



UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS – MOSTAGANEM  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

## Mémoire de fin d'études

Présenté par

**BENDREF Zineb**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master en science biologique**

Option : pharmacotoxicologie

**Étude phytochimique et évaluation de l'activité  
antioxydante de l'extrait de *Trigonella foenum  
graecum* L.**

Soutenu le : juillet 2021

Devant le Jury :

Mme. Benhamimed El attafia	<i>Présidente</i>	Univ. Mostaganem
Mme. Missoun Fatiha	<i>Examineur</i>	Univ. Mostaganem
Mme. Amari Nesrine Ouda	<i>Promotrice</i>	Univ. Mostaganem

# *Remerciement*

*Nous remercions Dieu, le Tout Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné la force et le courage de mener à bien ce travail.*

*Nous nous adressons nos plus sincères remerciements en particulier à notre promoteur **Dr. Amari.N** pour son acceptation de nous encadrer.*

*Merci d'être là et de l'aider tout au long de ce modeste travail, bons conseils, contributions formidables, critiques constructives, Patience et compréhension*

*Nous remercions aussi les **responsables du laboratoire de biochimie** pour leur gentillesse et leurs soutiens.*

*Nous tenons à remercier profondément tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif.*

*C'est avec amour, respect et gratitude que je dédie ce modeste travail :*

*A Mon chère qui vive au fond du mon cœur mon père, que Dieu ait pitié de lui.*

*A Ma source de nostalgie ma mère.*

*A mes chers frères pour vos encouragements qui m'ont été d'un grand soutien. Vous vous êtes montrés de bons conseils.*

*Zineb*

# *Table des matières*

**Table des matières**

Liste des tableaux	
Listes des abréviations	
Introduction générale	1
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Les plantes médicinales</b>	3
I.1. Les plantes médicinales .....	3
I.1.1. Cueillait et séchage .....	3
I.1.2. Conservation des plantes médicinales .....	3
I.1.3. Médicaments à base de plantes .....	4
I.1.4. Principales préparations de remèdes à base de plantes médicinales .....	4
II.1.4.1. Infusion .....	5
II.1.4.2. Macération .....	5
II.1.4.3. Décoction .....	5
I.1.4.4. Poudre .....	5
II.1.4.5. Les compresses et les cataplasmes .....	5
I.2. La phytothérapie .....	5
I.2.1. Historique de la phytothérapie .....	5
I.2.2. Définition de la phytothérapie .....	6
I.2.2.1. Une pratique traditionnelle ou classique .....	6
I.2.2.3. Une pratique basée sur les avancées scientifiques .....	6
I.2.3. Différents types de la Phytothérapie .....	6
I.2.3.1. Aromathérapie .....	6
I.2.3.2. Gemmothérapie .....	6
I.2.3.3. Herboristerie .....	7
I.2.3.4. Homéopathie .....	7
I.2.4. Principes actifs .....	7
I.2.5. Notion de totum .....	7
I.2.6. Phytothérapie en Algérie .....	8
<b>I.2.7. Avantages de la phytothérapie .....</b>	<b>8</b>
I.2.7. Inconvénients de la phytothérapie .....	9
I.2.8. Précautions d'emploi .....	9
<b>Chapitre II : Le stress oxydant</b>	10
II.1. Identification .....	10
II.2. Les radicaux libres .....	10
II.2.1. Définition des radicaux libres .....	10
II.2.2. L'origine des radicaux libres .....	11
II.3. Conséquences du stress oxydant .....	11
II.3.1. Oxydation de l'ADN .....	11
II.3.2. Oxydation des protéines .....	12

II.3.3. Oxydation des lipides .....	12
II.4. Antioxydants.....	12
II.4.1. Antioxydants endogènes .....	13
II.4.1.1. Antioxydants enzymatiques .....	13
La superoxyde dismutase .....	13
La catalase .....	13
Les glutathions peroxydases et réductases .....	13
II.4.1.2. Antioxydants non enzymatiques .....	14
La vitamine E .....	14
L'acide ascorbique ou vitamine C .....	15
Le glutathion (GSH) .....	15
Les caroténoïdes .....	16
Les polyphénols .....	16
II.4.2. Antioxydants exogènes .....	17
II.4.3. Les antioxydants synthétiques .....	17
II.5. Mécanisme d'action des antioxydants .....	17
II.5.1. Mécanisme d'action des antioxydants piègeurs.....	17
II.5.2. Mécanisme d'action des antioxydants préventifs .....	18
<b>Chapitre III : <i>Trigonella foenum graecum</i> L.</b> .....	19
III.1. Historique.....	19
III.2. Systématique de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. ....	20
III.3. Distribution géographique de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. ....	20
III.4. Botanique .....	21
III.5. Composition Phytochimie .....	22
III.6. L'effet thérapeutique de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	23
III.7. Propriétés du Fenugrec.....	23
III.7.1. Propriétés antioxydantes .....	23
III.7.2. Propriétés anti-inflammatoires et hepatoprotective.....	23
III.7.3. Propriétés antimicrobiennes .....	24
III.7.4. Propriétés anti-tumorales .....	24
III.7.5. Propriétés anti-cancérogènes .....	24
III.7.6. Propriétés hypocholestérolémiantes .....	24
III.7.7. Propriétés hypoglycémiantes .....	24
III.7.8. Autres propriétés du Fenugrec .....	25

III.7.8.1. Le Fenugrec est nutritif et anabolique .....	25
III.7.8.2. Le Fenugrec est un apéritif et digestif .....	25
III.7.8.3. Le Fenugrec est un galactagogue .....	25
III.8. Nutrition .....	25
<b>Etude expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériels et Méthodes</b> .....	26
I.1. L'objectif.....	26
I.2. Matériels et méthodes .....	26
I.2.1. Matériels .....	26
I.3. Méthode .....	26
I.3.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique (EHM) .....	26
I.3.1.1. Calcul du rendement .....	26
I.3.2. Analyses phytochimique.....	27
I.3.2.1. Dosage des phénols totaux.....	27
I.3.2.2. Dosage des Flavonoïdes .....	28
I.3.3. Evaluation, <i>in vitro</i> , de l'activité antioxydante .....	29
I.3.3.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH .....	29
I.3.3.2. Test de réduction du radical-cation ABTS <sup>+</sup> .....	31
I.3.3.3. Test de FRAP .....	34
I.3.4. Le calcul de l'IC50 .....	35
I.3.5. Analyses statistiques .....	35
<b>Chapitre II : Résultats</b> .....	35
II.1. Rendement en extraits .....	35
II.2. Teneur en phénols totaux .....	35
II.3. Teneur en flavonoïdes .....	35
II.4. Activités antioxydants .....	36
II.4.1. L'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH .....	36
II.4.2. Test ABTS .....	38
II.4.3. Test de FRAP .....	40
II.5. Corrélation.....	42
<b>Chapitre III : Discussion</b> .....	44
<b>Chapitre IV : Conclusion</b> .....	48
Références bibliographiques.....	49
Annexe	

# *Liste des figures*

Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	Sites de production intracellulaire extracellulaire des ERO.....	11
<b>Figure 2 :</b>	Schéma de différentes formes de ROS.....	12
<b>Figure 3 :</b>	Mode d'action des principaux systèmes enzymatique antioxydants (Descamps,2004).....	14
<b>Figure 4 :</b>	Elimination des radicaux libres par le vit. E, la vit. C et le glutathion (Ashor et al., 2016) .....	15
<b>Figure 5 :</b>	Système de défense antioxydant (Enzymatique et non-enzymatique) (Mazzetti et al., 2015) .....	16
<b>Figure 6 :</b>	Plante et graines de <i>Trigonella foenum graecum</i> L.....	19
<b>Figure 7 :</b>	Répartition géographique de <i>T. foenum-graecum</i> L .....	21
<b>Figure 8 :</b>	La trigonelline présente dans les graines de fenugrec et la vitamine PP dont elle est le précurseur (Bruneton, 2016) .....	22
<b>Figure 9 :</b>	Protocole de dosage des phénols totaux ((Milliauskas et al., 2004).....	28
<b>Figure 10 :</b>	Protocole du dosage des flavonoïdes (Chang et al., 2002).....	29
<b>Figure 11 :</b>	Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait hydro méthanolique de <i>T. foenum-graecum</i> L. par la méthode de DPPH (Zuraini et al., 2008).....	31
<b>Figure 12 :</b>	Protocole d'étude de l'activité de l'ABTS+(Huang et al., 2011) ...	33
<b>Figure 13 :</b>	Protocole d'étude de l'activité de FRAP (Benzie et Strain ,1996) .....	35
<b>Figure 14 :</b>	Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de <i>T.foenum greacum</i> L.....	38
<b>Figure 15 :</b>	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.....	38

<b>Figure 16 :</b> Pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait de <i>T.foenum greacum</i> L.....	40
<b>Figure 17 :</b> Courbe d'étalonnage de Trolox.....	40
<b>Figure 18 :</b> Absorbance de FRAP en fonction des concentration d'extrait hydro-méthanolique de <i>T.foenum greacum L</i> .....	42
<b>Figure 19 :</b> Courbe d'étalonnage de FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O.....	42

# *Liste des tableaux*

Liste des tableaux

**Tableau 1 :** Principaux radicaux libres et leur structure chimique (Haton, 2005) .....10

**Tableau 2 :** Classification de la plante *Trigonella foenum-graecum* L. (inpn, 2015) .....20

**Tableau 3 :** Les teneurs en phénols totaux et les flavonoides de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.....37

**Tableau 4 :** Concentration d'inhibition IC50 de l'extrait hydro méthanolique des graines de *T.foenum greacum* L et de acide ascorbique vis-à-vis le radical DPPH..39

**Tableau 5 :** Concentration d'inhibition IC50 de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *T.foenum greacum* L et Trolox vis-à-vis le radical ABTS.....41

**Tableau 6 :** Concentration d'inhibition IC50 des graines de *T.foenum greacum* L et de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O vis-à-vis le FRAP.....43

**Tableau 7 :** Concentration d'inhibition IC50 de l'extrait des graines de *T.foenum greacum* L. Vis-à-vis le DPPH, ABTS et le FRAP.....43

**Tableau 8 :** Les coefficients de corrélation de DPPH, ABTS et FRAP de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.....43

**Tableau 9 :** Les coefficients de corrélation entre les phénols totaux, les flavonoides et l'activité antioxydante (DPPH, ABTS et FRAP) de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.....43

# *Liste des abréviations*

## Liste des abréviations

<b>%</b>	Pourcentage
<b>AA, AS</b>	Absorbance de la solution en présence de molécules testées
<b>AB</b>	Absorbance du blanc
<b>ABTS</b>	2, 2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]
<b>AC</b>	Correspond à absorbance du control
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Le chlorure d'aluminium
<b>BHA</b>	L'hydroxyanisole butylé
<b>BHT</b>	L'hydroxytoluène butylé
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CO</b>	Monoxyde de carbone
<b>Cu-SOD</b>	Les super oxydes dismutases cuivre
<b>DPPH</b>	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl
<b>ERA</b>	Les espèces réactives d'azote
<b>ERO</b>	Les espèces réactives de l'oxygène
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Fer ferrique
<b>FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	Chlorure ferrique hexahydraté
<b>(FeSO<sub>4</sub>)<sub>7</sub> H<sub>2</sub>O</b>	Heptahydrate du sulfate ferreux
<b>Fe-SOD</b>	Les super oxydes dismutases ferreux
<b>FRAP</b>	Ferric reducing antioxidant power
<b>g</b>	Gramme

---

<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GR</b>	La glutathion réductase
<b>GS</b>	Thiyl
<b>GSH</b>	Le glutathion réduit
<b>GSH-PX</b>	Glutathion peroxydases
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>H</b>	Heure
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau distillée
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Le peroxyde d'hydrogène
<b>H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b>	Acide phosphomolybdique
<b>H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b>	Acide phosphotungstique
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration d'inhibition
<b>L</b>	Litre
<b>L.</b>	Alkyl
<b>LDL</b>	Low density lipoprotein
<b>LO</b>	Alkoxy
<b>LOO</b>	Lipide peroxy
<b>M</b>	La masse
<b>mg EAG/g</b>	Milligrammes équivalent acide gallique par gramme d'extrait lyophilisé
<b>mg EQ/g</b>	Milligrammes équivalent quercétine par gramme d'extrait lyophilisé
<b>Mg</b>	Milligramme
<b>Min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre

<b>mM</b>	Millimole
<b>Mn-SOD</b>	Les super oxydes dismutases manganèse
<b>MTR</b>	Médecine traditionnelle
<b>NADPH</b>	Le cofacteur
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>NO•</b>	Peroxynitrite
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>OH</b>	Hydroxyle
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé.
<b>PG</b>	Gallate propylée
<b>QE</b>	Quercétine
<b>R</b>	La corrélation de Pearson coefficient
<b>RL</b>	Les radicaux libres
<b>RLO</b>	Les radicaux libres oxygéné
<b>Se-GPx</b>	Séléno-enzyme - La glutathion peroxydase
<b>SOD</b>	Les super oxydes dismutases
<b>β</b>	Beta
<b>TBHQ</b>	Tétrabutylhydroquinoni
<b>TPTZ</b>	Tripyridyltriazine
<b>UV</b>	Ultrat violet
<b>V</b>	Volume
<b>Vit C</b>	Vitamine C
<b>Vit E</b>	Vitamine E

<b><math>\alpha</math></b>	Alpha
<b><math>\alpha</math>-TocH</b>	L' $\alpha$ -tocophérol
<b><math>\mu</math>l</b>	Microlitre

# *Résumé*

RESUME

## Résumé

L'Algérie, par sa position géographique, abrite une biodiversité exceptionnelle occupée par d'importantes plantes médicinales. Dans le cadre de l'étude prospective de sources intéressantes d'antioxydants d'origine naturelle, nous sommes intéressés par *Trigonella foenum greacum* L.. C'est une herbacée annuelle appartenant à la famille des fabacées. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles très importantes vu les utilisations traditionnelles, et les activités pharmacologiques des composés phytochimiques présents dans les extraits des graines de cette plante. Le présent travail a porté sur l'étude de la teneur en flavonoïdes et phénols totaux de l'extrait hydro-méthanolique des graines *T. foenum greacum*. Ainsi, l'évaluation de l'activité antioxydante on utilisant les méthodes de l'oxydation du radical le 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'ABTS test (2, 2'- azynobis- [3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]) et le pouvoir antioxydant du fer ferrique (FRAP); avec un acide ascorbique, Trolox et  $(\text{FeSO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$  comme les références synthétiques successful. Avec la corrélation de l'activité antioxydante et la corrélation entre les phénols ,les flavonoïdes et l'activité antioxydante DPPH ,ABTS et le FRAP) .Les quantités de phénols totaux correspondantes ont été rapportées en équivalent d'un milligramme de l'étalon utilisé par gramme d'extrait lyophilisé ( $701,36 \pm 0,01 \text{mg EAG/g}$ ). Les résultats des flavonoïdes ont été exprimés en mg équivalent de la quercétine par gramme d'extrait lyophilisé ( $206,52 \pm 0.03 \text{mg EQ/g}$ ). Ces résultats obtenus montrent la richesse de l'extrait en flavonoïdes et phénols totaux. L'évaluation du pouvoir antioxydant a montré que l'extrait hydro-méthanolique doté d'un pouvoir antioxydant très important à 1 mg/ml :  $I_{\text{DPPH}} : 96,45 \pm 0,50\%$  ;  $I_{\text{ABTS}} : 99,27 \pm 0,098\%$  ; et  $A_{\text{FRAP}} 0,72 \pm 0,010\%$  avec des concentrations d'inhibitions  $\text{IC}_{50\text{DPPH}} : 0,44 \pm 0,005 \text{mg/ml}$  ;  $\text{IC}_{50\text{ABTS}} 0,42 \pm 0,003 \text{mg/ml}$  et  $\text{IC}_{50 \text{FRAP}} 0,49 \pm 0,07 \text{mg/ml}$ ). Avec une bonne corrélation de DPPH, ABTS et le FRAP. Pa ailleurs, une forte corrélation a été montré entre les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes et l'activité antioxydante, la corrélation élevée est de ( $r = 0,922$  et  $r = 0,971$ ) successful. Cette étude confirme, scientifiquement, l'usage traditionnel de cette plante.

**Mots clés** : *Trigonella foenum greacum* L., Phénols totaux, Flavonoïdes, Extrait hydro-méthanolique, Activité antioxydante, DPPH, ABTS, FRAP.

## **Abstract**

Algeria, by its geographical position, is home to an exceptional biodiversity occupied by important medicinal plants. As part of the prospective study of interesting sources of naturally occurring antioxidants, we are interested in *Trigonella foenum graecum* L is an annual herb belonging to the fabaceae family. This plant is known for its very important medicinal, therapeutic and nutritional properties given the traditional uses and pharmacological activities of the phytochemicals present in the extracts of the seeds of this plant. This work focused on the study of the content of flavonoids and total phenols in the hydro-methanolic extracts of the seeds as well as the evaluation of the antioxidant activity using the methods of the oxidation of the 2,2- radical. diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ABTS test (2, 2'- azynobis- [3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]) and antioxidant power of iron (FRAP) with ascorbic acid, Trolox and  $(\text{FeSO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$  as the references synthetic successible. With the correlation of antioxidant activity and the correlation between phenols, flavonoids and antioxidant activity (DPPH, ABTS and FRAP). The corresponding amounts of total phenols were reported as the equivalent of one milligram of the standard used per gram of lyophilized extract ( $701.36 \pm 0.01$  mg EAG / g) and the flavonoids results were expressed as mg quercetin equivalent per gram of lyophilized extract ( $206.52 \pm 0.03$  mg EQ / g). These results obtained show the richness of the extract in flavonoids and total phenols. The evaluation of the antioxidant power showed that the hydro-methanolic extract with very high antioxidant power at 1 mg / ml:  $I_{\text{DPPH}}$ :  $96.45 \pm 0.50\%$ ;  $I_{\text{ABTS}}$ :  $99.27 \pm 0.098\%$ ; and  $A_{\text{FRAP}}$   $0.72 \pm 0.010\%$  with  $\text{IC}_{50\text{DPPH}}$  inhibition concentrations:  $0.44 \pm 0.005$  mg/ml;  $\text{IC}_{50\text{ABTS}}$   $0.42 \pm 0.003$  mg/ml and  $\text{IC}_{50\text{FRAP}}$   $0.49 \pm 0.07$  mg/ml). With good correlation of DPPH, ABTS and FRAP. Moreover, a strong correlation has been shown between the contents of total phenols and flavonoids and antioxidant activity, the high correlation is ( $r = 0,922$  et  $r = 0,971$ ) successible. This study confirms, scientifically, the traditional use of this plant.

**Keywords:** *Trigonella foenum graecum* L., Total phenols, Flavonoids, hydro-methanolic extract, Antioxidant activity, DPPH, ABTS, FRAP.

## ملخص

الجزائر، من خلال موقعها الجغرافي، هي موطن لتنوع بيولوجي استثنائي تحتلها نباتات طبية مهمة. كجزء من الدراسة المستقبلية للمصادر المثيرة للاهتمام لمضادات الأكسدة التي تحدث بشكل طبيعي، نحن مهتمون بـ *Trigonella foenum greacum L* وهي عشب سنوي ينتمي إلى عائلة فاباسيا. يشتهر هذا النبات بخصائصه الطبية والعلاجية والغذائية المهمة جدًا نظرًا للاستخدامات التقليدية والأنشطة الدوائية للمواد الكيميائية النباتية الموجودة في مستخلصات بذور هذا النبات. ركز هذا العمل على دراسة محتوى مركبات الفلافونويد والفينولات الكلية في المستخلصات المائية الميثانولية للبذور وكذلك تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طرق أكسدة 2،2- راديكالي. -بيكريل هيدرازيل (DPPH)، اختبار ABTS (2، 2'-أزينو بيس- [3-إيثيل بنزو ثيازولين-6- حمض السلفونيك]) وقوة الحديد المضادة للأكسدة (FRAP) مع حمض الأسكوربيك، ترولوكس و  $(\text{FeSO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$  كمراجع اصطناعية متتالية. مع ارتباط نشاط مضادات الأكسدة والعلاقة بين الفينولات والفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة (DPPH و ABTS و FRAP). الكميات المقابلة من إجمالي الفينولات كمكافئ لمليغرام واحد من المعيار المستخدم لكل جرام من المستخلص ( $0.01 \pm 701.36$  مجم EAG / جم) و. تم التعبير عن نتائج مركبات الفلافونويد على أنها مليغرام كيرسيتين مكافئ لكل جرام من المستخلص ( $0.03 \pm 206.52$  مجم EQ / جم). تظهر هذه النتائج التي تم الحصول عليها ثراء المستخلص في مركبات الفلافونويد والفينولات الكلية. أظهر تقييم القوة المضادة للأكسدة أن خلاصة الميثانول ذات قوة عالية جدًا من مضادات الأكسدة عند 1 مجم / مل:  $I_{DPPH} = 96.45 \pm 0.50$ ؛ IABTS:  $0.098 \pm 0.99$  و  $0.72 \pm 0.010$   $A_{FRAP}$  % بتركيزات تثبيط  $0.44 \pm 0.005$   $IC_{50DPPH}$ ؛  $0.42 \pm 0.003$   $IC_{50ABTS}$  و  $0.49 \pm 0.07$   $IC_{50FRAP}$ . مع وجود علاقة جيدة بين DPPH و ABTS و FRAP والعلاقة بين إجمالي الفينولات ومركبات الفلافونويد و نشاط مضادات الأكسدة حيث الارتباط العالي هو ( $r = 0,922$  et  $r = 0,971$ ) على التوالي. تؤكد هذه الدراسة علميا الاستخدام التقليدي لهذا النبات.

