ-}$
radical hydroxyle	HO°	$H_2O_2 + Fe_2^+ \rightarrow OH^\circ + OH + Fe_3^+$ (Fenton) $H_2O_2 + O_2 \rightarrow OH^\circ + OH^- + O_2$ (Haber weiss)
peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	$O_2^{\circ-} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$
Peroxy radical	ROO°	$R^\circ + O_2 \rightarrow RO_2^\circ$

2.2.2. Les espèces réactives de l'azote (ERN)

Les espèces réactives de l'azote (ERN) sont des composés contenant de l'azote hautement réactifs qui peuvent être produits dans les cellules vivantes en réponse à divers stimuli. Tout comme les espèces réactives de l'oxygène (ERO), les ERN jouent un rôle crucial dans plusieurs processus biologiques, mais un excès peut également causer des dommages cellulaires (Gardès-Albert *et al.*, 2003). Parmi les ERN les plus courantes, on trouve les radicaux nitriques tels que :

- **Le monoxyde d'azote (NO):** Il s'agit d'une petite molécule générée dans les tissus par différentes synthèses d'oxyde nitrique (NOS) qui convertissent l'arginine en citrulline (Phaniendra *et al.*, 2015).
- **L'anion peroxynitrite (ONOO⁻):** se forme à la suite d'une réaction entre le monoxyde d'azote réagit avec le superoxyde, qui est moins réactif que son précurseur azoté (Leroy, 2016).

De plus d'autres composés comme le peroxyde nitrique (NO₂[•]), le dioxyde d'azote (NO₂), et le dioxyde d'azote (N₂O₃) (Phaniendra *et al.*, 2015).

2.3. Rôles physiologiques des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être à la fois nocifs et bénéfiques pour l'organisme, elles peuvent causer des lésions tissulaires associées à différents problèmes de santé (**Migdal et Serres, 2011**). Elles peuvent également participer à des processus physiologiques importants tels que:

- Le maintien de l'homéostasie redox.
 - Le contrôle du tonus vasculaire et diverses autres activités dépendantes du GMPc.
 - La régulation des fonctions qui sont contrôlées par la concentration d'oxygène.
 - Le renforcement des fonctions immunologiques.
 - L'amélioration de la transduction des signaux à partir de plusieurs récepteurs membranaires, dont le récepteur d'antigène des lymphocytes.
 - Le contrôle de la production d'érythropoïétine (**Dröge,2002;Fontaine, 2007**).

2.4. Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres capables d'oxyder les éléments qui les entourent entraînant des modifications irréversibles des protéines, la peroxydation des lipides, ainsi que l'oxydation des acides nucléiques(**De Moffarts et al., 2005**).

2.4.1. Oxydation de l'ADN

L'ADN est une cible privilégiée des espèces oxygénées activées, réagissant avec la guanine pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG). Cette dernière, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, ce qui entraîne des mutations dans l'ADN qui peuvent induire le cancer et accélérer le processus de vieillissement (**Haleng et al., 2007**).

2.4.2. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par attaque radicalaire conduit à la formation de groupes carbonyle, au clivage des chaînes peptidiques et à la formation de ponts dityrosine intra et inter-chaînes. Ces dommages sont irréparables dans la plupart des cas et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles (**Haleng et al., 2007**).

2.4.3. La peroxydation lipidique

La peroxydation des lipides résulte de l'interaction entre les acides gras polyinsaturés et les radicaux hydroxyles, qui ont la capacité de prendre l'hydrogène des carbones situés entre deux doubles liaisons. Ce processus forme un radical diastéréomérique conjugué, conduisant à la production de lipoprotéines de densité légère (LDL) oxydées. Ces LDL oxydées, une fois

captées par les macrophages, contribuent à la formation des dépôts lipidiques dans la plaque d'athérome, associée aux maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

1. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de neutraliser ou de diminuer les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme, pour atténuer les impacts néfastes des espèces réactives de l'oxygène (ERO), diverses approches antioxydantes sont mises en œuvre, notamment le renforcement des défenses enzymatiques naturelles et l'amélioration des défenses non enzymatiques par des moyens alimentaires ou médicamenteux (**Dontha et al., 2016**).

1.2. Les types d'antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en deux grandes catégories : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques.

1.2.1. Les antioxydants enzymatiques

Ils sont regroupés en trois types: la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase.

A. **La superoxyde dismutase (SOD)**:est une métallo-enzymes localisée dans la mitochondrie, qui peut éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation , favorisant ainsi la production d'oxygène et de peroxyde d'hydrogène (**Baudin, 2006**).



B. **La glutathion peroxydase (GPx)** : est une enzyme qui recoure à des transporteurs d'électrons pour convertir l'eau oxygénée, les radicaux peroxydes et les hydro-péroxydes en eau et en alcool, son efficacité dépend de la présence d'un cofacteur, le sélénium intégré dans l'enzyme sous forme de sélénocystéine (**Zoete, 1999**).



C. **La catalase** : L'enzyme catalase a la capacité de convertir le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elle requiert la présence de fer comme cofacteur et se trouve principalement dans les peroxysomes du foie (**Putnam et al., 2000**).



1.2.2. Les antioxydants non enzymatiques :

Les antioxydants non enzymatiques se caractérisent par leur faible poids moléculaire et leur capacité à prévenir ou à réduire les dommages causés par le stress oxydatif, ces composés ne

sont pas synthétisés par l'organisme et peuvent être apportées par l'alimentation, tel que : les vitamines et les composés naturels (Nimse et Pal, 2015)(Tableau N°02).

Tableau N°02.: Exemples d'antioxydants présents dans les aliments(Bougandora, 2011).

Antioxydants	Sources
Caroténoïdes	Carotte, patate douce, courge, brocoli, chou frisé, épinard, abricot, pêche.
Vitamines E	Noix, huiles, fruits et légumes.
Vitamine C	Agrumes, tomate, melon, kiwi, poivron, brocoli.
Flavono�ides	Bleuet, cerise, canneberge, mure, cassis, prune, raisin rouge

Les plus célèbres parmi eux sont

A. Le β -carotène :  galement connu sous le nom de provitamine A, il est présent dans certains légumes et fruits tels que les carottes, les patates douces et les abricots. Il se distingue par sa capacité à absorber l'oxygène à basse pression. En association avec d'autres carot no ides, il participe aux réactions en chaîne de la lipop roxydation.(Graini et Boulgueour, 2022).

B. Vitamine E (α -tocophérol) : est un antioxydant liposoluble grâce à sa longue chaîne aliphatique contenant 16 atomes de carbone. Sa fonction principal est de capturer les radicaux peroxydes lipidiques RO_2 qui propagent les chaînes de peroxydation (Gardes-albert *et al.*, 2003).

C. Les polyphénols: sont des composés métaboliques secondaires que l'on retrouve dans les plantes. Parmi eux, on trouve les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les flavono ides, les lignanes et les stilbènes, qui sont parmi les polyphénols les plus courants dans le règne végétal. Gr ce à leur diversité structurale, ces substances sont considérées comme des antioxydants plus puissants que d'autres types de composés (Anand *et al.*, 2022).

D. Vitamine C: connue sous le nom d'acide ascorbique, il s'agit d'une substance hydrosoluble présente naturellement dans de nombreux fruits et légumes (non synthétisée par le corps humain). Son pouvoir antioxydant provient principalement de sa forme ionisée abondante

(AscH⁻) qui réagit facilement avec les radicaux libres, formant ainsi le radical ascorbate tricarbonyle (AscH[•]) stabilisé par résonance (Retsky *et al.*, 1999).

1.3. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants se répartissent en deux catégories selon leur mécanisme d'action.

1.3.1. Mécanisme d'action des antioxydants piègeurs

Les antioxydants piègeurs jouent un rôle important en neutralisant les radicaux libres, ce qui réduit les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène dans les cellules. Cette action nécessite une quantité significative d'énergie. Parmi ces antioxydants, on trouve la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, les polyphénols présents dans les aliments, ainsi que le glutathion réduit (GSH), qui joue un rôle indispensable dans la protection des cellules contre l'impact néfaste des radicaux oxygénés, des peroxydes et du NO (Favier, 2003).

1.3.2. Mécanisme d'action des antioxydants préventifs

Une autre méthode stratégique pour lutter contre le stress oxydatif consiste à recourir à l'action d'enzymes pour neutraliser les superoxydes et les peroxydes. Par exemple, les superoxyde dismutases éliminent efficacement l'anion superoxyde en catalysant sa dismutation à travers un métal au site actif de l'enzyme. De même, les catalases avec le fer comme cofacteur et les glutathions peroxydases avec le sélénium comme cofacteur jouent un rôle vital dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène. En complément de ces enzymes, divers autres agents antioxydants tels que les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, les thiorédoxines réductases et les thiorédoxines peroxydases contribuent à cette stratégie de défense (Favier, 2003 ;Atti, 2014).

1. Généralité

Les métabolites secondaires sont des composés organiques produits par les organismes vivants, tels que les plantes, les microorganismes et certains animaux. Contrairement aux métabolites primaires, qui sont essentiels à la croissance, au développement et à la reproduction de l'organisme, les métabolites secondaires ne sont généralement pas nécessaires à sa survie immédiate. (Ferrari J, 2002). Ces composés jouent souvent un rôle dans la défense de l'organisme contre les prédateurs, les pathogènes ou les stress environnementaux. Ils peuvent également être impliqués dans la communication intercellulaire, la reproduction, ou même avoir des applications médicales ou industrielles (Lugasi *et al.*, 2003).

2. L'origine des métabolites secondaires

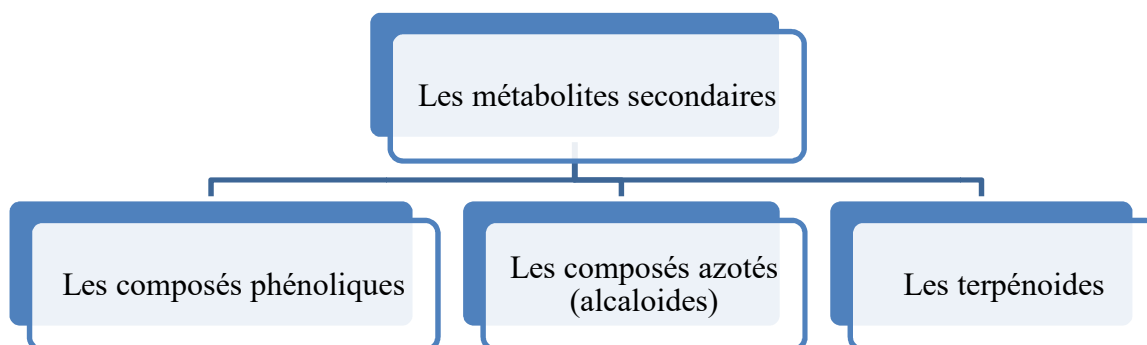
Les plantes autotrophes synthétisent et stockent en faibles quantités des molécules organiques complexes appelées métabolites secondaires (Lutge *et al.*, 2002).

La synthèse des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire via trois voies de biosynthèse principales : le shikimate, le mévalonate et le pyruvate. (Verpoorte et Alfermann, 2000) Ces métabolites dérivent majoritairement de la glycolyse de la voie des pentoses phosphate et du métabolisme lipidique, enrichissant ainsi la diversité structurale des métabolites secondaires (Bouaziz, 2014).

3. Classification des métabolites secondaire

Parmi les métabolites secondaires les plus connus, on trouve les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les phénols, les tanins, et les glucosinolates, entre autres. Ces composés peuvent avoir une grande diversité de structures chimiques et de fonctions biologiques.

Trois grandes catégories de métabolismes se distinguent (Merghem, 2009)(Figure N°03).



FigureN°03 :Classification des métabolites secondaires.

3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une grande famille de composés organiques caractérisés par la présence d'un groupe hydroxyle (-OH) attaché à un cycle aromatique (un anneau de benzène). Ils comprennent des sous-groupes divers, tels que : les phénols simples, les acides phénoliques et les polyphénols.

Les polyphénols sont une catégorie de composés largement répandue et diversifiée, allant de molécules simples à des structures très complexes. (Marouf et Reynaud, 2007)

Leurs rôle est primordial dans l'interaction des plantes avec l'environnement, en tant que messagers inter-plantes qui renforcent la résistance contre les agents pathogènes. De plus, ils contribuent de manière significative à la capacité des plantes à faire face à divers stress, ce qui est crucial pour leur adaptation et leur maintien dans leur habitat naturel. En termes thérapeutiques, ces métabolites constituent la base des principes actifs présents dans les plantes médicinales (Macheix *et al.*, 2005) (Figure N°04).

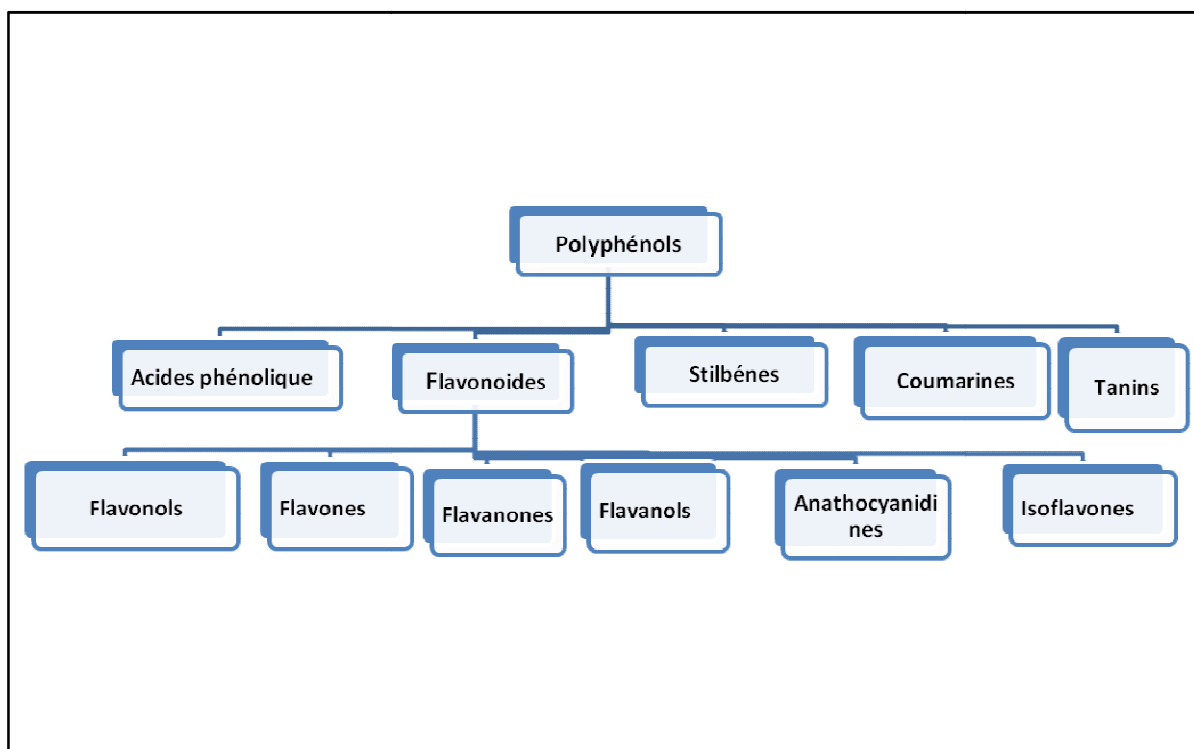


Figure N°04: Différentes classes des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005).

