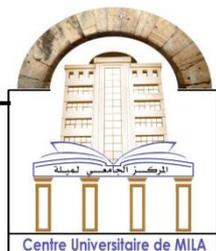


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Evaluation in vitro de l'activité antioxydant
des polyphénols des graines de *trigonella foenum-greacum*L.**

Présenté par :

Benamira Hamza

Devant le jury :

Dr Boussbai Sabri :	MCB au Centre Universitaire Mila	Président
Dr Ghout Aghena :	MCB au Centre Universitaire Mila	Examineur
Dr Benmakhlouf Zoubida :	MCA au Centre Universitaire Mila	Promoteur

Année Universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENT

- ❖ Tout d'abord, je remercie Dieu (allah) Tout-Puissant qui m'a donné la force et la patience pour accomplir cet humble travail.

- ❖ j'exprime mes plus vifs remerciements à mon encadrant, *docteur Zoubida Benmakhlouf* pour sa disponibilité, sa patience et sa bienveillance. C'est mon guide dans ce travail de recherche et ce parcours.

- ❖ Un grand et respectueux merci aux membres de jury *Dr Sabri Boussbai* et *Dr Ghout Agena* d'avoir acceptés d'examiner et juger notre travail de recherche. Je suis très reconnaissant et heureux de leur présence nécessaire et utile.

- ❖ Je tiens à remercier sincèrement le chef de département des sciences de la nature et de la vie *Dr Torche Yacine* , Sans oublier tous les enseignants de département pour leurs efforts qu'ils n'ont pas cessé de fournir tout au long de la période de notre étude.

- ❖ sans oublie mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

- ❖ Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours encouragés pour la réalisation de ce mémoire. Merci à tous et à toutes.

DÉDICACE

Après avoir remercié Dieu Tout-Puissant.

Je dédie ce travail à :

A ma mère et mon père qui m'ont aidé et ont été à mes côtés en toutes circonstances.

A Mme Docteur Zoubida Benmakhlouf qui a eu un grand crédit pour l'accomplissement de cet humble travail.

A mes frères et soeurs et à tous mes amis et collègues et surtout Ali Bendjeddou.

A tous ceux qui m'ont encouragé ou aidé à accomplir cette note et tout au long de mes études.

Résumé

Depuis longtemps, le fenugrec est utilisée comme épice et en médecine traditionnelle en Algérie. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efft de trois extraits (aqueux, méthanolique, chlorformique) des graines de *trigonella foenum-greacum*L.et d'étudier leur effet antioxydant par la méthode du radical DPPH (2, 2 diphényl-1-picrylhydrazyl).

Le test photochimique montre que le fenugrec contient plusieurs familles chimiques telles que les polyphénols, tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, glucosides cardiaques...etc. L'estimation quantitative montre que la teneur en polyphenoles et en flavonoides diffère d'un extrait à l'autre selon la nature du solvant. Selon les valeurs obtenus (EAq : 0, 328 ±0, 0052 , EMé : 0, 2568 ±0, 0087 , ECh :0, 1139 ±0, 00024) mg EQ/g d'extrait sec pour les polyphenoles et (EAq :0,00291±0,000075, EMé :0,00119±0,000029, ECh : 0,00059±0,00013) mg EQ/g d'extrait sec pour les flavonoides, l'extrait aqueux demeure le plus riche en ces composés par rapport au deux autres extraits.D'autre part, le test DPPH montre que l'extrait aqueux possède le pouvoir antioxydant le plus élevé avec un pourcentage d'inhibition égal à (26, 20±0, 24) %. Apartir de ces resultats on peut confirmer la relation étroite entre la teneur en ces composés et l'effet antioxydant de ces extrait.

Mots clés : activité antioxydante, Polyphénols, flavonoïdes, *Trigonella foenum-greacum* L.

Abstract

For a long time, fenugreek has been used as a spice and in traditional medicine in Algeria. The main objective of this study is to evaluate the effect of three extracts (aqueous, methanolic, chlorformic) of the seeds of *Trigonella foenum-greacum*L. and to study their antioxidant effect by the method of the radical DPPH (2, 2 diphenyl -1-picrylhydrazyl).

The photochemical test shows that fenugreek contains several chemical families such as polyphenols, tannins, alkaloids, flavonoids, saponins, cardiac glycosides, etc. The quantitative estimate shows that the content of polyphenols and flavonoids differs from one extract to another other depending on the nature of the solvent. According to the values obtained (EAq: 0.328 ± 0.0052 , ME: 0.2568 ± 0.0087 , ECh: 0.1139 ± 0.00024) mg EQ/g of dry extract for polyphenols and (EAq: $0,00291 \pm 0.000075$, EMé: 0.00119 ± 0.000029 , ECh: 0.00059 ± 0.00013) mg EQ/g of dry extract for flavonoids, the aqueous extract remaining the richest in these compounds by compared to the other two extracts. On the other hand, the DPPH test shows that the aqueous extract has the highest antioxidant power with a percentage of inhibition equal to $(26.20 \pm 0.24)\%$. From these results we can confirm the close relationship between the content of these compounds and the antioxidant effect of these extracts.

Keywords: antioxidant activity, polyphenols, flavonoids, *Trigonella foenum-greacum* L.

ملخص

لفترة طويلة ، تم استخدام الحلبة كتوابل وفي الطب التقليدي في الجزائر. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم تأثير ثلاثة مستخلصات (مائي ، ميثانولي ، كلور فورميك) لبذور الحلبة. ودراسة تأثيرها المضاد للأكسدة بالطريقة الجذرية DPPH (2) ، 2 ثنائي فينيل -1. بيكريليهيدرازيل).

أظهر الاختبار الكيميائي الضوئي أن الحلبة تحتوي على عدة عائلات كيميائية مثل البوليفينول والعفص والقلويدات والفلافونويدات والصابونين وجليكوسيدات القلب ... إلخ. يوضح التقدير الكمي أن محتوى البوليفينول والفلافونويد يختلف من مستخلص إلى آخر حسب طبيعة المذيب. وفقاً للقيم التي تم الحصول عليها (المستخلص المائي: 0.0052 ± 0.328 ، 0.2568 ± 0.0087 EMé: ، مستخلص الكلوروفورم: 0.00024 ± 0.1139 mgEQ / g من المستخلص الجاف للبوليفينول و (المستخلص المائي: 0.000075 ± 0.00291 ، المستخلص الميثانولي: 0.00119 ، $0.000029 \pm$ ، مستخلص الكلوروفورميك: 0.00013 ± 0.00059 mgEQ / g من المستخلص الجاف للفلافونويد ، يبقى المستخلص المائي الأغنى في هذه المركبات مقارنة بالمستخلصين الآخرين. من ناحية أخرى ، يوضح اختبار DPPH أن المستخلص المائي لديه أعلى قوة مضادة للأكسدة مع نسبة تثبيط تساوي (0.24 ± 26.20) ٪. من هذه النتائج يمكننا تأكيد العلاقة الوثيقة بين محتوى هذه المركبات والتأثير المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة ، البوليفينول ، الفلافونويد ، الحلبة (*Trigonella foenum-graecum*).

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....01

Partie 1 : contexte théorique

Chapitre 1 : Présentation des la plantes étudiées

1.Présentation des la plantes étudiées.....03

1.1.Étymologie.....03

1.2.Taxonomie de la plante03

1.3.Classification.....03

1.4.Distribution.....04

1.5.Description botanique.....04

1.6.Partie utilisée.....05

1.7.Composition chimique des graines de fenugrec.....05

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires

2. Les métabolites secondaires.....06

2.1.Les polyphénols.....06

2.1.1. Les acides phénoliques.....07

2.1.2. Flavonoïdes.....08

2.1.3.Tanins.....09

2.1.4. Coumarines.....10

2.2. Les terpènes.....11

2.3. les alcaloïdes.....11

Chapitre 3 : Effet thérapeutique de la trigonella foenum-graecumL

3. Effet thérapeutique de la fenugrec	13
3.1. Effet orexigène et fortifiant.....	13
3.2 Effet antidiabétique de fenugrec.....	13
3.3.Les antioxydants.....	13
3.3.1. Les radicaux libres.....	13
3.3.2.stress oxydant.....	14
3.4. Activité antibactériennes.....	14

Partie 2 : Partie Expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

1.Objectifs de l'expérimentation.....	15
2. Matériel.....	15
2.1. Matériel végétal.....	15
2.2. Appareillage et verrerie.....	15
2.3. Solvant.....	15
3. Méthode.....	15
3.1. Extractions.....	15
3.2. Le rendement d'extraction.....	16
3.3. Tests phytochimiques.....	16
3.3.1. Les Flavonoïdes.....	16
3.3.2. Alcaloïdes.....	16
3.3.3. Tanins.....	16
3.3.4. Glycosides cardiaques.....	17
3.3.5. Composés réducteurs.....	17
3.3.6. mucilage	17
3.3.7. Anthraquinones.....	17
3.3.8. Saponosides.....	17

Sommaire

4. Dosage des métabolites secondaires.....	18
4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	18
4.2. Dosage des flavonoïdes.....	19
5. Evaluation de l'activité antioxydante.....	19

Chapitre 2 : Résultats et discussions

1.Rendement.....	21
2.Test phytochimiques.....	22
3.Taux des polyphénols totaux et flavonoïdes.....	26
4.Evaluation de l'activité antioxydant.....	28
4.1.Test du DPPH.....	28
Conclusion.....	30
Références bibliographiques.....	31

Liste des abréviations

Liste des abréviations

% :pourcentage.

°C :température en degrés.

μL :miikrultar.

Ac: Absorbance du contrôle.

Ae: Absorbance de l'échantillon.

C : Carbone.

C₂ H₃ NaO₂ : acétate de sodium

C₅ H₁₂ O : alcool iso amylique.

CH₃COOH : l'acide acétique.

Cm :Centimètre.

DO :Densité optique.

DPPH : (2, 2 diphényl-1-picrylhydrazyl).

EAq :l'extrait aqueux.

Ech : chloroformique.

EMé : l'extrait méthanolique.

EQ :équivalent de quercétine.

ERO :espèce réactive de l'oxygène.

FeCl₃ :Chlorure ferrique.

g : gramme.

GAE :équivalents d'acidegallique.

h :heure.

H₂SO₄ : d'acide sulfurique.

HCl :acides chlorhydrique.

Mg :demagnésium.

Liste des abréviations

mg :milligramme.

min : minute.

ml :millilitre.

Na₂CO₃ :Carbonate de sodium.

nm :Nanomètre.

R :rendement.

ROS : Reactive oxygen species (Espèces réactifs de l'oxygène).

s :seconde.

