



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Contribution à l'étude des polysaccharides
hydrosolubles de *Citrullus colocynthis* L. récoltée dans la
région d'El-Oued (Sahara Algerien) : activités biologiques

Présenté Par :

M^{elle} : BEN KHALIFA Aya

M^{elle} : HARZOULI Takwa

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} HOUMRI Nawel	M.A.A	Université d'El Oued
Examinatrice :	M ^{me} MEHELLOU Zineb	M.A.A	Université d'El Oued
Promotrice :	M ^{me} YOUMBAI Asma	M.A.A	Université d'El Oued

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice, **M^{me} YOUMBAI Asma** maître assistant A, pour son aide, ses conseils, son orientation et sa grande gentillesse. Merci pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire, pour votre présence et votre disponibilité permanente.

Nos sincères remerciements et considérations sont exprimés à **M^{me} HOUMRI Nawel** maître assistant A, Pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Notre profonde gratitude s'adresse également **M^{me} MEHELLOU Zineb** maître assistant A, qui a accepté de faire partie de jury et de consacrer son temps pour examiner ce travail.

On adresse nos sincères remerciements au chef de Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire **Dr TLILI Mohammed Laïd** et **Dr DEROUICHE Samir**

Un très précieux merci aux responsables du laboratoire de département de la science de la nature et de la vie particulièrement **FELLAH Khadija ; GOUBI Sana** et **KHANOUFA Amor**, et de laboratoire de département de technologie (**TLIBA Ali**) et Nous tenons à remercier beaucoup **Mr OUNISI Saïd ; Mr BOUZANA Abd-elouahab** et **Dr HARZOULI Mouhammed** pour leurs aides précieux.

Nos remerciements s'adressent à tous nos amis surtout les étudiantes de la promotion de 2ème Master Biochimie appliquée particulièrement **MESBAHI Ahmed Amine ; BOUDJERADA Kawther ; OTHMANI Chïama** et **DJALASSI Meriem**.

Licence 2019 de Université **ECHAHID HAMMA LAKHDAR, El Oued**

Enfin, nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces



Au nom du dieu, le plus puissant le plus généreux, que son salut et son paix soit sur Mohammed avant tout.

C'est avec un grand plaisir que je profite cette occasion pour que je dédie ce travail a tout ceux que j'aime, et ceux qui m'ont aidé au parcoure de mes études de loin ou de près :

*A ma mère, **BARIKA Leïla**, mon ange gardien, qu'elle a rêvé toujours de me voir en finir mes études.*

*A mon père, **BEN KHALIFA Fouzi**, mon ange gardien, qu'il a rêvé toujours de me voir en finir mes études.*

*A mon sœur : **Chourouk***

*A mes frères : **Abd elrrazak ; Abd elmoumen ; Abd elrahim.***

*À ma sœur : **Manal** et son mari : **Youcef** et ses enfants :*

Mayar** et **Serín.

*A toute la famille : **Ben khalifa** et **Barika.***

*A tous mes chers amis : **Imene ; Radja ; khaoula ; Meriem ;***

Safa ; Sana.

*A ma binôme **Takwa** aux bons moments que nous avons passé*

AYA

Dédicaces



Au nom du dieu, le plus puissant le plus généreux, que son salut et son paix soit sur Mohammed avant tout.

C'est avec un grand plaisir que je profite cette occasion pour que je dédie ce travail a tout ceux que j'aime, et ceux qui m'ont aidé au parcoure de mes études de loin ou de près :

A ma mère, CHENNOUF Rachida, mon ange gardien, qu'elle a rêvé toujours de me voir en finir mes études.

A mon père, HARZOULI Abd elouahed, mon ange gardien, qu'il a rêvé toujours de me voir en finir mes études.

A mes frère: Ahmed Saïd; Youcef; Sadok.

A mon sœur : Rahma.

À ma sœur : Mabrouka et son mari: Yacine et ses enfants :Douha et Yahia.

À ma tantes : Djemaa ; Hafsia.

A toute la famille : Harzouli et Chennouf

A tous mes chers amis: Imene; Zahira ;Sabrine ;Nour.