3.1.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une catégorie majeure de composés phénoliques bioactifs trouvés dans les plantes. Ce groupe est particulièrement significatif parmi les composés phénoliques (Dallas *et al.*, 2008), qui possèdent une structure de base comprenant deux cycles

phényles reliés par une chaîne de trois carbones, totalisant 15 atomes de carbone (**Bruneton, 1999**).

Les flavonoïdes démontrent une gamme de propriétés telles que l'antioxydation, l'anti-inflammation, l'antiallergie (**Di Carlo et al., 1999**) (**Figure N°05**).

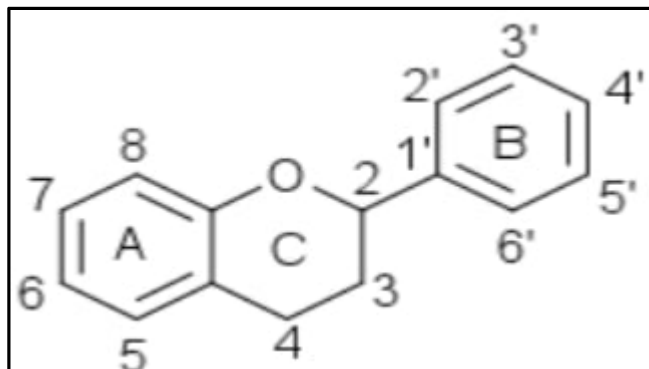


Figure N° 05 : Structure de base des flavonoïdes (**Lhuillier, 2007**).

3.1.2 Les tanins

Les tanins présents en grande quantité chez les plantes à fleurs, les conifères (tanins condensés), et les plantes dicotylédones (tanins hydrolysables), sont des composés phénoliques. Ils sont capables de se lier et de provoquer la précipitation des protéines, une réaction dont l'intensité varie selon les affinités entre les tanins et les différentes protéines (**Harborne , 1997**). Les tanins sont souvent divisés en deux grands groupes en fonction de leur structure chimique (**Figure N°06**):

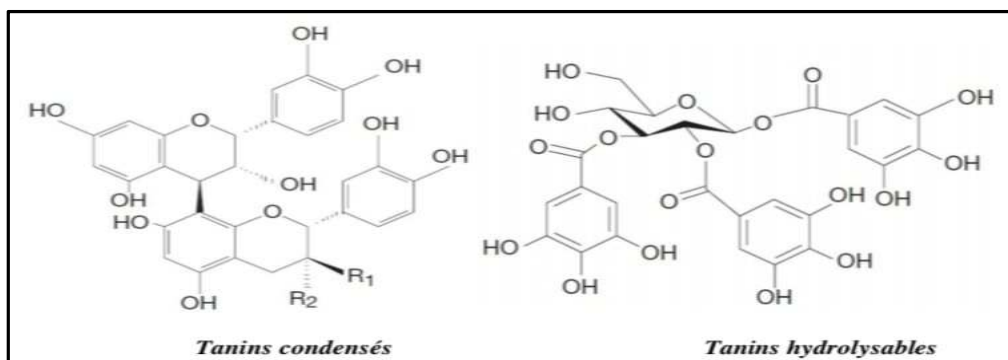


Figure N° 06: Les structures moléculaires caractéristiques des tanins (**Achat, 2013**).

a. Les tanins hydrolysables :

Se composent d'esters de glucose, ce qui signifie qu'ils peuvent être décomposés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Cette décomposition libère à la fois une partie non phénolique et une partie phénolique, pouvant inclure de l'acide gallique.(Macheix *et al.*, 2005). Leur structure comprend un noyau central de glucose, avec des chaînes latérales contenant de un à plusieurs monomères d'acide phénoliques(Bessas *et al.*, 2007).

b. Les tanins condensés :

Se caractérisent par leur insolubilité dans l'eau due à l'absence de sucre. Ce sont des polymères d'unités flavons qui sont reliés entre eux par des liaisons C4-C8, présentant ainsi une structure similaire aux flavonoïdes (Zimmer et Cordesse, 1996).

3.1.3. Les coumarines

Les coumarines sont des composés naturels d'une grande importance, se distinguant par une fragrance singulière rappelant l'odeur de l'herbe fraîchement coupée. Parmi les familles botaniques les plus riches en coumarines figurent les Légumineuses, les Rutacées, les Apiacées et les Thymélacées. Leur présence est répandue dans toutes les parties de la plante, notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hofmann, 2003) (Figure N°07).

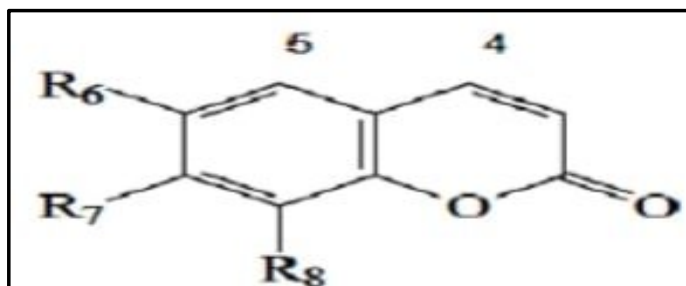


Figure N°07: La base structurale des coumarines (Igor, 2002).

3.1.4 Les quinones

Les quinones sont des structures aromatiques comportant deux groupes cétones. Elles se distinguent par leurs couleurs vives, généralement rouges, jaunes ou oranges, et sont

impliquées dans le processus de brunissement observé dans les fruits et légumes lorsqu'ils sont coupés ou endommagés. Outre leur capacité à produire des radicaux libres stables, les quinones sont également connues pour former des liaisons irréversibles avec les groupes nucléophiles présents dans les acides aminés des protéines. Cette réaction entraîne l'inactivation des protéines et altère leur fonction (Arif *et al.*, 2009) (Figure N°08).

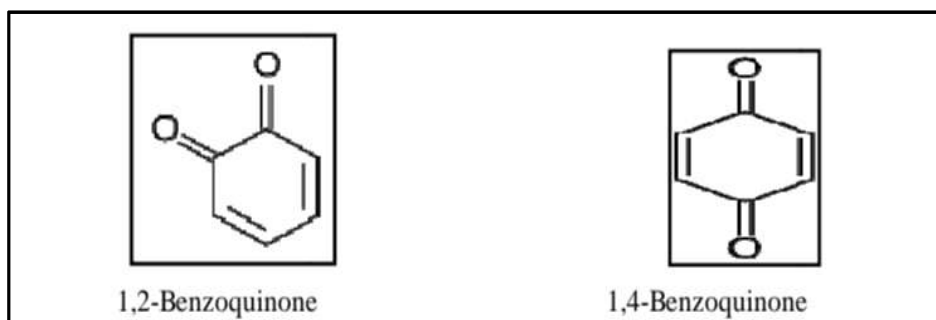


Figure N°08 : Structure de base des quinones (Peter *et al.*, 2003).

3.1.5. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes sont des hydrocarbures naturels qui possèdent une structure cyclique ou à chaîne ouverte. Ils sont caractérisés par leur formule moléculaire, $(C_5H_x)_n$, où x varie en fonction du niveau de complexité moléculaire et n peut aller de 1 à 8 (Bezzaz, 2014) (Figure N°10). Les terpénoïdes englobent des éléments comme les hormones, les pigments caroténoïdes, les stérols et leurs dérivés, le latex, et diverses huiles essentielles qui donnent aux plantes leurs arômes distinctifs (Hopkins, 2003).

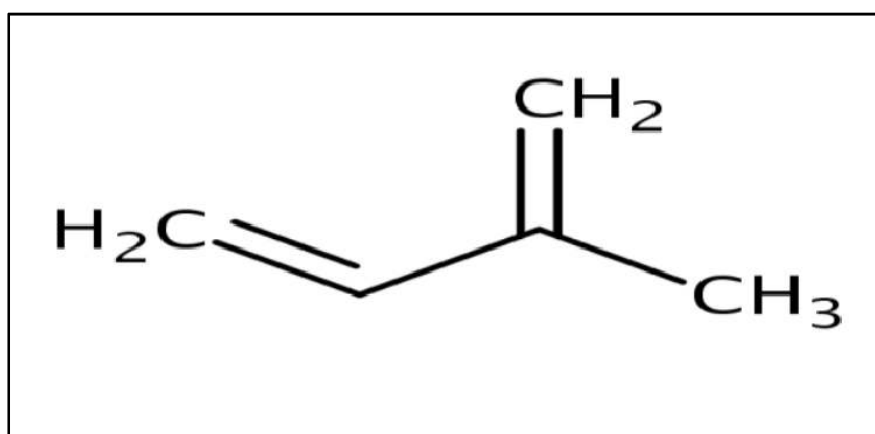


Figure N°9: Structure générale de molécule isoprène (Bramki et Nekia, 2016).

3.2 Les saponosides

Les saponosides sont principalement des composés très polaires et se trouvent généralement sous forme de mélanges complexes dans les plantes. Ils présentent également un large éventail de propriétés biologiques et pharmacologiques (Boutaghane, 2013) (Figure N°09).

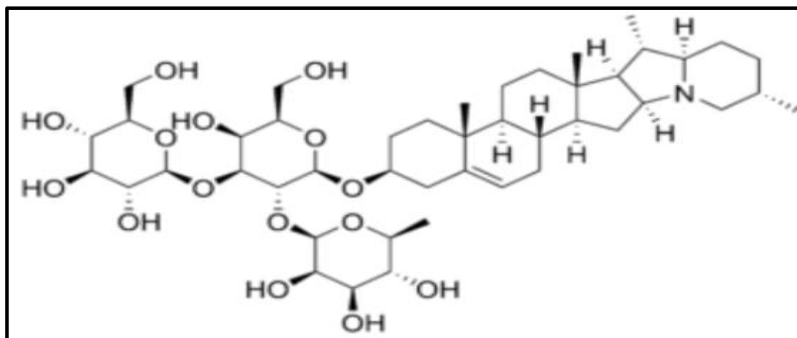


Figure N°010 : Structure générale de saponosides (Crozier, 2006).

3.3 Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé d'origine naturelle, souvent d'origine végétale, contenant de l'azote et possédant des propriétés pharmacologiques à faible dose. Sa classification en tant qu'alcaloïde est confirmée par ses réactions de précipitation avec des réactifs généraux tels que le réactif de Dragendorff (Merghem, 2009) (Figure N°11).

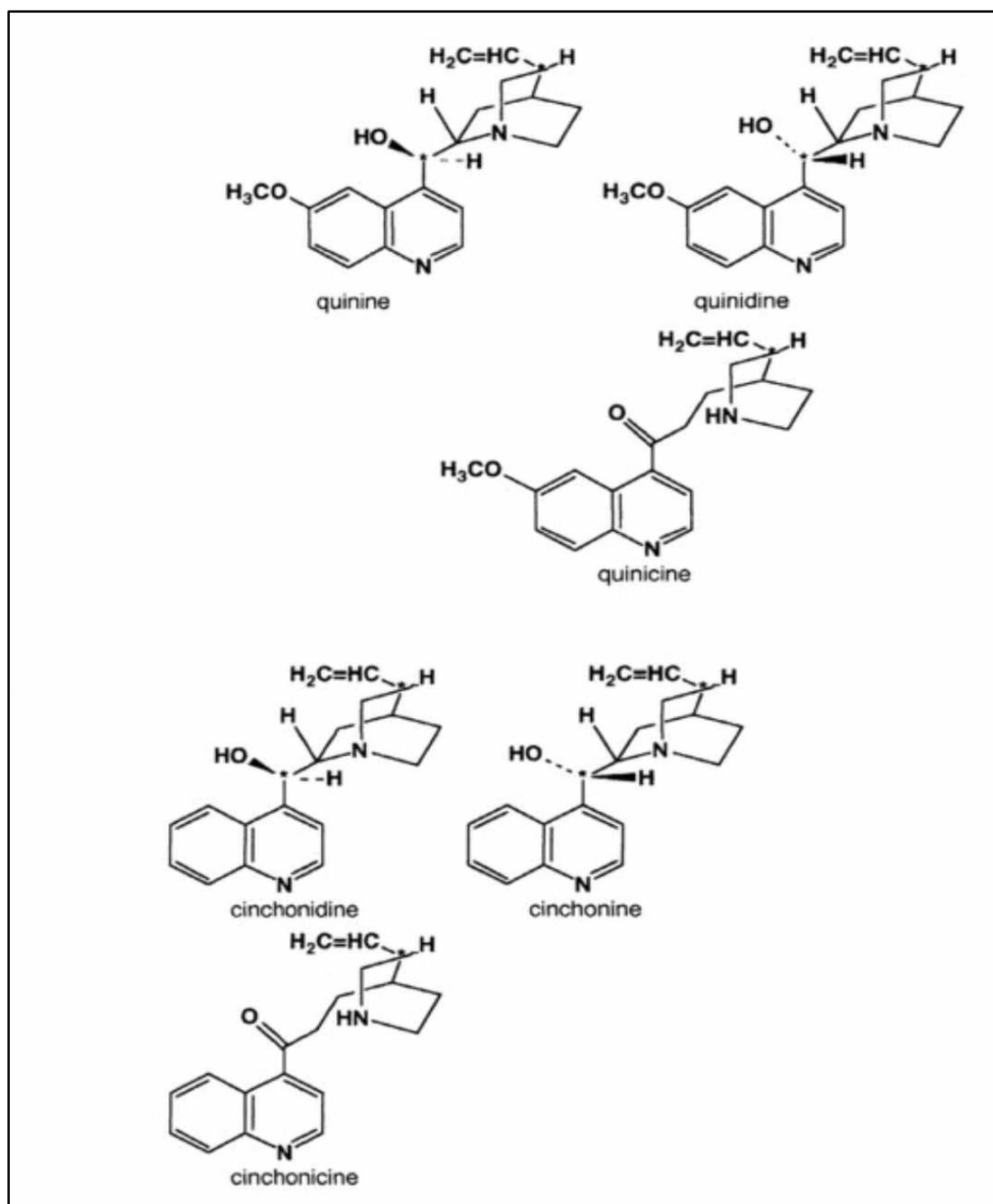


Figure N°11: Les structures stéréochimiques des alcaloïdes (Fournier, 2001).

1. Historique

Le fenugrec, scientifiquement connu sous le nom de *Trigonella foenum-graecum* L (Figure N°12), est une plante ancienne qui a été largement utilisée à la fois à des fins médicinales et culinaires. Son histoire remonte à l'Égypte antique, où ses arômes étaient employés il y a environ 1 500 ans avant notre ère, notamment dans le processus d'embaumement des défunts. Il est également mentionné dans la médecine grecque antique. Dans la tradition médicale arabo-islamique, **le Prophète Mohammed** recommandait cette plante en soulignant que si ses bienfaits étaient pleinement compris par sa communauté, elle aurait été prête à payer son poids en or. Sa culture a débuté au Moyen-Orient dès le VIIe siècle avant notre ère, pour être ensuite introduite en Inde et en Chine, où elle a été intégrée dans l'ayurveda et la médecine traditionnelle chinoise (Ionescu et Roman, 2013).