Listes des figures

Liste des figures

Figure 01 : Image de la fenugrec (<i>Trigonella foenum graecum</i> L.).....	04
Figure 02 :Graines de fenugrec(<i>Trigonella foenum graecum</i> L.).....	05
Figure 03 :Classification simplifiée des composés phénoliques.....	07
Figure 04 : structure chimique d'Acide hydroxybenzoïque(A).....	07
et Acide hydroxycinnamique(B).	
Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes.....	08
Figure 06 :Structure chimique des tanins.....	09
(a) hydrolysables (b) condensés.	
Figure 07 : structure chimique de coumarine.....	10
Figure 08 : structure chimique disoprène.....	11
Figure 09 : structure chimique des quelques famille des alcaloïdes.....	12
Figure 10 : différentes étape de l'extraction de la.....	16
fenugrec.	
Figure 11 : Préparation pour le test phytochimique.....	18
Figure 12 : Dosage des polyphénols totaux.....	19
Figure13 : Préparation des dilution le test DPPH.....	20
Figure 14 : Rendement de l'extrait de fenugrec	21
Figure 15 :Résultats des tests phytochimiques.....	24
de fenugrec.	
Figure 16 :Résultats des tests phytochimiques.....	25
(composés réducteurs) de fenugrec.	
Figure 17 : Taux des polyphénols totaux en mgEAG/g d'extrait sec.....	26
Figure 18 :Taux des flavonoides en mgEQ/g d'extrait sec.....	27
Figure 19 :Les résultats de l'activité antioxydant en.....	28
pourcentage d'inhibition (I %) obtenues par la méthode de D	

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1: Rendement de l'extrait de <i>Trigonella foenum- greacum L.</i>	21
Tableau 2 : Résultats des Tests phytochimiques de..... <i>Trigonella foenum- greacum L.</i>	23
Tableau 3 : Taux des polyphénols totaux en mgEAG/g d'extrait..... sec et flavonoides en mgEQ/g d'extrait sec.	26
Tableau 4 : Les résultats de l'activité antioxydant en Pourcentage..... d'inhibition (I%) obtenues par la méthode de DPPH.	28

Introduction générale

Introduction générale

Depuis toujours, les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires. Elles ont été utilisées comme l'élément essentiel de la médecine traditionnelle servant les gens partout dans le monde depuis des milliers d'années. Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde. **(Janati, 2015)**.

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. **(Krief, 2003)**. On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

La phytothérapie par les plantes riches en polyphénols et principalement en flavonoïdes a connu un grand regain. Les plantes à flavonoïdes ont d'ailleurs montré qu'elles avaient des propriétés biologiques très importantes et très vastes. **(Kidik et al., 2015)**.

Les antioxydants naturellement sont présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes, polyphénols, anthocyanosides, OPC (oligomères procyanidoliques), caroténoïdes et autres composés végétaux. **(Hajjaj, 2017)**.

La résistance aux agents antimicrobiens est actuellement reconnue comme un problème mondial majeur de la santé publique. Les extraits des plantes doués d'effet antimicrobien ont été considérés comme une source de nouveaux agents antimicrobiens pour l'avenir. Les composés phénoliques sont connus pour avoir une activité contre un grand nombre de microorganismes. **(Athamena, 2020)**.

Le Fenugrec est connu comme étant une plante médicinale ayant des propriétés thérapeutiques multiples liées à sa richesse en caroténoïdes, en polyphénols, les acides gras, les protéines avec des acides aminés essentiels, fer, ascorbate et folate). En raison de ses intérêts thérapeutiques cette plante a suscité l'attention des chercheurs. En Algérie, le fenugrec est utilisé traditionnellement comme plante

Introduction générale

médicinale et condimentaire. Il est cultivé de façon marginale depuis le littoral, les hautes plaines, les Oasis jusqu'au Hoggar. (Rouibi et al., 2018) .

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer les métabolites secondaires des différents extraits des grains de fenugrec. et d'étudier leur effet sur quelques paramètres biochimiques comme le test antioxydant par la méthode du radical DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Partie 1 : partie théorique

Chapitre 1 :
Présentation de la plante étudiée

1. Présentation de la fenugrec

Le fenugrec (nom scientifique : *Trigonella Foenum-groecum* L.) est une légumineuse annuelle largement reconnue dans le monde pour ses propriétés médicinales.(Moradikore et al ., 2013).

Elle a une saveur et un arôme forts. Ses feuilles et ses graines sont largement consommées dans le sous-continent indo-pakistanaï et dans d'autres pays de l'Est comme épice dans la préparation des aliments et comme ingrédient dans la médecine traditionnelle. Le fenugrec a un large éventail d'utilisations dans les temps anciens. Médicalement, il est utilisé pour traiter les plaies, les abcès, l'arthrite, la bronchite, les ulcères et les problèmes digestifs. Les praticiens de la médecine traditionnelle chinoise l'utilisent pour traiter les problèmes rénaux et les affections qui affectent le système reproducteur masculin. Il était et est un aliment et une épice courants dans de nombreuses régions du monde.(SnehlataHelambe et Dande, 2011).

1.1. Étymologie :

Le fenugrec, scientifiquement connu sous le nom de *Trigonella Foenum-groecum* L, appartient au genre botanique *Trigonella* qui vient du latin « *trigonum* » signifiant trigone/triangle, se référant probablement à la forme triangulaire des fleurs. Le nom latin de l'espèce *foenum-graecum* signifie « foin grec », en référence au parfum intense de la plante séchée du fenugrec. (Oueslati et Ghédira, 2015) .

1.2. Taxonomie de la plante :

Nom latin: *Trigonella*

Nom français: Fenugrec

Nom arabe: Halba

1.3. Classification : (Mehani et Segni, 2012)

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Fabales

Famille: fabaceae

Genre: *Trigonella*

Espèce: *Trigonella focnum graecum* L

1.4. Distribution :

Le fenugrec a été connu et utilisé à différentes fins dans les temps anciens, en particulier dans la région méditerranéenne, en Chine, en Inde et en Indonésie. Cependant, l'origine exacte de cette plante a été difficile à cerner. Certains auteurs pensent qu'il est originaire de la région méditerranéenne, d'autres suggèrent qu'il est originaire d'Asie. Il est largement répandu dans le monde, notamment dans les pays d'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie, Maroc et Égypte), ainsi qu'en Asie du Sud-Ouest, en Inde, au Pakistan, en Chine et au Japon. (Oueslati et Ghédira, 2015).

1.5. Description botanique :

Le fenugrec est une plante herbacée, annuelle, poilue ou nue, selon les variétés, pouvant atteindre 50 cm de haut. Il a une racine principale bien développée et une tige droite, ramifiée, cylindrique, légèrement poilue, souvent de couleur rose. Les feuilles sont alternes, longues pétioles à 2 stipules, composées de 3 folioles ovales et dentelées.

L'inflorescence porte des fleurs axillaires, regroupées par paires, rarement isolées. La fleur de fenugrec est sessile, dite en forme de papillon, assez grande, de couleur jaune clair à violet clair, constituée d'un calice à cinq tépales indivis, d'une couronne à cinq pétales triangulaires libres (d'où le nom de trigonelle) et de dix étamines, et d'une ovaire pluriovulé. Le fruit est une gousse allongée, arquée, atteignant 20 cm de long et contenant de nombreuses graines (10 à 20), très dures, aplaties, de 3 à 5 mm de long et 2 à 3 mm de large, de couleur brun clair à brun rougeâtre, marquée par un sillon qui sépare les deux parties inégales. (Bakli, 2020)(Figure 1).



Figure 1 : Image de lafenugrec (*Trigonella foenum-graecum*L). (Raymond,2016).

1.6. Partie utilisée :

La portion utilisée est essentiellement constituée de graines qui ont une importance thérapeutique. Les gousses (fruits) sont récoltées à l'automne, mises à sécher, puis battues pour que les graines sortent.(**Bakli, 2020**).

Les graines(figure2) sont très dures, en forme de losange. (**Oueslati et Ghédira, 2015**)(Figure2).

1.7. Composition chimique des graines de fenugrec :

Les graines de fenugrec se caractérisent par la présence de plusieurs composants chimiques. Nous les regroupons en métabolites primaires (nécessaires à la nutrition des plantes) tels que les glucides, les lipides, les protéines, les fibres, les minéraux, les vitamines et en métabolites secondaires (nécessaires à la défense contre les agressions) tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines, l'acide phytique. (**Omri, 2018**).



Figure2 :Graines de fenugrec(*Trigonella foenum-graecum* L). (**Raymond,2016**)

Chapitre 2 :

Les métabolites secondaires

2. Les métabolites secondaires :

La croissance et le développement des plantes sont associés à la production de métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires sont directement impliqués dans les processus de développement cellulaire, les fonctions de base et la reproduction. Chimiquement, ce groupe de métabolites primaires est constitué de glucides, d'acides aminés, de protéines, de nucléotides, etc., qui sont des composés produits par la photosynthèse. Les métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais sont produits par des réactions chimiques ultérieures. Ils ne sont pas directement impliqués dans les processus vitaux de la cellule, mais assurent tout de même des fonctions écologiques importantes, souvent liées à leur localisation dans la plante. Ils jouent différents rôles : phéromones, signaux chimiques permettant aux plantes de s'adapter aux changements environnementaux, moyens de défense contre les herbivores, les pathogènes (phytoalexines) ou les concurrents. D'autres métabolites secondaires protègent les plantes du rayonnement solaire. Trois grandes familles des métabolites secondaires existent chez les végétaux : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polyphénols. **(Jaber, 2017).**

2.1. Les polyphénols :

Les polyphénols sont des micronutriments végétaux abondants dans notre alimentation. Ces composés sont connus pour leur forte bioactivité, qui se traduit par un large éventail de propriétés biologiques au niveau de l'organisme, potentiellement intéressantes contribuant aux effets bénéfiques pour la santé des produits végétaux. Selon leur structure chimique, les polyphénols sont divisés en différentes classes : phénoliques acides, flavonoïdes, lignanes, stilbènes et curcuminoïdes. Les acides phénoliques (figure 3) (café, céréales) et les flavonoïdes sont de loin les plus abondants et abondants dans notre alimentation. **(Morand et Milenkovic, 2014).**

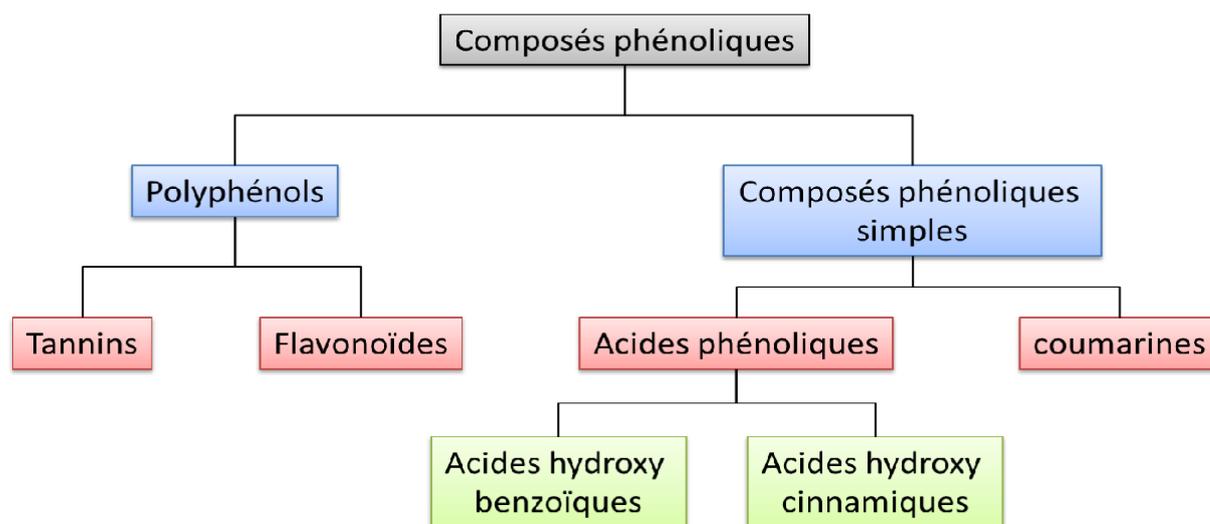


Figure3 : Classification simplifiée des composés phénoliques. (Laguna, 2019).