**الكلمات المفتاحية:** *Trigonella foenum greacum*، إجمالي الفينولات، مركبات الفلافونويد، مستخلص هيدرو ميثانول، نشاط مضاد للأكسدة. 2،2- راديكالي. -بيكريل هيدرازيل (DPPH)، (2، 2'-أزينو بيس- [3-إيثيل بنزو ثيازولين-6- حمض السلفونيك]) (ABTS) وقوة الحديد المضادة للأكسدة. (FRAP)

# *Introduction générale*

INTRODUCTION GÉNÉRALE

## Introduction générale

Le stress oxydant est le terme se rapportant aux perturbations de l'équilibre, entre la formation d'espèces réactives de l'oxygène et la capacité de l'organisme à neutraliser leur action par les systèmes antioxydants. Ce déséquilibre peut endommager certaines macromolécules (acides nucléiques, lipides et protéines), conduisant à l'apparition des diverses maladies humaines (**Baudin, 2020**). Actuellement, la société scientifique, biologiste et chimiste, met en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). En appuyant sur cette vision, une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle (**Habibou et al., 2019**)

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**). La phytothérapie est l'une des vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressant pour traiter et soigner sans crée de nouvelles maladies. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours, ces deux types de médication se retrouvent intimement liés puisque le modèle moléculaire de la plupart des médicaments mis sur le marché, ont pour origine la plante (**Jiofack et al., 2009**). Les plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés, appelés métabolites secondaires et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques (**Haddouchi et al., 2016 ; Erenler et al., 2019**) et qui jouent un rôle important dans la santé humaine. Leur utilisation comme antimicrobiens et antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de plusieurs pathologies (**Tanoh et al., 2019**).

Parmi ces plantes on trouve l'espèce *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugrec) est une espèce annuelle appartenant de la famille des fabacées. Il se trouve partout dans le monde, mais il est d'origine méditerranéen. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles. Très importantes vu les utilisations traditionnelles et les activités pharmacologiques des composés phytochimiques présents dans les extraits des graines de cette plante (**Mehrafarin et al., 2010**). Ceci nous a poussés à rechercher la composition chimique en composés phénoliques et évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait Hydro-méthanolique de *T.foenum graecum* L. par trois techniques

- ▶ Réduction du fer: Ferric reducing antioxidant power (FRAP)
- ▶ Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- ▶ Décoloration du radical cation ABTS<sup>•+</sup>

*Synthèse*

*bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Les plantes*

### *médicinales*

## I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, D'après (Elqaj et al., 2012), environ 35000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur (Dutertre, 2011). Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle (MTR) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents **Totum (Sanago, 2006)**.

### I.1.1. Cueillait et séchage

Les propriétés des plantes dépendent essentiellement de la région de production, période et techniques de cueillette, La cueillette est liée avec la variation climatique et saisonnière. Pour déterminer les propriétés d'une plante, il est nécessaire de prendre en considération la partie utilisée, morphologie, couleur, nature, saveur (Chemare, 2012).

Pour que les drogues ne perdent pas leurs qualités médicinales, il faut les sécher. Le séchage doit être réalisé rapidement juste après la récolte. Au soleil est la méthode la plus simple et économique, utilisé surtout pour les racines, tiges, graines et fruits. Le séchage à l'ombre est indiqué pour les feuilles et fleurs, car les feuilles vertes séchées au soleil jaunissent, les pétales de fleurs perdent leurs couleurs vives, ce qui peut altérer les propriétés médicinales de ces produits (Djeddi, 2012).

Le séchage dépend de l'air, la teneur en eau de la plante, sa structure des tissus, et de la température. La température idéale est de 30 à 40°C ; elle doit être plus élevée pour les parties grosses des plantes. Lorsque les tiges, racines et feuilles se brisent facilement sous la pression du doigt, et que les fruits sont durs, on peut dire que le séchage est terminé (Thurzova, 1978).

### I.1.2. Conservation des plantes médicinales

Pour conserver les plantes, les débarrasser des parties mortes puis les faire sécher dans un lieu aéré (les racines séchées à l'air et conservées à l'abri de l'humidité), fleurs, feuilles et semences doivent être desséchées étendues sur des claies ou suspendues en petits paquets isolés.

Le but de la conservation est la protection des plantes contre le soleil, l'humidité, les odeurs pénétrantes, les gazes, la poussière, les moisissures, les insectes et les autres facteurs de dégradation (Thurzova, 1978). On utilise des pots en verre ou des boîtes pour la conservation

des feuilles ou des fleurs (**Thurzova, 1978**). On utilise des sacs en carton, en toile d'emballage pour la conservation des grandes quantités.

Il faut éviter les conteneurs en plastiques (**Frantisek, 1992**). Il est nécessaire d'utiliser les étiquettes, pour savoir où se trouve une drogue donnée, dans quel récipient elle est stockée (**Frantisek, 1992**).

### **I.1.3. Médicaments à base de plantes**

Les médicaments à base de plantes répondent à la définition de l'article premier de la loi n° 17- 04, portant le code du médicament et de la pharmacie, et relèvent donc de la réglementation générale du médicament (**Dahir, 2006**) à savoir : "On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard, des maladies humaines ou animales. Ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques."

Dans l'article 2 de la loi n° 17-04, sont notamment considérés comme des médicaments les préparations à base de plantes médicinales inscrites à la pharmacopée (**Dahir,2006**). Nous pouvons donc définir plus communément les médicaments à base de plantes comme étant des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s). Leurs composants à effets thérapeutiques connus sont des substances ou des groupes de substances, définis chimiquement, dont la contribution à l'effet thérapeutique d'une drogue végétale ou d'une préparation est connue (**Jamet, 2008**).

### **I.1.4. Principales préparations de remèdes à base de plantes médicinales**

Les préparations à base de drogue(s) végétale(s) sont obtenues en soumettant les drogues à des traitements (extraction, distillation, etc.). Ces préparations se présentent en extraits, teintures, huiles grasses ou essentielles, fragments de plantes, poudres, sucs exprimés par pression... Cependant, les constituants isolés, chimiquement définis, ou leur mélange ne sont pas considérés comme des préparations à base de drogue(s) végétale(s). Des substances, telles que des solvants, des diluants, des conservateurs peuvent entrer dans la composition des préparations à base de drogue(s) végétale(s). La présence de ces substances doit être indiquée (**Wichtl et Anton, 2003**).

En phytothérapie, la préparation des plantes médicinales sera différente selon l'usage que l'on destine : infusion, macération, décoction, ou poudre pour la voie interne, et cataplasme ou masque pour l'usage externe.

#### **II.1.4.1. Infusion**

Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur des plantes au moment précis où l'eau entre en ébullition. Il faut alors couvrir le récipient et laisser infuser le temps nécessaire (de dix minutes à une heure selon les plantes) (Sassi, 2008).

#### **II.1.4.2. Macération**

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (Pierre et Lis, 2007). Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (Pierre et Lis, 2007).

#### **II.1.4. 3. Décoction**

Il s'agit de faire bouillir l'eau dans laquelle on a mis les plantes. Le temps d'ébullition va de 10 minutes à une demi-heure selon la (ou les) plante(s). Les décoctions sont généralement réalisées à partir des racines, d'écorce et de baies, auxquelles on ajoute parfois des feuilles et des fleurs (Iserin, 2001).

#### **I.1.4.4. Poudre**

La poudre totale : Préparée le plus souvent par cryobroyage, elle permet l'obtention de la quasi-totalité des principes actifs (*totum* de la plante). Dans certains cas, l'ensemble de ces principes actifs est nécessaire. Les extraits secs : Ils peuvent être préparés par nébulisation ou lyophilisation. Un nébulisât s'obtient par transformation de l'extrait liquide en un brouillard de particules, desséchées brusquement à haute température. Un lyophilisat s'obtient par congélation de l'extrait liquide puis sublimation. La poudre lyophilisée en présence d'eau redonnera alors l'extrait initial (Antoula, 2003).

#### **II.1.4. 5. Les compresses et les cataplasmes**

Compresses et cataplasmes sont principalement utilisés dans les cas de problèmes de peau, les entorses, les fractures et les douleurs musculaires ou articulaires. N'utilisez que des plantes parfaitement saines (Mantas, 1984).

### **I.2. La phytothérapie**

#### **I.2.1. Historique de la phytothérapie**

L'histoire de la phytothérapie est liée à celle de l'humanité, car dans toutes les cultures il faut toujours compter sur les valeurs thérapeutiques des plantes pour se soigner (Clément, 2005). En effet sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales. La médecine par les plantes, dite phytothérapie, est très ancienne et s'est maintenue depuis sous la forme de

pratiques populaire. Les connaissances nouvelles sur la fonction de l'organisme, les récents découvertes sur les substances contenues dans les plantes et leur valeur thérapeutique ont revalorisé et renouvelé l'antique médecine par les plantes. Il existe sur la terre 380 mille variétés de plantes dont à peine 5% ont été plis ou moins étudiées, c'est-à-dire qu'il reste un champ quasi inépuisable à la phytothérapie (Millogo et al., 2005).

### **I.2.2. Définition de la phytothérapie**

Le terme phytothérapie vient de deux mots : python (plante) et thérapeute (soigner), il pouvait donc être traduit par les plantes. La phytothérapie est une discipline qui étudie les plantes médicinales donc est une façon de mettre à profit les propriétés médicinales des végétaux en utilisant les plantes sous forme de préparations dites "galéniques" afin de soigner ou de prévenir les maladies (Chamer, 2016).

Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Strang, 2006). On peut la distinguer en deux types de pratiques :

#### **I.2.2.1. Une pratique traditionnelle ou classique**

Parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2000), cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique (OMS, 2000).

#### **I.2.2.3. Une pratique basée sur les avancées scientifiques**

Une pratique basée sur les avancées scientifiques recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des phytomédicaments est soumise à l'autorisation de mise sur le marché. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (OMS, 2000).

### **I.2.3. Différents types de la Phytothérapie**

#### **I.2.3.1. Aromathérapie**

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau. (Strang, 2006).

#### **I.2.3.2. Gemmothérapie**

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules. (Strang, 2006).

### I.2.3.3. Herboristerie

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits et fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion et macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale. (Strang, 2006).

### I.2.3.4. Homéopathie

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale. (Strang, 2006).

### I.2.4. Principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Peltj, 1980).

Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées : les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (Benghanou, 2012).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (Sarni-Manchado et Veronique, 2006).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (Iserin, 2001).

### I.2.5. Notion de totum

La notion de « totum » de la plante représenterait l'ensemble des principes actifs contenus dans une plante. Les effets biologiques d'une plante viendraient ainsi de l'action de la plante dans sa globalité et non des effets isolés de chaque molécule. Bien que chaque principe actif ait un tropisme différent pour un organe ou un système, c'est la totalité des principes actifs au sein de cette plante qui lui confèrerait son activité et son efficacité clinique (Bone et Mills, 2013). Le totum de plante permet d'utiliser des doses moindres qu'avec un principe actif isolé

pour un même niveau d'activité, évitant ainsi les effets secondaires spécifiques des fortes doses (Carillon, 2009).

### I.2.6. Phytothérapie en Algérie

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui, elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Dans les dernières années, la phytothérapie est très répandue, des herboristes sont partout et sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, ils prescrivent des plantes et des mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables (Mahmoudi, 1992).

Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins (Ministère du commerce, 2013).

### I.2.7. Avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (Iserin et al., 2001).

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (Iserin et al., 2001).

En alimentation, utilisée comme assaisonnement, des boissons, des colorants et des composés aromatiques. Les épices et les herbes aromatique utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsable du plaisir de la table (Delaveau et Hampson, 1999). En industrie, les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine

végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse. Ainsi, une recherche de nouvelles drogues est un choix normal (Mohammedi, 2005).

### **I.2.7. Inconvénients de la phytothérapie**

La phytothérapie est une thérapeutique souvent peu toxique mais qui exige un certain nombre de précautions : Une bonne connaissance des plantes car certaines peuvent être toxiques ou manifeste des réactions allergiques à certains sujet. Une connaissance approfondie de la pharmacologie (devenir des principes actifs dans l'organisme). S'assuré du diagnostic et être attentif aux doses, en particulier pour les jeunes enfants, les femmes enceintes ou allaitant et les personnes âgées. Certaines plantes ne peuvent être utilisées en même temps que d'autres médicaments ou présentent une certaine toxicité si le dosage est augmenté ou si le temps de traitement est prolongé (Roux, 2005).

### **I.2.8. Précautions d'emploi**

Comme tous les médicaments, certaines plantes médicinales provoquent des effets secondaires. Pour cette raison, ces plantes doivent être employées avec précaution. L'utilisation des plantes médicinales nécessite l'avis d'un spécialiste. En effet, l'éphédra (*Ephedra sinica*) mal dosée est très toxique. La consoude (*Symphytum officinale*) peut avoir des effets fatals dans certaines circonstances. Toutefois, lorsqu'un traitement à base de plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités (Iserin, 2001).

# *Chapitre II*

## *Le stress oxydatif*

## II. Le stress oxydant

### II.1. Identification

Lorsque l'un des systèmes protectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (**Durackova et al., 2008**). La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite « stress oxydant ». Ce terme est défini initialement comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pros oxydants et les antioxydants en faveur des premiers (**Barouki, 2006; Jenkins et al., 2007**). Cette définition ne signale aucun effet délétère d'un tel changement sur la fonction des tissus et n'indique pas l'origine de ce déséquilibre s'il est dû à une augmentation de la production des oxydants ou à une diminution de la capacité réductrice des tissus (**Barouki, 2006**).

### II.2. Les radicaux libres

#### II.2.1. Définition des radicaux libres

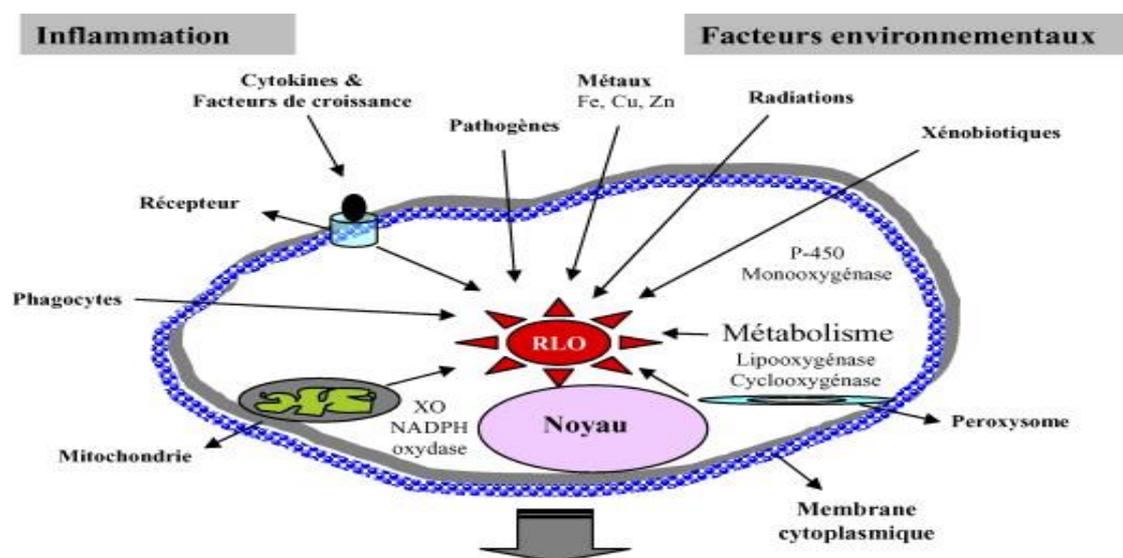
Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes, ions ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (**Mac Laren, 2007**). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène, ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote, ERA) (**Tab.1**). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. De part sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité (**Delattre et al., 2005**).

**Tableau 1** : Principaux radicaux libres et leur structure chimique (**Haton, 2005**).

Radicaux libres (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	$\text{OH}^{\bullet}$
Radical hydroperoxyde	$\text{HOO}^{\bullet}$
Radical peroxyde	$\text{ROO}^{\bullet}$
Radical alkoxyde $\text{RO}^{\bullet}$	$\text{RO}^{\bullet}$
Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$
Anion superoxyde	$\text{O}_2$

## II.2.2. L'origine des radicaux libres

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O<sub>2</sub> pour produire de l'énergie au cours des réactions dites, respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (RLO) (Favier, 2003). Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories; les sources endogènes incluant principalement une altération des mécanismes biochimiques comme une réperfusion ou une ischémie de la xanthine oxydase, une surcharge en fer, des altérations mitochondriales ou encore une inflammation...etc, (Fig.1) et les sources exogènes telles que le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, une faible consommation des fruits et légumes, les réactif chimiques, les solvants industriels et la pollution (Favier, 2003).



**Figure 1** : Sites de production intracellulaire extracellulaire des ERO (Moure et al., 2001).

## II.3. Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (Favier, 2003) (Fig.2).

### II.3.1. Oxydation de l'ADN

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent provoquer des lésions des acides nucléiques susceptibles d'entraîner des mutations ou d'altérer l'expression des gènes. Le radical libre réagit avec les bases de l'ADN en s'additionnant sur les doubles liaisons (Haleng et al., 2007).

### II.3.2. Oxydation des protéines

Dans les protéines tous les acides aminés sont des cibles potentielles de l'attaque par les espèces réactives de l'oxygène, particulièrement par le radical hydroxyle, de plus, l'oxydation de la chaîne polypeptidique peut conduire à des cassures ou encore à des réticulations inter ou intramoléculaire. Le dommage oxydatif des protéines peut affecter la fonction des récepteurs, des enzymes et des protéines de transport, etc., (Haleng *et al.*, 2007).

### II.3.3. Oxydation des lipides

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des RL, car ils s'attaquent aux carbones situés entre les deux doubles liaisons, tout en arrachant un hydrogène. Cette étape, est l'un des processus dit « la peroxydation lipidique », qui a des conséquences fâcheuses sur la cellule, en altérant la fluidité de sa membrane lipidique ce qui conduit inévitablement à l'apoptose (Haleng *et al.*, 2007).

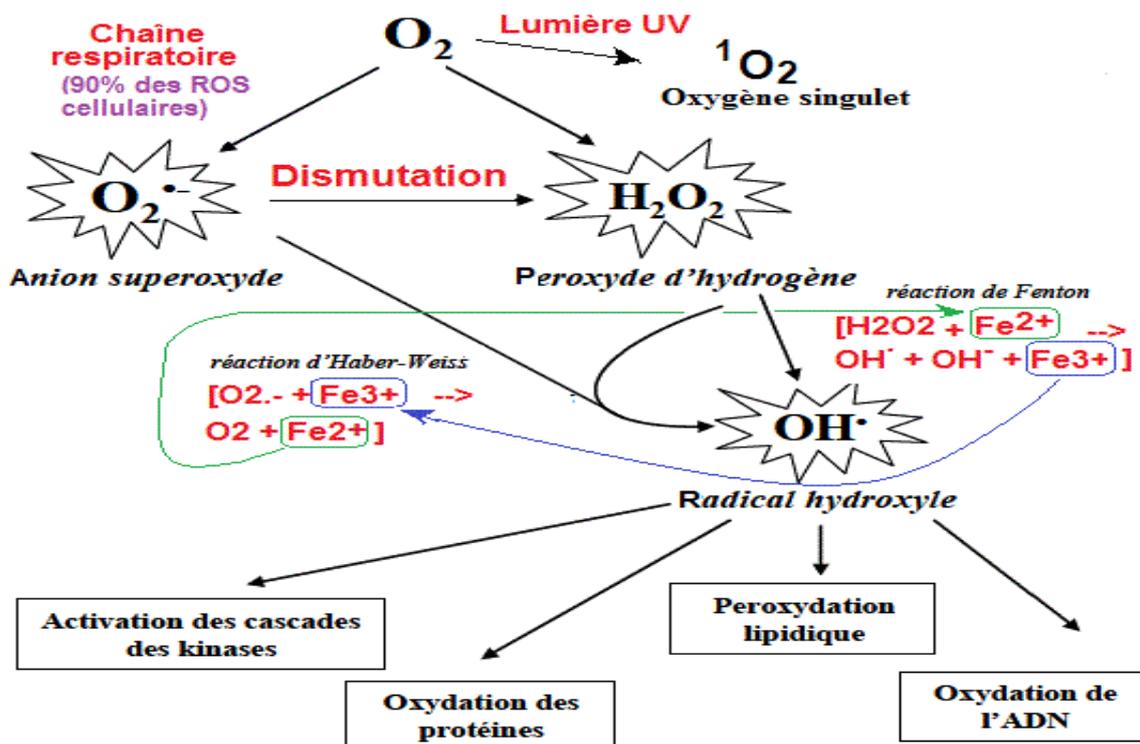


Figure 2 : Schéma de différentes formes de ROS (Deby-Dupont *et al.*, 2002).