FigureN°12: Graines *Trigonella foenum-graecum* L (Oueslati et al., 2015).

2. Morphologie de *Trigonella foenum- graecum* L

Le fenugrec est une plante annuelle de la famille des Fabaceae. Son nom botanique vient du latin "trigonus", faisant référence à la forme triangulaire de ses graines. En arabe, il est connu sous le nom "l'helba" (Rahmani et al.,2015), cette herbacée caractérisée par une variété de formes, et peut atteindre jusqu'à 50 cm de hauteur, elle se caractérise par une racine principale développée, une tige dressée ramifiée légèrement poilue, des feuilles longuement pétiolées composées de trois folioles (Figure N°13), Les fleurs du fenugrec se présentent en jaunes à violet clair regroupées par deux, et des fruits en gousses linéaires contenant de 10 à

20 graines avec de fines nervures longitudinales et se terminant par un bec (Oueslati *et al.*, 2015).



Figure N°13: Feuilles de *Trigonella foenum-graecum* L (Oueslati *et al.*, 2015).

3. Classification botanique

- Règne: Plantae
- Sous-règne: Tracheobionta
- Embranchement: Magnoliophyta
- Sous-embranchement: Magnoliophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe: Rosidea
- Ordre Fabales
- Famille: Fabaceae
- Genre: *Trigonella*
- Nom binominal : *Trigonella foenum-graecum* L (Ghedira *et al.*, 2010)

4. Localisation géographique

Le fenugrec est originaire de la région méditerranéenne et d'Asie est désormais cultivé comme épice dans de nombreuses régions du monde, notamment en Europe, en Afrique du Nord, en Asie occidentale et méridionale, en Argentine, au Canada, aux États-Unis et en Australie (Ionescu et Roman, 2013). L'Inde se distingue comme l'un des principaux producteurs et exportateurs de fenugrec, vient après l'Iran, le Népal, le Bangladesh, le Pakistan, l'Argentine, l'Égypte, la France, l'Espagne, la Turquie, la Chine et le Maroc (Sheicklar *et al.*, 2013).

5. Constituants chimiques

Le fenugrec offre une abondance de protéines, de nutriments et de composés bioactifs, ce qui en fait un aliment potentiellement bénéfique pour la santé.(Teuscher *et al.*,2005) Ses composants majeurs incluent des protéines (30% du poids sec), des acides aminés essentiels, des lipides (10% de lécithine et des acides gras essentiels), des glucides (45% comprenant des fibres solubles, de la phytine et des oligosaccharides), des composés phénoliques comme les C-flavonoïdes, des stérols tels que le cholestérol et le sitostérol, ainsi que d'autres composés comme les saponines, les coumarines, la trigonelline, la gamma schizandrine, des minéraux et des vitamines (β -carotène). L'odeur caractéristique du fenugrec est due à la sotolone et à d'autres composés volatils(Oueslati *et al.*, 2015).

6.L'usage thérapeutique de *Trigonella foenum-graecum* L

Grâce à sa composition riche en métabolites secondaires, le fenugrec présente une variété de propriétés, notamment des activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-diabétiques, anticancéreuses, hypocholestérolémiantes et hypoglycémiantes, comme en témoignent plusieurs études(Oueslati *et al.*, 2015).

Les graines de fenugrec sont utilisées comme traitement traditionnel pour de nombreux problèmes de santé (**Tableau N°03**) :

Tableau N°03:L'utilisation thérapeutique des graines de *Trigonella foenum- graecum* L.

Propriété antioxydants	Les graines de fenugrec renferment des antioxydants qui ont été prouvés efficaces pour protéger les cellules contre les dommages. Des recherches ont démontré que les extraits de graines de fenugrec peuvent prévenir l'oxydation des graisses et la dégradation des globules rouges (Kumar et Jhajharia., 2016).
Propriété anticancéreuses	Le fenugrec a démontré des capacités à modifier l'apoptose induite par le cyclophosphamide et la peroxydation lipidique. Cette propriété fait du fenugrec une plante médicinale prometteuse pour une thérapie complémentaire chez les patients atteints de cancer (Meghwal et Goswami, 2012).

Propriété immuno-modulatrice	Le fenugrec est capable de moduler les réponses immunitaires, qu'elles soient stimulées ou inhibées. Des études menées sur des souris suggèrent qu'il renforce le système immunitaire en favorisant l'augmentation du poids du thymus et en exerçant un effet positif sur les lymphocytes et les cellules sanguines(Kumar et Jhajharia, 2016)
Traitement des troubles digestifs	D'après une étude scientifique menée par Suja Pandian et ses collaborateurs en 2002 , une fraction de gel soluble dérivée des graines de fenugrec s'est avérée plus efficace que l'oméprazole, un médicament couramment prescrit pour le traitement des ulcères, dans la prévention de la formation d'ulcères gastriques.
Contrôle de la glycémie	Par diminution de la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 2, en augmentant la sensibilité à l'insuline et ralentissant l'absorption du sucre dans le sang (Neelakantan et al., 2014).
Réduction du cholestérol	En réduisant les niveaux de LDL et en augmentant les niveaux de HDL (Yadav et al., 2014).
Production de lait maternel	Aider à augmenter la production de lait maternel chez les femmes qui allaitent (Tiran, 2003).
Perte de poids	Faciliter la perte de poids en augmentant la satiété et en réduisant l'appétit (Yadav et al., 2014).

7. Travaux préalables réalisés sur *Trigonella foenum-graecum* L

En 2015, **Barpete et ses collaborateurs** ont analysé les constituants phytochimiques de *T. foenum-graecum* L. Les études spectroscopiques ont confirmé la présence d'acide chlorogénique, d'iso-vitexine et de vitexine parmi les composés phénoliques principaux. Les extraits bruts ont démontré une forte activité antioxydante ainsi qu'une activité anticancéreuse

contre les lignées cellulaires de carcinome *in vitro*. De plus, ces extraits se sont révélés efficaces contre les bactéries pathogènes Gram-positives, Gram-négatives et les champignons filamenteux.

Les recherches de **Fatima et ses collègues (2022)** ont démontré le potentiel antioxydant de l'extrait hydroéthanolique des graines de *T. foenum-graecum*. Le profilage phénolique de cette plante a été réalisé à l'aide de chromatographie liquide à haute performance couplée à un réseau photodiode (HPLC-PDA) ainsi que par spectrométrie de masse, dans le but de caractériser les composés responsables de la bioactivité. Cette étude a permis d'identifier près de 18 composés, dont 13 ont été quantifiés par chromatographie. L'analyse antioxydante *in vitro* de l'extrait a révélé des activités significatives, avec une valeur d'IC₅₀ la plus basse de DPPH mesurée à $161,3 \pm 2,21$ µg/ml.

L'étude menée par **Akbari et al. (2019)** a caractérisé l'huile de graines de fenugrec à travers des analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et à la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), afin d'évaluer sa composition chimique et ses propriétés antioxydantes. L'huile a démontré une activité significative contre les radicaux libres DPPH et 2,2'-Azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) avec des valeurs d'IC₅₀ de 172,6 et 161,3 µg/ml respectivement. Les résultats des analyses ont révélé la présence de 23 composés chimiques principaux, qui représentent 99% de l'huile, incluant notamment l'acide linoléique et l'acide palmitique. Ces observations renforcent le potentiel d'utilisation de l'huile de fenugrec dans le domaine pharmaceutique.

Les travaux réalisés par **Singhe et ses collaborateurs en 2014** ont mis en évidence une activité antioxydante plus élevée dans les feuilles matures du *Trigonella foenum-graecum* L, attribuable à la présence de composés phénoliques totaux. Ces feuilles pourraient être envisagées pour des applications médicinales à base de plantes ou comme compléments alimentaire.

Les recherches antérieures ont examiné les graines de *Trigonella* pour évaluer leur activité antioxydante globale, ainsi que la présence de catalase, peroxydase, ascorbate oxydase, composés phénoliques totaux. L'extrait brut des graines de *Trigonella* germées dans du lait caillé a montré les niveaux les plus élevés d'antioxydants, de catalase, de peroxydase, d'ascorbate oxydase et de composés phénoliques totaux parmi tous les échantillons testés (**Tejaswini et al., 2012**).

Partie 02 :
Matériel et méthodes



Notre étude a été menée au sein du laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie : Synthèse et Activité Biologique » de la faculté SNV-STU, département de biologie, Université de Tlemcen.

Ce travail est divisé en trois étapes distinctes :

- La première étape se focalise sur la préparation et l'extraction du matériel végétal.
- La deuxième étape concerne à l'analyse phytochimique et la quantification des polyphénols totaux, et flavonoïdes dans les extraits obtenus.
- La troisième étape vise à tester l'activité antioxydante des extraits, en utilisant deux techniques : la méthode de piégeage du radical DPPH[•] et la méthode de réduction du fer (FRAP).

1. Matériel végétal

1.1. Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal de notre étude comprend des graines de *Trigonella foenum-graecum* L. provenant de deux sources (**Figure N°14**) :

- Importées d'Inde via l'herboriste du marchand Djadoui à Ramchi, Wilaya de Tlemcen.
- Cultivées localement dans la région de Ain Defla en Algérie, ces graines ont été récoltées au début de l'année 2024.



Figure N°14: Graines de *Trigonella foenum-graecum* L d' Algérie (A) et importées d'Inde(B).

La matière végétale a subi un processus de lavage et de séchage avant d'être finement broyée, puis stockée à température ambiante dans des contenants hermétiques en vue de son utilisation ultérieure pour la préparation de divers extraits (**Figure N°15**).



Figure N°15: Broyat de Graines de *Trigonella foenum-graecum* L.

1.2. Extraction du matériel végétal

Les extraits analysés dans notre travail sont obtenus par le procédé d'extraction par Soxhelt.

❖ **Préparation des extraits hydro-méthanolique et chloroformique.**

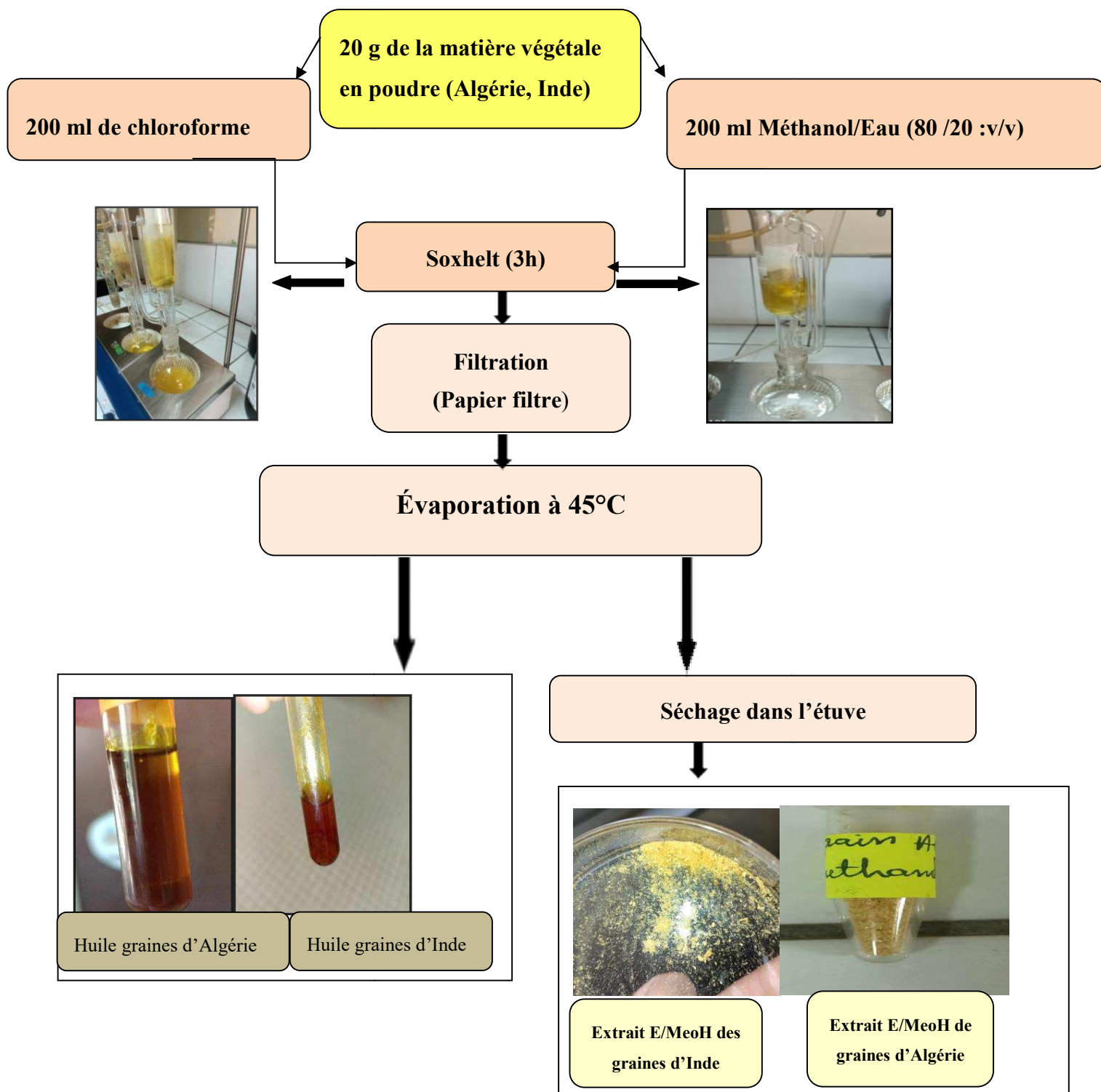


Figure N°16: Protocole de préparation des extraits hydro-méthanolique et chloroformique.

2. Calcul des rendements d'extraction :

Le rendement correspond au rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant et la masse de la matière végétale initiale utilisée pour l'extraction, exprimé en pourcentage. Il est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (M_0/M_1) \times 100$$

M_0 : masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

M_1 : masse en gramme de la matière végétale initiale séchée.

3. Les tests phytochimique

Dans le but de déceler la présence ou l'absence de métabolites secondaires au sein des extraits végétaux étudiés, nous avons entrepris une analyse qualitative rigoureuse. Cette démarche s'est appuyée sur des réactions de coloration et de précipitation (Harborne, 1998). Le tableau N°04 illustre la méthode utilisée pour rechercher chacun de ces constituants.

Tableau N°04: Tests de screening phytochimique.