2.1.1. Les acides phénoliques :

Il existe deux grandes classes d'acides phénoliques, les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. (Nsemi, 2010).

- **Acide hydroxybenzoïque** : (acide gallique, acide salicylique, acide vanillique, etc.) est constitué d'un squelette à sept carbones (C6-C1, Figure 4-A), dérivé de l'acide benzoïque. Ces acides appartiennent à la forme la plus simple des phénols et se trouvent couramment dans les gymnospermes et les angiospermes. L'acide gallique, principal acide hydroxybenzoïque du raisin, existe sous forme libre et sous forme de glucosides en alternative aux flavanes 3-ols. (Khater, 2011).
- **Acide hydroxycinnamique** : Dérivé de l'acide cinnamique avec un squelette carboné de type C6-C3. Ils existent principalement sous la forme trans, mais aussi sous l'isomère cis. (Khater, 2011) (Figure 4-B).



Figure 4 : structure chimique d'Acide hydroxybenzoïque(A) et Acide hydroxycinnamique(B). (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

2.1.2. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont la sous-classe de composés phénoliques la plus courante dans le règne végétal. Chimiquement, ils sont constitués de deux cycles aromatiques (A et B) liés par un hétérocycle de type pyrane (C), comme le montre la figure 8. (Laguna, 2019).

Les flavonoïdes sont classés selon plusieurs critères : la présence ou l'absence d'une double liaison en position 2, et la présence ou l'absence d'un groupement hydroxyle en position 3. Les groupes hydroxyle (mais aussi les groupes méthoxy) sont généralement situés aux positions 2', 3', 4' et 5' et 5 et 7. Les isoflavones proviennent de la translocation du noyau aromatique (du carbone C2 au carbone C3), les flavonoïdes et les flavonols proviennent de l'oxydation des flavanones et des dihydroflavonols, respectivement (formant une double liaison sur le cycle C). Cette énorme diversité de structures fait des flavonoïdes l'une des familles les plus étendues de substances naturelles connues. En fait, des techniques analytiques récentes ont identifié plus de 8 000 flavonoïdes. L'intérêt croissant pour les substances bioactives naturelles a conduit à intensifier les recherches sur les flavonoïdes, et nul doute que de nouveaux composés de cette famille seront identifiés. (Fiorucci, 2006).

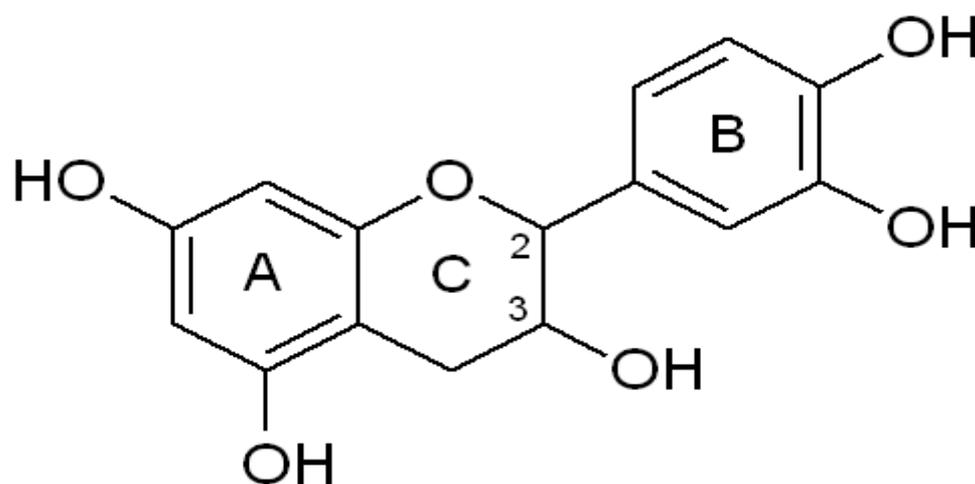


Figure 5: Structure de base des flavonoïdes. (fons et al., 2015)

2.1.3. Tanins :

Ce sont des groupes complexes hétérogènes de polymères naturels de haut poids moléculaire. Ils ont la capacité de former des complexes réversibles et irréversibles avec des protéines majeures, des polysaccharides, des alcaloïdes, des acides nucléiques et des minéraux. Ils sont divisés en deux catégories selon leur nature chimique et leur structure les tanins hydrolysables et condensés (catéchines ou procyanidines). (Bakli, 2020).

Les tanins ont des propriétés tannantes. Cette propriété bronzante provient de la liaison entre les molécules de tanin et les fibres de collagène. (Hajjaj, 2017) (Figure 6).

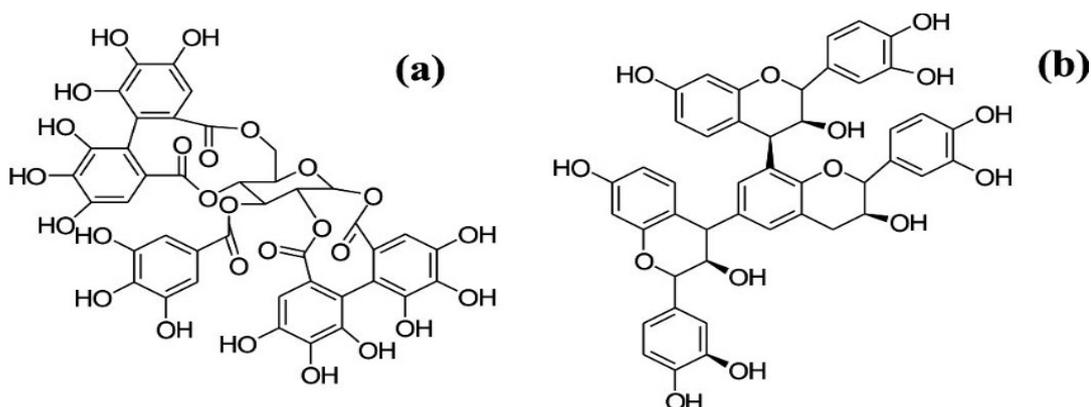


Figure 6 : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés. (Byard, 2019)

2.1.4. Coumarines :

La coumarine a d'abord été isolée de la fève tonka (*Coumarouna odorata*), ce qui lui confère son odeur caractéristique de foin. Différents types de coumarines se retrouvent dans de nombreuses espèces végétales et ont des propriétés très diverses. Ils empêchent la peroxydation des lipides membranaires et piègent les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxy. (Hajjaj, 2017).

La coumarine est caractérisée par l'hétérocycle oxygéné 2H-chromène-2-one (1,2-benzopyrone ou 2H-1-benzopyran-2-one), qui a été largement utilisé en raison de son squelette présent dans de nombreux agents bioactifs Recherche. La coumarine et certains de ses dérivés sont devenus des médicaments, comme les anticoagulants.

La warfarine, l'acénocoumarine et la phenprocoumarine, qui agissent toutes comme des antagonistes de la vitamine K, l'armillarisine A cholérétique et l'hymécromone (umbelliférone), et l'antibiotique novobiocine, qui est un inhibiteur efficace de l'ADN gyrase bactérienne (GyrB). (Stefanachi, 2018) (Figure 9).

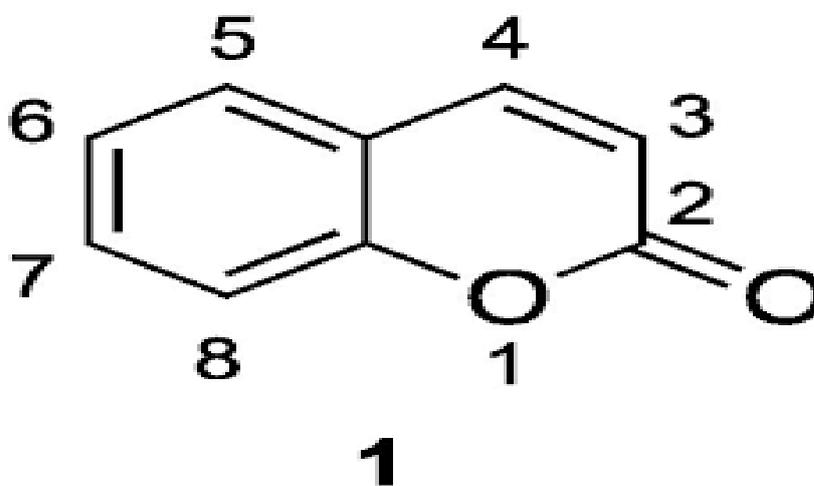


figure7 : structure chimique de coumarine (Stefanachi, 2018)

2.2. Les terpènes :

Les terpènes sont la plus grande classe de produits naturels, contenant environ 30 000 composés. Les terpènes sont composés d'une ou plusieurs unités de 5 atomes de carbone avec un squelette 2-méthylbutane, généralement représenté par des unités isoprène (C₅H₈)_n (figure 8). Selon le nombre d'unités isoprènes, on distingue : les hémiterpènes C₅, les monoterpènes C₁₀, les sesquiterpènes C₁₅, les diterpènes C₂₀, les triterpènes C₃₀, les tétraterpènes C₄₀ et les polyterpènes C_{5n}. Dans la nature, les terpènes peuvent présenter diverses fonctions chimiques : alcools, oxydes, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques et esters. (Bouzabata, 2015).

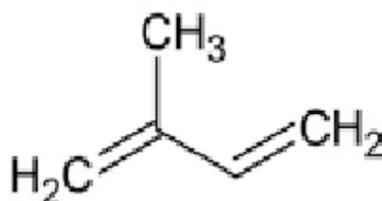


Figure 8 : structure chimique isoprène. (Hordyjewska, 2018)

2.3. les alcaloïdes :

Il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de définir les frontières entre les alcaloïdes et les autres métabolites azotés d'origine naturelle. Les alcaloïdes sont généralement divisés en trois types : les vrais alcaloïdes, les pseudo-alcaloïdes et les protoalcaloïdes. Actuellement, les alcaloïdes ont également de nombreuses applications dans la médecine moderne en raison de leurs propriétés pharmacologiques. Ainsi, certaines substances peuvent être antalgiques (morphine), antipaludiques (quinine), anticancéreux (vinblastine, vincristine), tandis que d'autres s'avèrent toxiques (stryc IX, nicotine). Les alcaloïdes agissent également comme des antibiotiques, comme la leucovorine et la squalamine. (Jaber, 2017) (Figure 9).