A ma binôme Aya aux bons moments que nous avons passé

TAKWA

Résumé

Le but de la présente étude est d'évaluer l'activité antioxydant , anticoagulant et gastro-protectrice de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des graines et des tiges de *Citrullus colocynthis* de la famille des Cucurbitaceae , une plante spontanée à caractère médicinal récoltée au sahara septentrional Est Algérien de la région d'El Oued. Après avoir l'analyse des deux échantillons polysaccharidiques hydrosolubles PGCC et PTCC , le rendement massique des extraits des polysaccharides sont de 3.5% pour PGCC , 5.9% pour PTCC.

L'étude de la composition chimique des extraits polysaccharidiques isolés est constituée de 37.55%(PTCC) et 3.88%(PGCC) d'oses totaux , 22.22% et 5.69% pour PTCC et PGCC respectivement d'oses neutres , 0.9% pour PTCC et 0.65% pour PGCC de polyphénols et les protéines représentent le plus faibles teneurs se 0.38% (PTCC) et 0.12% (PGCC).

L'étude du pouvoir antioxydant des polysaccharides hydrosolubles a été effectuée par la méthode de DPPH, l'extrait de deux échantillons de *Citrullus colocynthis* L .a une très faible activité antioxydant avec $IC_{50} = 0.736$ mg/ml et $IC_{50} = 1.602$ pour PTCC ; PGCC mg/ml respectivement par rapport au témoin BHA ($IC_{50} = 0.013$ mg/ml).

Le suivi de test d'activité anticoagulant de deux échantillons montre un TCA de 38.5s pour PGCC, 33.9s pour PTCC et un TP de 12.5s et 13.3s pour PTCC et PGCC respectivement.

L'activité gastro-protectrice des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de cette plante, PGCC, sur des rats males de race *Wistar albinos*. Des doses de 50, et 75mg/kg ont montré des résultats significatifs des pourcentages de protection de 50%, 70%, respectivement. Ces résultats montrent un effet gastro-protecteur de PGCC, qui semble être du à sa capacité de diminuer la formation de lésions et d'induire les mécanismes de protection de la muqueuse gastrique.

Mots clés : Polysaccharides hydrosolubles, *Citrullus colocynthis* L, Activités biologiques, région d'El Oued.

Summary

The aim of the present study is to evaluate the antioxidant, anticoagulant and gastro-protective activity of the water-soluble polysaccharide extract of the seeds and stems of *Citrullus colocynthis* of the Cucurbitaceae family, a spontaneous plant with medicinal character known in the northern Sahara. East Algerian from the region of El Oued. After having analyzed the two water-soluble polysaccharide samples PGCC and PTCC, the mass yield of the extracts of the polysaccharides is 3.5% for PGCC, 5.9% for PTCC.

The study of the chemical composition of the isolated polysaccharide extracts consists of 37.55% (PTCC) and 3.88% (PGCC) of total oses, 22.22% and 5.69% for PTCC and PGCC respectively of neutral oses, 0.9% for PTCC and 0.65% for PGCC of polyphenols and proteins represent the lowest contents of 0.38% (PTCC) and 0.12% (PGCC).

The study of the antioxidant power of water-soluble polysaccharides was carried out by the method of DPPH, the extract of two samples of *Citrullus colocynthis* L. Has a very low antioxidant activity with $IC_{50} = 0.736$ mg / ml and $IC_{50} = 1.602$ for PTCC; PGCC mg / ml respectively compared to the BHA control ($IC_{50} = 0.013$ mg / ml).

The anticoagulant activity test follow-up of two samples shows an TCA of 38.5s for PGCC, 33.9s for PTCC and a PT of 12.5s and 13.3s for PTCC and PGCC respectively.

the gastro-protective activity of water-soluble polysaccharides extracted from the seeds of this plant, PGCC, in male *albino Wistar* rats. Doses of 50, and 75mg / kg showed significant results of protection percentages of 50%, 70%, respectively. These results show a gastro-protective effect of PGCC, which appears to be due to its ability to decrease the formation of lesions and to induce the protective mechanisms of the gastric mucosa.