Tests photochimiques	Réactifs	présentation des résultats (+)	Références
Les alcaloïdes	introduire 0,5 ml de l'extrait dans deux tubes à essai. Ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le second.	Précipité blanc ou Précipité brun.	(Majob <i>et al.</i>, 2003)
Les tanins	Ajouter 1 ml de l'extrait à évaluer dans un tube à essai, puis incorporer 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl ₃ à 1 %. Incuber le mélange pendant 15 minutes à température ambiante.	Coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.	(Karumi <i>et al.</i>, 2004)

Les flavonoïdes	Placer 1 mL de l'extrait à tester dans un tube à essai, ajouter 1mL d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium.	Coloration rouge, orange ou rose.	(Karumi <i>et al.</i>, 2004)
Quinones libres	Ajouter 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai, puis incorporer 0,1 ml d'une solution de NaOH à 1 %.	L'apparition d'une couleur virant au jaune, au rouge ou au violet.	(Oloyede, 2005)
Terpénoïdes (test de Slakowski)	Ajouter 1 ml d'extrait, 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré (HSO) dans un tube à essai.	Apparition de deux phases et d'une couleur brune dans l'interphase	(Khan <i>et al.</i>, 2011)
Anthraquinones	Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de l'extrait et 1 ml NH ₄ OH à 10 %, puis agiter	Coloration violette	(Oloyede, 2005).
Les saponines	2 ml de l'extrait est agité pendant 15 secondes, puis laissé au repos 15 minutes.	Une mousse persistante (Une hauteur supérieure à 1 cm)	(N'Guessan <i>et al.</i>, 2009)
Les composés réducteurs	Introduire 1 ml de liquide de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B) à 1 ml de	L'apparition d'une couleur rouge brique	(Cai <i>et al.</i>, 2011)

	l'extrait et incubé pendant 8 minutes dans un bain marie bouillant.		
--	---	--	--

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode analytique basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu a permis de quantifier les polyphénols présents dans les extraits étudiés. Le réactif de Folin-Ciocalteu, composé d'acide phosphotungstique ($\text{HPW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{HPMo}_{12}\text{O}_{40}$), qui subit des réactions de réduction réversibles impliquant un ou deux électrons, entraînant une coloration bleue de la solution. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux niveaux de composés phénoliques oxydés absorbant à 700 nm (**Ivanova *et al.*, 2020**).

La gamme d'étalon est produite en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à l'aide de l'acide gallique comme étalon positif à des concentrations allant de 25 à 1000 $\mu\text{g/ml}$.

La teneur en polyphénols totaux est calculée selon la formule suivante:

$$[\text{Polyphénols}] = a.f/C$$

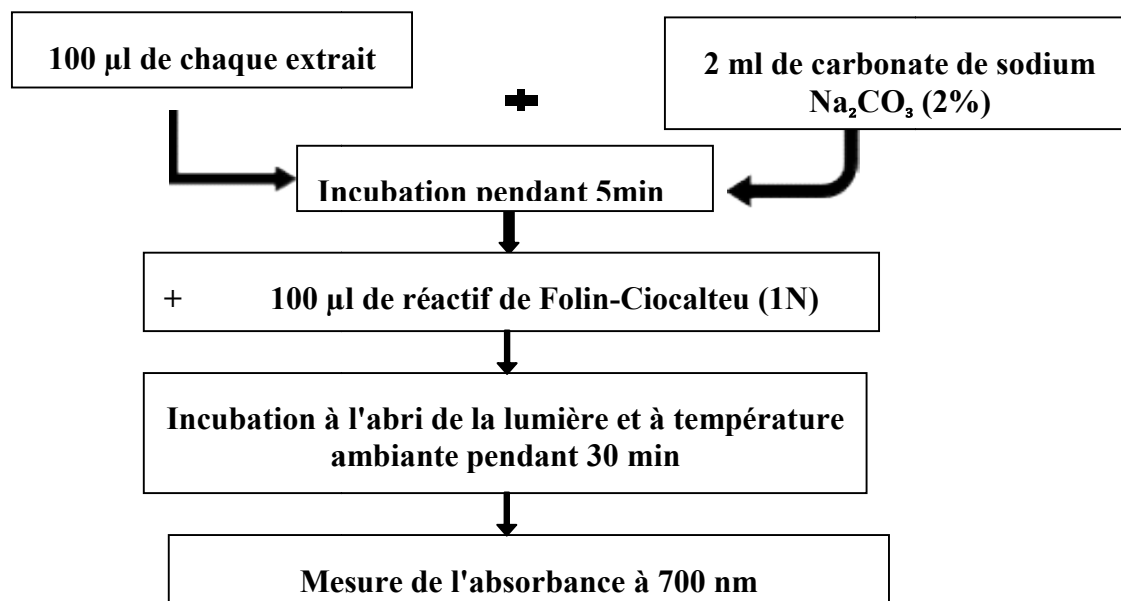
a : Concentration des polyphénols déterminé à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution.

C : Concentration initial de l'extrait (2mg/ml).

❖ Mode d'opération

Le protocole utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux est schématisé dans la **figure N° 17**:



FigureN°17: Protocole utilisé pour le dosage des polyphénols totaux.

4.2. Dosage des flavonoïdes

Cette méthode repose sur la formation de complexes colorés entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl₃). La couleur du complexe dépend de la concentration de flavonoïde présent. L'intensité de la couleur est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible, ce qui permet de déterminer la quantité de flavonoïdes dans l'échantillon (**Chang et al., 2002**).

La gamme d'étalon est produite en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à l'aide de la catéchine comme étalon à des concentrations allant de 25 à 1000 µg/ml.

La teneur en flavonoïdes est calculée selon la formule suivante:

$$[\text{Flavonoïdes}] = a.f/C$$

a : Concentration des flavonoïdes déterminé à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution.

C : Concentration initial de l'extrait (2mg/ml).

❖ Mode d'opération

Le protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes est schématisé dans la figure N°18:

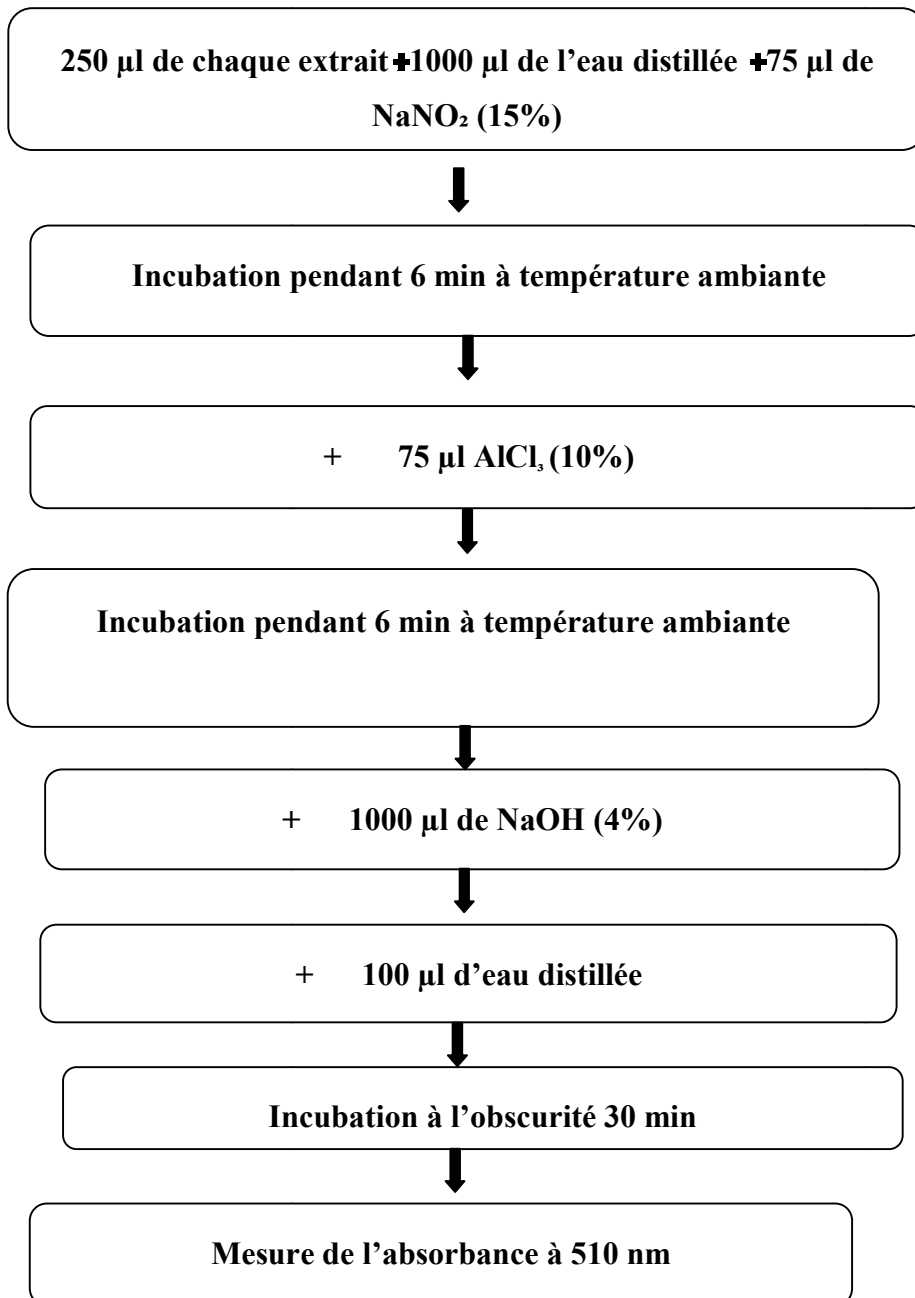


Figure N°18: Protocole utilisé pour le dosage des flavonoïdes.

5. Évaluation de l'activité antioxydante

5.1. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) :

Le test DPPH est couramment utilisé pour évaluer l'efficacité des substances antioxydantes à piéger les radicaux libres (Knežević *et al.*, 2011). Cette méthode repose sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), soit par la libération d'un atome d'hydrogène du groupe hydroxyle, soit par la libération d'un électron. Ce radical possède un maximum d'absorption à 517 nm. Sa neutralisation par un antioxydant peut être surveillée à l'aide de la spectrophotomètre UV/Visible (Afonso *et al.*, 2016). Les réactions se réalisent à température ambiante dans un milieu méthanolique, garantissant ainsi une solubilité optimale pour la majorité des antioxydants (Kleinrichert et Alappat, 2019) (Figure N°19).

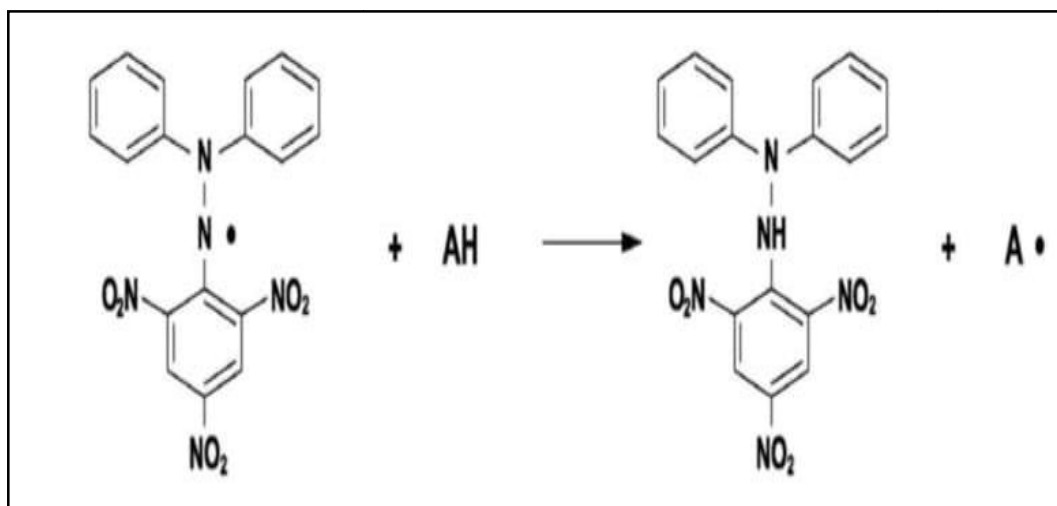


Figure N°19: Réaction du piégeage du radical libre DPPH 2,2-diphényl-1-picryl-

❖ Mode opératoire

Le protocole d'activité anti-radicalaire du DPPH est schématisé dans la **Figure N°20**

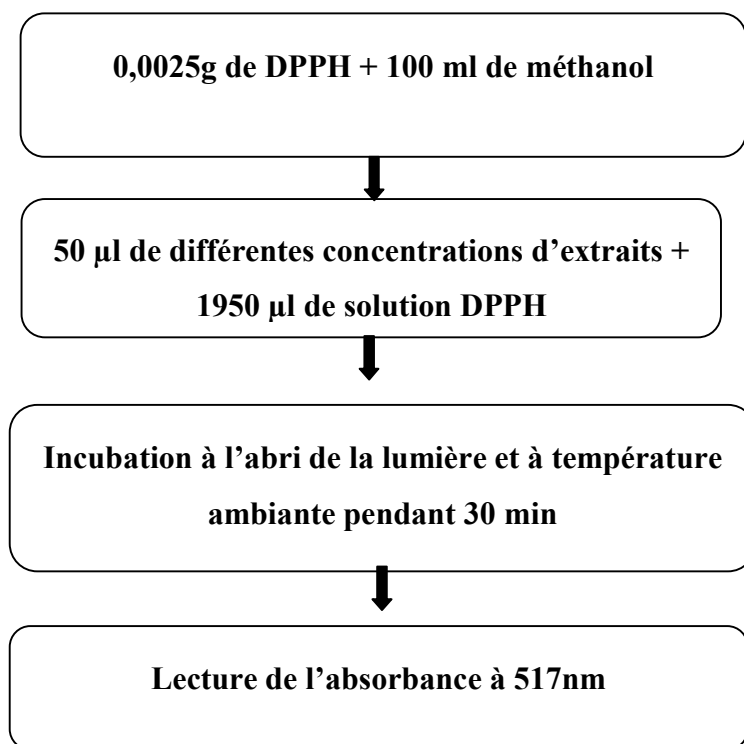


Figure N°20: Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité anti-radicalaire du DPPH.

Le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1950 µl de solution DPPH.

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% I = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

% I: Pourcentage d'inhibition.

AC : Absorbance du contrôle (Absorbance moyenne du radical seul).

AE : Absorbance de l'échantillon (Absorbance du radical libre en présence d'antioxydant après 30 minutes de contact).

5.1.1. Calcul des IC₅₀

La valeur d'IC₅₀ représente la concentration nécessaire pour réduire 50 % de DPPH, déterminée graphiquement pour chaque extrait en se basant sur la courbe d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait (Samarth *et al.*, 2008).

5.2. Réduction du fer par la méthode FRAP

La méthode de réduction du fer repose sur la capacité des antioxydants à transformer le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), ce qui se manifeste par l'apparition d'une coloration bleue (Amarowicz *et al.*, 2010).