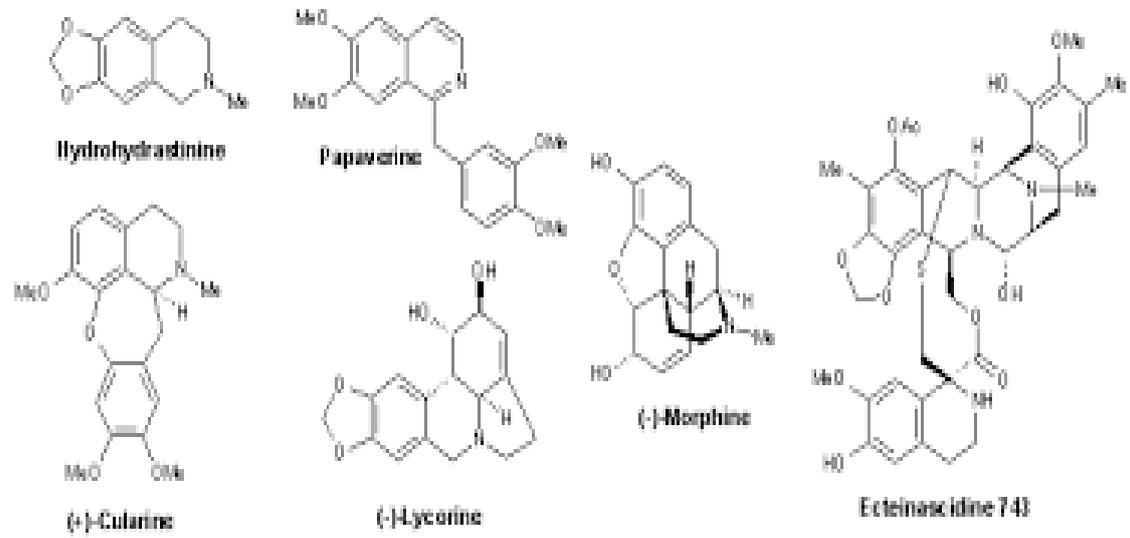


Figure 9 : structure chimique des quelques famille des alcaloïdes.(Hesse, 2002)

Chapitre 3

Effet therapeutique de la *trigonella foenum-graecum* L

3. Effet thérapeutique de la fenugrec :

les graines de fenugrec, à l'état dormant ou germé, ont été largement étudiées pour leurs activités thérapeutiques telles qu'antidiabétiques, antioxydantes, hypocholestérolémiantes. (Oufquir, 2020).

Outre ses propriétés régénérantes, les graines de fenugrec sont utilisées dans les troubles digestifs et intestinaux comme activateur digestif en raison de leurs propriétés laxatives et carminatives. Elles favorisent aussi la lactation. (Rouibi et al., 2018).

3.1. Effet orexigène et fortifiant :

Par différents mécanismes, les graines de fenugrec stimulent l'appétit. Elles possèdent une action fortifiante car elles peuvent favoriser la prise de poids chez les personnes convalescentes, dénutries ou anorexiques. (Small et Deutsch, 2001).

3.2. Effet antidiabétique de fenugrec :

Le fenugrec est une plante aux nombreux bienfaits pour l'organisme. Son action sur la glycémie est très intéressante pour combattre et soigner le diabète. En effet, il améliore la tolérance au glucose. De nombreuses études sérieuses indiquent que le fenugrec peut réduire la glycémie de manière efficace chez les diabétiques. Le fenugrec peut être consommé en poudre ou en graines dans l'alimentation quotidienne mais pour exercer un réel effet sur la glycémie, il est conseillé de le consommer sous forme d'extrait en gélules. Une étude a obtenu de très bons résultats concernant le contrôle glycémique et la résistance à l'insuline en faisant consommer aux patients diabétiques 1000 mg d'extrait de fenugrec par jour. (Le, 2018).

3.3. Effet antioxydant :

L'avènement de la biologie moléculaire a montré que les antioxydants sont des molécules qui présentent des propriétés bien au-delà de leur capacité à piéger les ROS. La vitamine E est ainsi capable d'inhiber la prolifération cellulaire et l'adhésion des monocytes. (Pinchemail et al., 2002).

Les antioxydants sont utilisés pour neutraliser les effets des radicaux libres. Ainsi, ils protègent les humains contre les infections et les maladies dégénératives. Les antioxydants se répartissent en deux grandes catégories, naturelles et synthétiques. (Al-Dabbagh et al., 2018).

3.3.1. Les radicaux libres :

Les radicaux libres se forment principalement dans les processus d'oxydation et jouent un rôle important dans la détérioration des aliments et la dégradation des matières chimiques. Ils contribuent également aux troubles humains tels que les maladies liées au vieillissement, les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies inflammatoires (Al-Dabbagh et al., 2018).

3.3.2. stress oxydant :

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité antioxydant de l'organisme. Produites en continu et à des niveaux élevés, les ROS sont une source d'oxydant anti-stress avec des modifications irréversibles des lipides, des protéines et des acides nucléiques. Le stress oxydatif est grevé par le vieillissement et la physiopathologie de nombreuses maladies, comme le cancer avec un défaut d'élimination des cellules cancéreuses, les maladies cardiovasculaires avec atteinte des parois des vaisseaux sanguins, et les maladies inflammatoires, car les ROS sont des acteurs nécessaires en l'absence d'anticorps la défense. Pour se protéger du stress oxydatif, les organismes ont développé un arsenal d'antioxydants avec des enzymes (superoxyde dismutase). **(Baudin, 2020).**

3.4. Effet antibactérien:

Les bactéries sont le plus souvent impliquées dans les cas d'intoxication alimentaire, et l'utilisation intensive d'antimicrobiens chimiques dans les médicaments a entraîné la sélection de souches résistantes de bactéries. Les huiles essentielles de plantes médicinales et aromatiques peuvent être utilisées comme alternative dans le traitement des maladies infectieuses et pour protéger les aliments contre toute altération **(El Ouali et al., 2013).**

Partie 2 : Partie Expérimentale

Chapitre 1: Matériel et Méthodes

1. Objectifs de l'expérimentation :

Tests phytochimiques, évaluation de la teneur en polyphénols et flavonoïdes et étude de l'activité antioxydante des graines de la fenugrec " *Trigonella foenum-greacum L.*".

2. Matériel :

2.1. Matériel végétal :

Le fenugrec "*Trigonella foenum-greacum L.*" appartient à la famille des Fabacées connue sous le nom de Halba. Ces graines sont récoltées en fin d'avril, séchées et stockées jusqu'à utilisation.

2.2. Appareillage et verrerie :

Spectrophotomètre, Rotavapor , Balance , Étuve, Vortex, Éprouvette, Entonnoir, Erlenmeyer , Béchers, Fiole ,Boite de pétri ,Papier filtre ,Spatule ,Micropipettes.

2.3. Solvants :

Eau distillée , Méthanol ,Chloroforme.

3. Méthode :

3.1. Extractions :

Pour la préparation de l'extrait du fenugrec, on a utilisé la méthode de macération en suivant les étapes citez ci-dessous:

- a) 40g de poudre de grain de fenugrec sont mise en macération avec 100 ml de chaque solvant indepondament (Eau distillée l ,méthanol et chloroforme) pendant 5j.
- b) Filtration de l'extrait par papier filtre.
- c) Evaporation à sec du filtrat par rotavapour.
- d) Le produit est récupère sur les parois de ballon d'évaporation (Figure 11)
- e) Les résidus secs sont conservés. Ils seront, ensuite, utilisés pour nos tests.

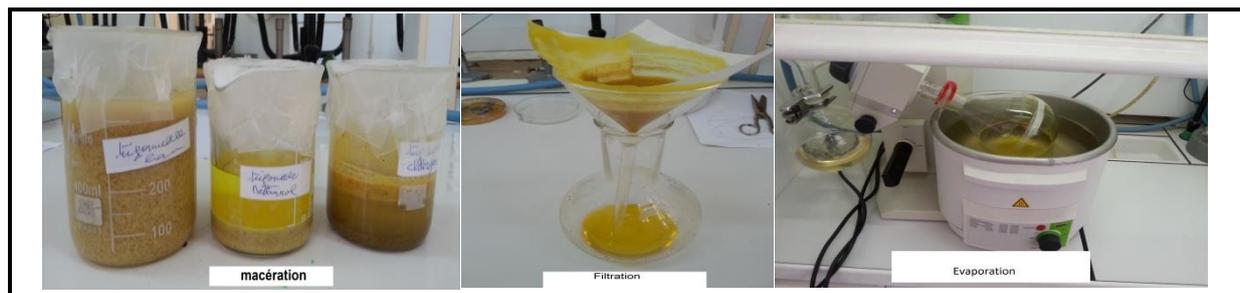


Figure 10 : différentes étape de l'extraction de la fenugrec.

Le rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction est calculé par rapport à la masse du matériel végétal sec selon la formule citée ci-dessous. (Hajjaj , 2017).

$$R = [\text{Masse de l'extrait obtenu} / \text{Masse de la matière végétale avant extraction}] \times 100$$

3.2. Tests phytochimiques :

Ce tests phytochimiques est réalisé avec un extrait préparé par la méthode de décoction (Figure12).

3.2.1. Les Flavonoïdes :

A 5 ml d'extrait à tester, ajouter, 1 ml d'alcool iso amylique, quelques copeaux demagnésium et quelques gouttes d'acides chlorhydrique (HCl), l'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence des flavonoïdes.(Azzi , 2012).

3.2.2. Alcaloïdes :

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Dragendorff.Introduire 10 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle 50ml de H2SO4 dilué au 1/10 avec de l'eaudistillée est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactifde Dragendorff sont ajoutées. L'apparition d'un précipité orange, révèle la présence d'alcaloïdes. (EL-Haoud , 2018).

3.2.3. Tanins :

30 ml de l'extrait à 5% sont mélangés avec 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol 30% et 5 ml de HCL), le tube est chauffé au bain marie à 80°C/15 à 30mn , la formation d'un précipité rouge indique la présence des tanins cathéchiqes. La préparation est ensuite filtrée et saturée par l'acétate de sodium pulvérisé et 1 ml de FeCl3 à 1% , la couleur bleu noirâtre indique la présence des tanins galliques. (Nakkab et al., 2017).

3.2.4. Glycosides cardiaques :

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. A 1 ml de chaque extrait ajout 5 ml de l'acide acétique contenant des traces de $FeCl_3$ et 5 ml de l'acide sulfurique contenant des traces de $FeCl_3$. La présence des glucosides cardiotoniques est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique). (Edeoga et al., 2005).