Key words: Water-soluble polysaccharides, *Citrullus colocynthis* L, Biological activities, El Oued region.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة ومضاد التخثر والوقاية المعوية لمستخلص السكاريد القابل للذوبان في الماء لبذور وسيقان (الحنظل) *Citrullus colocynthis* من عائلة (القرعيات) Cucurbitaceae ، وهو نبات عفوي ذو طابع طبي تم قطفه من شمال الصحراء الكبرى. شرق الجزائر من جهة الواد. بعد تحليل عيني عديد السكاريد القابل للذوبان في الماء PGCC و PTCC، يكون العائد الكلي لمستخلصات السكاريد 3.5% لـ PGCC، و 5.9% لـ PTCC.

تتكون دراسة التركيب الكيميائي لمستخلصات عديد السكاريد المعزول من 37.55% (PTCC) و 3.88% (PGCC) من السكريات الاجمالية ، 22.22% و 5.69% لـ PTCC و PGCC على التوالي من السكريات المعتدلة ، 0.9% لـ PTCC و 0.65% لـ PTCC من البوليفينول وتمثل البروتينات أقل النسب 0.38% (PTCC) و 0.12% (PGCC).

تم إجراء دراسة القوة المضادة للأكسدة لعديد السكاريد القابل للذوبان في الماء بواسطة طريقة DPPH، وهو مستخلص من عينتين من *Citrullus colocynthis* L. له نشاط مضاد للأكسدة منخفض للغاية مع $IC_{50} = 0.736$ مجم / مل لـ PTCC و $IC_{50} = 1.602$ مجم / مل لـ PGCC؛ على التوالي مقارنةً بالشاهد BHA ($IC_{50} = 0.013$ مجم/مل).

تُظهر متابعة اختبار نشاط مضاد التخثر لعينتين أن TCA يبلغ 38.5 ثانية لـ PGCC و 33.9 ثانية لـ PTCC و TP يبلغ 12.5 ثانية و 13.3 ثانية لـ PTCC و PGCC على التوالي.

النشاط الوقائي المعدي للسكريات القابلة للذوبان في الماء المستخرجة من بذور هذا النبات، PGCC، في ذكور فئران ويستار البيضاء. أظهرت الجرعات 50 و 75 مجم / كجم نتائج معنوية لنسب الحماية 50%، 70% على التوالي. تظهر هذه النتائج تأثير حماية الجهاز الهضمي لـ PGCC، والذي يبدو أنه يرجع إلى قدرته على تقليل تكوين الآفات والحث على آليات الحماية للغشاء المخاطي في المعدة.

الكلمات المفتاحية: السكريات القابلة للذوبان في الماء، *Citrullus colocynthis* L ، النشاطات

البيولوجية ، منطقة الوادي.

Liste des Figures

Figure 1 : Anatomie de l'estomac humain	19
Figure 2 : Schéma représentatif de l'histologie de la paroi gastrique	20
Figure 3 : Représentation de l'ulcère gastrique.....	20
Figure 4 : La plante <i>Citrullus colocynthis</i>	32
Figure 5 : les différentes parties du <i>Citrullus colocynthis</i>	33
Figure 6 : Carte de distribution africaine du <i>Citrullus colocynthis</i>	35
Figure 7: Représentation de la région Taleb Larbi - El-Oeud.....	40
Figure 8: Protocole d'extraction des polysaccharides hydrosolubles	43
Figure 9: Schéma de réduction du radical DPPH.....	48
Figure 10: Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble de <i>Citrullus colocynthis</i> ..	55
Figure 11: spectres IRTF des tiges de <i>C.colocynthis</i>	57
Figure 12: spectres IRTF des graines de <i>C.colocynthis</i>	57
Figure13: Temps (seconde) de céphaline activée (TCA) pour chacun des deux échantillons PTCC et PGCC, pour une concentration de 100 µg/10µl.	60
Figure 14 : Effet de l'administration orale de l'éthanol (contrôle -), et de l'extrait PGCC et XP sur l'induction de l'ulcère gastrique chez des rats.....	64
Figure 15 : Effet de l'administration orale de l'extrait PGCC et XP, et du contrôle + (Oméprazole) sur le protection de l'ulcère gastrique chez les rats.....	65
Figure 16: Courbe d'étalonnage des oses totaux (glucose).....	87
Figure 17: Courbe d'étalonnage des oses neutres (glucose)	87
Figure 18: Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux (acide gallique).....	88
Figure 19: Courbe d'étalonnage des protéines (BSA) la méthode de BRADFORD	88
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de BHA pour le test de DPPH.....	89
Figure 21 : les étapes d'observation microscopique	92