❖ Mode opératoire

Le protocole suivi est schématisé dans la figure N°21 :

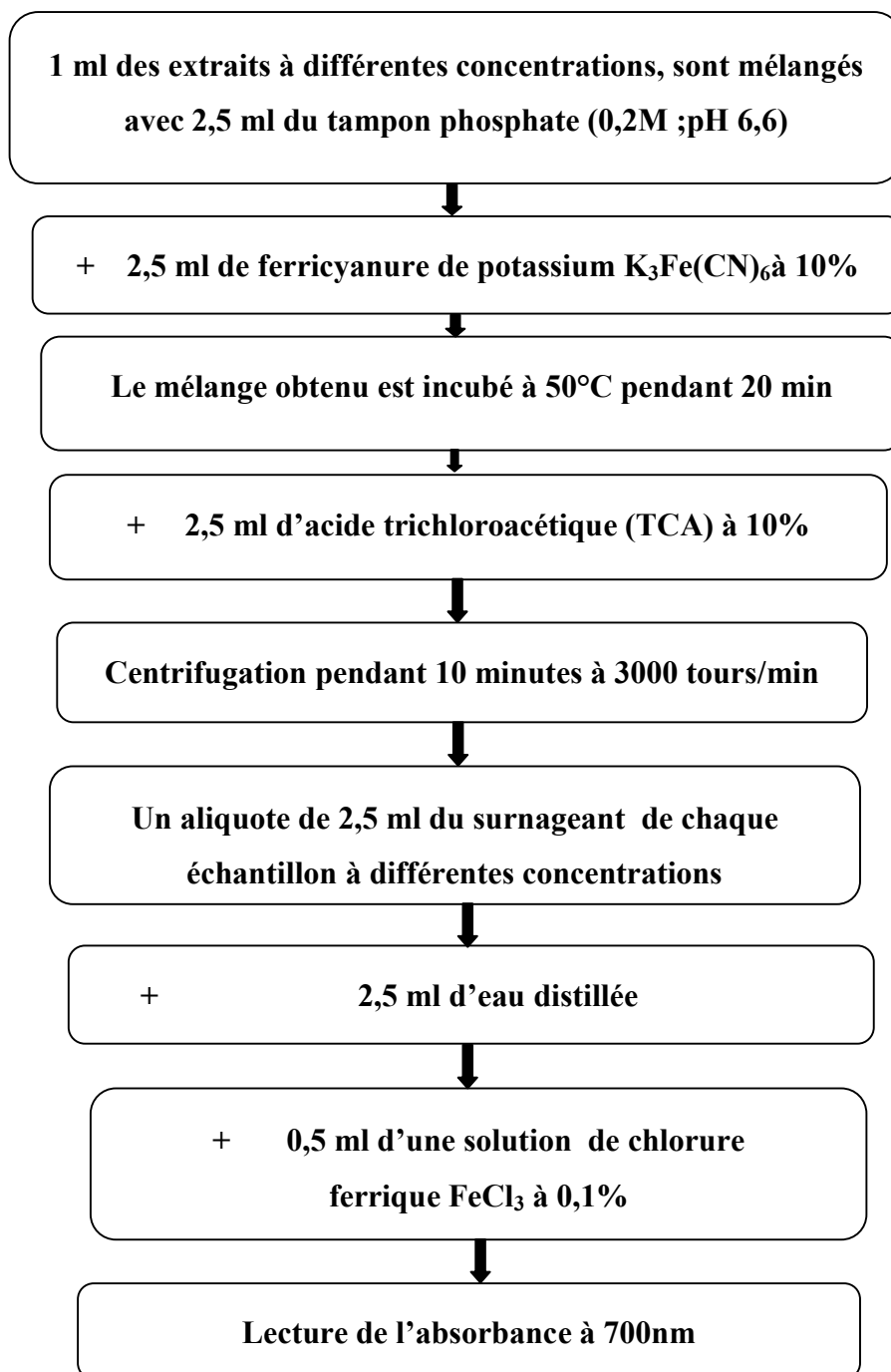


Figure N°21: Protocole suivi pour l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode FRAP.

L'acide ascorbique est utilisé comme étalon positif dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations.

5.2.1. Calcul d'EC₅₀

Lors de l'utilisation de la méthode FRAP, une augmentation de l'absorbance indique un accroissement du pouvoir réducteur du fer par les échantillons testés. Pour comparer ces échantillons, nous calculons l'EC₅₀ (concentration efficace), qui correspond à la concentration d'échantillon nécessaire pour atteindre une absorbance de **0,5** sur les graphes [Absorbances=f(concentrations)] à 700 nm (**Tamuly *et al.*, 2014**).

Partie 03 :
Résultats et interprétations



1. Analyse phytochimique

1.1. Rendement des extraits de *Trigonella foenum-graecum* L.

Les extraits de graines de fenugrec provenant de deux régions choisis : algérienne et indienne, montrent des rendements et des caractéristiques physiques distincts (aspect, couleur, solubilité). Les résultats sont répertoriés dans le **tableau N°5**.

Tableau N°05 : Rendements, et caractéristiques des extraits de graines de deux variétés (algérienne et indienne) de fenugrec.

Extraits	Rendements (%)	Aspect	Couleur	Solubilité
Extrait (E/MeoH) de fenugrec (Inde)	15,45%	Poudre	Jaune	Méthanol et eau distillée
Extrait (E/MeoH) de fenugrec (Algérie)	10,45%	Poudre	Jaune	Méthanol et eau distillée
Extrait chloroformique de fenugrec (Inde)	7,45%	Huile	Couleur miel (marron)	Méthanol et Diméthylsulfoxyde
Extrait chloroformique de fenugrec (Algérie)	15,25%	Huile	Couleur miel (marron)	Méthanol et Diméthylsulfoxyde (DMSO)

D'après les résultats du tableau ci-dessus, nous remarquons que les deux extraits hydrométhanoliques récupérés sont sous forme de poudre de couleur jaune et sont totalement solubles dans le méthanol et l'eau distillée. En revanche, les extraits chloroformiques présentent un aspect huileux de couleur miel marron et sont solubles dans le méthanol et le Diméthylsulfoxyde.

Par ailleurs, nous avons noté des rendements élevés pour les extraits (E/MeoH) de graines fenugrec indienne et même l'extrait chloroformique de graines algérienne avec des pourcentages d'ordre de 15,45 et 15,25% respectivement.

1.2. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits hydro-méthanolique et chloroformique des graines de deux variétés (algérienne et indienne) de fenugrec ont révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires. Les résultats sont présentés dans le **tableau N°06**.

Tableau N°06: Résultat de l'analyse phytochimique réalisé sur les extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L.

Composés / extraits	Extrait (E/MeoH) de fenugrec (Inde)	Extrait (E/MeoH) de fenugrec (Algérie)	Extrait chloroformique de fenugrec (Inde)	Extrait chloroformique de fenugrec (Algérie)
Alcaloïdes	–	–	–	–
Tanins	+	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	–	–
Quinones libres	+	+	+	+
Anthraquinones	–	–	–	–
Terpénoïdes (Test de Slakowski)	-	+	+	+
Saponines	–	–	–	–
Composés réducteurs	+	+	–	–

Les résultats sont interprétés comme suit : (-) réaction négative et (+) réaction positive.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits hydro-méthanoliques et chloroformiques des graines de deux variétés (algérienne et indienne) ont révélé une variété de composés bioactifs. Les extraits hydro-méthanoliques ont montré la présence des tanins, des quinones, des flavonoïdes et des composés réducteurs. En revanche, les terpènes sont spécifiques aux graines algériennes.

Les extraits chloroformiques ont également révélé la présence des tanins, des quinones et des terpènes. Cependant, les saponines, les anthraquinones et les alcaloïdes sont absents dans tous les extraits étudiés.

1.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les concentrations de polyphénols totaux et flavonoïdes dans les extraits des graines de fenugrec de deux variétés ont été déterminées en appliquant les équations de régression linéaire des courbes standards d'acide gallique et de catéchine respectivement (**Figures N°21 et 22**).

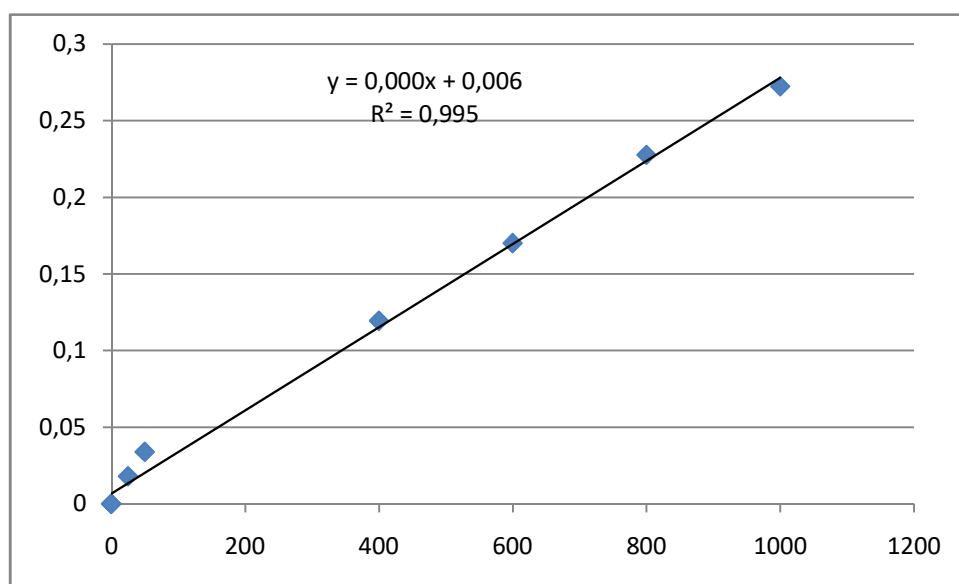


Figure N°21: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

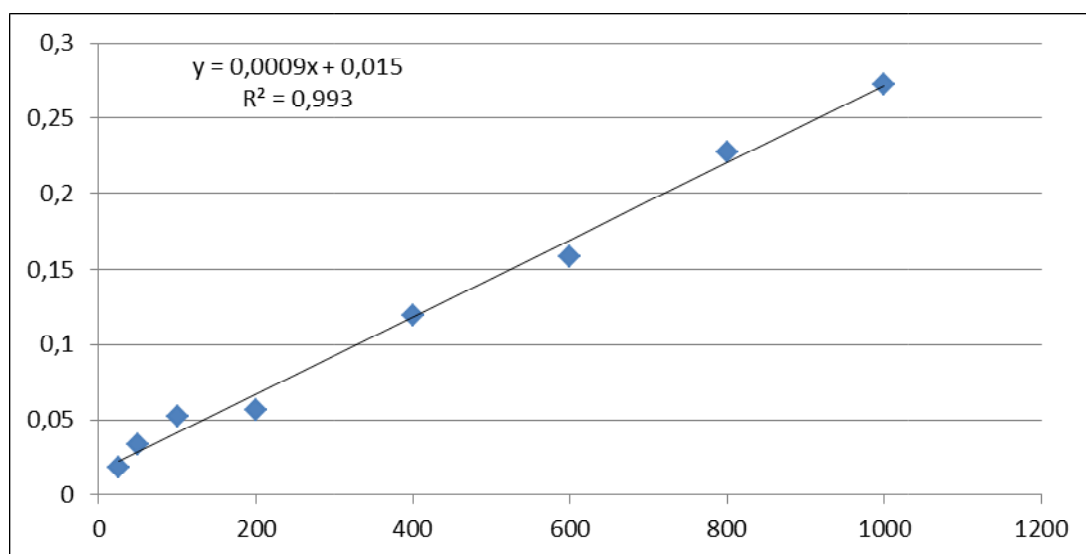


Figure N°22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats des dosages des composés phénoliques sont regroupés dans le **Tableau N°4** :

Tableau N°07: Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L de deux variétés.

Extraits	Teneurs en polyphénols totaux ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$)	Teneurs en flavonoïdes ($\mu\text{g Eq C/ mg ES}$)
Extrait (E/MeoH) de fenugrec (Inde)	137,66\pm0,0287	40,90\pm0,0117
Extrait (E/MeoH) de fenugrec (Algérie)	89,40\pm0,0022	51,83\pm0,0035
Extrait chloroformique de fenugrec (Inde)	37,92\pm0,0140	36,09\pm0,0007
Extrait chloroformique de fenugrec (Algérie)	28,32\pm0,0102	21,125\pm0,0125

Les différentes teneurs en composés phénoliques des extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L de deux variétés ont révélé que l'extrait hydro-méthanolique contient des

concentrations plus élevées de ces composés que l'extrait chloroformique, la teneur la plus élevée a été constatée pour l'extrait des graines indiennes, atteignant 137,66 $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$. En revanche, la teneur la plus basse a été enregistrée pour l'extrait chloroformique des graines de fenugrec algériennes, avec la valeur de 28,32 $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$.

Pour la teneur en flavonoïdes, l'extrait (E/MeOH) des graines algériennes présente le taux le plus élevé, soit 51,83 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$, surpassant celui des graines indiennes, qui est de 40,90 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$. La valeur la plus basse a été relevée pour l'extrait chloroformique des graines de fenugrec algériennes, avec un taux de 21,125 $\mu\text{g Eq C/mg ES}$.

2. L'activité antioxydante

2.1. Piégeage du radical libre DPPH[•]

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum*L par le test de DPPH, a donné les courbes graphiques ci-dessous qui illustrent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque extrait (**Figures N°23 à 26**).

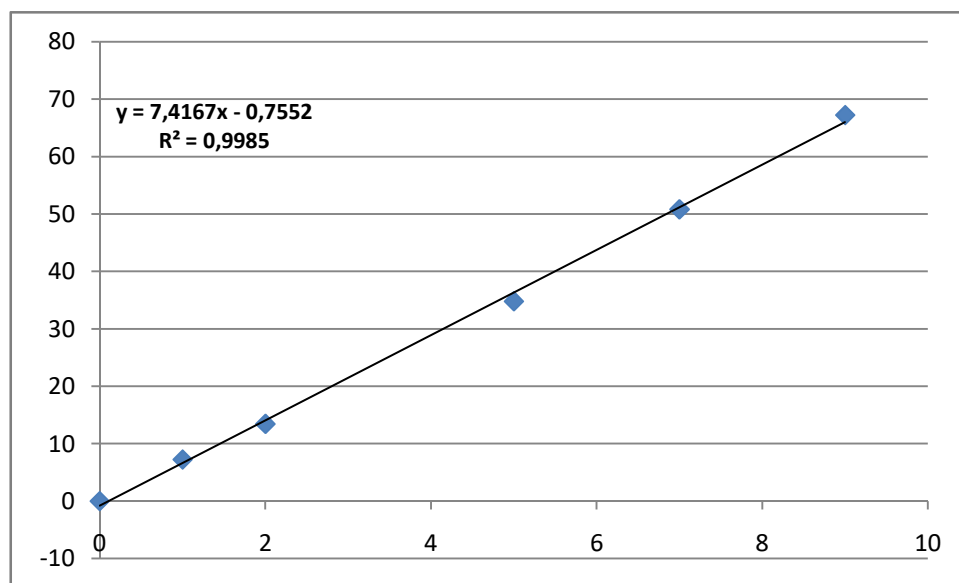


Figure N°23: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] en fonction de différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de fenugrec indienne.