3.2.5. Composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1 ml des extraits avec 2 ml d'eau distillée et 2 ml de solution de Fehling puis les tubes sont chauffés au bain Marie à $40^\circ C$. Possède test est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique Composés réducteurs Leur détection consiste à traiter 1 ml des extraits avec 2 ml d'eau distillée et 2 ml de solution de Fehling puis les tubes sont chauffés au bain Marie à $40^\circ C$. Possède test est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique. (Boufellous et al., 2017).

3.2.6. mucilage :

1 ml de l'extrait à 10 % sont mélangé avec 5 ml de l'éthanol absolu, le mélange est bien agité pour 10 à 15 mn, la formation d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage. (NAKKAB et al., 2017).

3.2.7. Anthraquinones :

0,5g de brut poudre a été secoué avec dix ml benzène et a été filtré. dix% ammoniac la solution a été ajoutée et la mélange a été bien secoué. Formation de rose/violet ou rouge Couleur indiquer la présence de anthraquinones. (Saio, 2015).

3.2.8. Saponosides :

Pour rechercher les saponosides, 10 ml de l'extrait total aqueux sont versés dans un tube à essais. Le tube est agité pendant 15 s puis laissé au repos durant 15 mn. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indiquait la présence de saponosides. (DIOUF et al., 2014).



Figure 11 : Préparation pour le test phytochimique.

4. Dosage des métabolites secondaires :

4.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux se fait en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par Muchuweti et al. (2006) avec de légères modifications.

L'extrait de plante (200 μ L) suffisamment dilué est introduit dans un tube contenant initialement 4,5 mL de méthanol puis complété à 5 mL avec du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 5 min, une solution de Na_2CO_3 à 7% (5 mL) est ajoutée sous agitation. La solution est immédiatement diluée avec 2mL l'eau distillée puis mélangée vigoureusement. Après un temps d'incubation de 60 min à 23 °C, l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible SCAN.50 spectrophotomètre, par rapport à une solution 100 % méthanol. A partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique (absorbance en fonction de concentrations). A partir de cette courbe on détermine la concentration des composés phénoliques exprimée en équivalents de mg d'acide gallique (GAE) par gramme de matière sèche. (Zaiter, 2017) (Figure 13).

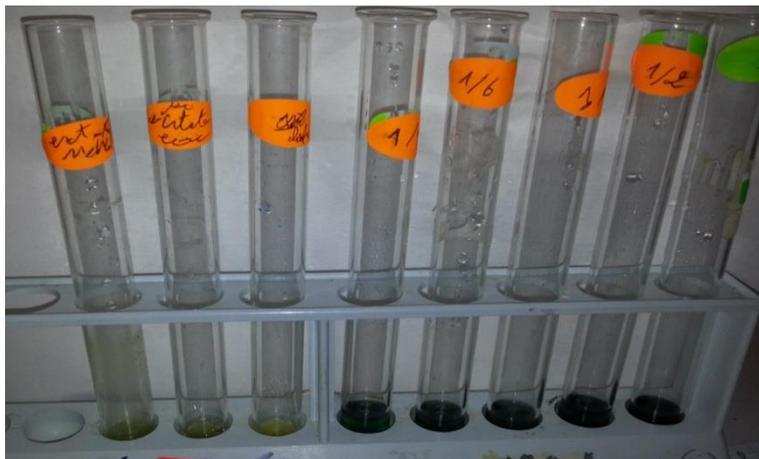


Figure 12 : Dosage des polyphénols totaux.

4.2. Dosage des flavonoïdes :

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode de trichlorure d'aluminium. Ce dernier forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe à 415 nm. Pour chaque mesure, 1 mL de la solution à 1 mg/mL d'extrait dans le méthanol est mélangé avec 1 mL de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 min d'incubation à température ambiante, on mesure la DO des mélanges à 415 nm avec un spectrophotomètre. Un essai à blanc est préparé dans les mêmes conditions, en absence d'extrait. La teneur totale en flavonoïdes est déterminée en utilisant une courbe standard préparée avec la quercétine et exprimée en mg d'équivalent de quercétine (QE) par g d'extrait. (Nasri, 2016).

5. Evaluation de l'activité antioxydant :

Le DPPH est un radical libre stable et accepteur d'électron ou d'hydrogène . La méthode est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène et la formation de la forme non radicalaire. La capacité scavenger du radical DPPH, est mesurée selon le protocole rapporté par Sreenivasan et al. (2007). Un volume de 50 μL d'extrait (à différentes concentrations) (Figure14).est ajouté à un volume de 5 mL d'une solution DPPH à 0.04 %. Ce mélange est agité et laissé au repos. La décoloration, par rapport à un contrôle, est mesurée au spectrophotomètre à 517 nm après incubation à température ambiante et à l'obscurité, pendant 30 minutes. (BAKLI S, 2020).

Chapitre 1 :Matériel et Méthodes

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Où

Ac: Absorbance du contrôle.

Ae: Absorbance de l'échantillon.

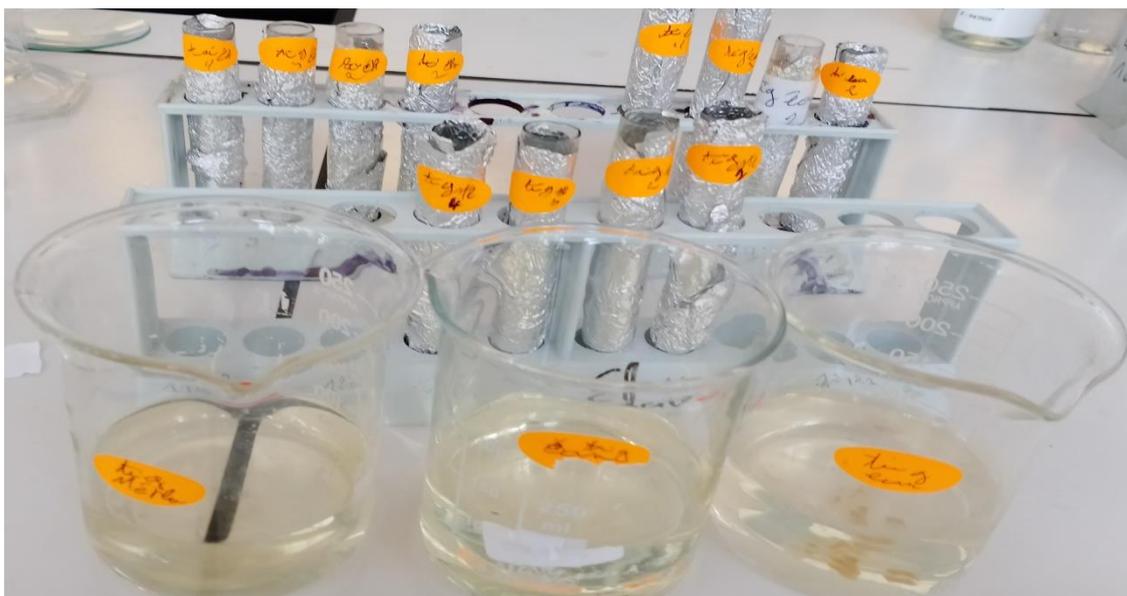


Figure13 : Préparation des dilution le test DPPH.

Chapitre :Résultats et discussion

1. Rendement :

Après avoir calculé le rendement de l'extraction, les résultats sont indiqués dans le tableau 1 et la figure 15. On a constaté que les meilleurs rendements sont enregistrés chez l'extrait aqueux suivi par ceux de l'extrait méthanolique et chloroformique. Selon les valeurs enregistrées (EAq 4,90% , EMé 3,40% , Ech 2,77%), le solvant qui a donné le rendement le plus faible est l'éthanol.

La différence en rendement est due à plusieurs facteurs tels que la nature du solvant, la méthode d'extraction et la nature de la partie végétale (feuilles mature ou jeune, ouvertes ou non), etc., (Kouamé et al., 2021, Bakli, 2020). Cette variabilité des rendements pourrait être due aussi des facteurs intrinsèques tels que le climat et la nature du sol. (Bakli, 2020).

Tableau 1: Rendement de l'extrait de fenugrec.

Extrait	Aqueux	Méthanolique	Chloroformique
Rendement %	4,90	3,40	2,77

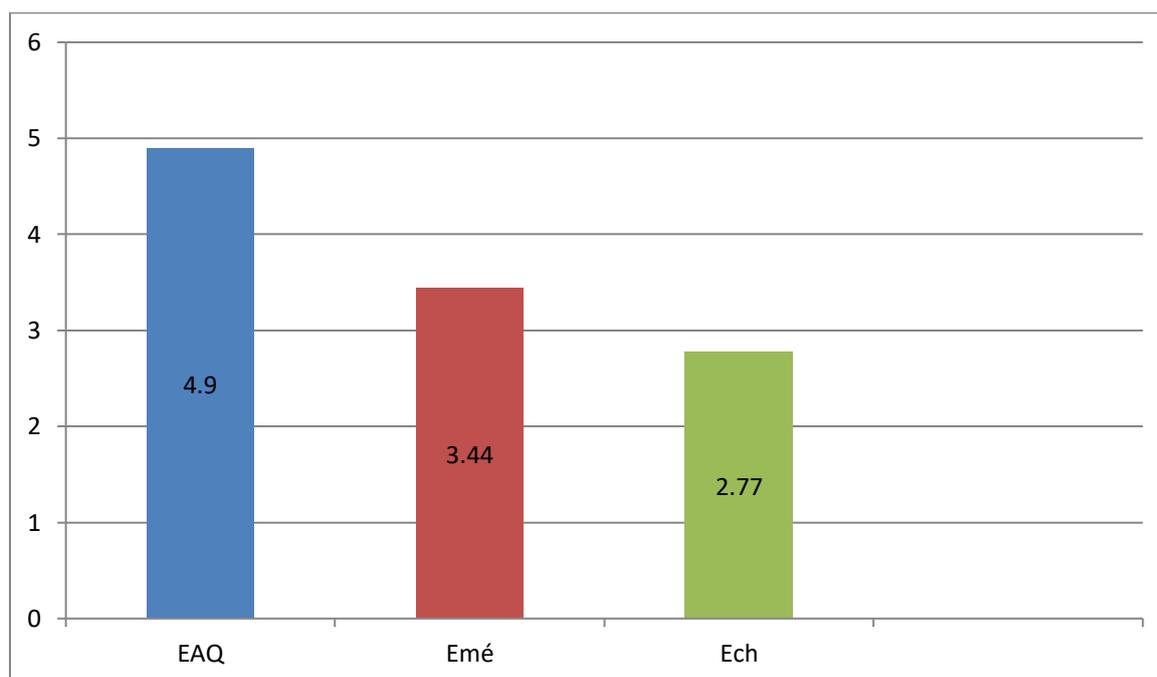


Figure 14 : Rendement de l'extrait de fenugrec.