### II.4. Antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble de complexes et des stratégies des conceptions de système antioxydant (Haleng *et al.*, 2007). Le terme antioxydant désigne toute molécule ayant la capacité de diminuer ou d'arrêter

l'action d'espèces réactives oxygénées, soit directement en inhibant leur production ou bien en limitant leur propagation, en agissant comme des piègeurs des radicaux libres pour donner finalement des composés stables (**Favier, 2003**).

#### **II.4.1. Antioxydants endogènes**

##### **II.4.1.1. Antioxydants enzymatiques**

Les enzymes existent à l'état endogène et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal. Les principaux systèmes enzymatiques comprennent les super oxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT) et plusieurs formes de glutathion peroxydases (GSH-PX) (**Jacob et al, 2006; Garrel et al., 2007; Menon et Goswami, 2007**).

##### **+ La superoxyde dismutase**

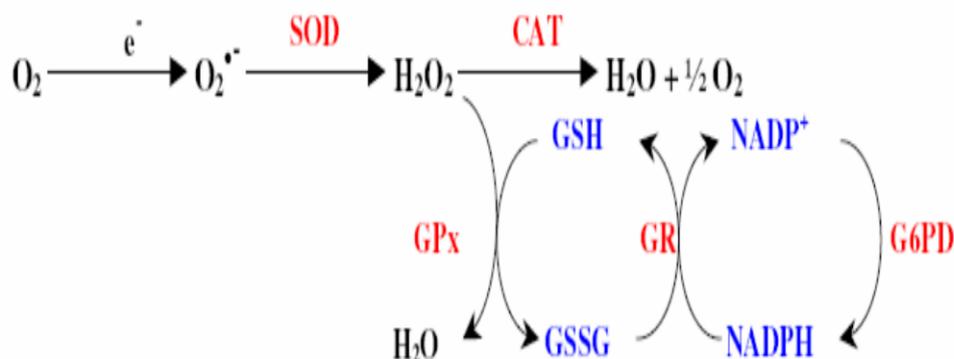
Comme l'indique son nom, la superoxyde dismutase (SOD) accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, Il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (**Zelko et al., 2002**).

##### **+ La catalase**

Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Sorg, 2004**).

##### **+ Les glutathions peroxydases et réductases**

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) qui joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH). La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (**Martínez, 1995; Sorg, 2004**). Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans cette détoxification enzymatique peut être résumé dans le schéma suivant (**Fig.3**).



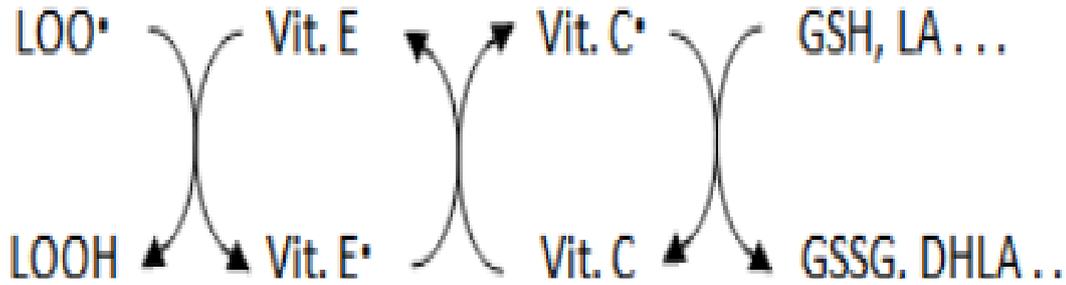
**Figure 3** : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Descamps, 2004).

#### II.4.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux antioxydants enzymatiques, la plupart de ces composés ne sont pas produits par l'organisme et peuvent provenir de nourriture. Ces composés comprennent de petites molécules telles que les vitamines, Les caroténoïdes, les polyphenols, le glutathion et l'ubiquinone (Fig.4 et 5). Les antioxydants non enzymatiques sont caractérisés par de faibles poids moléculaires et la capacité à prévenir et/ou à réduire les dommages au stress oxydatif (Nimse et Pal, 2015).

#### ✚ La vitamine E

Possède quatre isomères de tocophérol,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  avec une activité antioxydante variable (Luciano et al., 2017). La vitamine E présente dans les huiles végétales, les pépins, le germe et les grains de blé (Blumberg et al., 2018). L' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -TocH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols, elle est liposoluble, se fixe sur la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant le radical lipidique peroxyde ( $LOO\cdot$ ), alkoxy ( $LO\cdot$ ) et alkyl ( $L\cdot$ ) (Fig.5 et 6). Elle devient à son tour un radical moins actif que le  $LOO\cdot$ . Et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (Liu et al., 2018).



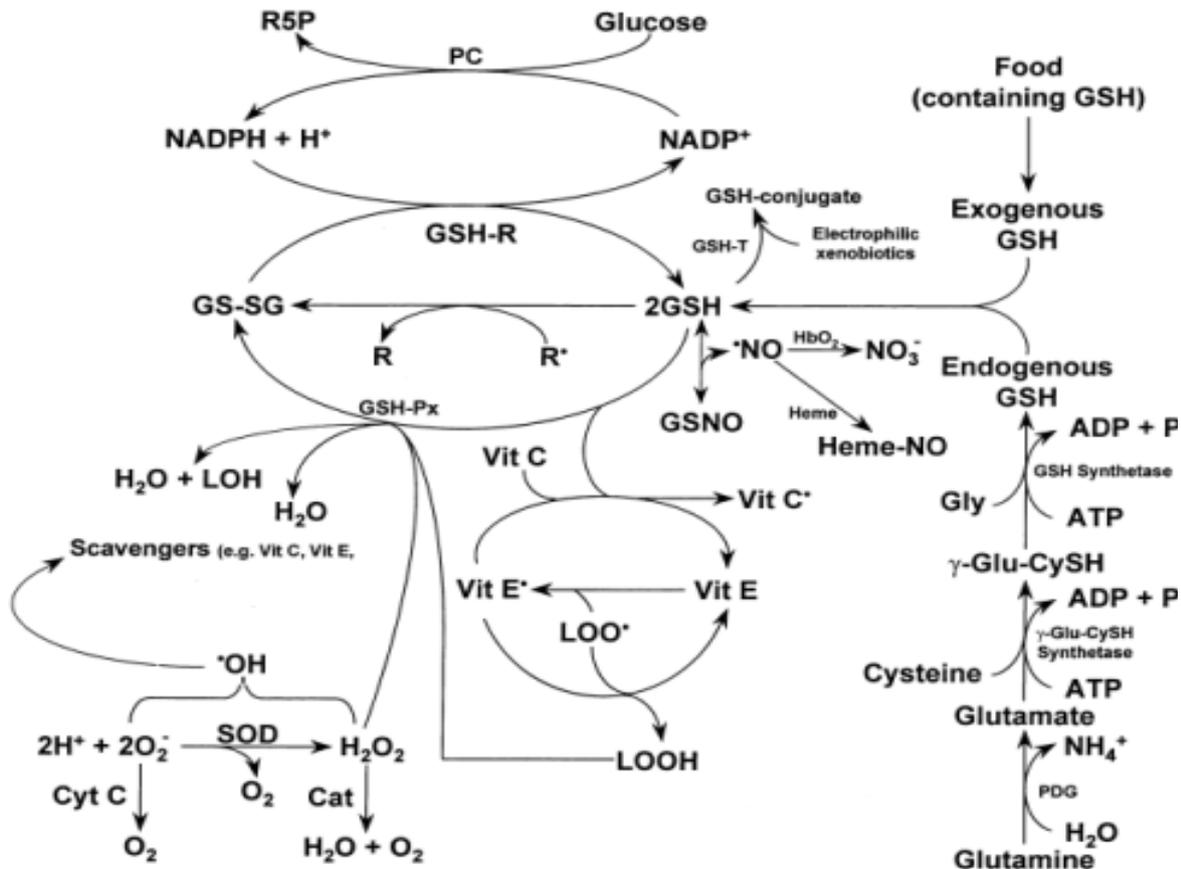
**Figure 4 :** Elimination des radicaux libres par le vit. E, la vit. C et le glutathion (Ashor et al., 2016).

#### ✚ L'acide ascorbique ou vitamine C

Est hydrosoluble, Même si la plupart des mammifères peuvent la synthétiser, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments. Les principales sources de vitamine C sont les fruits (en particulier les baies) et les légumes-feuilles (Ashor et al., 2016). La Vitamine C est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés aussi bien hautement réactifs tels que les radicaux d'OH et d'O<sub>2</sub>• (Smirnoff, 2018). Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques. La Vit. C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs de radicaux libres. Elle peut aussi réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol (Xiong et al., 2017). Ce qui lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Ashor et al., 2016).

#### ✚ Le glutathion (GSH)

Un tripeptide (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) dont la fonction thiol lui confère un rôle d'antioxydant (Pacula et al., 2017). Le glutathion intervient comme agent détoxiquant dont il participe à la neutralisation de certains radicaux libres et il agit comme cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase (GPx). Le glutathion réduit (GSH), réduit le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la GPx (Pacula et al., 2017). Le glutathion peut aussi réduire d'autres radicaux libres tels que HOCl, LO•, LOO• et l'O<sub>2</sub>•-, comme il peut réduire d'autres radicaux de nitrogène et de carbone pour former le radical thiyl (GS•). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Herzog et al., 2019).



**Figure 5 :** Système de défense antioxydant (Enzymatique et non-enzymatique) (Mazzetti et al.,2015).

### ✚ Les caroténoïdes

Sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs des radicaux hydroxyles et peroxydes ce qui les rend susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique (Zuluaga et al., 2017). En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capter l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (Eggersdorfer et Wyss, 2018).

### ✚ Les polyphénols

Sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal. Plusieurs études ont montré qu'il y a un rapport inverse entre la prise d'aliments riches en polyphénols (les fruits et les légumes) et le risque des maladies liées à l'âge comme les maladies neurodégénératives et les maladies

cardiovasculaires (**Hahn et al., 2017; Fraga et al., 2019**). Cette relation est souvent attribuée aux puissantes activités anti-oxydantes des flavonoïdes et d'autres polyphénols associées à leurs propriétés redox permettant d'éliminer ou capture les effets d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que de chélater les différents métaux de transition et inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des ERO comme la xanthine oxydase (**Xu et al., 2017; Serino et Salazar, 2019**).

#### **II.4.2. Antioxydants exogènes**

En général, les antioxydants exogènes de synthèses sont des composés avec des structures phénoliques de divers degrés de substitution alkylique, parmi les antioxydants synthétiques : l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT). Des restrictions à l'utilisation de ces composés, cependant sont imposées en raison de leur cancérogénicité (**Velioglu et al., 1998**).

Alors que les antioxydants naturels peuvent être des composés azotés (alcaloïdes, acides aminés et amines), ou des caroténoïdes ainsi que, l'acide ascorbique, les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins et les acides phénoliques) (**Haleng et al., 2007**).

#### **II.4.3. Les antioxydants synthétiques**

Les antioxydants synthétiques Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinoni (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels.

### **II.5. Mécanisme d'action des antioxydants**

Les antioxydants sont divisés en deux catégories en fonction de leur mécanisme d'action.

#### **II.5.1. Mécanisme d'action des antioxydants piègeurs**

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme la vitamine E, la vitamine C ou les caroténoïdes et les polyphénols apportés par l'alimentation, agissent en piégeant les radicaux et en captant leur électron célibataire et en les transformant en molécules ou ions stables. Ce type d'antioxydant est appelé piègeur ou éboueur (scavenger ou chain breaking antioxydants). Il existe de plus, des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit (GSH) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO• (**Favier, 2003**).

### II.5.2. Mécanisme d'action des antioxydants préventifs

Une autre stratégie utilisée dans la lutte contre le stress oxydant, elle est de nature enzymatique, visant à détruire les superoxydes et les peroxydes. Ainsi, les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Cette réaction est catalysée par un métal situé au site actif d'enzyme. Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer et les glutathions peroxydases à cofacteur sélénium. Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxy redoxines, l'hème oxygénase, la glutathion sélénoindépendant (glutathion S-transférase), les thio-redoxines réductases ou les thio-redoxines peroxydases (**Favier, 2003**).

# *Chapitre III*

CHAPTER III

*Trigonella foenum*

TRIGONELLA FOENUM

*graecum* L.

GRAECUM L.

### III.1. Historique

Le Fenugrec (**Fig.6**) Compte parmi les plus anciennes plantes médicinales et culinaires de l'histoire de l'humanité. On se servait déjà de ses substances aromatiques dans l'Egypte des pharaons, environ 1 500 ans avant notre ère, pour embaumer les morts et purifier l'air des habitations et des lieux de culte. Mille ans après, le médecin grec Hippocrate le mentionne comme un remède apaisant. Dès le VIIe siècle avant notre ère, on commença à la cultiver au Moyen-Orient, puis il fut introduit en Inde et en Chine. Il fut rapidement intégré à la pharmacopée ayurvédique et à la médecine traditionnelle chinoise. (**Ionescu et Roman., 2013**).



**Figure 6 :** Plante et graines de *Trigonella foenum graecum L.* (**Ghédira et Oueslati, 2015**).

### III.2. Systématique de *Trigonella foenum-graecum L.*

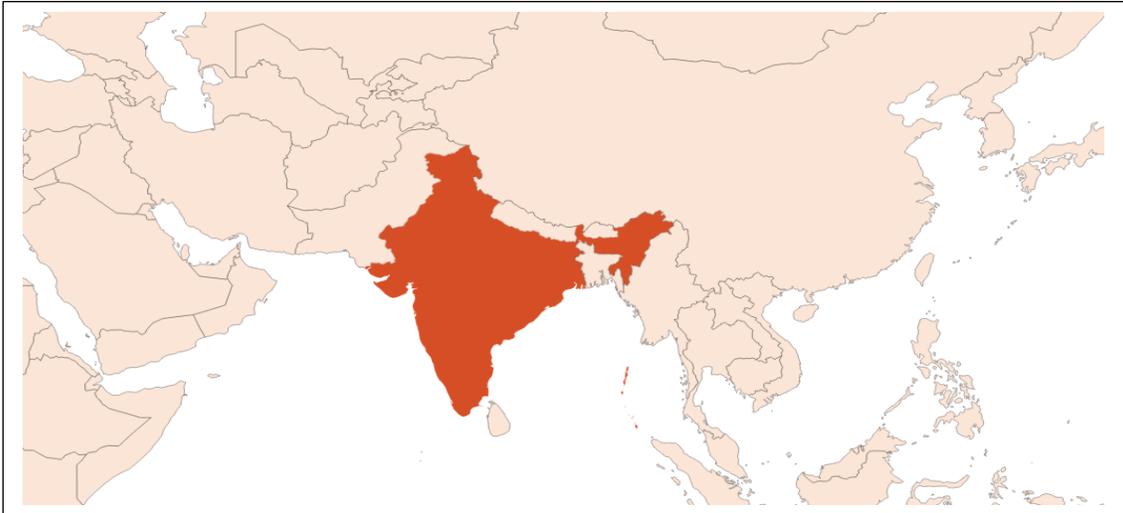
*Trigonella foenum-graecum L* est connue sous le nom d'alhova et aussi de henegriego ou Fenogreco (en anglais : Fenugreek, en français : Fenugrec et en arabe al halba) (**Bermejo et León, 1994**).

 **Taxonomie**
**Tableau 2** : Classification de la plante *Trigonella foenum-graecum L.* (Inpn, 2015).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-Règne</b>	Trachiobionta
<b>Division</b>	Magnophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Fabales
<b>Famille</b>	Fabaceae
<b>Genre</b>	<i>Trigonilla</i>
<b>Espèce</b>	<i>Trigonella foenum graecum L.</i>
<b>Nom français</b>	Fenugrec
<b>Nom communs</b>	Sénégrain trigonelle
<b>Nom vernaculaires</b>	Holba hallba el-halba
<b>Nom kabyle</b>	Thifidhasse (Berbère)

**III.3. Distribution géographique de *Trigonella foenum-graecum L.***

Le Fenugrec est originaire d'Afrique du Nord, du Moyen-Orient et d'Inde, puis il est largement répandu autour de bassin méditerranéen. Les producteurs de fenugrec sont l'Inde, l'Iran, le Népal, le Bangladesh, le Pakistan, l'Argentine, l'Égypte, la France, l'Espagne, la Turquie, le Maroc et la Chine (**Fig. 7**). Cependant, aujourd'hui il pousse partout dans le monde (**Sheicklar, 2013**).



**Figure 7 :** Répartition géographique de *Trigonella foenum-graecum L.* (Sheicklar, 2013).

#### III.4. Botanique

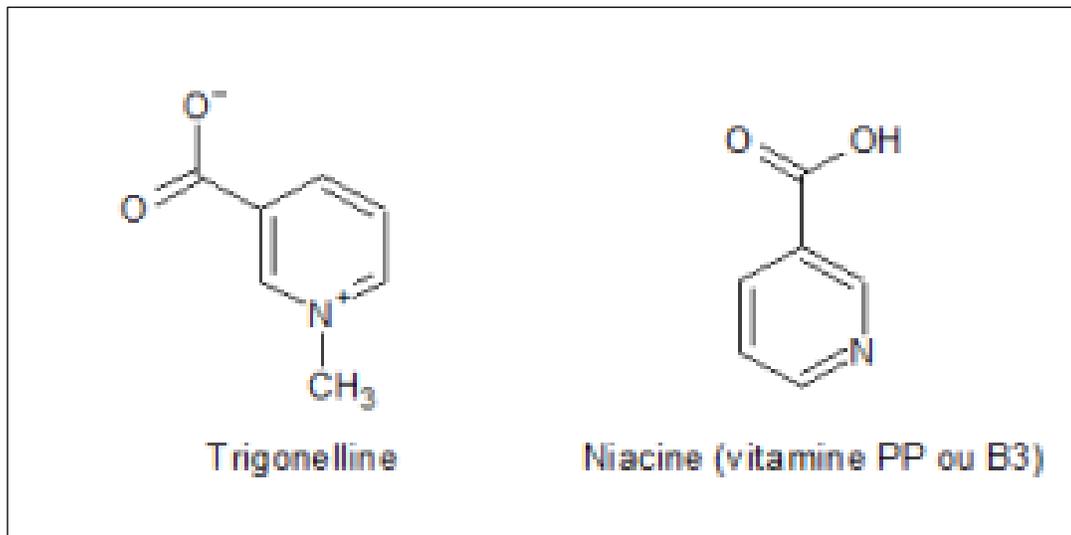
Les tiges de Fenugrec sont dressées, creuses, avec anthocyanine foncée ou vert complet. Les tiges, en fonction de la variété, la fertilité des sols et de la densité du peuplement, sont soit d'une seule ramification sans pousses secondaires, ou de plusieurs ramifications où se posent de nombreuses pousses de la base et plus les nœuds (Chabbi, 2010). L'épanouissement des fleurs de Fenugrec, selon la variété, le climat et la saison des semences commence environ 35-40 jours à partir de l'ensemencement. Elles sont assises dans l'aisselle des feuilles ovales et dentée le plus souvent lié (deux à deux), plus rarement solitaires. Il existe deux types de fleurs : des fleurs cléistogames (fermés) et des fleurs anéictogames (ouverts) (Petropoulos, 2002). Ses gousses allongées, glabrescentes, longues de 7-10 cm, progressivement rétrécie en beclong de 3-5 cm (Quezel et Santa, 1962).