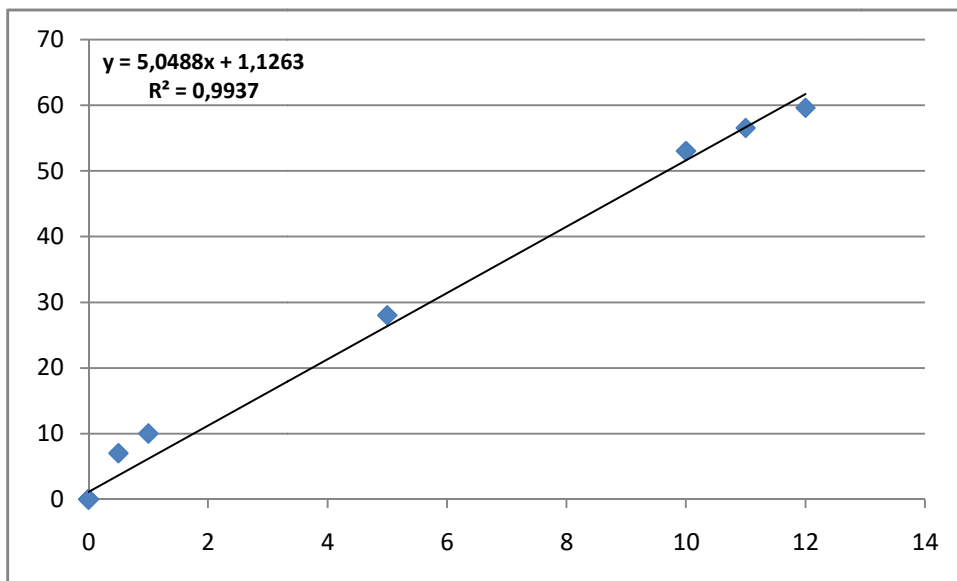


Figure N°24: Pourcentage d’inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l’extrait hydro-méthanolique de fenugrec algérienne.

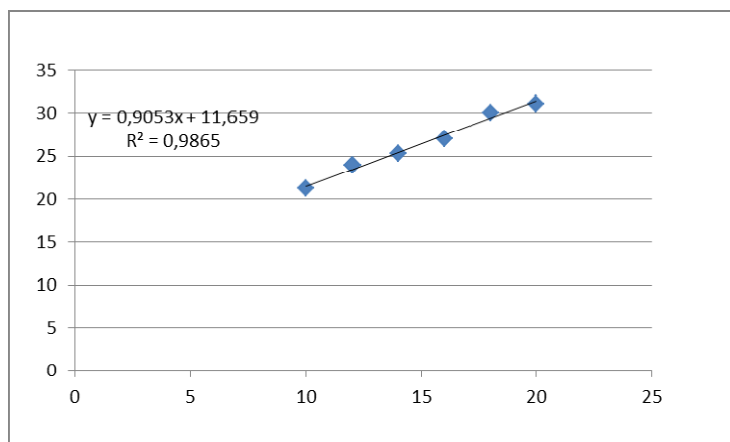


Figure N°25: Pourcentage d’inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l’extrait chloroformique des graines indienne.

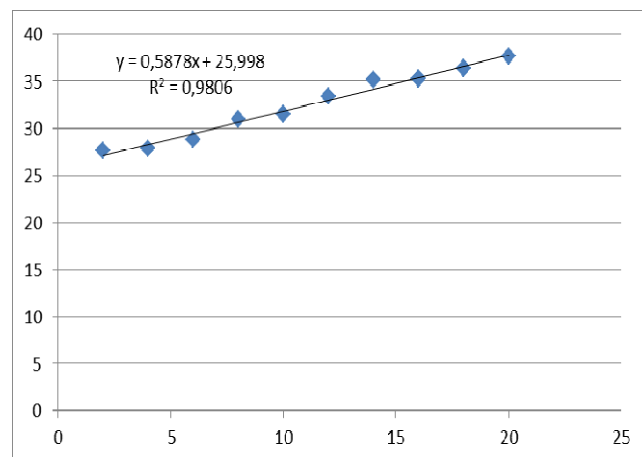


Figure N°26: Pourcentage d’inhibition du radical DPPH• en fonction de différentes concentrations de l’extrait chloroformique des graines algérienne.

La molécule de référence, l'acide ascorbique, utilisée pour piéger le radical libre DPPH[•], présente des pourcentages d'inhibition illustrés dans la **figure N°27**.

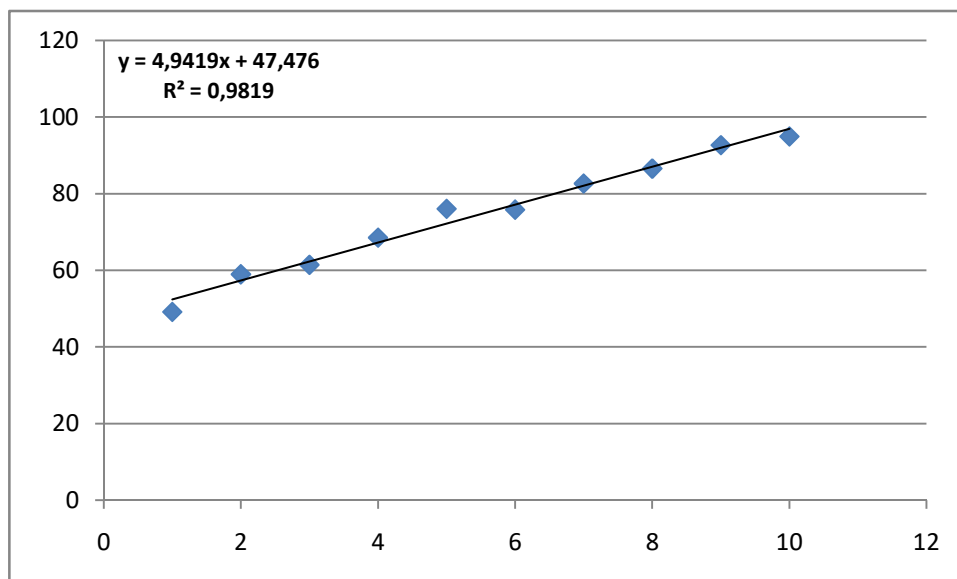


Figure N°27: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique.

À partir des équations des régressions linéaires obtenues, nous avons déterminé les IC_{50} (concentrations qui inhibent 50% du radical libre DPPH[•]) qui sont regroupées dans le **tableau N°08**.

Tableau N°08: Les valeurs d' IC_{50} des extraits Hydro-méthanolique des graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum* L avec la molécule de référence (Acide ascorbique).

Extraits	IC_{50} (mg/mL)
Extrait des grains de fenugrec indienne	6,89
Extrait des grains de fenugrec algérienne	9,85
acide ascorbique	0,51

Selon les données du **tableau N°08**, une valeur faible d'IC₅₀ révèle une forte activité antioxydante. Il est donc crucial de noter que l'acide ascorbique affiche l'activité antioxydante la plus élevée avec une IC₅₀ de 0,51mg/ml.

Les résultats présentés indiquent que l'extrait hydro-méthanolique des graines indiennes possède un pouvoir antioxydant élevé avec une IC₅₀ de 6,89 mg/ml. En revanche, la deuxième variété algérienne du même extrait présente une valeur d'IC₅₀ de 9,85 mg/ml.

Quant aux huiles extraites des graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum* L nous avons remarqué que le taux d'inhibition ne dépassait pas 50% pour chacune des extraits chloroformique à une concentration finale de 20 mg/ml, et nous pouvons dire que l'activité antioxydante est presque inexistante dans l'huile extraite du fenugrec pour les différentes concentrations étudiées.

2.2. Pouvoir réducteur du fer (méthode FRAP)

La capacité des extraits des graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum*L à réduire le fer a été évalué en comparaison avec celle de la molécule de référence : l'acide ascorbique. Les absorbances des différentes concentrations de référence ou des extraits préparés ont été représentées par des courbes de régression linéaire (**Figures N°28à 32**).

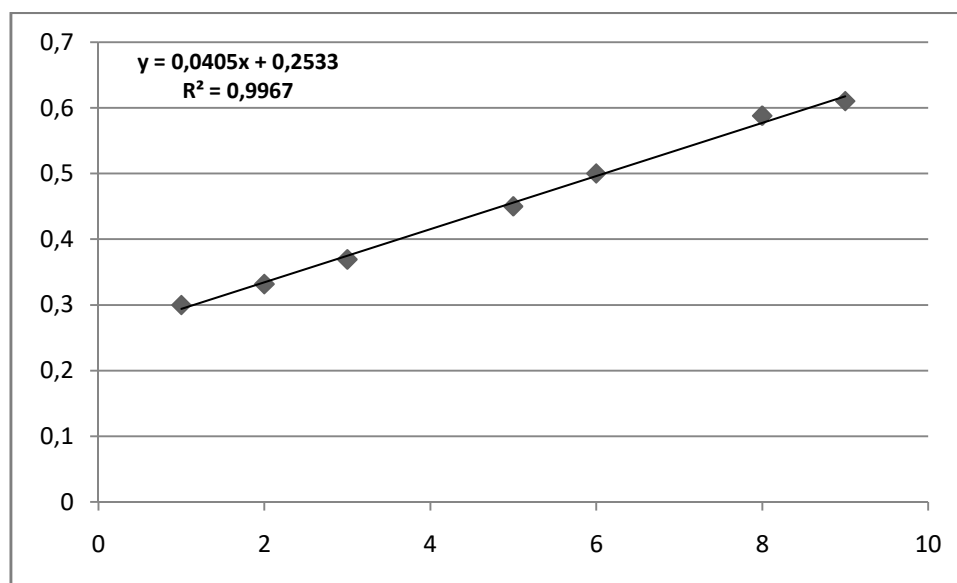


Figure N°28: Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Hydro-méthanolique de fenugrec indienne.

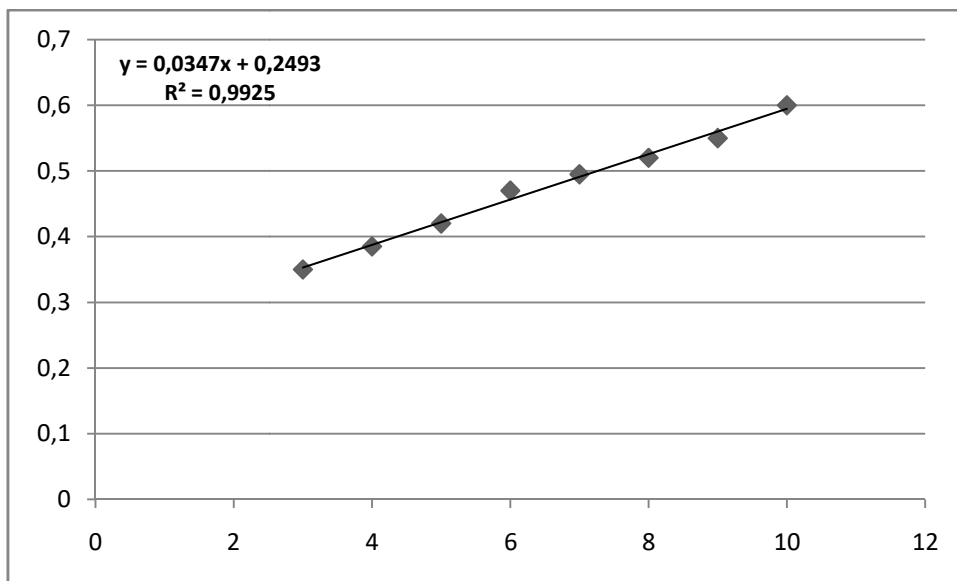


Figure N°29: Pouvoir réducteur du fer par de l'extrait Hydro-méthanolique de fenugrec algérienne.

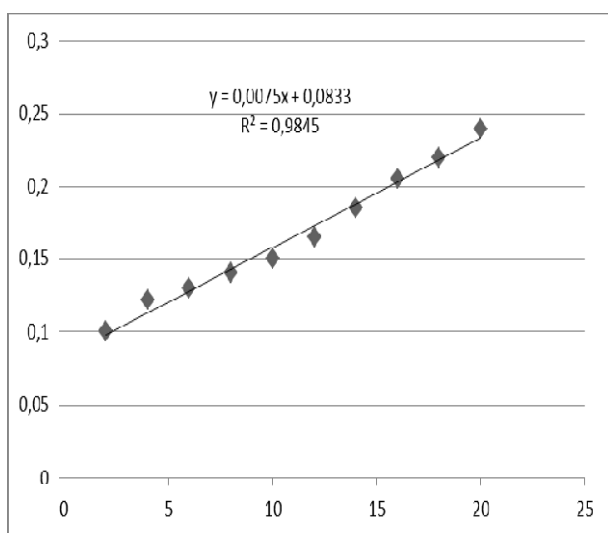


Figure N°30: pouvoir de réduction de fer par l'extrait chloroformique des graines indienne.

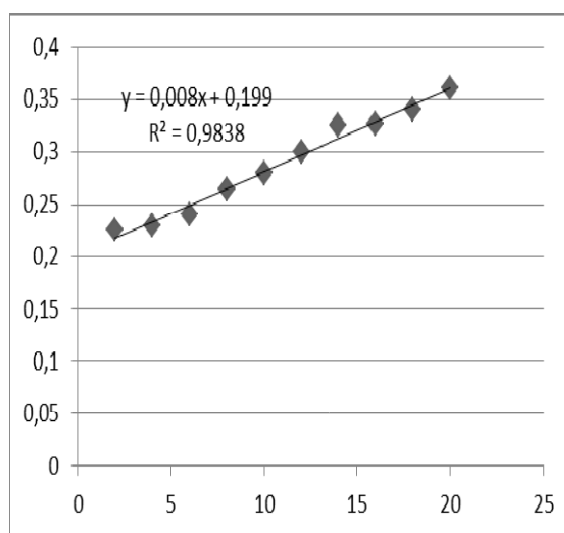


Figure N°31: pouvoir de réduction de fer par l'extrait chloroformique des graines algérienne.

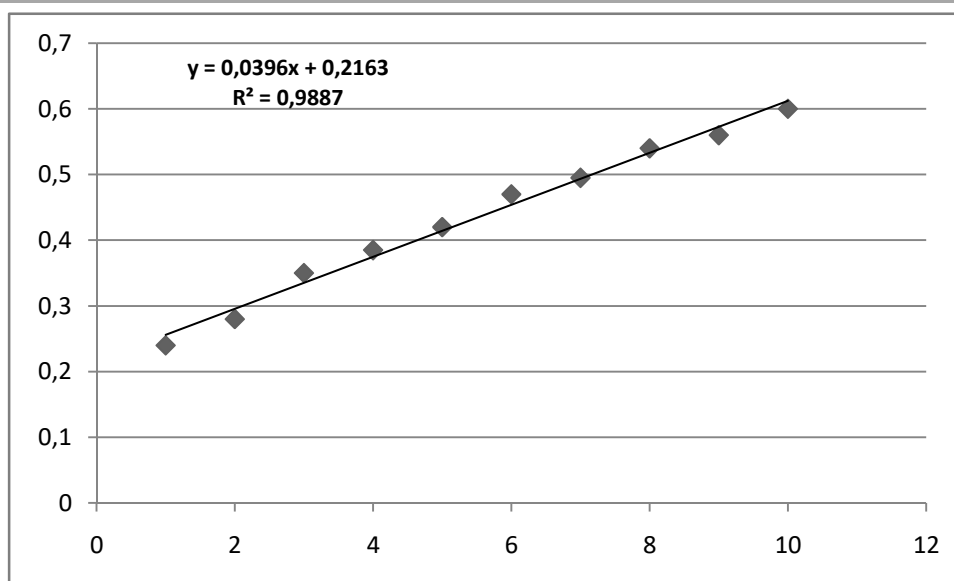


Figure N°32: pouvoir de réduction de fer par l'acide ascorbique.

