

$R^*/R0 - 1 \times 100$ Inhibition (%) de l'oxyde nitrique = [(Témoin - Test)/Témoin] $\times 100$ Conclusions

Disponibilité des données Le surnageant a été transféré judicieusement dans une nouvelle plaque à 96 puits et traité pour la détermination du NO, tandis que les cellules restées dans l'ancienne plaque ont été utilisées pour le protocole MTT, afin de déterminer le pourcentage de cellules viables. Les échantillons (stock) ont été dissous dans du DMSO et les échantillons de travail ont été préparés dans le milieu. Les cellules viables ont été déterminées par la réduction de la dépendance mitochondriale du MTT jaune (3-(4,5diméthylthiazol2yl) bromure de 2,5diphényltétrazolium) en formazan violet³⁷. Le pourcentage de changement du nombre de cellules viables a été mesuré selon l'équation suivante : Comme R* est la lecture de l'extrait, et R0 la lecture du contrôle. Activité antiinflammatoire in vitro. Culture cellulaire. La lignée cellulaire de macrophages RAW 264.7 a été acquise auprès de l'ATCC (American type culture collection). Les cellules ont été cultivées dans du milieu RPMI, 1640 (Institute of Roswell Park Memorial) et sub ensemencées avec 1 % de pen/strep et 10 % de sérum bovin fœtal résistant à la chaleur. Les cellules ont été transférées dans un incubateur humidifié, dans une ambiance de 5 % de CO₂ à 37 °C, et elles ont été subcultivées deux fois avant le test. Après 24 h d'ensemencement, 1 $\times 10^5$ cellules par puits (dans des plaques à 96 puits) ont été incubées pendant un jour pour le test. Les cellules ont ensuite été traitées avec les échantillons à différentes concentrations de 10, 20, 40, 80 et 100 $\mu\text{g g}^{-1}$ et incubées pendant 60 min. Les cellules ont ensuite été enrichies avec 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de LPS, comme contrôle négatif, pendant un autre jour. Compte rendu. Les comptes rendus suivants ont été obtenus dans une zone stérile en utilisant une armoire à flux laminaire de sécurité biologique de classe II (Baker, SG403INT, Sanford, ME, ÉtatsUnis). Les cellules RAW 264,7 ont été suspendues dans du milieu RPMI. 0,5 norme McFarland). Les plaques Te ont été incubées à 25 °C pendant 24 à 48 h. À la fin de la période d'incubation, une croissance mycélienne a été observée et la CMI a été déterminée. **Protocole d'oxyde nitrique (NO).** La production d'oxyde nitrique a été traitée en déterminant le nitrite dans les surnageants de macrophages RAW 264.7 cultivés. Le protocole a été traité avec une légère modification comme décrit précédemment ³⁸. Après une préincubation d'une journée de cellules RAW 264.7 (1 $\mu\text{g ml}^{-1}$) avec du LPS (10 $\mu\text{g ml}^{-1}$), la quantité de nitrite, qui est considérée comme un métabolite stable du NO, et utilisée comme indicateur de la production de NO dans le milieu de culture, a été estimée à l'aide d'un réactif de (0,1 % de dichlorhydrate de naphtyléthylène diamine + 1 % d'amide de sulfanil + 2,5 % d'acide phosphorique), et ce réactif est communément appelé réactif de Griess. Un volume de 50 μl du réactif de Griess a été mélangé à 50 μl du milieu de culture cellulaire. Le mélange a ensuite été incubé à température ambiante pendant 15 min et l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un lecteur multipuits pour microplaques (modèle 3350, Hercules, Californie, ÉtatsUnis, BioRad Laboratories Inc.) à 540 nm. Dans chaque expérience, un nouveau milieu de culture a été utilisé comme blanc. La quantité de nitrite a été estimée à partir de courbes standard de nitrite de sodium formulées dans l'équation suivante : Les graines de fenugrec ont un goût amer dû aux saponines et une odeur spécifique due aux alcaloïdes et aux huiles volatiles, ce qui limite leur utilisation et leur acceptabilité dans l'industrie alimentaire. Il a été possible de les rendre moins amères en utilisant divers traitements domestiques tels que le trempage, la germination, l'ébullition, etc. Parmi tous les échantillons étudiés, l'ADFL a montré les propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et antiinflammatoires in vitro les plus élevées

en raison de sa teneur élevée en composés phénoliques, favonoïdes et isofavonoïdes. Chaque traitement de trempage, de germination et d'ébullition a réduit les activités biologiques in vitro car une diminution s'est produite dans les activités TP, TF et AOX. Enfin, les feuilles de fenugrec séchées à l'air et les graines non transformées doivent être utilisées dans les domaines industriel et pharmaceutique comme un excellent agent antioxydant, antibactérien, antifongique et antiinflammatoire naturel, ainsi qu'une source naturelle de composés phénoliques potentiels, de favonoïdes, d'isofavonoïdes, de saponines stéroïdiennes, d'alcaloïdes, etc. dans le domaine médicinal. Des échantillons des composés et des données utilisés au cours de l'étude actuelle sont disponibles auprès de l'auteur correspondant.

Analyse statistique. Tous les tests utilisés dans ce travail ont été évalués trois fois et les données obtenues ont été représentées par la moyenne $\pm$ écart type (STDEV). Le logiciel d'analyse statistique (SAS 9.1) a été appliqué pour l'analyse statistique des données et l'IC50 a été calculé à l'aide de prismes graphiques. Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) a été utilisée pour analyser la différence entre les groupes en appliquant le test de différence la moins significative (LSD) avec des niveaux de signification de 1 % et 5 % ($p < 0,05$).