Liste des photos

Photo 1 : <i>Citrullus colocynthis</i> L.....	41
Photo 2 : Les graines <i>Citrullus colocynthis</i> L.	41
Photo 3 : Les tiges <i>Citrullus colocynthis</i> L.	41
Photo 4 : A : Extrait (PGCC) ; B : Contrôle (+) ; C : Gavage intra-gastrique; D : rats disséquée	51
Photo 5: Extraits bruts des polysaccharidiques hydrosolubles des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> L.....	53
Photo 6 : Extraits bruts des polysaccharidiques hydrosolubles des tiges de <i>Citrullus colocynthis</i> L.	53
Photo 7 : Aspect macroscopique des estomacs des rats wistars prétraités par l'extrait de <i>C.colocynthis</i> .(A) Groupe témoin, (B) Contrôle négatif, (C) Contrôle positif.....	62
Photo 8 : Photographie Originale des coupes histologiques des estomacs : (A) Témoin, (B) Contrôle (-), (C) Contrôle (+), (D) PGCC à 50 mg/kg, (E) PGCC à 75 mg/kg.....	66

Liste des tableaux

Tableau 1 : Noms communs de <i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrad.....	29
Tableau 2: Répartition des rats avec les traitements administrés	50
Tableau 3: caractéristique des polysaccharides hydrosolubles des graines et tiges de <i>Citrullus colocynthis</i>	54
Tableau 4 : Activité antioxydante des polysaccharides hydrosolubles des deux échantillons de <i>C. colocynthis</i>	58
Tableau 5 : Résultats de test TPde l'activité anticoagulante des deux échantillons de <i>Citrullus colocynthis</i>	60
Tableau 6 : Résultats d'ulcération et d'inhibition calculés par image J	63
Tableau 7 : Préparation de la courbe d'étalonnage d'oses totaux et d'oses neutres	86
Tableau 8 : Préparation de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.....	86
Tableau 9 : Préparation de la courbe d'étalonnage des protéines (BRADFORD)	86
Tableau 10 : Préparation de la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante	86

Liste des abréviations

AAI : L'indice de l'activité antioxydant

Abs : Absorbance

Amb : ambient

BHA : 3 Ter-Butyl-4-hydroxy-anisole

DPPH : 1,1' Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl

ED : L'eau distillé

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

GLC : Glucose

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

INR : International Normalised Ratio

IRTF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

mg/kg : milligramme par kilogramme

mg/ml : milligramme par millilitre

OMS : Organisation mondiale de la santé

PGCC : Polysaccharide des graines de *Citrullus colocynthis*

PTCC : polysaccharide des tiges de *Citrullus colocynthis*

PI % : pourcentage d'Inhibition

SAB : Sérum Albumine Bovine

T° : Température

TCA : temps de céphaline activée

TP : temps de prothrombine

TQ : Temps de Quick

Tr/min : tour par minute

µg : microgramme

µL : microlitre

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces.....	
Dédicaces.....	
Résumé	
Liste des Figures.....	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations.....	
Sommaire	
Introduction.....	1

Premiere partie : Etude bibliographique

Chapitre I : Aperçu sur les polysaccharides et leurs activités biologiques

I- Généralités sur les glucides	6
I-1- Polysaccharides	6
I.2.-Estomac	18
I-3- Activités biologique des polysaccharides	21

Chapitre II : Description de famille et de plante étudiée

II- Famille des cucurbitacées	26
II-1-Caractéristiques botaniques	27
II-2- Cirtullus colocynthis	28

Deuxieme partie : Partie pratique

Chapitre I : Matériels et méthodes

I-1- Principe d'étude	39
I-2-Matériel d'étude	39
I-2-1- Matériel biologique.....	39
I-2-2-Choix de plante	40
I-2-3- Récolte et partie étudiée.....	40
I-3- Méthodes d'étude.....	41
I-3-1- Etude des polysaccharides	41
I-3-2- Activités biologiques des extraits bruts polysaccharidiques.....	47