Les valeurs d'EC₅₀ permettent de quantifier et de comparer l'activité réductrice des extraits par rapport la molécule de référence. Elles sont déterminées graphiquement à partir les courbes de régressions linéaires d'absorbances en fonction des différentes concentrations des extraits étudiés (**Tableau N°09**).

Tableau N°09: Les valeurs d'EC₅₀des extraits Hydro-méthanolique des graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum* L avec la molécule de référence.

Extraits (E/MeoH)	EC ₅₀ (mg/ml)
Extrait des graines de fenugrecindienne	6,20
Extrait des graines de fenugrec algérienne	7,43
Acide ascorbique	0,83

À partir des résultats obtenus, nous avons enregistré un pouvoir réducteur du fer pour l'extrait hudro-méthanolique des graines de fenugrec indienneavec un EC₅₀ égale à 6,20 mg/ml, suivi par le même extrait de la variété algérienne avec un EC₅₀ d'ordre de 7,43 mg/ml. Ces activités restent faibles par rapport à l'acide ascorbique étudié dans les mêmes conditions, qui a enregistré un EC₅₀ d'ordre de 0,83mg/ml.

Selon les résultats présentés dans les **figure N°30 et 31**, il apparaît qu'aucun pouvoir réducteur de fer n'a été observé pour les extraits chloroformique de fenugrec des deux variétés, à différentes concentrations utilisées.

Partie 04 :

Discussion



Les plantes médicinales ont été employées depuis des siècles afin de traiter et apaiser différentes affections. De nos jours encore, elles représentent une source inépuisable de composés bioactifs prometteurs pour la création de nouveaux médicaments (Iserin *et al.*, 2001).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanoliques et chloroformiques préparés par soxhlet pendant 3 heures de deux variétés de graines de fenugrec, à savoir l'algérienne et l'indienne.

Le fenugrec se démarque par ses caractéristiques biologiques remarquables. Il contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines, des glucides, des protéines et des tanins. Plusieurs recherches ont démontré que le fenugrec présente des propriétés antioxydantes, ce qui le rend prometteur pour le traitement des affections nerveuses, du diabète, de l'inflammation et des développements tumoraux. De plus, il a été étudié et discuté de nombreuses propriétés antifongiques, immuno-modulatrices, antidépresseurs et hypolipidémiques (Ghedira *et al.*, 2015).

Le calcul des rendements d'extraction a révélé des pourcentages variables de 15,43 % et 10,45 % pour les extraits hydro-méthanoliques des graines indiennes et algériennes, respectivement. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux obtenus par Benali et Amimoussi en 2022, qui ont noté des rendements de 7 % pour les graines algériennes et de 3 % pour les graines indiennes pour les extraits bruts méthanoliques préparés par macération. De plus, l'étude menée par Mishra et ses collaborateurs en 2016 a rapporté un rendement de 9,2 % pour un extrait méthanolique préparé par Soxhlet, ce qui est relativement inférieur à celui de nos extraits. En revanche, dans une étude menée par Ben Aissi en 2019, l'extrait aqueux des graines de *Trigonella foenum-graecum* L, a présenté un aspect marron foncé avec un rendement plus élevé de 55,24 %, surpassant nos extraits.

Pour les extraits chloroformiques huileux, les rendements obtenus sont de 7,45 % pour les graines Indiennes et de 15,25 % pour les graines algériennes. Ces chiffres dépassent ceux rapportés par Akbari et ses collaborateurs en 2019, qui ont noté un rendement de 5,55 % pour des huiles de graines de fenugrec extraites en utilisant la technique d'extraction Soxhlet avec du l'hexane.

Cette variation dans le rendement peut être due à plusieurs facteurs, notamment la période de récolte, la partie extraite de la plante, la variété de la matière première, la durée de séchage, la méthode d'extraction et la polarité des solvants utilisés.

Les analyses phytochimiques que nous avons menées sur les extraits hydro-méthanoliques et chloroformiques des graines de deux variétés (algérienne et indienne) ont mis en évidence une diversité de composés bioactifs. Les extraits hydro-méthanoliques ont révélé la présence des tanins, des quinones, des flavonoïdes et des composés réducteurs, tandis que les terpènes étaient spécifiques aux graines algériennes. Les extraits chloroformiques ont également révélé la présence des tanins, des quinones et des terpènes. Cependant, les saponines, les anthraquinones et les alcaloïdes étaient absents dans tous les extraits étudiés.

Les analyses phytochimiques réalisées par **Alexander et ses collaborateurs en 2022** sur l'extrait huileux des graines de *Trigonella foenum-graecum* L, ont corroboré nos résultats, confirmant l'absence de flavonoïdes et d'alcaloïdes, ainsi que la présence des terpènes.

De plus les résultats obtenus par **Bouhenni et al., (2017)**, ont confirmé la présence des tanins, des quinones, des flavonoïdes et des composés réducteurs dans les extraits méthanolique des graines de fenugrec.

Une récente étude menée par **Benali et Amimoussi en 2022** a identifié une variété de groupements chimiques dans les extraits aqueux et en poudre des graines des deux variétés, incluant la détection des tanins, des glucosides, des saponosides, des coumarines, des alcaloïdes et des anthocyanes. Les quinones libres ont été détectées uniquement dans des graines indiennes.

Les variations observées dans ces résultats peuvent être attribuées à des facteurs génétiques, climatiques, géographiques, ainsi qu'aux méthodes de récolte et de stockage des graines de fenugrec. De plus, la nature et le volume des solvants.

Le dosage des composés phénoliques, nous a permis de constater que les teneurs les plus élevés en polyphénols totaux sont enregistrées pour l'extrait hydro-méthanolique des graines indiennes, atteignant 137,66 µg Eq AG/mg ES. En revanche, la valeur la plus basse a été enregistrée pour l'huile des graines de fenugrec algériennes, avec 28,32 µg Eq AG/mg ES.

Pour la teneur totale en flavonoïdes, l'extrait (E/MeoH) des graines algériennes présente le taux le plus élevé, soit 51,83 µg Eq C/mg ES, surpassant celui des graines indiennes, qui est de 40,90 µg Eq C/mg ES. La valeur la plus basse a été enregistrée dans l'huile des graines de fenugrec algériennes (21,125 µg Eq C/mg ES).

D'après une étude réalisé par **Attahar et ses collaborateurs en 2021** la quantité des composés phénoliques de extrait huileux de fenugrec, sont de l'ordre de e 30,74 mg Eq AG /g pour les polyphénols totaux et 24,67 mg Eq C /g pour les flavonoïdes.

Benziane et ses collaborateurs en 2019, ont révélé une teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique préparé à partir des graines de fenugrec cultivées en Algérie avec une valeur de 31,7 mg Eq AG / 100 g d'extrait

Selon une étude réalisée par **Benali et Amimoussi en 2022** l'analyse quantitative des extraits de deux variétés de graines de *Trigonella foenum-graecum* L révèle des différences significatives dans les niveaux de composés. Les graines algériennes se distinguent par leur teneur la plus élevée en polyphénols totaux, atteignant 123,13 mg GAE/g Ext, tandis que les graines Indiennes présentent une concentration légèrement inférieure, avec 77,8 mg GAE/g Ext. En ce qui concerne les flavonoïdes, les graines indiennes surpassent les graines algériennes avec une teneur de 81,68 mg EC/g Ext, par rapport à 70,98 mg EC/g Ext pour les graines algériennes.

L'activité antioxydante des extraits de grains a été évaluée par deux méthodes : la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode du pouvoir de réduction du fer (FRAP).

Les résultats ont montré que l'extrait hydro-méthanolique des graines indiennes présente un pouvoir antioxydant élevé avec une valeur IC_{50} de 6,89 mg/ml pour le piégeage du radical DPPH, tandis que la deuxième variété affiche une valeur IC_{50} de 9,85 mg/ml. Cependant, ces valeurs restent inférieures à celle de l'acide ascorbique. Pour le pouvoir réducteur du fer, l'extrait (E/MeOH) des graines de fenugrec indienne a montré le meilleur résultat avec un EC_{50} de 6,20 mg/ml, suivi par l'extrait (E/MeOH) des graines de fenugrec algérienne avec un EC_{50} de 7,43 mg/ml. Ces activités restent modestes comparées à celles de l'acide ascorbique.

En ce qui concerne les huiles extraites des graines des deux variétés de *Trigonella foenum-graecum* L, les taux d'inhibitions et de pouvoir réducteur du fer n'ont pas dépassé les 50% pour chacune, indiquant une activité antioxydante quasiment inexistante dans l'huile extraite du fenugrec aux différentes concentrations testées.

Les résultats de notre étude concernant l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanoliques de fenugrec diffèrent de ceux obtenus par **Bendref en 2021**, qui a évalué l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanolique de fenugrec par les méthodes : DPPH et FRAP. Ils ont noté une IC_{50} de l'ordre de 0,44 mg/ml et une EC_{50} 0,49 mg/ml.

Akbari et al., (2019) ont étudié le pouvoir antioxydant des huiles des graines de fenugrec par le test DPPH, ces huiles ont présenté une forte activité antioxydante, avec une IC_{50} obtenue de l'ordre de 172,6 μ g/ml, nettement inférieure à celle du standard (BHT) avec une IC_{50} de 0,0042 mg/ml. Le résultat du pouvoir antioxydant obtenu par FRAP a montré une activité très

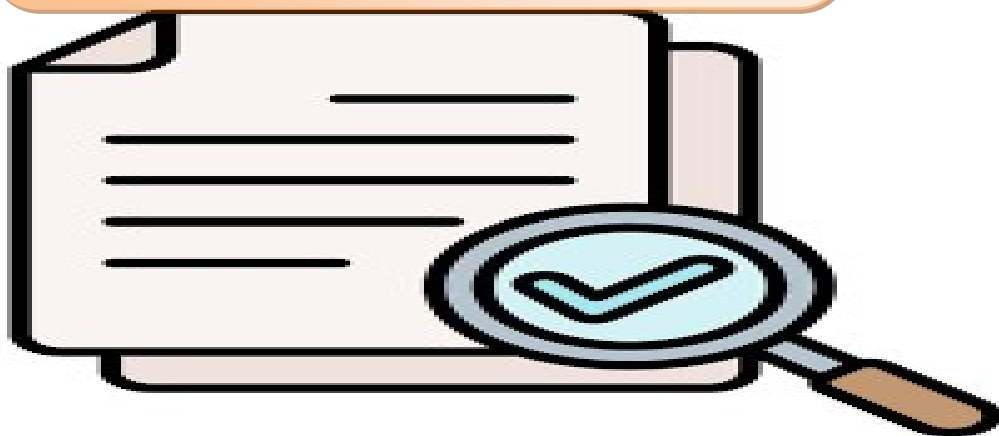
faible, avec une valeur d'EC₅₀ de 0,15 mg /ml, en comparaison à la molécule standard (BHT), qui a noté avec une valeur d'EC₅₀ égale à 0,007 mg/ml. Les résultats de notre étude diffèrent notablement de ceux d'**Akbari**, cette divergence peut être attribuée à plusieurs facteurs.

Priya et al., (2011) ont rapporté que l'extrait hydro-méthanolique de *Trigonella foenum graecum* L d'origine indienne présentait une puissante activité de piégeage des radicaux DPPH avec une IC₅₀ de 350 µg/ml.

Selon l'étude de **Bakli en 2020**, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux des graines de fenugrec ont enregistré une EC₅₀ de l'ordre de 5,09 mg/ml et 4,27 mg/ml respectivement.

Les variations constatées dans les résultats de l'activité antioxydante des extraits de fenugrec peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment l'origine des graines, la méthode d'extraction utilisée, la concentration des composés actifs, ainsi que les techniques d'évaluation employées. Il est crucial de standardiser les protocoles de recherche pour faciliter une comparaison plus précise des données entre différentes études (**Trabelsi, 2010**).

Partie 05 :
Conclusion et perspectives



Les plantes aromatiques et médicinales occupent une place de choix dans l'arsenal thérapeutique et dans divers domaines depuis des siècles. Leur richesse en composés bioactifs leur confère des propriétés biologiques remarquables qui suscitent un intérêt grandissant aujourd'hui.

Notre étude a porté sur l'analyse phytochimique des extraits hydro-méthanoliques et chloroformiques des graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L*) provenant d'Algérie et d'Inde.

Les résultats ont révélé que les extraits hydro-méthanoliques des graines de fenugrec, qu'ils soient d'origine algérienne ou indienne, contiennent des composés efficaces agissant comme des antioxydants, notamment les tanins, les flavonoïdes et les quinones libres, tandis que les extraits chloroformiques huileux ont moins riches en ces composés.

Concernant des tests d'activité antioxydante, les résultats ont démontré que les extraits hydro-méthanoliques des graines de fenugrec indien ont présenté une capacité plus élevée à piéger le radical DPPH[•] et à réduire le fer par rapport à ceux des graines algériennes, bien que cette activité reste inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Ce travail constitue une étape dans l'exploitation des plantes médicinales à activité antioxydante. Cependant, d'autres recherches sont nécessaires pour compléter cette étude, notamment :

- ✓ L'exploration de méthodes d'extraction supplémentaires pour améliorer la récupération des composés bioactifs.
- ✓ L'investigation *in vivo* de l'activité antioxydante afin d'évaluer l'efficacité des extraits dans des contextes biologiques.
- ✓ L'évaluation d'autres activités biologiques telles que les activités hémolytiques, antidiabétiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.
- ✓ La caractérisation phytochimique des composés phénoliques des extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum L* en utilisant des méthodes plus avancées comme la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse ou à la résonance magnétique nucléaire (RMN).

Références bibliographiques

A

- **Achat, S., Chibane, M., Dangles, O. (2013).** Polyphénols de l'alimentation ; extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec les ions métalliques. Thèse de Doctorat : Sciences Alimentaires. Université A. Mira-Bejaia.
- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- **Akbari, C., Mohd Yunus, N., Ruth Alara, O., Abayomi, O. (2019).** Extraction, caractérisation et activité antioxydante du fenugrec (*Trigonella-Foenum Graecum*) huile de graines, 2(2), 349-355
- **Alexander, E. O., Anthony, A. U., Ruth, A., & Augustine, J. J. (2022).** Phytochemical Screening, Antimicrobial Activities and Gas Chromatography Profile of the n-Hexane extract of *Trigonella foenum-graecum* Seed Oil. *International Journal of Research and Innovation in Applied Science*, 7(11), 34-42.
- **Amarowicz, R., Estrella, I., Hernández, T., Robredo, S., Troszyńska, A., Kosińska, A., Pegg, R. B. (2010).** Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food chemistry*, 121(3), 705-711.
- **Anand, S., Sowbhagya, R., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Alomary, M. N., Almalik, A. I., Elderderly, A. Y. (2022).** Polyphenols and their nanoformulations: Protective effects against human diseases. *Life*, 12(10), 1639.
- **Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal T K, Bendre R S, Lavekar S, Dabur R. (2009).** Natural products- antifungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res*: 11,7:626-638.
- **Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112(2), 303-309.
- **Attahar, W., Mohamed Abdoul-Latif, F., Mohamed, J., Ouassil, M., El Yaacoubi, A., Ainane, A., & Ainane, T. (2021).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Trigonella foenum-graecum* essential oil from the region of Settat (Morocco). *Journal Pharmarnlogy Oiline*, (7), 434-4422.
- **ATTI I, (2014).** Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices «Ras el hanout ». mémoire de Master, Université KASDI MERBAH Ouargla.