EAq : l'extrait aqueux., EMé : l'extrait méthanolique, Ech : l'extrait chloroformique.

2. Test phytochimiques :

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée. **(EL-Haoud, 2018)**.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 2 et les figure 16 et 17, le test phytochimique prouve que le fenugrec contient plusieurs familles chimiques, tel que les polyphénols (flavonoïdes , tanin) et les alcaloïdes etc...

Les flavonoïdes sont présents en abondance dans l'extrait aqueux, ainsi que les tanins et les glycosides cardiaques, alors qu'ils sont présents en proportions moyennes dans l'extrait méthanolique et faibles dans l'extrait chloroformique. Les alcaloïdes et les saponosides, sont présents en abondance dans l'extrait chloroformique et avec des faibles et moyennes quantités dans les deux autres extraits alors que les anthraquinones ne se manifeste que dans l'extrait chloroformique. Pour le musilage et les composés réducteurs, ils sont présent uniquement dans l'extrait aqueux.

Benmakhlouf et al., (2022) confirment la présence des tanins, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de stéroïdes, d'acides aminés, de saponines, de coumarines, de stérols et de terpènes, de glucosides, de cardioprotecteurs et d'anthraquinones dans les tissus des graines de fenugrec. D'autres études rapportent que la composition phytochimique des extraits obtenus dépend des conditions climatiques, de l'origine géographique des semences et des pratiques culturales, c'est encore plus complexe de garantir une qualité constante des extraits. **(Benziane, 2019)**.

Tableau 2 :Résultats des Tests phytochimiques de fenugrec.

Test phytochimique	Les réactifs utilisés	Apparaître la couleur	Résultats		
			EAq	EMé	ECh
Flavonoïde	alcool iso amylique (C ₅ H ₁₂ O) ,demagnésium(Mg) ,acides chlorhydrique (HCl).	rose ou rouge	+++	++	+
Alcaloïdes	le réactif de Dragendorff ,H ₂ SO ₄ .	précipité orange	+	++	+++
Tanins	réactif de Stiasny , HCL ,acétate de sodium (C ₂ H ₃ NaO ₂) , Fecl ₃ .	-précipité rouge(tanin cathéchique)	+++	-	+
		-couleur bleu noirâtre(tanin gallique)	+++	+++	-
Glycoside Cardiaque	l'acide acétique(CH ₃ COOH) , Fecl ₃ , acide sulfurique (H ₂ SO ₄).	bran rouge(acide acétique) et vert(acide sulfirique)	+++	++	+
Composés réducteurs	eau distillée , solution de Fehling.	précipité rouge-brique	+	-	-
mucilage	éthanol absolu	précipité floconneux	+	-	-
Anthraquinone	Benzène , ammoniac.	rose/violetourouge	-	-	+
Saponosides	Agité 15s et repos15min de l'extrait	La mousse>1cm	++	+	+++

EAq :l'extrait aqueux.EMé : l'extrait methnolique. Ech : chloroformique.

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+++ : Fortement positif ,

++ : Moyennementpositif ,

+: Positif ,

- : Négatif .

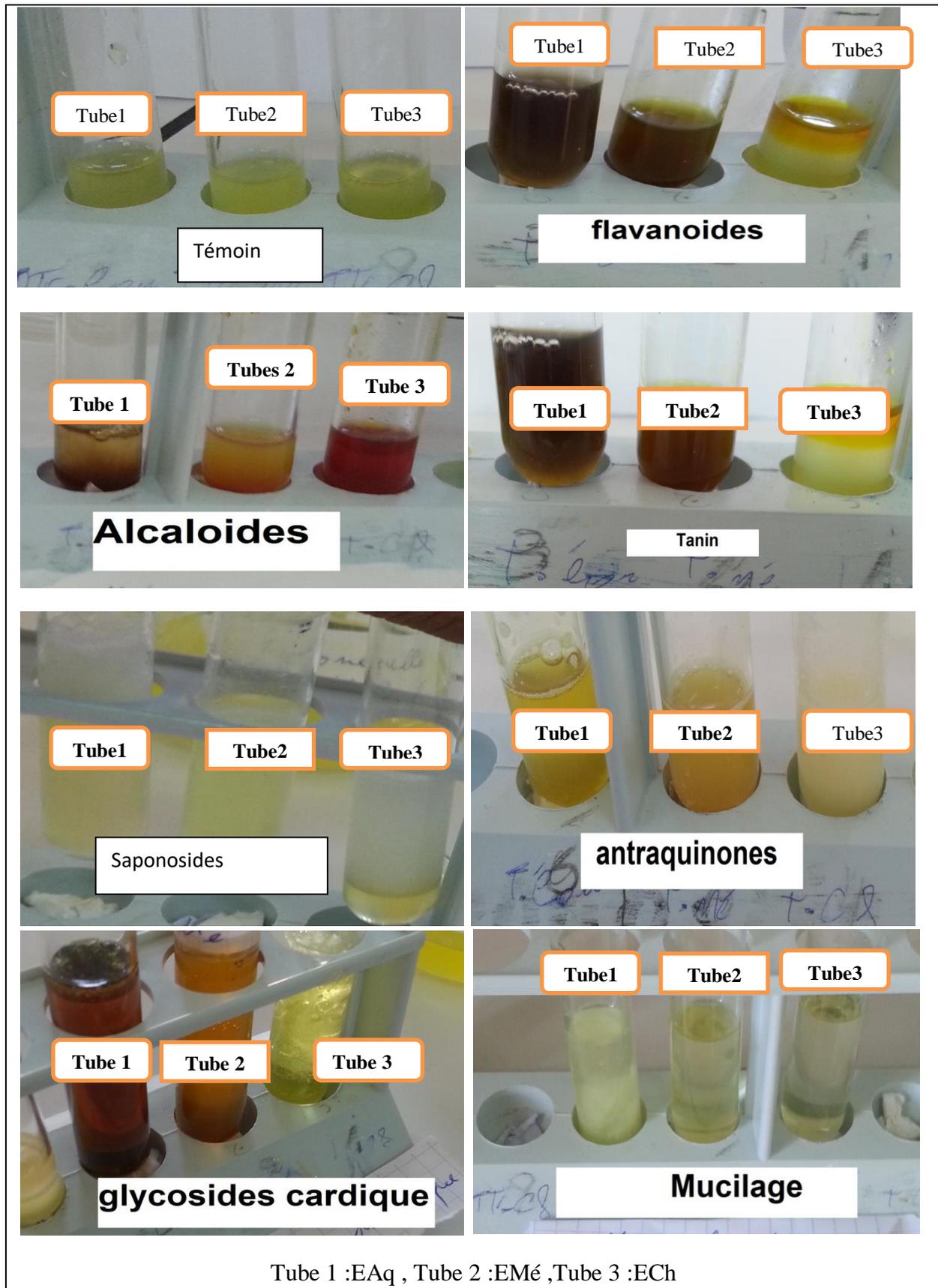


Figure 15 : Résultats des tests phytochimiques de fenugrec.

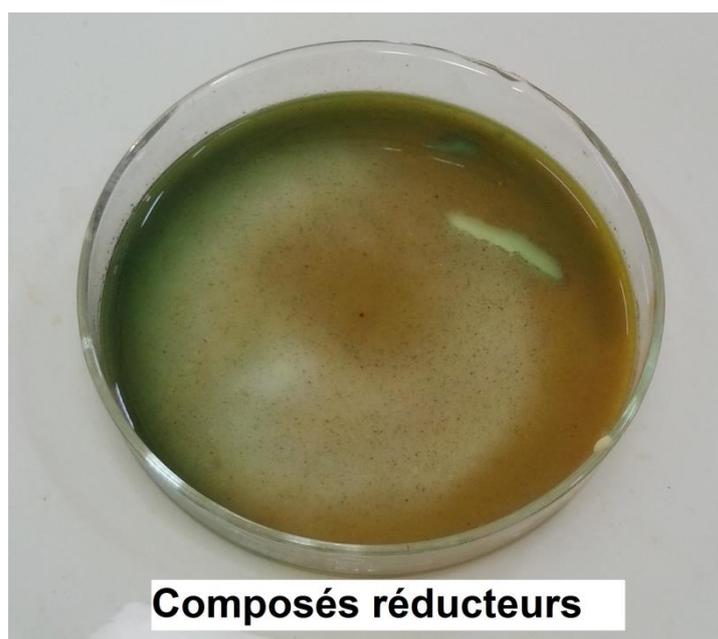


Figure 16 :Résultats des tests phytochimiques (composés réducteurs) *de* fenugrec .

3. Taux des polyphénols totaux et flavonoïdes :

La méthode de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium nous a permis de déterminer la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans divers extraits de fenugrec (EAq, EMé, ECh).

Les valeurs enregistrées dans le tableau 3 et la figure 18 montrent que la teneur en polyphénols des graines de La fenugrec est plus élevée dans l'extrait aqueux dont la moyenne est de $(0,3284 \pm 0,0052)$ mgEAG/g d'extrait sec par rapport aux la teneur dans les extraits méthanoliques et chloroformiques dont les moyennes sont $(0,2658 \pm 0,0087$ et $0,1139 \pm 0,00024)$ respectivement.

Concernant les teneurs en flavonoïdes, l'extrait aqueux est aussi le plus riche par rapport aux extraits méthanoliques et chloroformiques dont les valeurs sont : $(0,00291 \pm 0,000075,$ $0,00119 \pm 0,000029,$ $0,00059 \pm 0,00013)$ mgEQ/g d'extrait sec respectivement (Tableau 3 et Figure 19).

Tableau 3 : Taux des polyphénols totaux en mg EAG/g d'extrait sec et flavonoïdes en mgEQ/g d'extrait sec.