Le développement de la graine de cette plante commence à la fécondation de l'ovule dans le sac embryonnaire, par l'un des pollens males du tube nucléique, et la fusion des deux noyaux polaires dans le sac embryonnaire avec l'autre tube pollinique. Le résultat est respectivement la formation de l'embryon et de l'albumen. Le développement de la graine de fenugrec dure environ 120 jours après l'anthèse (Campbell et Reid, 1982). L'accumulation de galactomannanes dans l'endosperme commence environ 30 jours après l'anthèse et se termine à environ 55 jours après l'anthèse. Juste avant le poids frais de la semence commence à baisser (Campbell et Reid, 1982).

### III.5. Composition Phytochimie

Les graines de Fenugrec contiennent (Bruneton, 2016; Bellakhda, 1997) :

- Des protéines (30%), des acides aminés dont la 4-hydroxy-isoleucine et d'autres nucléoprotéines riches en phosphore et en fer.
- Une huile grasse riche en acides gras insaturés et en phytostérols.
- Des glucides : fibres (celluloses, hémicelluloses, etc.) et surtout un mucilage fait de galactomannanes (représente 25 à 45 % de la masse de la graine) hydrolysable en mannose et galactose.
- Des flavonoïdes : vitexine, vicénines, dérivés de l'orientine.
- Des saponosides stéroïdiques libérant de la diosgénine et de la yamogénine par hydrolyse, ce qui fait de cette plante une source industrielle intéressante de sapogénines.
- De la trigonelline qui est la méthylbétaine de l'acide nicotinique (un précurseur de la vitamine PP) et de la trigonellène considérée comme toxique en cas d'abus (Fig.8).
- Une huile essentielle responsable de l'odeur de la plante.



**Figure 8 :** La trigonelline présente dans les graines de Fenugrec et la vitamine PP dont elle est le précurseur (Bruneton, 2016).

### III.6. Effets thérapeutiques de *Trigonella foenum-graecum L.*

Le Fenugrec compte parmi les plus anciennes plantes médicinales et culinaires. Ses graines, grâce à leurs composés chimiques, se révèlent être d'une grande valeur alimentaire et présentent de multiples vertus phytothérapeutiques (**Harchane et al., 2012**). Les graines de Fenugrec ont révélé des :

- ✚ Propriétés anticholestérolémiante, (**Ali et al., 1995; Banquer et al., 2001; Petit et al., 1995; Xue et al., 2007**).
- ✚ Stimulante neuromusculaire.
- ✚ Métabolisme général, orexigène, tonifiante, stimulante de la digestion, favorisant la prise de poids (**Harchane et al., 2012**).
- ✚ Apaisante en cas de fièvre, hypolipidémiant (**Chevassus et al., 2007**).
- ✚ Combattant l'anémie grâce au fer, combattant la frigidité et l'impuissance. Elles se sont également avérées efficaces pour stimuler l'appétit et la sécrétion d'insuline (**Brochard, 2013**).
- ✚ Effet antidiabétique, Le Fenugrec joue le rôle d'un hypoglycémiant aussi par la présence des fibres solubles ralentissant la digestion et l'absorption des glucides ce qui augmente l'action de l'insuline. (**Hannan et al., 2007; Ramulu et al., 2011**).

### III.7. Propriétés du Fenugrec

#### III.7.1. Propriétés antioxydantes

Le Fenugrec contient des composés phénoliques et flavonoïdes qui aident à améliorer sa capacité antioxydante. Cette propriété pourrait être utile en empêchant ou en ralentissant le progrès des certaines maladies en raison de l'effort oxydant (**Priya et al., 2011**), et aussi pour retarder l'oxydation des lipides dans une variété des produits alimentaires (**Madhava et al., 2011**).

#### III.7.2. Propriétés anti-inflammatoires et hépatoprotective

Le Fenugrec a démontré, lors de recherches *in vitro*, des capacités anti-inflammatoires et hépatoprotective. Les graines de *Trigonella foenum-graecum L.* agissent comme un agent protecteur contre les anomalies induites dans le foie (**Oner et al., 2008**). De plus, ses graines sont

utilisées pour soulager les inflammations, les rhumatismes, les muscles endoloris (Yacoubi et al., 2011).

### **III.7.3. Propriétés antimicrobiennes**

Les graines de Fenugrec ont des propriétés antimicrobiennes avec un large spectre d'action. Elles agissent contre les bactéries. Elles produisent des huiles à propriétés toxiques qui empêchent la croissance de ces bactéries. Des tests non-cliniques suggèrent que le Fenugrec pourrait aussi avoir des effets antiviraux et antifongiques (Thomas et al., 2006).

### **III.7.4. Propriétés anti-tumorales**

Le Fenugrec s'est avéré efficace contre le développement de cellules tumorales chez des rats. Ainsi, Le prétraitement avec un extrait de Fenugrec a montré qu'il pourrait améliorer la numération des cellules macrophages chez les rats. Lorsque ces rats ont ensuite été inoculés avec des cellules tumorales, la croissance de ces cellules tumorales a été significativement inhibée (Snehlata et Payal, 2011).

### **III.7.5. Propriétés anti-cancérigènes**

Le Fenugrec a présenté des capacités modificatrices de l'apoptose induite par le cyclophosphamide et la peroxydation lipidique (Meghwal et Goswami, 2012). Cette propriété du Fenugrec en fait une plante médicinale prometteuse pour la thérapie complémentaire chez les patients cancéreux.

### **III.7.6. Propriétés hypocholestérolémiantes**

L'hypocholestérolémie est une carence de cholestérol dans le sang. Les graines de Fenugrec réduit le cholestérol sérique, les triglycérides et les lipoprotéines. La consommation de Fenugrec dans le régime alimentaire réduit l'accumulation de triglycérides dans le foie (Kumar et al., 2013).

### **III.7.7. Propriétés hypoglycémiantes**

Le Fenugrec contribue à stabiliser la glycémie en manifestant une action inhibitrice sur les enzymes qui génèrent le glucose au niveau du foie, notamment chez les diabétiques modérés. En outre, les graines de Fenugrec améliore l'utilisation du glucose périphérique, ce qui contribue à

l'amélioration de la tolérance au glucose et exerce son effet hypoglycémiant en agissant au niveau des récepteurs de l'insuline ainsi qu'au niveau gastro-intestinal (**Kumar et al., 2013**).

### **III.7.8. Autres propriétés du Fenugrec**

#### **III.7.8.1. Le Fenugrec est nutritif et anabolique**

C'est une source de protéines, de vitamines et de minéraux. Ses vertus nutritives encouragent aussi la repousse des cheveux. Quant à son action anabolique, il aide à gagner en musculature tout en se débarrassant du gras excédentaire, notamment grâce à son contenu élevé en fibres (**Meghwal et Goswami, 2012**).

#### **III.7.8.2. Le Fenugrec est un apéritif et digestif**

Sa saveur amère et son potentiel légèrement réchauffant font du Fenugrec un apéritif et un tonique digestif apprécié. Son contenu en huiles essentielles inhibe par ailleurs la formation de gaz intestinaux lors de la digestion (**Madhava et al., 2010**).

#### **III.7.8.3. Le Fenugrec est un galactagogue**

Enrichit et accroît la production de lait maternel tout en lui ajoutant des huiles essentielles, ce qui réduit les risques de coliques chez le nourrisson. Cet usage est très répandu et son efficacité est attestée par de nombreuses femmes l'ayant expérimenté.

### **III.8. Nutrition**

Souvent utilisé dans la cuisine orientale, le Fenugrec entre dans la fabrication de mélange d'épices aromatiques, sous différents noms, comme le ras-el-hanout marocain. Dans des pays où la malnutrition est Endémique, le Fenugrec agit aussi en tant qu'inhibiteur de l'absorption du fer, pouvant entraîner des anémies alors que l'apport en fer est adéquat (**Adish, 1999**). La partie la plus utilisée est la graine. Quant aux jeunes feuilles, de saveur amère, elles sont mangées en salade.

# *Etude expérimentale*

ETUDE EXPERIMENTALE

*Chapitre I*

*Matériels*

*Et*

*Méthodes*

## I.1. L'objectif

Dans ce travail de recherche, afin de mettre en valeur les graines de *T. foenum-graecum* L., une étude a été menée qui consiste à déterminer les teneurs en flavonoïdes et phénols totaux et la mise en évidence de l'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique des graines de *T. foenum-graecum* L. (le piégeage du radical libre DPPH, le test de décoloration ABTS et le test de FRAP).

## I.2. Matériels et méthodes

### I.2.1. Matériels

Les graines de *T. foenum-graecum* L. (Fenugrec) ont été achetées chez une herboristerie à la wilaya de Mostaganem 05/2021 et identifier par un botaniste.

### I.3. Méthode

#### I.3.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique (EHM)

L'extraction des graines de *T. foenum-graecum* L. a été réalisée suivant la méthode de (Markham, 1982). 100g de la matière sèche broyée de la plante fenugrec ont été mise à une extraction dans un mélange hydro alcoolique (80% méthanol). Le mélange est mixé pendant 20 min. Ensuite, une filtration sous vide a été réalisée donnant à la fin un filtrat (1) et un précipité. Le précipité est soumis à une deuxième extraction le mélange est mixé pendant 20 min.

A l'issue de cette extraction et après le même procédé de filtration (sous vide) ; un filtrat (2) a été récupéré et mélangé avec le filtrat (1). L'ensemble (filtrat 1+filtrat 2). Par la suite, le solvant d'extraction est évaporé à une température comprise entre 40 et 50°C. Par conséquent, l'extrait brut obtenu a été lyophilisé.

La poudre obtenue sera pesée et conservés à l'abri de la lumière dans des flacons en verre sombre.

#### I.3.1.1. Calcul du rendement

Le rendement de l'extrait des graines de *T. foenum-graecum* L.a été déterminé en calculant le rapport suivant :

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

Où :

**M** : Masse en gramme de l'extrait brut résultante de lyophilisation.

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter (initial).

### I.3.2. Analyses phytochimique

#### I.3.2.1. Dosage des phénols totaux

L'analyse par le réactif de Folin Ciocalteu est la plus utilisée. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). La coloration produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

0,25 ml de l'extrait hydro-méthanolique de la plante a été mélangé avec 1,25 ml de Folin Ciocalteu (2 mol/L) dilué 10 fois (Fig. 9). Après 5 min d'incubation, 1 ml de sodium du carbonate à une concentration de 75 g/L. Le mélange résultant était incubé à température ambiante pendant 1 h. Les absorbances des échantillons ont été mesurés à 765 nm en utilisant UV-vis spectrophotomètre, Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique/g d'extrait lyophilisé. Toutes les expériences ont été réalisées en triple (Milliauskas et al., 2004).

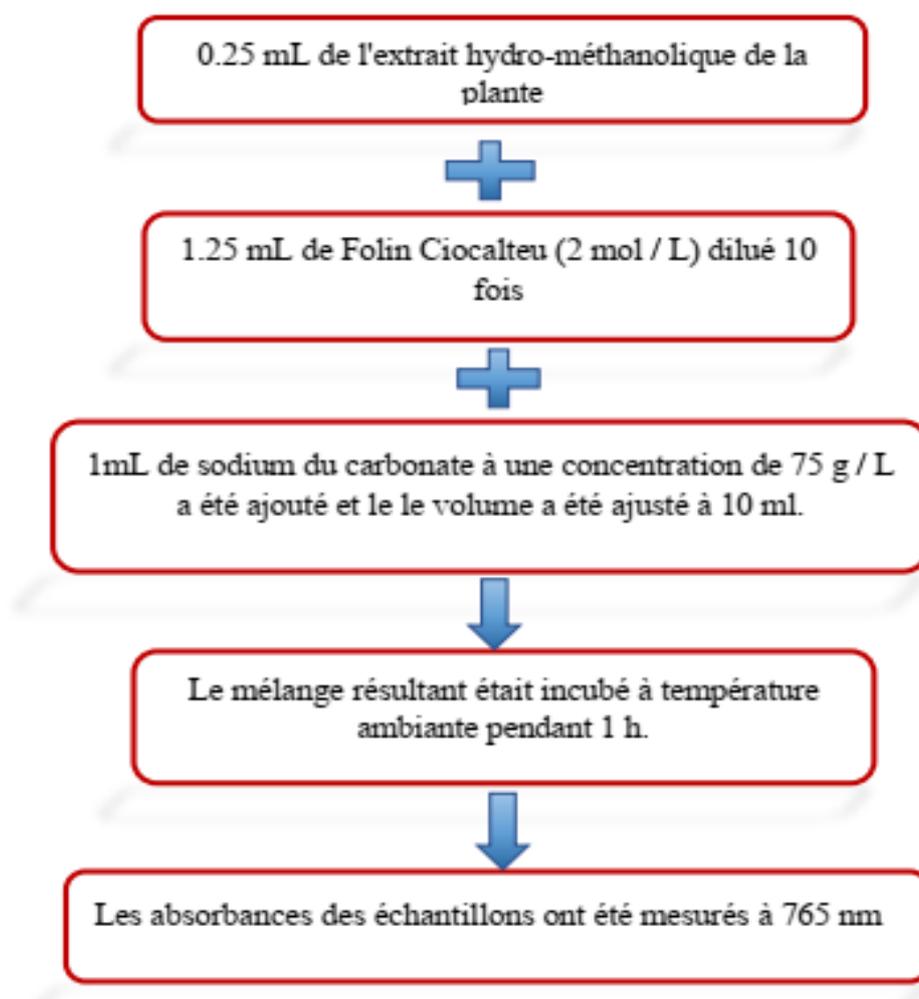


Figure 9 : Protocole de dosage des phénols totaux (Milliauskas et al., 2004).

### I.3.2.2. Dosage des Flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement (CO), un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La formation d'un complexe flavonoïde-métaux utilisé sous sa forme de chlorure d'aluminium, ce complexe donne à la solution une coloration jaunâtre qui absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm (Chang *et al.*, 2002 ; Khelef *et al.*, 2019).

Le contenu en flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanolique a été estimé par la méthode de (Chang *et al.*, 2002). Un volume d' $\text{AlCl}_3$  solution méthanolique (0,5 ml, 2%) a été mélangé avec une solution d'extrait hydrométhanolique (5 mL, 0,5 mg/mL). Après 10 min, les densités optiques ont été enregistrées à 430 nm contre un blanc (mélange de 0,5 mL de solution d'extrait et 0,5 ml de méthanol). Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalents quercétine (QE)/g d'extrait lyophilisé (Fig.10). Et comparé à la courbe d'étalonnage de la quercétine (0 à 200 mg/L).

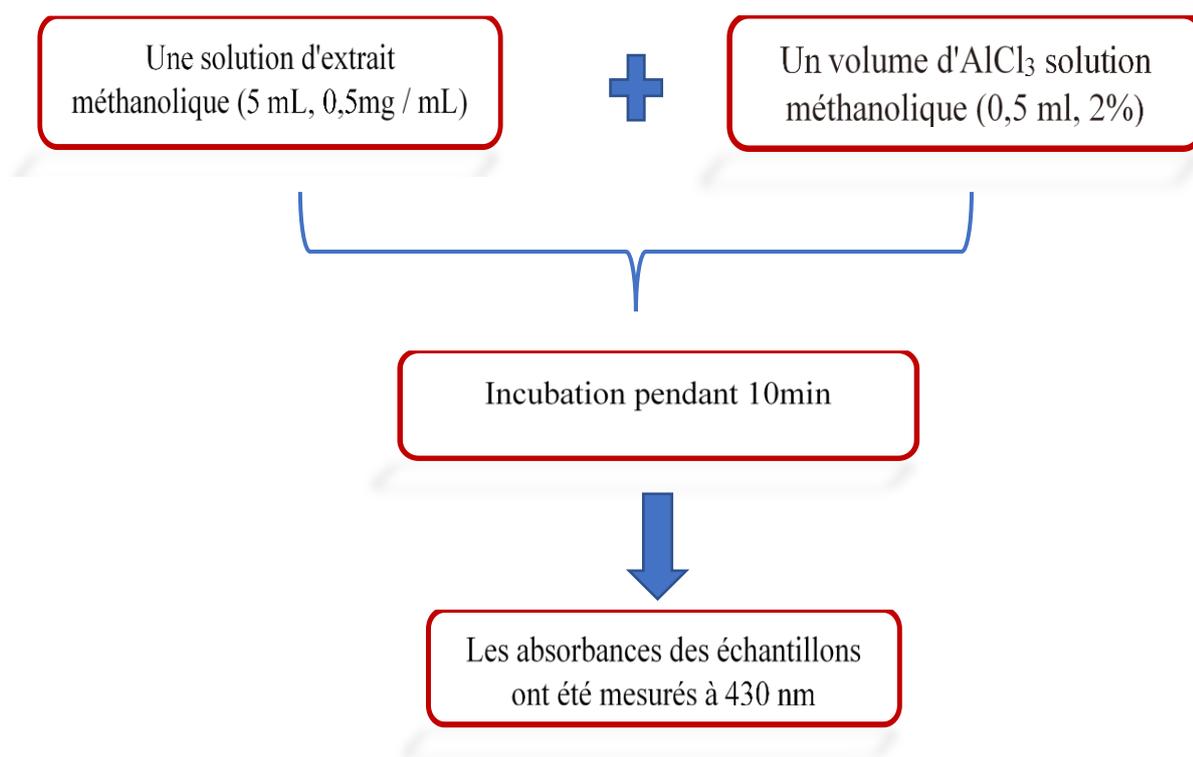


Figure 10 : Protocole du dosage des flavonoïdes (Chang *et al.*, 2002).

### I.3.3. Evaluation, *in vitro*, de l'activité antioxydante

#### I.3.3.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH

Cette méthode est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène et la formation de la forme non radicalaire DPPH-H (Gulçin *et al.*, 2006 ; AndziBarhé et FeuyaTchouya, 2016). Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH<sup>•</sup> est réduit en diphényle picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Fadili *et al.*, 2017).

La mise en évidence du pouvoir antioxydant, via le test DPPH, a été effectuée par la méthode décrite par (Zakaria *et al.*, 2008), où 50 µl de chacun des extraits méthanoliques à différentes concentrations ont été mélangés avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température de laboratoire, l'absorbance a été lue à 517nm (Zakaria *et al.*, 2008). Acide ascorbique (Sigma-Aldrich), un antioxydant stable, a été utilisé comme référence synthétique (Fig.11).

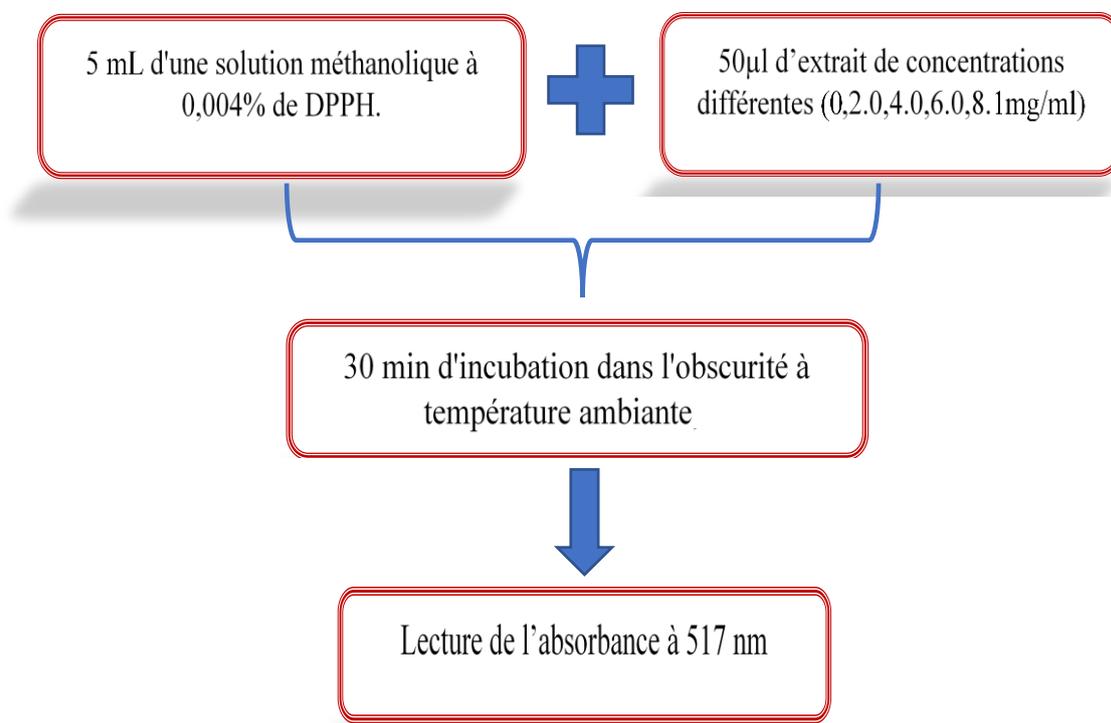
Le test a été réalisé en triple et le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{AB}-\text{AA}) / \text{AB} \times 100$$

Où :

**AB** : Correspond à absorbance du blanc (absence de molécules testées).

**AA** : Correspond à absorbance de la solution en présence de molécules testées (extrait + DPPH).



**Figure 11** : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait hydro-méthanolique de *T. foenum-graecum* L. par la méthode de DPPH (Zuraini et al., 2008).