B

- **Bakli S, (2020).**Activité antimicrobienne, antioxydant et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif 1 ,p :14-149.
- **Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. M/S: médecine sciences, 22(3), 266-272.
- **Barpete, S., Oğuz, M. C., Özcan, S. F., Anayol, E., Ahmed, H. A., Khawar, K. M., & Özcan, S. E. B. A. H. A. T. T. İ. N. (2015).** Effect of temperature on germination, seed vigor index and seedling growth of five Turkish cotton cultivars.Fresenius Environmental Bulletin, 24(8), 2561-2566.
- **Baudin, B. (2006).** Oxidative stress and cardiovascular pathology. MT Cardio, 2(1), 43-52.
- **Ben Aissi, H. (2019).**Evaluation des activites biologiques de l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum*.Microbiologie et Biochimie.Mohemmed Boudiaf, M'sila
- **Benali, R., Amimoussi, H. (2022)** .Etude nutraceutique du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) d'origineAlgérienne et Indienne.Mémoire de Master ,Université de Bida 1.
- **Bendref, Z. (2021).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de *Trigonella foenum graecum* L.(Mémoire de master).universitéAbdelhamid Ben Badis
- **Benziane, M. NA. Acem. K. Aggad. H. & Abdali, M. (2019)** Phytochemistry, HPLC profile and antioxidant activity of aqueous extracts of fenugreek (L.) seeds grown in arid zones of Algeria. Acta Scientifice Naturalis, 6(2), 71-87.
- **Bessas, A., Benmoussa, L., & Kerarma, M. (2008).**Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie, faculté des sciences, Université Djillah Liabes, Sidi Bel Abbes, Algérie, 81.
- **Bezzaz, N. (2014).** Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magistère : chimie organique. Université de M SILA. Algérie.
- **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004).** New lanthanide complexes of 4 methyl hydroxy coumarin and their pharmacological activity. Clinical Pharmacology and Therapeutics. p50, 120-123.
- **Bouaziz, A. L. (2014).** Identification de métabolites secondaires des plantes. Thèse de doctorat, Université de Lyon.

Références bibliographiques

- **Bougandora, N. (2011).** Pouvoir antioxydante et anti microbien des extrait d'espèces végétales *Saturja calaminthass pnetta* (nabta) et *Ajuga iva* L,(chendgoura) de l'ouest d'Algérie (Thèse de Magistère), faculté des Sciences, Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen. p125.
- **Bouhenni, S., Azzi, L., & Zaghdoudi, M. (2017).** Phytochemical characterization and antioxidant activity of extracts from *Trigonella foenum-graecum* L. seeds. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21(5), 687-694.
- **Boutaghane, N., Kabouche, Z., & Voutquenne, L. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina Spach* (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae). Thèse de Doctorat Université de Constantine 1. faculté des sciences exactes.
- **Bramki, A., & Nekia, B. (2016).** Recherche des métabolites secondaires du champignon Algérien *Pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antibactérienne Mémoire fin d' étude . Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Bruneton, J. (1999).** **Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*, 2nd ed., *Intercept Limited*, London pp. 519-520.

C

- **Cai, L Y., Shi, Fx., Gao X. (2011).** Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum*(L) Merr. *Journal of Medicinal Plants Research* (5). 4059-4064
- **Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3). consequence. *Free Radic Res Commun*, 19(3), 141–158.
- **Crozier, A., Clifford, M.N., & Ashihara, H. (2006).** Plant secondary metabolites. Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, Blackwell-Publishers.

D

- **Dallas, C., Gerbi, A., Tenca, G., Juchaux, F., & Bernard, F. X. (2008).** Lipolytic effect of a polyphenolic citrus dry extract of red orange, grapefruit, orange (*SINETROL*) in human body fat adipocytes. Mechanism of action by inhibition of cAMP-phosphodiesterase (PDE). *Phytomedicine*, 15(10), 783-792.

Références bibliographiques

- **De Moffarts, B., Kirschvink, N., Pincemail, J., & Lekeux, P. (2005).** Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. In Annales de médecine vétérinaire (Vol. 149, No. 1). Annales Medecine Veterinaire.
- **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. (2003).** Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society, 80:65-70 .
- **Delattre, J.; Beaudoux, J.-L.; Bonnefort-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspect biologique et patologie . Lavoiviser édition TEC &DOC édition médicales international paris , 335-376.
- **Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life sciences, 65(4), 337-353. doctorat. Université Toulouse.
- **Dontha, S. (2016).** A review on antioxidant methods. Asian J. Pharm. Clin. Res, 9(2), 14-32.

E

- **Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., & Liu, R. H. (2000).** Antioxidant activity of fresh apples. Nature, 405(6789), 903-904.
- **El-Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A. (2012).** Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. Phytothérapie, 5(10), 280-285.

F

- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10), 863-832.
- **Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. In Annales pharmaceutiques françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- **Ferrari, J. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "*Gnidia involucrata*" Steud. ex A. Rich (Doctoral dissertation, Université de Lausanne).
- **Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. nature, 408(6809), 239-247.

Références bibliographiques

- **Fontaine, É. (2007).** Radicaux libres et vieillissement. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 42(2), 110-115.
- **Fournier, J. (2001).** Découverte des alcaloïdes. Des marqueurs pour l'histoire de la chimie organique. Revue d'histoire de la pharmacie, 89(331), 315-332.

G

- **Gardés-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh., Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène .L'actualité Chimique, 91 – 96.
- **Garrel, C., & Bigard, X. (2017).** Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. Nutrition du sportif, 151-196.
- **Ghareeb D., Sarhan EME.** Role of oxidative stress in male fertility and idiopathic infertility: causes and treatment. Sci tech J, 2014, 5:23-29.
- **Ghedira, K., Goetz, P. L. J. R., & Le Jeune, R. (2010).** Fenugrec: *Trigonella foenum-græcum* L.(Fabaceae ex. Leguminosae). Phytothérapie, 8, 180-184.
- **Ghedira, K., Goetz, P. L. J. R., & Le Jeune, R. (2010).** Fenugrec:*Trigonella foenum-græcum* L.(Fabaceae ex. Leguminosae). Phytothérapie, 8, 180-184.
- **Graini D., Boulguergour A. (2022).** Intérêt des antioxydants naturels dans l'alimentation humaine, Mémoire de master. Université de Constantine.
- **Gutteridge, J.M.C. (1993).** Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free Radical Research Communications, 19, 141-158.doi.org/10.3109/10715769309111598.

H

- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. Revue médicale de Liège, 62(10).
- **Halliwell, B. (1990).** How to characterize a biological antioxidant. Free Radic ResCommun, 9(1), 1-32.
- **Harborne, A. J. (1998).** Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. springer science & business media.
- **Harborne, J. B. (1997).** Recent advances in chemical ecology. Natural product reports, 14(2), 83-98.

Références bibliographiques

- **Heinrich, M., Barnes, J., Prieto-Garcia, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2017).** Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy: Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy E-Book. Elsevier Health Sciences.
- **Hina , F., Shahid, M., Pruitt, C., Pung, M. A., Mills, P. J., Riaz, M., & Ashraf, R.(2022).** Chemical fingerprinting, antioxidant, and anti-inflammatory potential of hydroethanolic extract of *Trigonella foenum-graecum*. *Antioxidants*, 11(2), 364
- **Hoffmann, L. L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase. (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur-Strasbourg I).
- **Hopkins. W. G, (2003):** Molécules et métabolismes In physiologie végétal. De Boeck et Lacier (S.a). PP: 268-282.

I

- **Igor Passi L-B.(2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxylo_des Lam.* (Rutaceae). Thèse de pharmacie. Université de Bamako
- **Ionescu, A. M., & Roman, G. V. (2013).** Research on biology, productivity and yield quality of *Trigonella foenum-graecum L.* species (fenugreek) in the central part of the South Romanian Plain : 395-397.
- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., Botrel, A. (2001).** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Editions Larousse, Paris, 15
- **Ivanova, I., Dimitrova, M., & Ivanov, G. (2020).** Antioxidant capacity of yoghurt fortified with polyphenol extract from strawberry pomace. *Journal of Hygienic Engineering & Design*, 33.

J

- **Jhajhria, A., & Kumar, K. (2016).** Fenugreek with its medicinal applications. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 41(1), 194-201.

K

- **Kamatou, GPP, Van Zyl, RL, Van Vuuren, SF, Figueiredo, AC, Hubert, A and Dorota Kr, 2017.** Food Preservatives from Plants. Chapter 3, Food Additives, Edited by Desiree Nedra
- **Karumi, Y. (2004).** Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.
- **Khan A.M., Qureshi R.A., Ullah F., Gilani S.A., Nosheen A., Sahreen S. (2011).** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5 : 6017-6023.
- **Kleinrichert, K., & Alappat, B. (2019).** Comparative analysis of antioxidant and anti-amyloidogenic properties of various polyphenol rich phytoceutical extracts. *Antioxidants*, 8(1), 13.

L

- **Leroy, P. (2016).** Les composants du stress oxydant et les radicaux libres. *Hegel*, 6(2), 218-219.
- **Lhuillier, A. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse,
- **Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015).** The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26087-26124.
- **Lugasi, A. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- **Lutte U.,Kinge M, Bauer G. (2002).** Botanique 3 Ed : Technique et documentation Lavoisier, Paris, p.211.

M

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Res.* 2, 77-82.
- **Marouf, A., & Reynaud, J. (2007).** La botanique de A à Z: 1 662 définitions. Dunod.352 pages. ISBN : 2100528300, 9782100528301.
- **Marreiro, D. D. N., Cruz, K. J. C., Morais, J. B. S., Beserra, J. B., Severo, J. S., & De liveira, A. R. S. (2017).** Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24.
- **Meghwal, M., & Goswami, T. K. (2012).** Effect of moisture content on physical and textural properties of fenugreek seeds. *Food In: Global Science Books*, 6(1), 14-21.
- **Merghem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine éditions, 95-121.
- **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- **Mishra, R., Mandloi, S., Yadav, N., & Choithani, J. (2016).** phytochemical analysis of *Trigonella foenum graecum* and its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, 5:1408-1423.

N

- **N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).
- **Neelakantan, N., Narayanan, M., de Souza, R. J., & van Dam, R. M. (2014).** Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) intake on glycemia: a meta-analysis of clinical trials. *Nutrition journal*. 13, 1-11.
- **Nimse, S. B., & Pal, D. (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.

O

- **Oloyede, O. I. (2005).** Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 4(6), 379-381.

Références bibliographiques

- **OMS (Organisation mondiale de la Santé) (2013).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Genève .Organisation mondiale de la Santé.
- **Oueslati, H. A., & Ghédira, K. (2015).** Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum*. *Phytothérapie*, 13, 234-238.

P

- **Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C.Huang, F. (2008).** Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *Food chemistry*, 106(3), 1264-1270.
- **Pandian, R. S., Anuradha, C. V., & Viswanathan, P. (2002).** Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 81(3), 393-397.
- **Peter H., Raven R., Franklin E., Susan E.E. (2003).** *Biologie végétale*, De Boeck Université, 968 p.
- **Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015).** Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30, 11-26.
- **Pisoschi, A. M., Cheregi, M. C., & Danet, A. F. (2009).** Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules*, 14(1), 480-493.
- **Priya, V., Jananie, R. K., & Vijayalakshmi, K. (2011).** GC/MS determination of bioactive components of *Trigonella foenum grecum*.(5),35–40.
- **Putnam, C. D., Arvai, A. S., Bourne, Y., & Tainer, J. A. (2000).** Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *Journal of molecular biology*, 296(1), 295-309.

R

- **Rahmani, M., Toumi-Benali, F., Hamel, L. , M. M. Dif.(2015).**Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* L. *Phytothérapie*. DOI : 10.1007/s10298-015-0964-9.

Références bibliographiques

- **Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J., & Frei, B. (1999).** Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxohistidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2), 90-98.

S

- **Saidi, I., 2019.** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des Fabaceae: *Gleditsiatriacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat en Science biologique, Option Enzyme, Microorganismes et Bio-industries. Université Djillali Liabès – Sid Bel Abbès
- **Samarth, R. M., Panwar, M., Kumar, M., Soni, A., Kumar, M., & Kumar, A. (2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. *Food chemistry*, 106(2), 868-873.
- **Sheicklar, A. (2013).** *Trigonella foenum-graecum* L.(Fenugrec) as a Medicinal Herb in Animals Growth and Health. *Science international*, (1) 6,194-198.
- **Sies, H. (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine*, 91(3), S31-S38.
- **Singh, P., Vishwakarma, S. P., & Singh, R. L. (2014).** Antioxidant, oxidative DNA damage protective and antimicrobial activities of the plant *Trigonella foenum-graecum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(12), 2497-2504.

T

- **Tamuly, C., Hazarika, M., Bora, J., & Gajurel, P. R. (2014).** Antioxidant Activities and Phenolic Content of *Piper wallichii* (Miq.) Hand.-Mazz. *International journal of food properties*, 17(2), 309-320.
- **Tejaswini, B. A., Sireesha, C., Kaladhar, K., Rao, D. G., & Surekha, C. (2012).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of *Trigonella foenum-graecum* seeds. *Asian Journal of Chemistry*, 24(11), 5019.
- **Teuscher E, Anton R, Lobsteine A, (2005) :** plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Cologne, Konemann, pp243-244.
- **Tiran, D. 2003.** The use of fenugreek for breast feeding women. *Complement Ther. Nurs. Midwifery*, 9(3): 155-156.

Références bibliographiques

- **Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Bourgou, S., Hajlaoui, H., Abdely, C. (2010).** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the African. *Journal of biotechnology*, 7(12), 1797-1806.

V

- **Verpoorte, R., & Alfermann, A. W. (Eds.). (2000).** Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Springer Science & Business Media.
- **Victor, E. O., Emmanuel, O. A., Unuigbohai, A., & Chiamaka, E. C. (2023).** Histopathology Review of Free Radicals *Journal of Biological Sciences and Bioconservation*, 15: 2277-0143
- **Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Štefan, M. B., Alegro, A., Kőszegi, T., & Petrik, J. (2011).** Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules*, 16(2), 1454-1470.

W

- **Wu, J. Q., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013).** Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 200-206.

Y

- Yadav, U.C., Baquer N. Z. (2014).** Pharmacological effect of *Trigonella foenum graecum* L, in health and disease. *Pharmaceutical biology*, 52 (2), 243-254.

Z

- **Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996).** Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRAE Productions Animales*, 9(3), 167-179.
- **Zoete, V. (1999).** Design, synthèse et étude des propriétés antioxydantes de 4-mercaptopimidazoles dérivés des ovolthiols (Doctoral dissertation), université Lille1.