L'extrait	EAq	EMé	ECh
Taux des polyphénols	0,328 ±0,0052	0,2568 ±0,0087	0,1139 ±0,00024
Taux des flavonoïdes	0,00291 ±0,000075	0,00119 ±0,000029	0,00059 ±0,00013

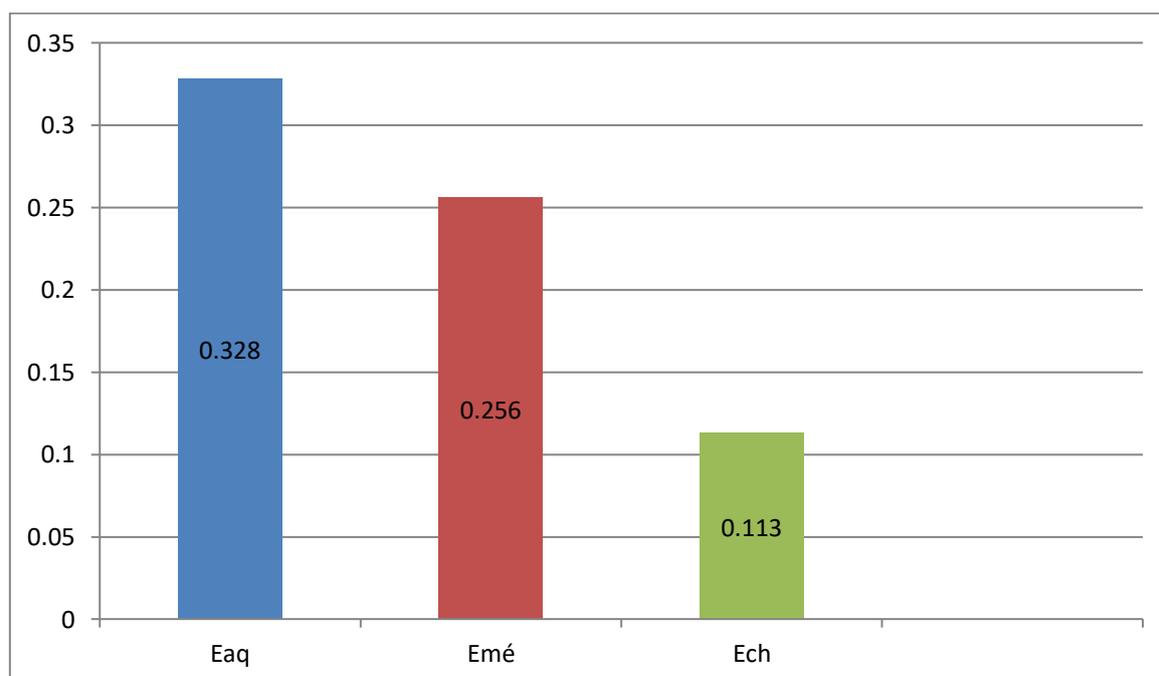


Figure 17 : Taux des polyphénols totaux en mgEAG/g d'extrait sec

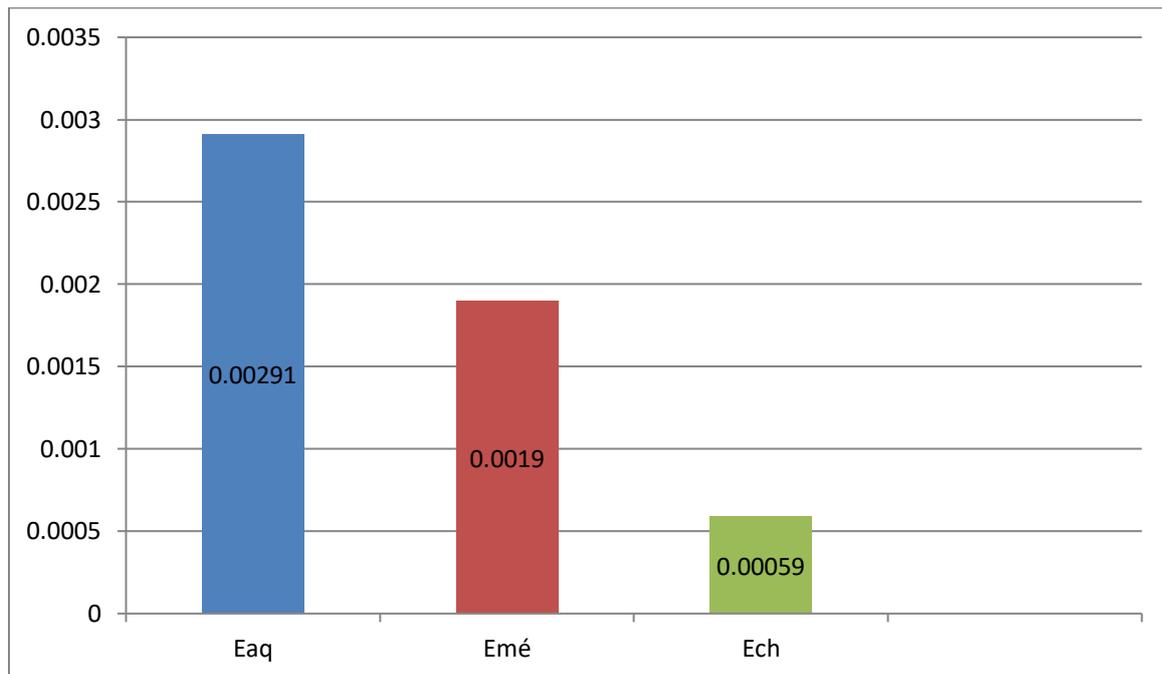


Figure 18 :Taux des flavonoïdes en mgEQ/g d'extrait sec.

Nos résultats confirment que l'extrait aqueux est plus riche en ces deux composés actifs. D'autres études ont démontré que l'extrait de fenugrec est riche en polyphénols dont la teneur atteint $31 \pm 0,031$ mg GAE/100g (**Benziane, 2019**). Le fenugrec contient des polyphénols et des flavonoïdes, ce qui indique qu'il possède des propriétés biologiques, anti-inflammatoire (**Rouibi, 2018**), anticoagulante (**Benmakhlouf et al., 2022**), antioxydant, antidiabétiques, antimicrobien (**Mabrouk et al., 2017**).

4. Evaluation de l'activité antioxydant :

4.1. Test du DPPH :

Le test de piégeage des radicaux libres en utilisant le radical DPPH comme substrat est largement utilisé pour évaluer la capacité antioxydant des extraits obtenus à partir de plantes médicinales dans lequel un niveau d'inhibition élevé est un indicateur d'un puissant antioxydant. (Bakli, 2020).

Les résultats de l'activité antioxydant obtenues par la méthode de DPPH pour les différents extraits sont présentés dans le tableau 4 et la figure 20.

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de fenugrec est de $(26,20 \pm 0,24)\%$, il est supérieur à ceux de l'extrait méthanolique et chloroformique dont les moyennes sont de $(20,52 \pm 0,87$ et $18,11 \pm 2,6)\%$ respectivement.

Tableau 4 : Les résultats de l'activité antioxydant en pourcentage d'inhibition (I%) obtenues par la méthode de DPPH.

I'extrait	Eaq	Emé	Ech
Pourcentage d'inhibition %	26, 20±0, 24	20,52±0,87	18, 11±2, 6

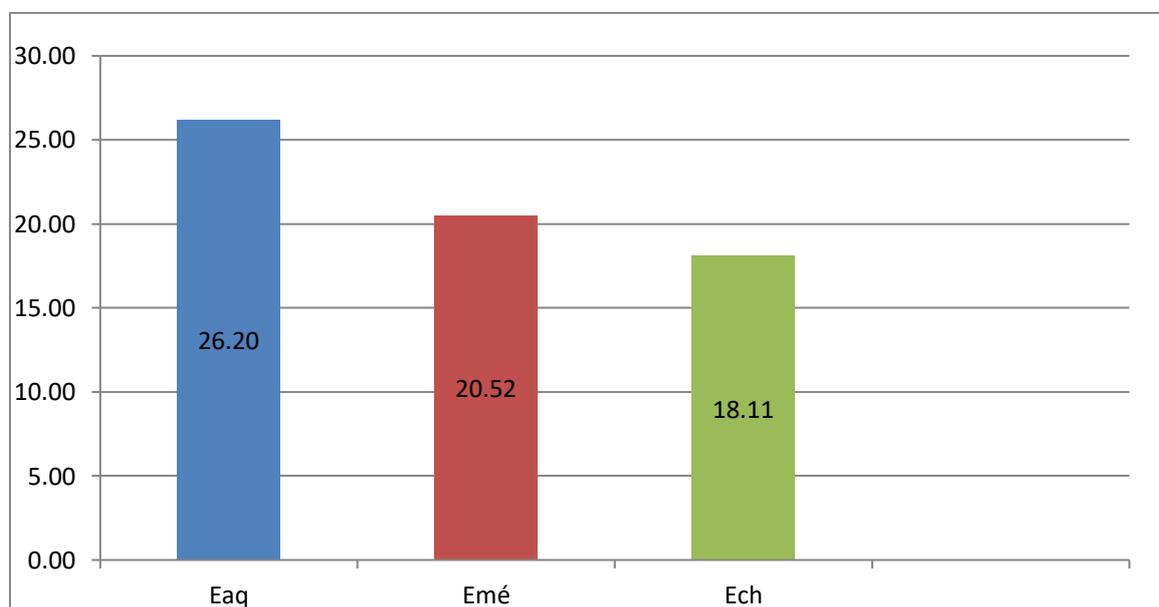


Figure 19 : Les résultats de l'activité antioxydant en pourcentage d'inhibition (I %) obtenues par la méthode de DPPH.

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux possède le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport aux deux autres extraits cela peut être expliqué par sa richesse en composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes). Selon nos résultats du dosage mentionnés ci-

dessus, les polyphénols ont un rôle important dans l'activité antioxydante. Une corrélation positive a été observée entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques totaux. La capacité de piéger les radicaux libres augmente avec l'augmentation de la concentration des composés phénoliques chez le fenugrec. Par conséquent il a été suggéré que les graines de fenugrec. peut être une source potentielle comme un antioxydant naturel important. **(Hwa ,2019).**

Les radicaux libres sont à l'origine de plusieurs pathologies parmi lesquelles nous pouvons citer les arthroses, l'asthme, le cancer, le diabète, les maladies cardiaques, l'athérosclérose. Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants des plantes aromatiques **(Benziane, 2019)**. Selon Pousset, (2006), l'utilisation de produits naturels (fruits , légumes) riches en antioxydants pourrait jouer un rôle important dans la prévention de ces maladies.**(Dieng et al.,2017).**

Conclusion générale

Conclusion Générale

Les plantes médicinales en Algérie sont encore largement utilisées en médecine traditionnelle en raison de leurs nombreuses propriétés médicinales et du fait qu'elles contiennent des composants biologiques actifs. Le fenugrec est une plante appartenant à la famille des Fabaceae (légumineuses) et il fait partie des plantes médicinales.

Le test photochimique montre que le fenugrec contient plusieurs familles chimiques (les polyphénols, tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, glucosides cardiaques...etc). Les polyphénols, sont en grande partie responsables de plusieurs activités biologiques.

Nos résultats confirment la présence des composés phénoliques et flavonoïdes dans les différents extraits. Alors que la teneur la plus élevée est détectée dans l'extrait aqueux. Cela traduit le pourcentage d'inhibition le plus élevé enregistré pour cet extrait ce qui confirme la relation étroite entre la teneur en ces molécules et le pouvoir antioxydant.