### I.3.3.2. Test de réduction du radical-cation ABTS<sup>+</sup>

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>+</sup> de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé ABTS<sup>+</sup> est généré en présence des ions persulfates. Ce test est simple, opérationnel, reproductible, et peut être utilisé dans différents milieux (Bouchouka, 2016).

A une solution d'ABTS dans l'eau 7mM ont été ajoutées une solution de persulfate de potassium à 2,45mM pour obtenir une concentration finale de 3,5mM (Fig.12). Le mélange a été agité une nuit dans le noir à température ambiante pour former le radical cation ABTS<sup>+</sup>. La solution a été diluée dans de le méthanol avant utilisation, afin d'obtenir une absorbance voisine de (0,700±2) à 734nm.

5 ml de solution d'ABTS<sup>+</sup> (immédiatement utilisé après préparation), 50 µl de cette solution a été ajoutés à chaque série d'extrait (0,2, 0,4, 0,6 et 0,8 et 1mg/ml). Après 10min d'incubation, l'absorbance des solutions a été mesurée à 734nm (**Huang et al., 2011**).

La capacité antioxydante des extraits de *T.foenum greacum* L a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical ABTS suivant l'équation :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{AC - (AS - AB)}{AC} * 100$$

Où :

**AC** : Correspond à absorbance du control (sans extrait).

**AS** : Absorbance de la solution en présence de molécules testées

**AB** : Correspond à l'absorbance du blanc. (5ml méthanol + 50µl de l'échantillons).

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; Trolox dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Le test a été réalisé en triple.

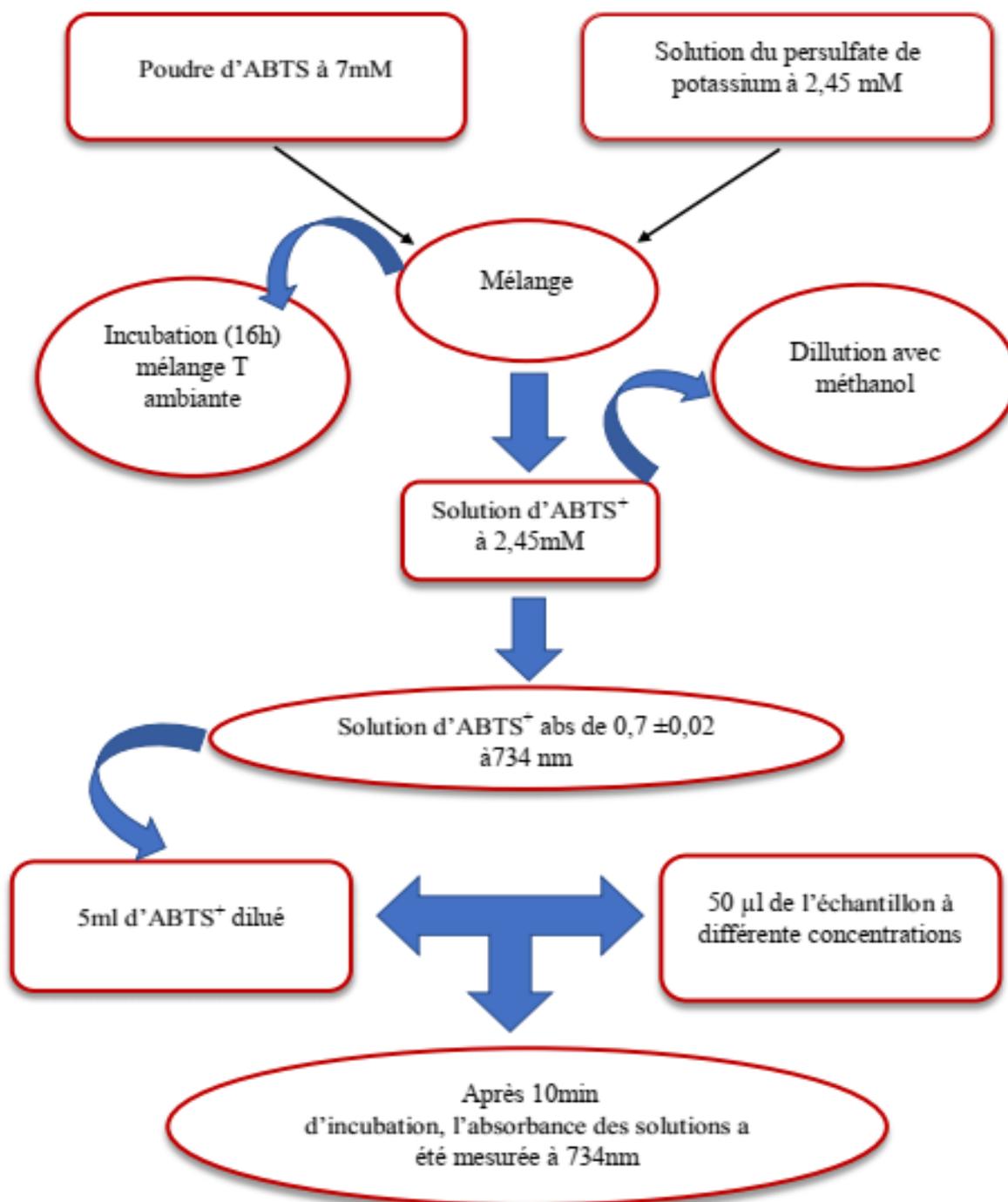
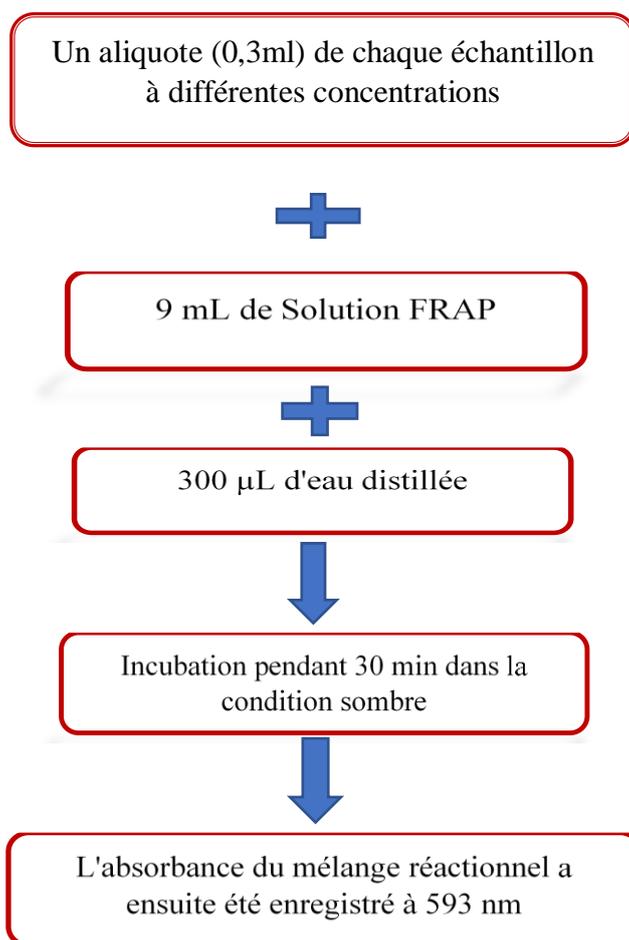


Figure 12 : Protocole d'étude de l'activité de l'ABTS+ (Huang et al., 2011).

### I.3.3.3. Test de FRAP

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique  $Fe_{3+}$  du complexe ferricyanure en fer ferreux  $Fe_{2+}$ . La forme réduite donne une couleur verte proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Dar et al., 2017**).

Le test FRAP a été conduit conformément à la méthode proposée par (**Benzie et Strain, 1996**) avec certaines modifications. Le réactif FRAP a été préparé chaque jour à partir de tampon acétate 300mM (pH 3,6), de chlorure ferrique hexahydraté ( $FeCl_3.6H_2O$ ) 20mM et de TPTZ 10mM dans HCl 40 mM (**Fig.13**). Ces solutions ont été mélangées en proportion respective : 10/1/1 (v/v/v) et le mélange a été chauffé à une température de 37°C. 0,3ml d'extrait de différentes concentrations (0,2. 0,4. 0,6. 0,8 et 1 mg/ml), ont été mélangés avec 300µl d'eau ultra pure et ensuite avec 9ml de réactif FRAP. Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 593nm au spectrophotomètre. Le contrôle positif a été représenté par une solution d'un antioxydant standard ; Trolox (0 à 300µmol/l) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Singleton et Rossi, 1965**).



**Figure 13 :** Protocol d'étude de l'activité de FRAP (Benzie et Strain ,1996).

#### I.3.4. Le calcul de l'IC50

La concentration inhibitrice à 50% (IC<sub>50</sub>) est définie comme la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical initial de 50%. Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> sont déterminées à partir du tracé graphique de l'activité par rapport à une gamme de concentrations d'extraits de plante. La plus forte activité antiradicalaire correspond à la fraction qui possède l'IC<sub>50</sub> la plus faible (Zemmouri, 2015).

#### I.3.5. Analyses statistiques

Les corrélations ont été établies en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson (r) dans les corrélations linéaires bivariées ( $P < 0,01$ ). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel XL STAT pour Windows.

# *Chapitre II*

*CHAPITRE II*

## *Les résultats*

*LES RÉSULTATS*

## II. Résultats

### II.1. Rendement en extraits

La préparation de l'extrait de la plante étudiée a été réalisée suivant le protocole de (Markham, 1982). Cette dernière a été effectuée par des solvants à polarité différente, il s'agit de l'alcool méthylique et de l'eau. Cette extraction a permis d'obtenir un extrait brut hydro-méthanolique sous forme lyophilisat.

Les résultats montrent que le rendement en extrait hydro-méthanolique est 5,7%, Bien que l'eau et le méthanol soient les meilleurs extracteurs pour les composants actifs de la plante.

### II.2. Teneur en phénols totaux

Le dosage des polyphénols, a été effectué par la méthode spectrophotométrique (Annexe.I), en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le dosage des polyphénols totaux des extraits des graines de *T. foenum greacum* L. a été calculé en équivalent d'Acide gallique (Annexe.I). Pour cela, une courbe d'étalonnage a été tracée avec un extrait d'A.G. Et des mesures de la densité optique pour l'extrait ont été réalisées à 765 nm. Les quantités de polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent d'un milligramme de l'étalon utilisé par gramme d'extrait lyophilisé (mg EAG/g) et déterminées par l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage  $y = 0,0588x$  Avec  $R^2 = 0,9985$ .

Ces résultats montrent que l'extrait hydro-méthanolique des graines est riche en phénols totaux avec une teneur de l'ordre de (701,36±0,01 mg EAG/g) (Tab.3).

### II.3. Teneur en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée par la méthode colorimétrique (Annexe.I), en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). La quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (Annexe. I), d'où la teneur en flavonoïdes a été calculée. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de la quercétine par gramme d'extrait lyophilisé (mg EQ/g). La formule de la régression linéaire obtenu pour cette courbe est de  $y = 0,53x+0,018$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9938$ .

Les résultats obtenus révèlent que l'extrait hydro-méthanolique des graines riches en flavonoïdes avec une teneur (206,52±0,03 mg EQ/g) (Tab.3).

**Tableau 3** : Les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanolique de *T. foenum greacum* L.

Extrait	Phénols totaux	Flavonoïdes
Extrait hydro-méthanolique	701,36±0,01 mg EAG/g	206,52±0,03 mg EQ/g

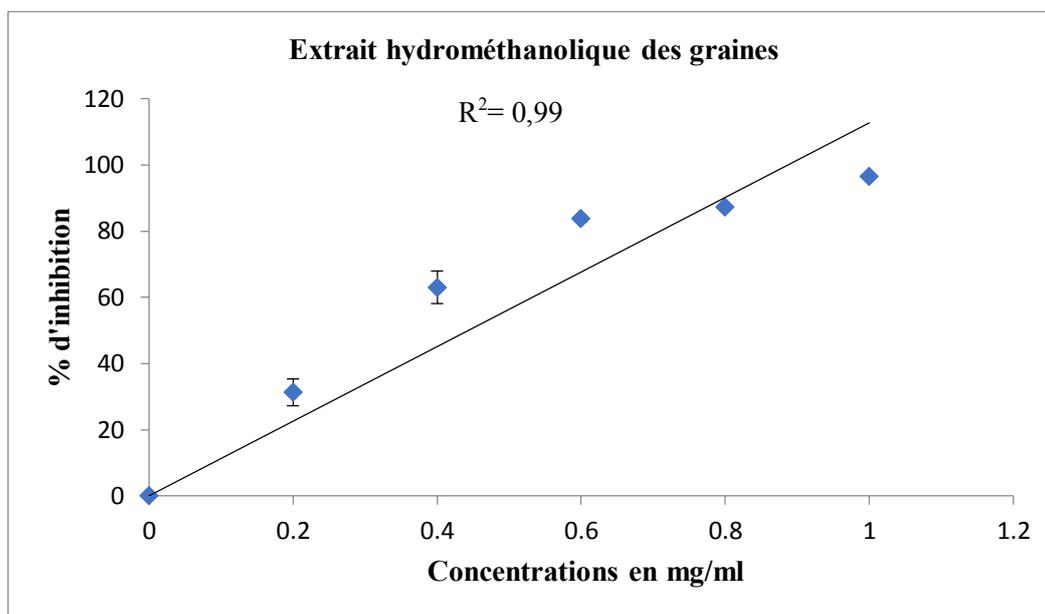
Les valeurs sont exprimées en moyenne ± Ecart type

## II.4. Activités antioxydantes

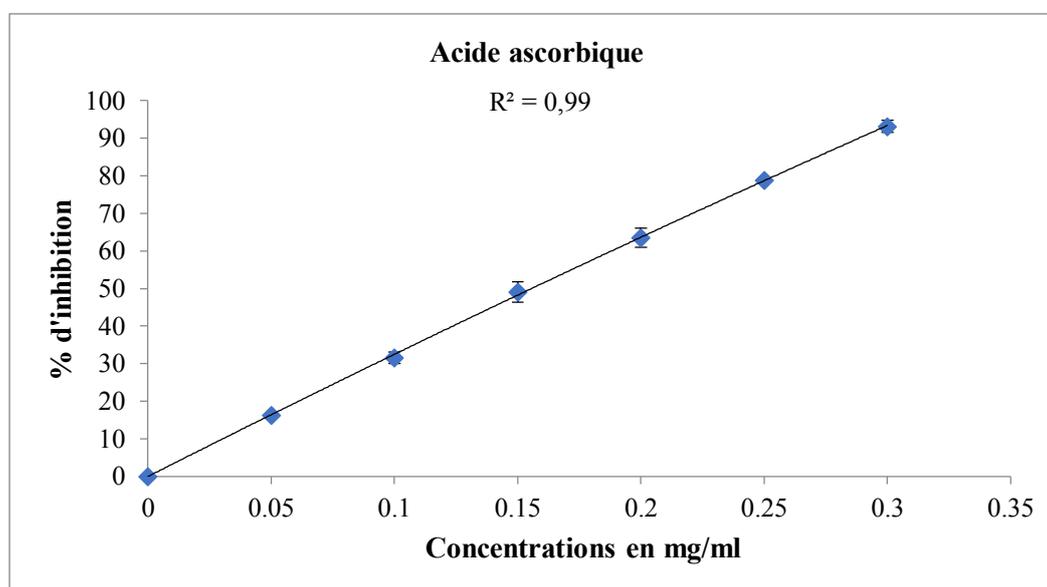
### II.4.1. L'activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *T. foenum greacum* L. vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage, de la couleur violette (DPPH.) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires, et comparée avec l'acide ascorbique (**Annexe.II**) comme antioxydant synthétique. Il est aussi important de noter que l'activité scavenging du radical DPPH dépend de la concentration des extraits. Car, plus la concentration est élevée plus le pourcentage d'inhibition augmente (**Annexe.III**).

La détermination de l'activité antioxydante révèle que l'extrait hydro-méthanolique des graines possède une activité de piégeage du radical DPPH importante. L'activité antioxydante est directement proportionnelle à la concentration ,où culmine-t-il (96,45±0,50) % à la concentration 1mg/ml et minimum (31,31±4,04) % à la concentration 0,2 mg/ml (**Fig.14**).



**Figure 14** : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum graecum* L.



**Figure 15** : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique

La concentration de l'échantillon à laquelle le pourcentage d'inhibition est à 50% se définit comme IC50. La valeur de l'IC50 est négativement liée à l'activité antioxydante, plus la valeur d'IC50 est petite plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande. Les résultats obtenus à partir de l'extrait hydro-méthanolique des graines, où est la concentration inhibitrice IC50<sub>DPPH</sub> (0,44±0,005) mg/ml. Cela signifie que l'activité antiradicalaire de l'extrait est très importante. Et d'autre part cette activité est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH• de la substance de référence acide ascorbique (0,15±0,004) mg/ml (**Tab.4**).

**Tableau 4** : Concentration d'inhibition d'IC50 de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *T.foenum greacum* L. et de acide ascorbique vis-à-vis le radical DPPH.

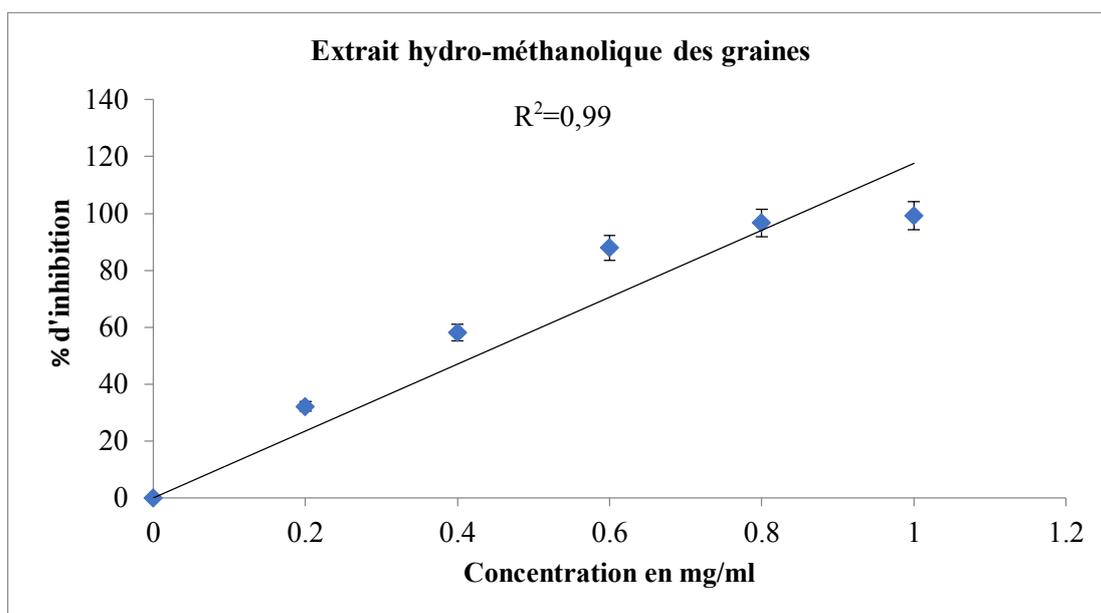
Extrait	IC50 <sub>DPPH</sub> (mg/ml)
Extrait hydro-méthanolique	0,44±0,005
Acide ascorbique	0,15±0,001

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± Ecart type

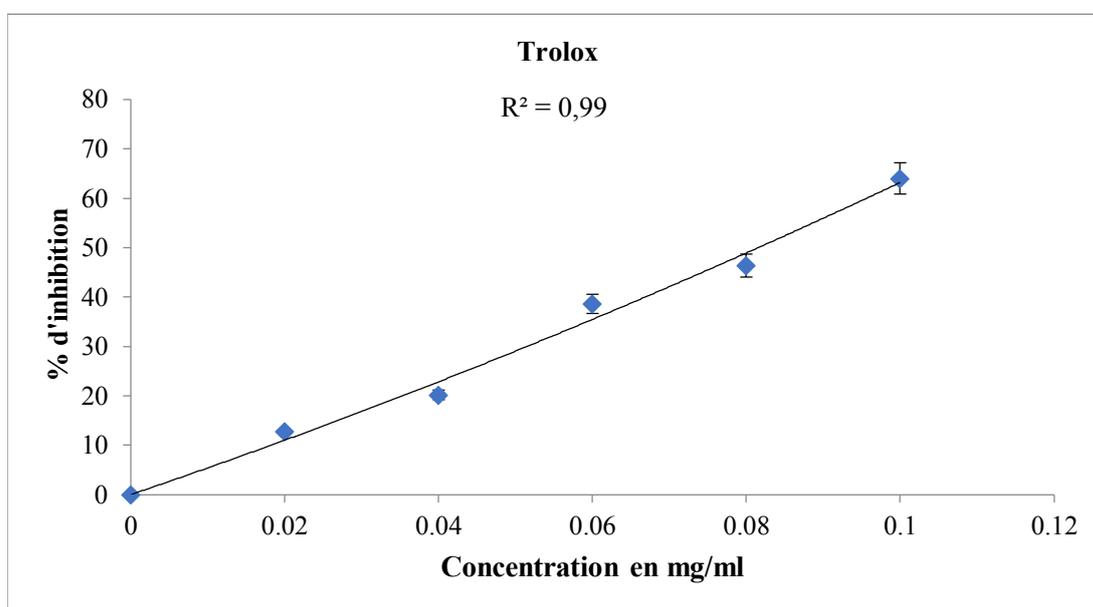
#### II.4.2. Test ABTS

Le radical ABTS<sup>+</sup> est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydante des extraits de plantes, en contact avec un donneur de H<sup>+</sup> conduit à la formation de l'ABTS<sup>+</sup> et à la décoloration de la solution à 734 nm. Une comparaison est faite avec la capacité du Trolox (**Annexe.II**) (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer ABTS<sup>+</sup>. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La capacité antioxydante exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond donc à la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une certaine concentration. Les résultats de l'activité anti-radicalaire, vis-à-vis du radical ABTS<sup>+</sup>, du standard et d'extrait sont exprimés en pourcentage d'inhibition (**Annexe.III**) et représentés dans les **Figures (16 et 17)**.