Chapitre II :Résultats et Discussion

II-1- Rendement et caractéristique des polysaccharides hydrosolubles de <i>Citrullus colocynthis</i>	53
II-1-1-Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble.....	55
II-1-2- Analyse de spectroscopie Infra Rouge a Transformée de Fourier (IRTF) ..	56
II-2- Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique	58
II-2-1- Activité antioxydante.....	58
II-2-2-Activité anticoagulante	59
II-2-3- Activité antiulcère gastrique.....	61
Conclusion et Perspectives	68
Références bibliographiques	71
Annexes	85

Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S), la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique ou mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (**BOURGAUD *et al.*, 2001**). L'utilisation des plantes comme source de remèdes pour le traitement de plusieurs maladies date à la période préhistorique. Plus de 80 % de la population des pays en cours de développement ont recourt presque exclusivement à la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé primaire. En plus, dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes (**BAHORUN, 1997**).

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, estimé à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (**HANIFI, 1991**).

Citrullus colocynthis (L.) Schrad, une plante précieuse Communément appelé Colocynth est membre de Cucurbitaceae, signalées parmi toutes les desséchées, arides zones du monde cependant il est originaire de la Méditerranée et l'Asie. Géographiquement, il est distribué en déserts d'Afrique du Nord, d'Europe du Sud et de l'Asie s'étendait jusqu'à l'Égypte. En Inde, cette sécheresse les espèces végétales tolérantes sont généralement dispersées parmi toutes les zones chaudes et arides. C'est le plus couramment utilisé plante dans le cadre médicinal traditionnel indien et facilement propagé par les modes végétatifs et génératifs de reproduction en été, Les habitants l'utilisent pour réparer les troubles comme les furoncles, les boutons, la constipation, Inflammation des articulations. Pour réduire la glycémie niveau, aggravations articulaires, rhumatismes, abdomen l'agrandissement *Citrullus* est utilisé. Les espèces végétales sont également utilisé pour soigner l'urticaire, la constipation, poison de serpent, maux d'estomac, hépatite Griefs épileptiques et intestinaux. Puisque toutes les plantes parties met des efforts pratiquement équivalents à la système de médecine traditionnelle voici une enquête de révision donner des informations à jour sur les phytochimiques et les propriétés thérapeutiques de la plante (**KAPOOR *et al.*, 2020**).

Les polysaccharides végétaux ont attiré l'attention des chercheurs en médecine en raison de leurs effets biologiques tels que anti-oxydant, immunomodulateur, antidiabétique et anti-tumoral (**KANG *et al.*, 2017**). Ils sont apparus comme une classe importante de produits naturels bioactifs et largement utilisés dans les produits pharmaceutiques, les biomatériaux, les additifs alimentaires et la nutrition (**LUKOVA *et al.*, 2017**).

Introduction

L'objectif de notre travail est de tester des activités biologiques à savoir l'activité antioxydant, l'activité anticoagulant et l'activité antiulcère gastrique des extraits bruts polysaccharidiques hydrosolubles des graines et des tiges de *Citrullus colocynthis* .L.

Le présent travail est structuré en deux parties. Le premier partie, qui concerne la partie bibliographique, aborde toutes les notions théoriques, en relation avec le thème et le travail réalisé. Ainsi, après avoir parlé sur les polysaccharides et leurs activités biologiques et la plante et leur famille et de leurs caractères , utilisation traditionnels. Dans le deuxième partie , partie expérimental sont exposés, les matériels et méthodes utilisée et consacré à l'illustration de tous les résultats obtenus suivis par une discussion appropriée. Enfin une conclusion générale où seront résumés tous les enseignements tirés avec les perspectives en vue, terminent le présent travail.

*Premiere partie : Etude
bibliographique*

*Chapitre I : Aperçu sur les
polysaccharides et leurs
activités biologiques*

I- Généralités sur les glucides

Les glucides, encore appelés sucres ou hydrates de carbone, représentent avec les protéines, les lipides et les acides nucléiques, l'une des quatre grandes classes de constituant de la matière vivante. De tout temps ils ont fait l'objet de recherches actives, principalement en raison de leur importance économique et à cet égard, l'industrie des hauts glycopolymères comme l'amidon, la cellulose, les gommages et les pectines s'est développée dès les XIX siècles.