Ces résultats peuvent servir à l'étude d'autres propriétés biologiques de manière plus précise. Ainsi, rendant possible une application future dans les industries pharmaceutiques dans le but de fabriquer des médicaments avec moins d'effets secondaires et plus efficaces pour différentes maladies.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Al-Dabbagh B, Elhaty I.A, Al Hrouf A, Al Sakkaf R, El-Awady R, Ashraf S et Amin A, (2018).** Activités antioxydantes et anticancéreuses de *Trigonella foenum-graecum*, *Cassia acutifolia* et *Rhazya stricta*. *Complément BMC Altern Med* , VOL :18 ,p: 240.
2. **Athamena S, (2020).** Etude de l'activité biologique de *Juniperus thurifera* et *Fraxinus xanthoxyloides*. Thèse de doctorate. Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2 ,p100-140.
3. **Azzi R, (2012).** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'ouest algérien : enquête ethnopharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse de doctorat. **DJAZIRI R** .Université Abou Bekr Belkaid ,Tlemcen, P :75.
4. **Bakli S, (2020).** Activité antimicrobienne, antioxydant et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales. Thèse de doctorat. **Harzallah D**. Université Ferhat Abbas ,Sétif1 ,p :14-149.
5. **Baudin B, (2020).** Stress oxydant et protections antioxydante Oxidative stress and antioxidant protections. *Revue Francophone des Laboratoires* ,Volume 2020, Issue 522,P:22-30.
6. **Bayard M, (2019).** élaboration et caractérisation de biocomposites À base d'acide polylactique et de fibres de lin : compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements À base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin. *scientific figure on researchgate*. available from: https://www.researchgate.net/figure/28-structure-chimique-des-tanins-a-hydrolysables-b-condenses-97-lesprincipales_fig20_336603986.
7. **Benmakhlouf Z, Bouassaba K, Kellab R, (2022).** Phytochemical Constituents and Anticogulant Activities of *Trigonella Foenum Graecum* L. and *Cinnamomum Cassia* L. Extracts. *South Asian J Exp Biol*, vol :12 (3) ,p:288 , 285-289.
8. **Benziane M.N.A , Acem K, Aggad H, Abdali M, (2019).** Phytochemistry, HPLC profile and antioxidant activity of aqueous extracts of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) seeds grown in arid zones of Algeria .*Acta Scientifica Naturali*, Vol 6, No 2, Pages :79 , 71 – 87.

9. **Boufellous M, Lrhorfi L, Berrani A, EL Haoud H, Zaher A, Bouhaddioui B, Bengueddour R, (2017).** Phytochemical screening of a medicinal plant: *Lavandula stoechas* (Lamiaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol : 6(2) ,p:57- 56 ,62.
10. **Bouzabata A, (2015).** contribution a l'étude d'une plante médicinale et aromatique *myrtus communis* l. thèse de doctorat. **Abed L.** université badji-mokhtar, annaba, algérie ,p :12-199.
11. **Dieng S.I.M, Dior Fall A, Diatta-Badji K, Sarr A, Sene M , Mbaye A , Diatta W et Bassene E, (2017).**Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* vol : 11(2)p:769 , 768-776.
12. **Diouf E.G, Samb A, Sylla O, Elmi K.A, Diop M, Seck D, Nguessan K, (2014).**Test phytochimique et insecticide de trois extraits organiques de feuilles de *Ficus thonningii* sur *Callosobruchus maculatus*Fabricius. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(6) ,p:2591- 2588 ,2596.
13. **Edeoga HO, Okwu DE, Oyedemi BM, (2005).**Phytochemical constituents of some Nigerian Medicinal Plants.*AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY* 4(7)DOI:10.5897/AJB2005.000-3127
14. **El Ouali Abdedlhakim, El-akhal F, Ouedrhiri W, Ooazzani C.F, Guemmouh R, Greche H, (2013).**Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioïdis*. *technologies de laboratoireles*, Volume 8, N°31 ,p27.
15. **EL-Haoud H, Boufellous M, Berrani A, Tazougart H, Bengueddour R, (2018).** Screening phytochimique d'une plante medicinale :*Mentha Spicata* L.*American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.* ISSN 2429-5396 p :3-8.
16. **Fiorucci S, (2006).** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. ,Tése de doctorat.**Cabrol-Bass D, Antonczak S.** Universte de Nice-Sophia Antipolis, Nice , p :16 ,17-209.
17. **Fons F, RapiorS,JaumeJetCoste E, (2015).** Trente-sept plantes chinoises (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae). Caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique / Trente-sept herbes chinoises (Magnoliidae,

Ranunculidae, Asteridae). Caractéristiques botaniques, investigation pharmacologique et propriétés thérapeutiques. *Researchar*.

18. **Hajjaj G, (2017).**Screening phytochimique, etude toxicologique et valorisation pharmacologique de matricaria chamomilla l. et de l'ormenis mixta l. (asteraceae).these de doctorat. **Zellou ,A.**Universite Mohammed V , Rabat ,p :8,9,63-167.
19. **Hesse M, (2002).**Alkaloids – Nature's Curse or Blessing, *Wiley – VCH*.
20. **Hordyjewska A , Ostapiuk A, HoreckaA, (2018).**Betulin and betulinic acid in cancer research. *Scientific Figure on ResearchGate*. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-an-isoprene-unit_fig1_326202479
21. **Hwa C.Y, Perveen N, Paliwal N, Khan N.H, (2019).** Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activity determination of Trigonella foenum-graecum seeds. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, vol :7(4) ,p:185 ,175–186.
22. **Jaber A, (2017).**Matrices MALDI bithiophéniques spécifiques aux alcaloïdes : étude des mécanismes fondamentaux et applications.tése de doctorat ,**Denis S, Edmond C**, université angers , P :34 ,35 ,36-239.
23. **Janati i, (2015).**Caractérisation chimique, activités biologiques de substances naturelles issues de plantes medicinales et de métabolites secondaires isolés de champignons endophytes. Thèse de doctorat. Université Mohammed V Maroc ,p :1-209.
24. **Khater F, (2011).** identification et validation fonctionnelle de nouveaux genes potentiellement impliqués dans la biosynthese des composés phenoliques.tése de doctorat.**Cheyrier ,V.**centre international d'études supérieures en sciences agronomiques - montpellier supagrop ,p :25 ,26-198.
25. **Kidik pouka M.C, Ngen J.P, Ngoule C.C, Mvogo Ottou P.B, Ndgib R.S, Dibong S.D, Mpondo mpondo E, (2015).** Caractérisation des plantes médicinales à flavonoïdes des marchés de Douala (Cameroun) .*Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(3) ,p : 1494-1516.
26. **Kouamé T.K, Siaka S, Benjamin A.B, Kassi A.B.B et Soro Y, (2021).** Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpinaceae).*Int. J. Biol. Chem. Sci.*,v : 15(1),p:102, 97-105.

27. **Laguna O, (2019).**Valorisation des composés phénoliques des tourteaux de colza et tournesol : du fractionnement des matières premières vers la synthèse de molécules multifonctionnelles. Thésé de doctorat. **Lecomte J.** Université Montpellier, Français , p :34 ,187.
28. **Laguna O, (2019).** Valorisation des composés phénoliques des tourteaux de colza et tournesol : du fractionnement des matières premières vers la synthèse de molécules multifonctionnelles. Thésé de doctorat.**Lecomte J.** Université Montpellier, Français , p :34 ,187.
29. **Le Moal D, (2018).**Plantes anti-diabète : baisser la glycémie avec les plantes.*MesBienfaites* .
30. **Mabrouk B, D'Araujo M. E. M, Gouia H, Bettaieb, B. K. L, (2017).**Effets de l'acide salicylique sur l'activité antioxydant de Fenugrec (*Trigonella-foenum-graecum*L). Cultivé en présence d'Arsenic et de Zinc. *Revue des Régions Arides*, (43).
31. **Mehani M, Segni L,(2012).**Antimicrobial Effect of Essential oil of Plant *Trigonella focnum greacum* on some Bacteria Pathogens. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* , Vol:6, No:9,p :430.
32. **Moradikor N, Didarshetaban M, Reza Saeid H, (2013).**Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) *As a Valuable Medicinal Plant* , *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research* , Volume 1, Issue 8,p: 922-931.
33. **Morand C, Milenkovic D, (2014).** Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques* ,vol : 42 ,p :51 ,47-62.
34. **Nakkab S , Tail G , Kara F.Z , Mallem H , Chader H , Eddaikra N , Saidi F, (2017).** Screening phytochimique , Essais in vitro de cytotoxicite ,et antileishmanien de l'extrait ethanologique de feuilles 'EE-F' de *cestrum* parqui l'herit. *Revue Agrobiologia* ,vol7(2) ,p:577- 574 ,588.
35. **Nasri I, (2016).** Etude phytochimique et activités biologiques de *Diplotaxis* sp. : application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Cancer.tése de doctorat.(**Mezghani-Jarraya R, Racaud-Sultan C**).Université Paul Sabatier - Toulouse III, Français.p :44-145.

36. **Nsemi F.M, (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Tèse de doctorat. **Dicko A.** Université Paul Verlaine - Metz, Français ,p :57-239.
37. **Omri B, (2018).** Impact du fenugrec sur les performances de ponte, la qualité physico-chimique et diététique, la stabilité des lipides enrichis en acides gras polyinsaturés et la coloration du jaune de l'œuf de poule. Thèse de doctorat. **Mateur E.S.A.** Université de Carthage , Tunisie, p :44-137.
38. **Oueslati H.A, Ghédira K, (2015).** Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* . *Phytothérapie* , vol :13 ,p:234-238.
39. **Oufquir S, Ait Laaradia M, El Gabbas Z, Bezza K, Laadraoui J, Aboufatima R, Sokar Z et Abderrahman Chait, (2020).** Extrait de graines germées de *Trigonella foenum-graecum* L. : son analyse HPLC chimique, son effet abortif et sa toxicité neurodéveloppementale sur les souris. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des données probantes*.
40. **Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne J.O, (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Action physiologique des défenses antioxydantes. *Nutrition Clinique et Métabolisme* , Volume 16, Numéro 4 , P : 233-239.
41. **Raymond M.F, (2016).** Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) Bockshornklee. *Phytotheque Herbarium*.
42. **Rouibi A, Megateli S, Saidi F, Cherif H.S, Fenagra L, Bouriach M, (2018).** propriétés pharmacologiques de l'extrait aqueux et des huiles essentielles des graines de fenugrec (*trigonella foenum-graecum*. l.). *agrobiologia*, vol :(8)1 ,p: 914, 916, 913-919.
43. **Saio V et Syiem D, (2015).** Analyse phytochimique de quelques plantes médicinales traditionnellement utilisées du nord-est de l'Inde. *Journal des sciences et de l'environnement Todouais* , Vol.1, ISSN 2394-6490.
44. **Sarni-Manchado P, Cheynier V, (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire, *Lavoisier*, Editions Tec & Doc, p : 398. (ISBN 2-7430-0805-9).
45. **Small D, Deutsch G, (2001).** Herbes culinaires pour nos jardins de pays froids, *NRC Research Press*, p :193.
46. **Snehlata Helambe S, Dande P, (2011).** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.): An Overview, *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*. IJCPR, November 2011-January 2012, 2(4), p : 169-187.

- 47. Stefanachi A, Léonetti F, Pisani L, Cattoet M.C, arotti A, (2018).**Coumarine : un échafaudage naturel, privilégié et polyvalent pour les composés bioactifs.*MDPI* , 10.3390/molécules23020250.
- 48. Zaiter A, (2017).** Étude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres superfines. *Agronomie*. Université de Lorraine, Français ,p82-147.