D'après les résultats illustrés, l'extrait de *T.foenum greacum* L. a montré de puissants effets scavenger contre le radical ABTS à différentes concentrations. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est de (99,27±0,08) % à la concentration 1mg/ml et le faible est de (32,16±0,73) % à la concentration 0,2mg/ml. Par contre, le Trolox a montré un pourcentage d'inhibition maximale de (64,02±0,16) % à une concentration de 0,1 mg/ml.



**Figure 16 :** Pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.



**Figure 17 :** Pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations de Trolox

Par ailleurs, il est à constater que l'extrait hydro-méthanolique possède une activité anti-radicalaire très élevée avec une  $IC_{50_{ABTS}}$  de  $(0,42 \pm 0,005)$  mg/ml. Alors que cette activité est inférieure à celle obtenus par le standard utilisé (Trolox) qui est de  $(0,08 \pm 0,001)$  mg/ml (**Tab.5**).

**Tableau 5** : Concentration d'inhibition d' $IC_{50}$  de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *T.foenum greacum* L. et Trolox vis-à-vis le radical ABTS.

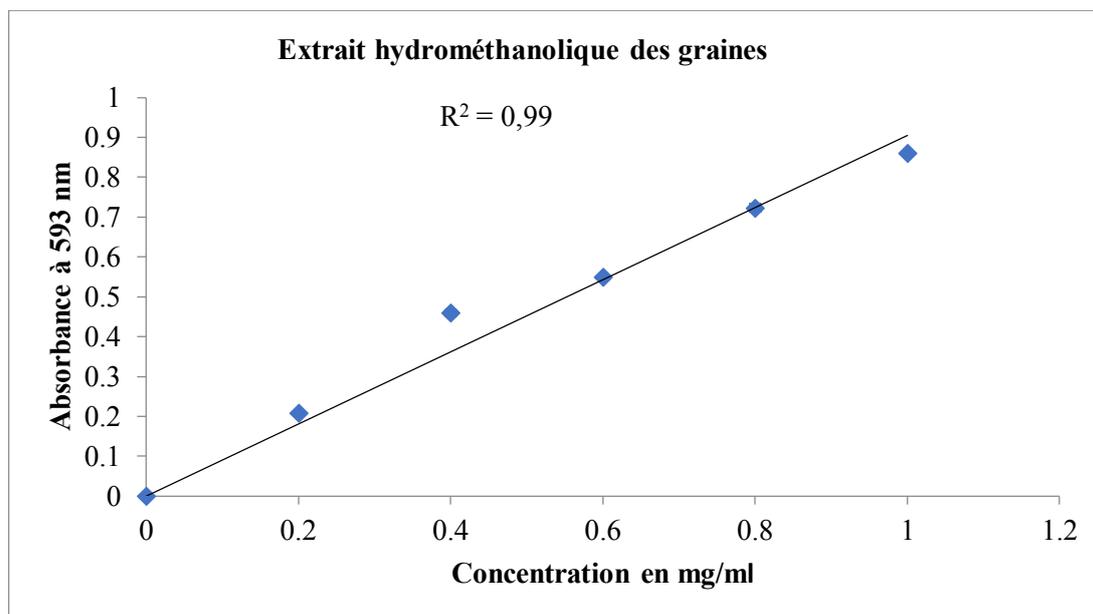
Extrait	$IC_{50_{ABTS}}$ (mg/ml)
Extrait hydro-méthanolique	$0,42 \pm 0,005$
Trolox	$0,08 \pm 0,001$

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  Ecart type

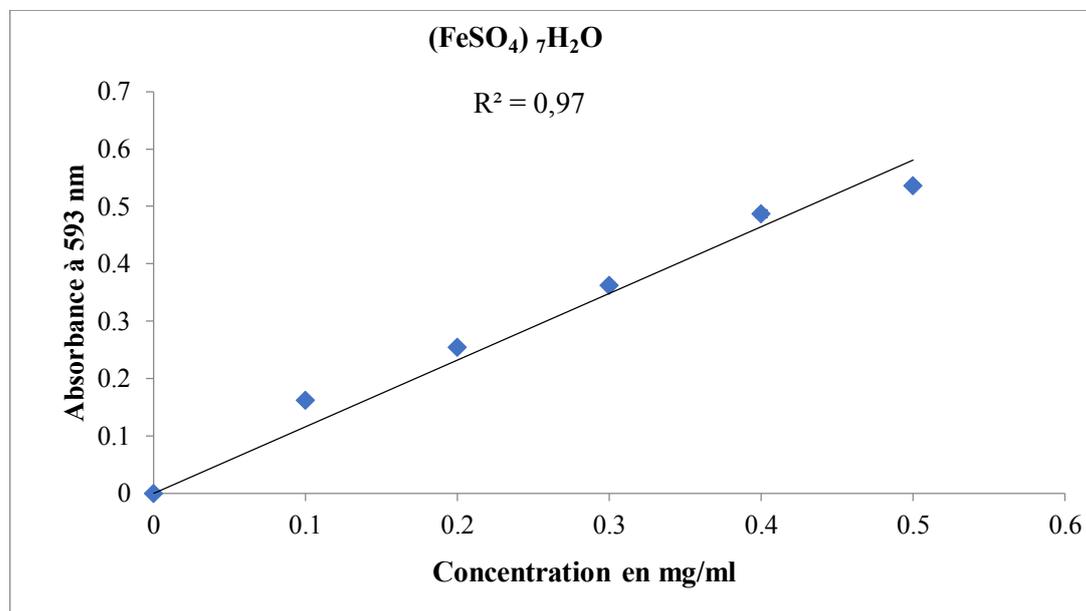
#### II.4.3. Test de FRAP

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer ferrique en fer ferreux. La couleur jaune de la solution de ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'extrait. Les valeurs des densités optiques en fonction des différentes concentrations en font possibles de tracer des courbes de l'extrait étudié, (**Fig.18**).

Les résultats ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées pour l'extrait étudié. L'extrait hydro-méthanolique (**Annexe.III**), possède le grand pouvoir réducteur moins élevé  $(0,49 \pm 0,07)$  mg/ml à une concentration 1 mg/ml et faible  $(0,20 \pm 0,003)$  mg/ml à concentration 0,2mg/ml, et correspondant une  $IC_{50_{FRAP}}$  de  $(0,49 \pm 0,07)$  mg/ml. On constate que Cet extrait est une activité réductrice supérieure à celui de Heptahydrate du sulfate ferreux  $(FeSO_4)_7H_2O$  (**Annexe.II**) avec un  $IC_{50}$  de  $(0.87 \pm 0,08)$  mg/ml (**Tab.5**).



**Figure 18 :** Absorbance de FRAP en fonction des concentrations d'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum graecum* L.



**Figure 19 :** Absorbance de FRAP en fonction des concentrations de  $(\text{FeSO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$ .

**Tableau 5** : Concentration d'inhibition d'IC50 des graines de *T.foenum greacum* L. et de  $(\text{FeSO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$  vis-à-vis le FRAP.

Extrait	IC50 <sub>FRAP</sub> (mg/ml)
Extrait hydro-méthanolique	0,49±0,07
Heptahydrate du sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4$ ) <sub>7</sub> H <sub>2</sub> O	0,87±0,08

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± Ecart type.

**Tableau 7** : Concentration d'inhibition IC50 de l'extrait des graines de *T.foenum greacum* L. Vis-à-vis le DPPH, ABTS et le FRAP.

Extrait	IC50 (mg/ml)		
	IC50 <sub>DPPH</sub>	IC50 <sub>ABTS</sub>	IC50 <sub>FRAP</sub>
Extrait hydro-méthanolique	0,44±0,005	0,42±0,005	0,49±0,07
Acide ascorbique	0,15±0,004		
Trolox		0,08±0,001	
( $\text{FeSO}_4$ ) <sub>7</sub> H <sub>2</sub> O			0,87±0,08

Les résultats de l'IC50 de DPPH, ABTS et FRAP (0,43±0,01) mg/ml et (0,42±0,002) mg/ml (55,22±0,11) mg/ml respectivement montrent que l'extrait des graines de *T.foenum greacum* L. possède une capacité de piéger des radicaux DPPH, ABTS et FRAP très élevé (Tab.7).

#### II.4.4. Corrélation de DPPH, ABTS et le FRAP

Le coefficient de Pearson est un indice reflétant une relation linéaire entre deux variables continues. Le coefficient de corrélation varie entre -1 et +1, 0 reflétant une relation nulle entre les deux variables, une valeur négative (corrélation négative) signifiant que lorsqu'une des variables augmente, l'autre diminue ; tandis qu'une valeur positive (corrélation positive) indique que les deux variables varient ensemble dans le même sens.

Selon les résultats obtenues (**Tab.8**), il y avait une bonne corrélation entre les activités antioxydantes basées sur le dosage d'ABTS et FRAP et le piégeage des radicaux DPPH de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L. la corrélation élevée est de ( $r = 0,922$ ) de DPPH et d'ABTS.

**Tableau 8** : Les coefficients de corrélation de DPPH, ABTS et FRAP de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.

	FRAP	ABTS	DPPH
FRAP	1	-0,932	-0,883
ABTS	-0,932	1	0,922
DPPH	-0,883	0,922	1

Par ailleurs, une forte corrélation a été montrée entre les teneurs en phénols totaux et les flavonoïdes et l'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique des graines de *T.foenum greacum* L. . La corrélation la plus élevée est de  $r = 0,971$  (**Tab.9**).

**Tableau 9** : Les coefficients de corrélation entre les phénols totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydante (DPPH, ABTS et FRAP) de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.

	Phénols totaux	Flavonoïdes	FRAP	ABTS	DPPH
Phénols totaux	1	0,834	0,859	-0,660	-0,843
Flavonoïdes	0,834	1	0,435	-0,137	-0,408
FRAP	0,859	0,435	1	-0,947	-0,949
ABTS	-0,660	-0,137	-0,947	1	0,971
DPPH	-0,843	-0,408	-0,949	0,971	1

# *Chapitre III*

## *Discussion*

## Discussion

*Trigonella foenum-graecum* L. est une plante bien connue en médecine traditionnelle et bien que toutes les recherches connexes se soient limitées à ses effets antidiabétiques et hypocholestérolémiant. Il a été découvert récemment que les métabolites secondaires des graines de fenugrec ont une puissante capacité antioxydante et antiradicalaire *in vivo* (**Kaviarasan et al., 2009**) contre le stress oxydatif induit par plusieurs toxines. Cette étude visait à cribler les phytoconstituants ; phénols totaux, flavonoïdes de *Trigonella foenum graecum* L. et évaluer l'activité antioxydante de l'extraits hydro-méthanoliques. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt dans la prévention et le traitement du cancer, maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Varban et al., 2009**).

Le résultat obtenu montre que le rendement d'extraction de l'ordre de 5,7 % est inférieur à ceux de (**Bencheikh et al., 2020**) qui étaient de 55,24 % d'extrait aqueux. Par contre, des résultats postérieurs ont montré que l'extrait éthanolique de *T. foenum graecum* L. est faible (**Sakhria et al., 2017**). De plus, cette différence de rendement est liée aux rigueurs climatiques conditions (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité). Il est important de souligner que la méthode utilisée ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction a effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu en phénols et les flavonoïdes, et par conséquent influent sur les activités biologiques (**Lee et al., 2013**). Ces multiples paramètres à optimiser, rendent difficile l'élaboration d'un procédé d'extraction approprié à tous les composés phénoliques des plantes (**Naczek et Shahidi, 2006; Najjaa et al., 2020**).

Concernant Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes ( $701,36 \pm 0,011$  mg EAG/g) et ( $206,52 \pm 0,03$  mg EQ/g) respectivement. Ces teneurs sont supérieures à ceux de (**Rahman, 2017**) qui étaient de ( $1,398 \pm 0,02$  mg GAE/g E) et la teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique était exprimée en pourcentage d'acide catéchine ( $1,847 \pm 0,14$  mg CE/g E). D'après les résultats obtenus par (**Lahlou et al., 2019**) sur les graines de *T. foenum graecum* L. de Morocco, la teneur en phénols totaux dans l'extrait éthanol/dichlorométhane était d'environ ( $2,16 \pm 0,67$  mg GAE/g). La teneur en flavonoïdes dans l'extrait flavonoïdique a été exprimée en mg équivalent rutine par gramme d'extrait (mg Eq Rut/g d'extrait), était d'environ ( $195,82 \pm 0,82$  mg Eq Rut/g d'extrait) (**Bakli, 2020**). Ainsi que les résultats obtenus de (**Bencheikh et al., 2020**) montrent que les teneurs en phénols et les flavonoïdes sur l'extrait aqueux des graines de *T. foenum graecum* L. environ ( $272,63 \pm 0,09$  mg/g E) et ( $95,85 \pm 0,002$  µg/g) respectivement. Ces résultats restent inférieurs aux contenus obtenus dans ce travail. Ce résultat peut être expliqué par les facteurs génétiques des plantes ainsi qu'à l'origine

géographique, aux conditions climatiques et de la récolte. La nature et le volume du solvant, la masse de la poudre et le temps de contact avec le solvant (**Hadjadj, 2017**). Et par la polarité des solvants et la méthode utilisée (**Goli et al., 2004; Spigno et al., 2007; Park et Jhon, 2010; Najjaa et al., 2020**). Le degré de maturation de la plante et la durée de stockage à une flore influence sur le contenu en composés phénoliques (**Cheurfa et Allem, 2015**). En plus, la teneur en phénols totaux extraite de la plante était effectuée par la polarité du solvant l'eau et éthanol ou méthanol sont souvent recommandés pour la préparation d'extrait en raison de leur polarité (**Zeghad et al., 2019**). De plus, ils ont été sélectionnés comme solvant dans cette étude (**Sydney et al., 2016**).

Les IC50 sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (**Fadili et al., 2017**).

Pour le DPPH, Les résultats obtenus de l'IC50<sub>DPPH</sub> (0,44±0,005 mg/ml) montre que l'activité antioxydante du radical DPPH sur les graines de *T. foenum greacum* L. est supérieure à ceux de (**Lahlou et al., 2019**) qui est de 35,64 µg/ml pour l'IC50 et de 49,98% pour le pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique. Par contre, les valeurs obtenues à partir d'un extrait flavonoïdique de *T. foenum greacum* L. est de (0,004 ± 0,001 mg/ml) (**Bakli, 2020**). D'autre part, l'extrait méthanolique; l'extrait acétonique; l'extrait aqueux; l'extrait de n-hexane de *T. foenum greacum* sont de l'ordre de (12,5±0,54, 16,1±0,42, 19,05±0,32, 15,8±0,625 µg/ml) avec des pourcentages d'inhibition en DPPH 23,2%, 18,01%, 15,22% et 18,35% (**Jaradat et al., 2016**). Ces résultats confirment une activité antioxydante supérieure à celui obtenu. Il est connu que les composés phytochimiques tels que, les phénols totaux et les flavonoïdes sont principalement responsables de cette activité antioxydante (**Norziah et al., 2015**). La forte activité de piégeage des extraits peut être due à des composés phénoliques qui possèdent une structure chimique idéale pour une activité de piégeage des radicaux libres (**Djidel et al., 2013; Zbadi et al., 2018**). D'autre part, par la synergie entre le mélange de composés phénoliques présents dans le même extrait qui ne dépend pas seulement de leur concentration, mais aussi de leur structure (**Zbadi et al., 2018**). Des études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur capacité à piéger les radicaux libres ont montré que l'activité de piégeage dépend du nombre, de la position et de la nature des substitués des cycles B et C et du degré de polymérisation (**AndziBarhé et FeuyaTchouya, 2016**).

Le plus haut pourcentage d'inhibition contre ABTS a été observé en extrait hydro-éthanolique et extrait méthanolique 98,5±0,10 et 97,7±0,07 % respectivement (**Dhull et al., 2020**). Ces derniers concordent avec celui obtenue IC50<sub>ABTS</sub> (0,42±0,005 mg/ml). Ces résultats peuvent être dus aux faits que cette plante est aussi riche en différents types d'alcaloïdes. La

synergie entre ces derniers peut expliquer leur pouvoir antiradicalaire important à piéger le radical ABTS<sup>+</sup>. Il est conclu que les composés phénoliques de poids moléculaire plus élevé ayant une faible polarité contribuent efficacement à l'activité antioxydante totale de l'extrait de *T. foenum greacum* L. (Mokrani et Madani, 2016).

D'autre part, Les résultats de (Benziane et al., 2019) montrent que l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *T. foenum greacum* déterminées par le test de FRAP étaient de 56,37±0,24 mg AAE/100g, 56,90±0,013 mg AAE/100g pour l'extrait de macération et décoction respectivement. L'extrait méthanolique, aqueux, tannique, flavonoïdique montrent une IC<sub>50</sub> de 5,09±0,07 ; 4,27±0,06 ; 1,86±0,01 et 0,75±0,01 mg/ml respectivement (Bakli, 2020). Ces résultats montrent que le pouvoir réducteur est inférieur que celui obtenu IC<sub>50</sub>FRAP 0,49±0,07mg/ml. Par conséquent, l'extrait aqueux de *T. foenum greacum* L.a exhibé une forte activité antioxydante. La capacité réductrice des composés est l'indicateur majeur de leurs potentiels activités antioxydantes (Dar et al., 2017). Le pouvoir réducteur et la teneur totale en phénoliques et en flavonoïdes peut être une raison de l'activité élevée du pouvoir réducteur (Ebrahimzadeh et al., 2018). Cette activité pourrait être attribué majoritairement aux polyphénols présents dans la plante (Bekara et al., 2016).

Le coefficient de corrélation est indépendant des unités de mesure des variables, ce qui autorise les comparaisons. La mesure est normalisée (Revelle, 2015).

Ces résultats obtenus corroborent aux résultats de (Rahmani, 2017) de l'extrait méthanolique de *T.foenum greacum* L. qui montrent une forte corrélation positive R= 0,987 entre les composé phénolique et l'activité antioxydante. Ainsi que l'étude de (Leena et al., 2014) qui confirment aussi une corrélation très élevée entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante de l'extrait de *T. foenum greacum* L.

# *Chapitre IV*

## *Conclusion*

---

## Conclusion

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. *Trigonella foenum-graecum* L. est un agent antioxydant naturel prometteur et non toxique. Le présent travail a pour objectif l'étude de la teneur en flavonoïdes, phénols totaux et l'évaluation du pouvoir antiradicalaire de l'extrait des graines de *T. foenum-graecum* L.

Le rendement de l'extrait obtenu était faible par rapport à l'efficacité des solvants étudiés eau et méthanol.

La quantification des composés phénoliques des graines de *T. foenum-graecum* L. a montré son abondance et sa richesse en flavonoïdes et en phénols totaux.