Mais, à ce cet intérêt économique, s'est rapidement ajouté un intérêt biologique du, par exemple, au fait que le glucose et le glycogène sont, pour l'homme, source d'énergie pour le premier et réserves d'énergie pour le second (**VERBERT *et al.*,1997**).

On distingue alors les glucides simples ou oses (monosaccharides non hydrolysables subdivisés en trioses, tétroses, pentoses, hexoses et heptoses selon le nombre de carbone présent dans leur chaîne hydrocarbonée), des osides qui sont des polymères d'oses liés entre eux par des liaisons de type O-glucidique. Ces derniers sont classés en deux grandes catégories selon leur degré de polymérisation :

Les polyholosides ou polyosides ou glucides nommés polysaccharides dont le degré de polymérisation est supérieur à 10. Ils sont classés soit comme macromolécule de structure (cellulose, pectine, chitine ...) soit comme macromolécule de réserve (amidon, glycogène...)

Depuis longtemps le glucide considérés comme des molécules d'intérêt secondaire, les polysaccharides assument en réalité des rôles biologiques importants. Leurs propriétés physico-chimiques et leurs variabilités structurales nombreuses, en font des composés bioactifs de choix voire, de véritables thérapeutiques (**DELATTRE ,2005**).

I-1- Polysaccharides

Les polysaccharides, polyosides, ou glucides sont arbitrairement définis comme des polymères de haut poids moléculaire résultant de la condensation d'un grand nombre d'oses. Chaque ose est lié à son voisin par l'intermédiaire d'une liaison osidique formé par élimination d'une molécule d'eau entre l'hydroxyle hémiacétalique en C1 d'un ose et l'un quelconque des hydroxyles de l'autre molécule osidique (**BRUNETON, 1999**)

Dans le groupe des Polysaccharides on peut distinguer :

Les homopolysaccharides (ou homoglycannes) qui sont constitués par un seul type d'oses:

- Polyglucosides ou glucines (amidon, glycogène, cellulose) ;
- Polygalactosides ou gallicanes ;

- Polyfructosides ou fructoses ou fractales (inuline) ;
- Polyxylosides ou xylènes (ce sont aussi des pentanes).

Certaines poly galactosides peuvent être sulfatés (agar-agar et carraghénane).

Les hétéro polysaccharides (ou polyholosides mixtes) qui par hydrolyse donnent naissance à plusieurs oses :

- Galactomannanes (galactose et mannose) ;
- Hémicellulose (xylose et arabinose).

On peut rattacher à cet ensemble les polyuronides qui forment un groupe important de Colloïdes naturels :

- Pectine (polygalacturonides) ;
- Acides alginiques (polymannuronides) ;
- Gomme arabique, constituée de molécules très ramifiées contenant de l'acide Gluconique, de l'Arabinose, du Rhamnus et du Galactose (**BISERTE *et al.*, 1977**).

Leurs propriétés rhéologiques (gélifiant, stabilisant ; émulsifiant, épaississant...) sont mises à profit dans l'agro- alimentaire, l'industrie pétrolière, la cosmétique, les peintures, les adhésifs, les biomatériaux...leur bonne biocompatibilité confère à ces biomolécules des vastes possibilités d'utilisation dans l'industrie en général et plus spécialement dans l'industrie chimique ainsi que dans l'industrie pharmaceutique et médicale. Un intérêt particulier est maintenant porté aux polysaccharides polyfonctionnels ayant une application indiscutable dans les domaines biomédicaux. En effet, des nombreuses études ont déjà été menées sur les propriétés immun modulatrices et immunostimulantes, sur des activités anti-tumorales et antivirales, etc., avec des composés polysaccharidiques ou bactérienne .

Par ailleurs, grâce à leurs propriétés régulatrices, les polysaccharides participent aux activités cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration).Il n'est donc pas étonnant que certains d'entre eux puissent interagir avec des systèmes biologiques.

Différents paramètres intrinsèques d'ordre structural peuvent moduler ces interactions et par la même, stimuler un processus biologique.