L'activité antioxydante des graines de la plante a été évaluée, *in vitro*, par les trois techniques : DPPH, FRAP et ABTS. Les résultats du piégeage du radical libre DPPH et scavenger contre le radical ABTS montrent un pouvoir antioxydant puissant de l'extrait hydro-méthanolique. L'activité antioxydante par la méthode FRAP a également montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation des concentrations utilisées pour l'extrait étudié. Ces données confirment l'activité antioxydante intéressante et la capacité des graines de *T. foenum-graecum* L. de piégeage de radicaux libres.

Pour la matrice de corrélation, les résultats ont révélé la présence de plusieurs corrélations entre divers paramètres, les plus importantes sont entre la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanoliques et l'activité antiradicalaire DPPH et ABTS ainsi que test FRAP. Aussi, entre les antioxydants et les activités antioxydantes.

Pour conclure, le fenugrec d'origine Algérien est susceptible d'avoir un intérêt, médicinale et à l'industrie pharmaceutique au même temps, grâce à sa richesse en substances nutritives, en composés phytochimiques (phénols, saponines et huiles essentielles). C'est pour cette raison que le patrimoine végétal doit être absolument préservé dans sa diversité et dans son étendue.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans l'investigation du pouvoir antioxydant de cette plante ; une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur leurs effets.

*Les références*

Γ62 Λ616Λ6N62

*bibliographies*

β1β110&ΛαβN62

**Références bibliographiques**

- Adish A-A. (1999).** Risk factors for iron deficiency anaemia in preschool children in northern Ethiopia. *Public Health Nutr* 3 :243–52.
- Ali L, Azad Khan AK, Hassan Z, et al (1995).** Characterization of the hypoglycemic effects of *Trigonella foenum graecum* seed. *Planta Med* 61 :358–60.
- Andzi Barhé, T. & Feuya Tchouya, G.R. (2016).** Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*, 9: 1-8.
- Andzi Barhé, T. & Feuya Tchouya, G.R. (2016).** Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*, 9 : 1-8.
- Anthoula Adossides., 2003.** “Plantes Aromatiques et Médicinales”, FAO Projet “Assistance au Recensement Agricole”.
- Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3<sup>ème</sup> édition, CNERNACNRS, 2001.**
- Ashor A.W., Siervo M. & Mathers J.C. (2016).** Vitamin C, antioxidant status, and cardiovascular aging. In *molecular basis of nutrition and aging* (pp. 609-619). Academic Press.
- Baba aissa F.,** Encyclopédie des plantes utiles d’Algérie. Edition librairie moderne Rouiba. Algérie, P.368, **1999.**
- Bakli, S ,2020.** Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Barouki R.** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences*. **2006** ; 22(3) : 266- 272.
- Baudin, B (2020).** Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue francophone des laboratoires*, 2020 (522), 22-30.
- Bekara, A., Hamadouche, N.A., Kahloula, K., Sadi, N. & Abd-el-Kader, A. (2016).** Etude phytochimique et activité antioxydante de l’extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 4 (3) : 299-307.
- Bellakhdar J.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Paris: Ibis Press, (1997)
- Benghanou, M.,2012.** La phytothérapie entre la confiance et mefiance : Memoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA Alger (56p).
- Benzie IF, Strain JJ.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* **1996** ; 239 : 70-76.

- Bermejo, J. E. H., & León, J. (Eds.). (1994).** Neglected crops: 1492 from a different perspective (No. 26). Food & Agriculture Org.
- Blumberg J., Bailey R., Sesso H. & Ulrich C. (2018).** The evolving role of multivitamin/multimineral supplement use among adults in the age of personalized nutrition. *Nutrients*. 10(2) : 248-261.
- Bohui. P.S.G; Adima. A.A; Niamke. F.B; N'guessan. J.G., (2018).** Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles des plantes médicinales. *Journal of Société Ouest--Africaine de Chimie*, 46, 50-58.
- Bouchouka. E., (2016).** Extraction des polyphénols et étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar - Annaba, pp 20-24.
- Brochard F. (2013).** Thèse de doctorat en pharmacie. Les compléments alimentaires et les produits diététiques de l'effort commercialisés et utilisés dans la pratique du cyclisme 174 p, Université de Nantes (France).
- Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (5e ed.). Paris : Lavoisier, (2016).
- Bruneton J.,** Pharmacognosie, Phyto-chimie, Plantes médicinales, troisième Edition. lavoisistec dec, Paris. P. 915. 1999.
- Campbell J. et Reid J-S-G., 1982.** Galactomannan formation and guanosine 5-diphosphatemannose: galactomannan mannosyl transferase in developing seeds of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L., Leguminosae). *Planta* 155 :105–11
- Chabbi R., 2010.** Mémoire de magister. Caractérisation des bactéries isolées à partir du genre *Trigonella* L. (Légumineuses) poussant dans différents écosystèmes de l'Est algérien. 111 p.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC.** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal* 2002 ; 10 : 178-182.
- Chemar K., 2016** – Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoire de Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11.
- Chemar K., 2016** – Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoire de Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11.
- Chevassus H, Molinier N, Galtier F, et al (2007)** Un extrait de graines de fenugrec (Fenugrene\*) diminue sélectivement la prise de lipides chez l'adulte volontaire sain poster 462 *Endocrinologie - Diabète - Marseille* 2007.
- Clément R. P., 2005.** Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1ère partie) À Législation. 4 :171-5.
- Dalila Bencheikh, Ahlam Gueddah, Khadidja Soualat, Halima Ben-aissi, Abderrahim Benslama, Abdenassar Harrar, Seddik Khennouf. (2021).** polyphénolic contents, antioxydant and antibacterial activities of aqueous extract of *Eucalyptus globulus* L. and *Trigonella foenum-graecum* L. University Ferhat

- Abbas Setif 1, Faculty of Nature and Life Sciences, Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases, Department of Biology and Animal Physiology, Setif, Algeria. *Journal of Applied Biological Sciences* E-ISSN: 2146-0108 15(1): 53-63, **2021**,
- Dar, R.A., Brahman, P.K., Khurana, N., Wagay, J.A., Lone, Z.A., Ganaie, M.A. & Pitre, K. S. (2017).** Evaluation of antioxidant activity of crocin, podophyllotoxin and kaempferol by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: S1119-S1128.
- Debelmas AM et Delaveau P.,** Guides des plantes dangereuses, Edition Maloine S. A .2 éditions. France, P .200, **1983**.
- Deby-Dupont G., Deby C. & Lamy M. (2002).** Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, 11 : 28-39.
- Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot.** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. **2005a** ; 1 - 405.
- Descamps O.** Stress oxydant et vieillissement : aspects mitochondriaux et stratégies nutritionnelles anti-cancer et anti-vieillessement chez la souris OHI. Thèse de Doctorat, Université René-Descartes Paris 5. **2004**. olivier.descamps@worldmail.com .**21/05/2007**.
- Djeddi S., 2012** – Les huiles essentielles « Des mystérieux métabolites secondaires » : Manuel de formation destiné aux étudiants de Mastre. ED.Presses Académiques Francophones Grece,64p.
- Djidjel, S., Khennouf, S., Ameni, D., Baghiani, A., Arrar, L. & Charef, N. (2013).** Antioxidant proprieties of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Pharmacognosy Communications*, 3 : 28-34.
- Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj M.** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine*. Gvozdjakova A (ed). **2008** : 19-43.
- Dutertre J., 2011.** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. *Doc. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen*. U.F.R des sciences médicales.120p.
- Ebrahimzadeh, M.A., Khalili, M. & Dehpour, A.A. (2018).** Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis* -an in vitro assay. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54 (1) : 1-6.
- Eggersdorfer M. & Wyss A. (2018).** Carotenoids in human nutrition and health. *Arch Biochem Biophys*. **652** : 18-26.
- Erenler, R., Genç, N., Elmastaş, M. & Eminağaoğlu, Ö. (2019).** Evaluation of antioxidant capacity with total phenolic content of *Galanthus krasnovii* (Amaryllidaceae). *Turkish Journal of Biodiversity*, 2 (1): 13-17.

- Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, S., Zair, T., (2017).** Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of Capparis Spinosa L. American journal of innovativeresearch and applied sciences, 5(2), 108-118.
- Favier A.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique. **2003** : 108-115.
- Fortisource**, <http://63.236.6.35/frt/monographs/profmono.asp>
- Fraga C.G., Croft K.D., Kennedy D.O. & Tomás-Barberán F.A.** (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct.* 10(2): 514-528.
- Frantisek, S., 1992.** Plantes medicinales: Ed Grund Paris (5p).
- Garrel C, Ceballos-Picot I, Germain G, Al-Gubory KH.** Oxidative stressinducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F2alpha-induced luteal cell death in vivo. Free radical research. **2007**; 41: 251-259.
- Ghedira, K., Goetzl, P., Le Jeune, R., (2015).** Fenugrec : *Trigonella foenum-græcum*L. (Fabaceae ex. Leguminosae). 8, 180-4
- Guinard J.,** Abrégé de biochimie végétale. Edition Masson, Paris, P.255. **1996.**
- Gulçin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A. & Elias R. (2006).** Screening of antiradical and antioxidant activity of onodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber. Phytomedicine, 13 : 343-351
- Haddouchi F., Chaouche T.M. & Halla N. 2016.** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie, Pp : 1-9.
- Hadjadj, S., (2017).** Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctoratès Sciences. Université Kasdi Merbah- Ouargla, 99.
- Hahn H.J., Kim K.B., An I.S., Ahn K.J. & Han H.J. (2017).** Protective effects of rosmarinic acid against hydrogen peroxide-induced cellular senescence and the inflammatory response in normal human dermal fibroblasts. Mol Med Rep. 16(6) : 9763-9769.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J O., Calier C. et Chapelle J P. (2007).** Le stress oxydant. Revue Médicale de Liege, 62(10) : 628- 638.
- Hannan, J. M. A., Ali, L., Rokeya, B., Khaleque, J., Akhter, M., Flatt, P. R., & Abdel-Wahab, Y. H. A. (2007).** Soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum graecum* L. (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. British Journal of Nutrition, 97(03), 514-521.
- Harchane, H., El Addas, H., Amsaguine, S., El Amrani, N., Radallah, D. (2012).** Effets de l'extrait aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum graecum*) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. Phytothérapie, 10 (6) ,357-362.

- Herzog K., IJlst L., van Cruchten A.G., van Roermund C.W., Kulik W., Wanders R.J. & Waterham H.R. (2019).** An UPLC-MS/MS assay to measure glutathione as marker for oxidative stress in cultured cells. *Metabolites*. 9(3): 45-55.
- Huang MH, Huang SS, Wang BS, Wu CH, Sheu MJ, Hou WC, et al.** Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Cardiospermum halicacabum* and its reference compounds ex vivo and in vivo. *J Ethnopharmacol* **2011** ; 133 : 743-750.
- Institut Européen des Substances Végétales.** Les plantes médicinales. **2015- 2016.**
- Ionescu A.M., Roman G.V., (2013):** reseach on biology, productivity and yield quali of *Trigonellafoenum-graecum* L. species (fenugreek) in the centrl part of the south Romanian plan. Scientic papers erie A. agronomy. LVI.
- Iserin P., 2001-** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed.Larousse-bordas, paris :275 p.
- Iserin P., 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypogly Edith Ybert, Tatiana Delasalle- Feat. Vol 01, 335p.
- Iserin, P ; Masson, M ; Restellini J, P ; Ybert, E., De Laage de Meux A., Moulard, F ; Zha, E ; De la Roque, R ; De la Roque, O ; Vican, P ; Deesalle –Féat, T ; Biaujeaud, M ; Ringuet, J ; Bloth, J.et Botrel, A., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins : Ed *Larousse* (10-12p).
- Ismail A. & Hong S.T. (2002).** Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal Journal of Nutrition*, 8 (2) : 167-177.
- Jacob C, Knight I, Winyard PG.** Aspects of the biological redox chemistry of cysteine: from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. *Biol Chem.* **2006** ; **387** :1385-1397.
- Jamet J.-F.,** département de Phytothérapie et des oligo-éléments de la faculté de Médecine de Bobigny. Phytothérapie n°25. Les tisanes – le goût ; juin **2008.** p.10.
- Jenkins A J, Hill M A, Rowley KG.** Diabetes and Oxidant Stress. *Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective.* Holtzman J.L (ed). **2007:** 123-160.
- Jiofack, T., Ayissi, I., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V. 2009.** Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong Valley Forest in Cameroon — *African Journal of Pharmacy and pharmacology* 3 (4): 144-150.
- KUHN R., BIRETT K.** –Merkblätter gefährliche Arbeitsstoffe. Lech. Verlag Moderne Industrie, **1981**, Blatt N° T16.
- Kumar G.P., T. Anand, D. Singsit, F. Khanum et K. R. Anilakumar (2013).** Evaluation of antioxidant and anti-fatigue properties of *Trigonella foenum-graecum* L. in rats subjected to weight loaded forced swim test. *Pharmacognosy Journal*, 5, 66-71.
- Landolt. D,** Corrosion et Chimie de Surfaces des Métaux, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, lausanne, **1993.**
- Liu Z., Ren Z., Zhang J., Chuang C.C., Kandaswamy E., Zhou T. & Zuo L. (2018).** Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Front Physiol.* **9:** 477-480.

- Luciano G., Roscini V., Mattioli S., Ruggeri S., Gravador R.S., Natalello A., Lanza M., De A. A. & Priolo A. (2017).** Vitamin E is the major contributor to the antioxidant capacity in lambs fed whole dried citrus pulp. *Animal*. **11**: 411-417.
- Mac Laren D.** Advances in sports and exercise science series. In: Close GL, Mc Ardle F. (Eds). Nutrition and Sport. Antioxidants and free radicals. Chapter 8. Elsevier. 153-75, 2007.
- Madhava-Naidu M., B. Shyamala, J. Pura, Naik,G. Sulochanamma et P. Srinivas (2011).** Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of Fenugreek seeds. *LWT-Food Science and technology*, 44, 451-456.
- Mahmoudi, Y.,1992.** La thérapeutique par les plantes : Ed Palais du livre. Blida(128p).
- Roux ,D., 2005.** Les nouvelles plantes qui soignent : Edition Alpen, Paris (21p).
- Manatas S., 1984.** La pharmacognosie appliquée, Ed. Phytoscience, le pharmacien de France.
- Martínez-Cayuela, M. (1995)** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. **77**: 147-161.
- Mazzetti A.P., Fiorile M.C., Primavera A. & Lo, B.M. (2015).** Glutathione transferases and neurodegenerative diseases. *Neurochem Int*. **82** : 10-18.
- Mbailhougadobé et al. 2017** les extraits hydrométhanoliques extraient mieux les composés phénoliques et manifestent une bonne activité antioxydante. Et le type de solvant joue un rôle important dans l'extraction des composés phénoliques et des molécules anti-oxydantes (**Ouzid et al., 2018**)
- Mbailhougadobé, S., Ngakegni-Limbili, A.C., Gouollaly, T., Koane, J.N., Ngaissona, P., Loumpangou, C.N., Mahmout, Y. & Ouamba, J.-M. (2017).** Evaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de plantes utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18 (2) : 28-35.
- Meghwal M. et T. Goswami (2012).** Evaluation of size reduction and power requirement in ambient and cryogenically ground Fenugreek powder. *Advanced Powder Technology*.
- Mehrafarin, A., Qaderi, A., Rezazadeh, Sh., Naghdi Badi, H., Noormohammadi, Gh., Zand , E. (2010).** Bioengineering of Important Secondary Metabolites and Metabolic Pathways in Fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.). *J. of Medicinal Plants*, 9(35), 1– 18.
- Menon SG, Goswami PC.** A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene*. **2007**; 26: 1101-1109.
- Milliauskas G, Venskutonis PR, van Beek TA.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem* **2004**; 85: 231-237.
- Millogo, H; Guisson I, P; Nacoulma, O et Traore A, S., 2005.** Savoir traditionnel et **Mohammedi, Z., 2005.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse mag : Uni Abou Bakr Belkaid. Tlemcen (105p).

- Mohammed Nasir Assam BENZIANE<sup>1</sup>, Kamel ACEM<sup>2</sup>, Hbib AGGAD<sup>3</sup>, Mustapha ABDALI<sup>3</sup>. (2019).** Phytochemistry, HPLC profile and antioxidant activity of aqueous extracts of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) seeds grown in arid zones of Algeria Khaldoun, BP 78,14000 Tiaret - Algeria. ASN, Vol 6, No 2, Pages 71-87.
- Mohammedi, Z., 2005.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse mag: Uni Abou Bakr Belkaid. Tlemcen (105p).
- Mokrani A, Madani K. (2016).** Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. Sep Purif Technol 162 :68–76.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Dominguez, J., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez M. J., Carlos Parajo, J. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry; 72(2):145-171.
- Nidal Amin Jaradat, Ramzi Shawahna, Fatima Hussein et Saad Al-Lahham** European Journal of Integrative Medicine, 2016-10-01, Volume 8, Numéro 5, Pages 623-630, Copyright © 2016 Elsevier GmbH.
- Nimse S.B. & Pal D. (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. Rsc Adv. 5(35): 27986-28006.
- Norziah, M.H., Fezea, F.A., Bhat, R. & Ahmad, M. (2015).** Effect of extraction solvents on antioxidant and antimicrobial properties of fenugreek seeds (*Trigonella foenumgraecum* L.). International Food Research Journal, 22 (3): 1261-1271.
- Norziah, M.H., Fezea, F.A., Bhat, R. & Ahmad, M. (2015).** Effect of extraction solvents on antioxidant and antimicrobial properties of Fenugreek seeds (*Trigonella foenumgraecum* L.). International Food Research Journal, 22 (3) : 1261-1271.
- O.M.S (Organisation Mondiale de la santé), 2000 –** Prinples méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation de la médecine traditionnelle.
- Öner A. C., U. Mercan, H. Öntürk, N. Cengiz, R. Erten et H. Özbek (2008).** Antiinflammatory and hepatoprotective activities of *Trigonella foenum graecum* L. Pharmacologyonline, 2, 126-132.
- Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N. & Houali, K. (2018).** Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of Peganum harmala of Dayate aiat (Laghouat, Algeria). Journal of Fundamental and Applied Sciences, 10 (1) : 147-157.
- Pacula A.J., Kaczor K.B., Wojtowicz A., Antosiewicz J., Janecka A., Dlugosz A., Janecki T. & Scianowski J. (2017).** New glutathione peroxidase mimetics-Insights into antioxidant and cytotoxic activity. Bioorg Med Chem. 25 : 126-131.
- Peltj, M., 1980.** Les drogues, leur histoire et leurs effets : Édition Doin, Paris (221p).
- Petropoulos G-A., 2002.** Fenugreek. The genus *Trigonella*. Edition Taylor & Francis New York. Severe Conditions and in an Arid Climate. Microbiol Mol Biol Rev 63 :968–89.
- Pierre M., Lis .M (2007)** Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1 : 463

- Priya V., Jananie K. et Vijayalakshmi K (2011).** Studies on antioxidant activity of *Trigonella Foenum Graecum*L.seed using in vitro models
- Quezel P. et Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris.
- Rahmani,M** .Etude physiologique et valorisation des plantes fourragères et médicinales dans la wilaya de Sidi Bel-Abbés, Algérie occidentale : Cas de Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.).Thèse de doctorat. **25/01/2017**, Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbés Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences de l'Environnement Laboratoire *-Eco-développement des Espaces-*.
- Ramulu, P., Giridharan, N. V., & Udayasekhararao, P. (2011).** Hypolipidemic effect of soluble dietary fiber (galactomannan) isolated from fenugreek seeds in WNIN (GR-Ob) obese rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4804-4813.
- Royaume du Maroc.** Dahir n° 1-06-151 du 30 chaoual 1427 (22 novembre **2006**) portant promulgation de la loi n° 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie. Titre premier du médicament et des produits pharmaceutiques non médicamenteux. Article premier.
- Royaume du Maroc.** Dahir n° 1-06-151 du 30 chaoual 1427 (22 novembre **2006**) portant promulgation de la loi n° 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie. Titre premier du médicament et des produits pharmaceutiques non médicamenteux. Article 2.
- Sakhria Mbarki, Hichem Alimi, Hafsia Bouzenna, Abdelfettah Elfeki et Najla Hfaiedh.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2017-04-01**, Volume 88, Pages 19-26, Copyright © **2016** Elsevier Masson SAS.
- Sanago R., 2006.**Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali) : 53.
- Sanago R., 2006.**Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali) : 53
- Sanju Bala Dhull1 • Maninder Kaur2 • Kawaljit Singh Sandhu3 .2020.** Antioxidant characterization and in vitro DNA damage protection potential of some Indian fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) cultivars: effect of solvents. Association of Food Scientists & Technologists (India) 2020, Department of Food Science and Technology, Chaudhary Devi Lal University, Sirsa, India.vol
- Sarni-Manchado,P et Veronique, P.,2006.** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires : édition TEC et DOC, Paris (France) (398p).
- Sarr S O., Fall A D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Ndiaye B. and Diop, Y.M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9 (3) : 1263- 1269.
- Sassi M., 2008.** Les plantes médicinales. Dar el fikr. Tunis.
- Serino A. & Salazar G. (2019).** Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. *Nutrients*. 11(1) : 53.

- Sheicklar, A. (2013).** *Trigonella foenum-graecum L.* (Fenugrec) as a Medicinal Herb in Animals Growth and Health. *Science internationale*, (1) 6,194-198.
- Smirnoff N. (2018).** Ascorbic acid metabolism and functions: à comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med.* **122** : 116-129.
- Snehlata H. et Payal D. (2011).** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*): An Overview.
- Sorg, O. (2004)** Oxidative stress: à theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* **327** : 649-662.
- Strang , C., 2006.** Larousse médical : Ed Larousse (26p).
- Tanoh, S.K., N’Gaman-Kouassi, C.C., Boa, D., Mamyrbekova-Békro, J.A. & Békro, Y.-A. (2019).** Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d’Ivoire médicinales. *Nature et Technologie*, 11 (2) : 28-34
- Thomas J., S. Basu et S. Acharya (2006).** Identification of *Trigonella* accessions which lack antimicrobial activity and are suitable for forage development. *Canadian journal of plant science*, 86, 727-732.
- Thurzova, L., 1978.** Les plantes \_ santé qui poussent autour de nous. Ed : Elsevier Séquoia Bruxelles (4,268p).
- Triéthylamine –** Fiche de données de sécurité. Paris – La Défense, Atochem. **1988.**
- Velioglu Y S., Mazza G., Gao L. and Oomah B D. (1998).** Antioxidants activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grains products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46(10): 4113-4117.
- Xiong Y., Xiong Y., Zhou, S., Sun Y., Zhao Y., Ren X., Zhang Y. & Zhang N. (2017).** Vitamin C and Ee supplements enhance the antioxidant capacity of erythrocytes obtained from aged Rats Rejuvenation Res. **20**: 85-92.
- Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang J.J. & Li H.B. (2017).** Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *Int J Mol Sci.*18(1): 96-107.
- Y. Lahlou1, Z. Rhandour2, B. El Amraoui1,3, T. Bamhaoud1. (2019).** Screening of antioxidant activity and the total polyphenolic contents of six medicinal Moroccan's plants extracts. Faculty of Sciences Ben M’sik, University Hassan II-Casablanca, Morocco. Vol 10, Issue 12, Page 1332-1348.
- Yacoubi L., Rabaoui L., HédiHamdaoui M., Fattouch S., Serairi R., Kourda N., Ben Khamsa S (2011).** Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Trigonella foenum-graecum*L., 1753 (Fenugreek) seed extract in experimental pulmonary fibrosis.
- Zakaria Z, Aziz R, Lachimanan YL, Sreenivasan S, Rathinam X.** Antioxidant activity of *Coleus blumei*, *Orthosiphon stamineus*, *Ocimum basilicum* and *Mentha arvensis* from Lamiaceae family. *Int J Nat Eng Sci* **2008** ; 2 : 93-95.
- Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ.** Superoxide dismutase multigene family: à comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* **2002** ; 33(3) : 337-49.

- Zemmori. H., (2015).** Etude des activités biologiques et effets comparatifs de Borago Officinalis et Urtica dioica sur l'inflammation bronchique dans un modèle d'asthme expérimental chez les rats de la souche wistar. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar - Annaba, pp 23-26.
- Zuluaga M., Gueguen V., Pavon-Djavid G. & Letourneur D. (2017).** Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts*. **7** : 1-3.

# *Annexes*

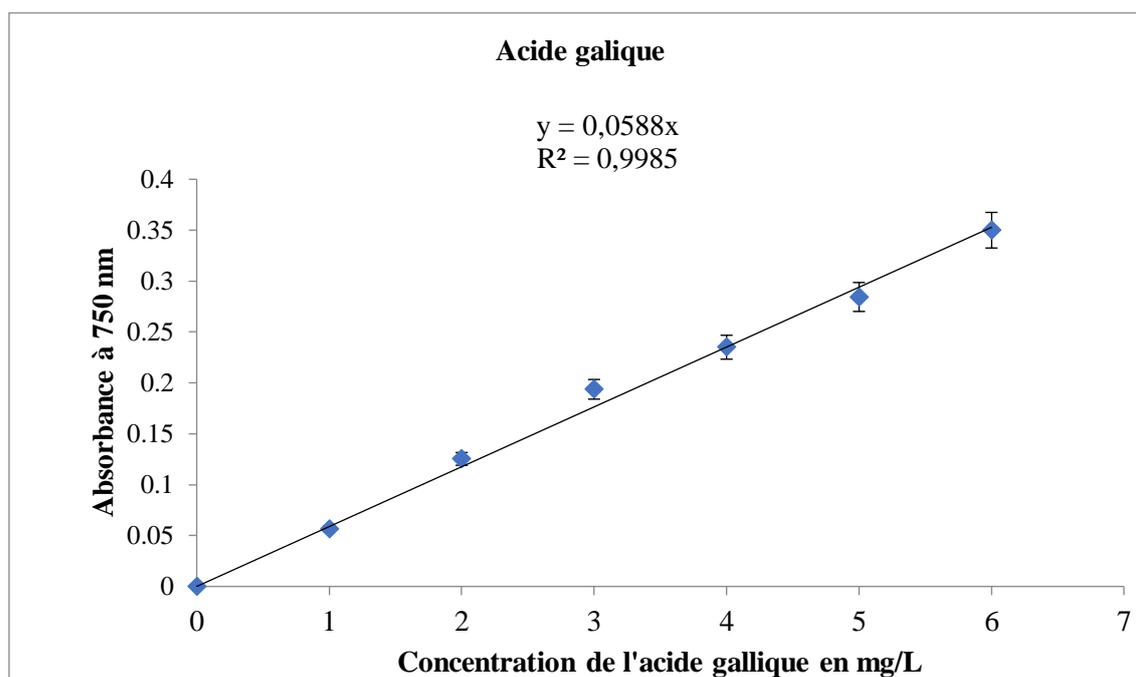
## Annexe I

**Tableau 1** : Densité optique des phénols totaux de l'extrait hydrométhanolique de *T.foenum greacum* L.

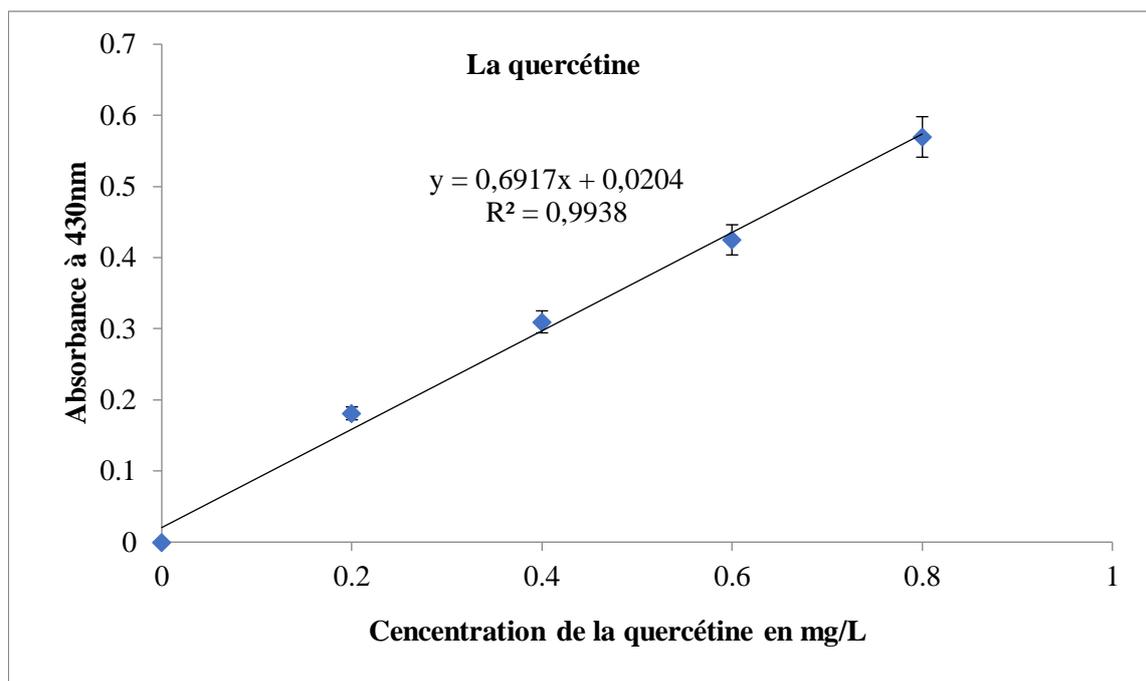
Conc(mg/ml)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3
<b>0,1</b>	0,404	0,425	0,408

**Tableau 2** : Densité optique des flavonoïdes de l'extrait hydrométhanolique de *T.foenum greacum* L.

Conc(mg/ml)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3
<b>0,5</b>	0,693	0,766	0,745



**Figure 1** : Absorbances des phénols totaux en fonction des concentrations d'acide gallique.



**Figure 2 :** Absorbances des flavonoïdes en fonction des concentrations de quercétine

## Annexe II

**Tableau 3 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

Conc(mg/ml)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	Moyenne	Ecart type
0	0	0	0	0	0
0,05	16,6	15,98	16,2	16,26	0,28114053
0,1	31,1	33,54	30,31	31,65	1,50601461
0,15	52,55	46,87	47,87	49,0966667	2,71206686
0,2	65,44	65,01	60,26	63,57	2,57111649
0,25	78,9	78,83	78,98	78,9033333	0,06713171
0,3	91,65	92,8	95,1	93,1833333	1,57119912
<b>IC50</b>	0,15	0,158	0,159	0,15566667	0,0044121

**Tableau 4 :** Pourcentage d'inhibition du ABTS en fonction des concentrations de Trolox.

Conc (mg/ml)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	Moyenne	Ecart type
0	0	0	0	0	0
0,02	33,11	31,6	31,77	32,16	0,73978375
0,04	59,69	56,35	58,02	58,02	1,49369341
0,06	86,28	89,46	87,95	87,8966667	1,42273914
0,08	95,98	97,15	96,82	96,65	0,53955537
0,1	99,16	99,33	99,33	99,2733333	0,08778762
<b>IC50</b>	0,43	0,42	0,42	0,42	0,005

**Tableau 5 :** Pourcentage d'inhibition du FRAP en fonction des concentrations de  $(\text{FeSO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$ .

Conc(mg/mL)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	Moyenne	Ecart type
0	0	0	0	0	0
0,1	0,164	0,16	0,163	0,16233333	0,0018619
0,2	0,252	0,255	0,258	0,255	0,00268328
0,3	0,365	0,363	0,361	0,363	0,00178885
0,4	0,495	0,48	0,487	0,48733333	0,00671317
0,5	0,533	0,535	0,54	0,536	0,0032249
0,6	0,695	0,684	0,671	0,68333333	0,01074554
<b>IC50</b>	43,01	43,51	43,59	43,37	0,31432467

**Annexe III****Tableau 6 :** Pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.

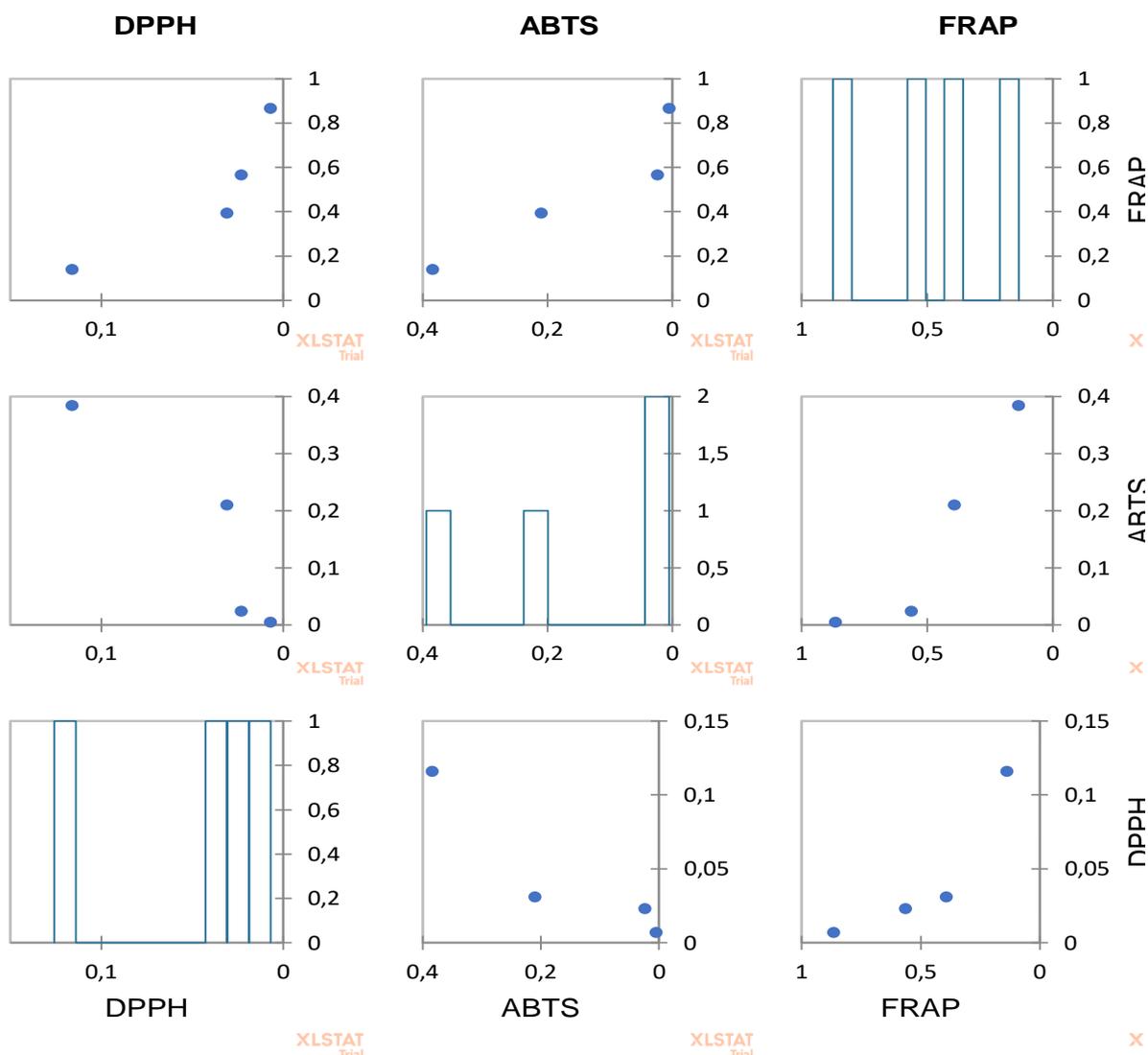
Conc(mg/ml)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	Moyenne	Ecart type
0	0	0	0	0	0
0,2	35,35	27,27	31,31	31,31	4,04
0,4	60,16	60,21	68,68	63,0166667	4,90465425
0,6	82,82	84,84	83,83	83,83	1,01
0,8	87,37	86,86	87,37	87,2	0,29444864
1	96,46	95,95	96,96	96,4566667	0,50500825
<b>IC50</b>	0,44	0,45	0,44	0,44	0,005

**Tableau 7 :** Pourcentages d'inhibition de ABTS de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.

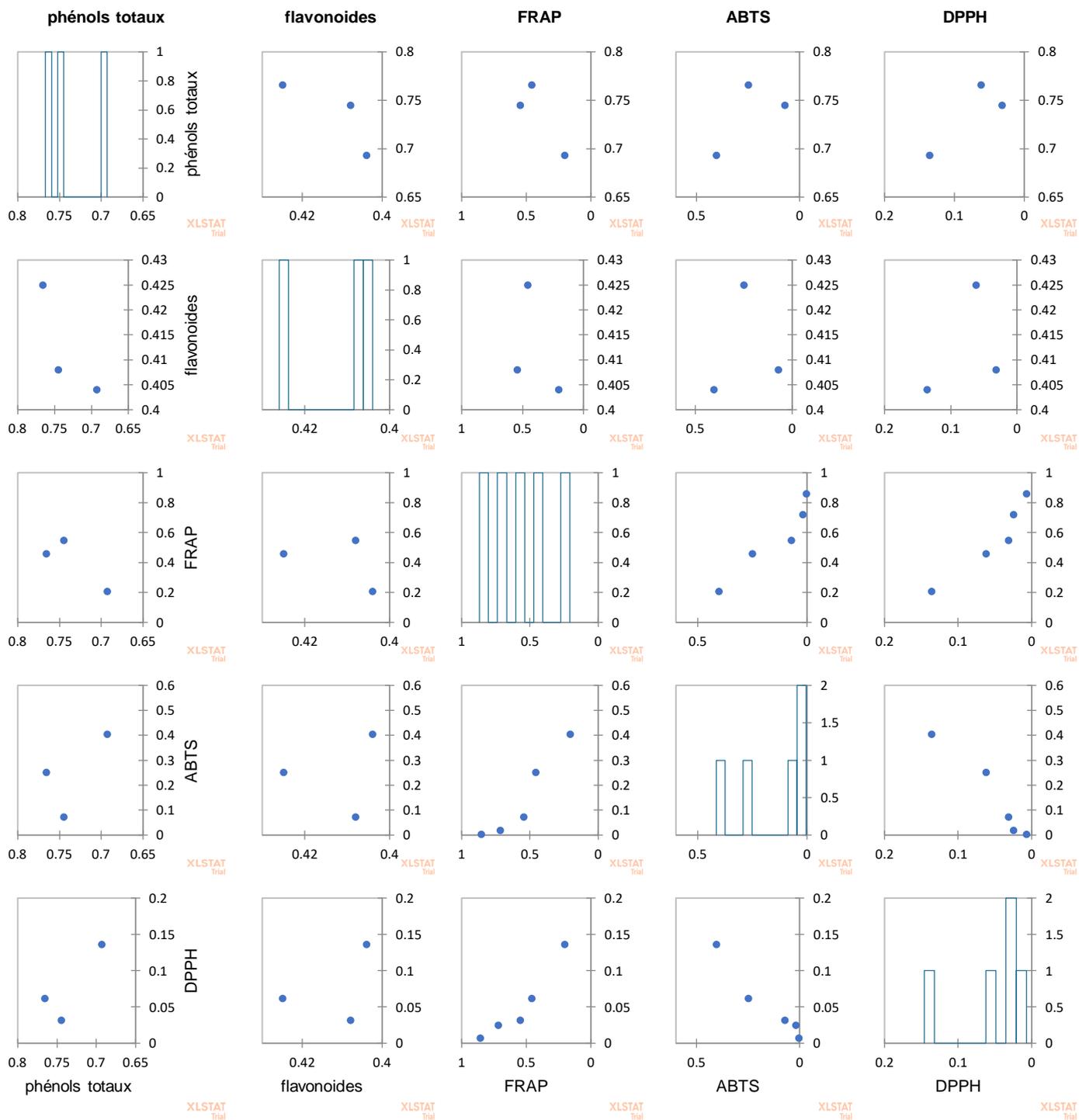
Conc (mg/ml)	Répétition1	Répétition2	Répétition3	Moyenne	Ecart type
0	0	0	0	0	0
0,2	33,11	31,6	31,77	32,16	0,73978375
0,4	59,69	56,35	58,02	58,02	1,49369341
0,6	86,28	89,46	87,95	87,8966667	1,42273914
0,8	95,98	97,15	96,82	96,65	0,53955537
1	99,16	99,33	99,33	99,2733333	0,08778762
<b>IC50</b>	0,42	0,42	0,42	0,42	0,002

**Tableau 8 :** Pourcentages d'inhibition de FRAP de l'extrait hydro-méthanolique de *T.foenum greacum* L.

Conc(mg/ml)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	Moyenne	Ecart type
0	0	0	0	0	0
0,2	0,208	0,212	0,204	0,208	0,00357771
0,4	0,451	0,468	0,459	0,45933333	0,00760701
0,6	0,549	0,55	0,548	0,549	0,00089443
0,8	0,722	0,711	0,734	0,72233333	0,01028915
1	0,86	0,861	0,857	0,85933333	0,0018619
<b>IC50</b>	55,3	55,29	55,07	55,22	0,11627553

**Annexe IV :**

**Figure 3 :** Corrélation de Pearson de l'activité antioxydante DPPH, ABTS et FRAP.



**Figure 4 :** Corrélation de Person entre les composés phénolique (phénols totaux et les flavonoides) et l'activité antioxydante (DPPH, ABTS et le FRAP).