Cette structure complexe peut se définir en terme :

- De flexibilité de la chaîne macromoléculaire, paramètre influencé par la nature des liaisons glycosuriques ;
- De nature du squelette carboné, soit un homopolymère ou un hétéro polymère constitué d'oses neutres et/ou chargés ;

- Éventuellement du type de groupes portés par la chaîne macromoléculaire, les groupes se définissant par leur nature, leur taux d'incorporation et leur position ;

Outre la nature du squelette carboné qui dans le cas d'oses constitutifs chargés introduit des interactions ioniques, le facteur primordial, influençant les propriétés biologiques, semble être la nature des substitutions certaines macromolécules d'origines naturelles comportent de tels groupes mais la tendance actuelle est à l'amélioration ou à l'obtention de propriétés biologiques par l'incorporation de groupements spécifiques.

Les modifications chimiques sont très variées et dépendent des fonctions déjà existantes sur le polysaccharide précurseur (DELATTRE, 2005).

I-1-1-Classification des polysaccharides

I-1-1-A- Polysaccharides végétaux

Au niveau cellulaire, les polysaccharides représentent soit les composés de réserve dans le cytoplasme, soit des composants structuraux de la membrane ou de la paroi cellulaire d'organismes (LEI, 2016). Il est distingué les polysaccharides de réserve (amidon, caroube), les polysaccharides de structures (cellulose, Callose, hémicelluloses, pectines), les polysaccharides exsudats et enfin les mucilages (WARRAND, 2004).

I-1-1-A-1- Polysaccharides de structure

I-1-1-A-1-1-Cellulose

La cellulose, un polysaccharide linéaire, contient plusieurs centaines à plusieurs milliers d'unités de D-glucose répétées et liées par des liaisons covalentes de type β -(1→4) (CIOLACU *et al.*, 2012). La cellulose est le polymère naturel le plus commun dans la nature qui est caractérisée par une biocompatibilité, une biodégradabilité et une réactivité chimique élevée (WALISZEWSKA *et al.*, 2018). Il est utilisé dans la production de carburant, de nourriture, de papier, d'emballage, de nombreux composites de fibres, de matériaux biomédicaux, de cosmétiques et de plastiques, en plus de nombreuses autres utilisations industrielles (SNEHASISH *et al.*, 2016).

I-1-1-A-1-2- Callose

Dans le Callose les monomères de glucose sont réunis par des liaisons β 1→3, ce qui confère à l'ensemble de la molécule une forme en hélice à pas large. Cette structure, contraire à des arrangements cristallins, conduit à la formation de dépôts amorphes (GUIGRARD, 1996).

I-1-1-A-1-3- Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont les polysaccharides de la matrice de paroi cellulaire végétale qui possèdent diverses structures linéaires ou ramifiées (KAUR *et al.*, 2017). Ils sont définis comme un groupe des hétéropolysaccharides aux faibles poids moléculaires, les hémicelluloses appartiennent à un groupe très hétérogène de polysaccharides non cellulotiques.

contenant des xylanes, des mannanes, des glucomannanes, des xyloglucanes et des β -(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)-glucanes (ANAS *et al.*, 2017). Les hémicelluloses sont principalement composées d'hétéroxylanes, qui ont une chaîne de xylose lié par une liaison β -(1 \rightarrow 4). Les résidus des chaînes latérales sont de différentes unités tels que le L-arabinofuranose ou l'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique (PENG *et al.*, 2012).

I-1-1-A-1-4- Pectines

Les pectines sont un groupe de polysaccharides complexes, hétérogènes ramifiés et hautement hydratés. Ce sont des composants majeurs dans les parois cellulaires végétales et exclusivement situés dans les parois cellulaires primaires (LEE *et al.*, 2016). Les polysaccharides pectiques sont composés de domaines, dont le domaine le plus commun est l'homogalacturonane (HG) qui se compose des résidus d' α -galacturoniques reliés par des liaisons α -(1 \rightarrow 4). Ils peuvent être constitués des groupes méthyle ou acétyle estérifiés à des degrés variables. Le domaine abondant généralement le rhamnogalacturonan I (RG-I), qui consiste d' α -(1 \rightarrow 4)-D-galacturonosyle et α -(1 \rightarrow 2)-L-rhamnosyle, est lié comme une chaîne principale jusqu'à 80% des résidus Rhap. Comme il peut avoir des chaînes latérales constituées d' α -(1 \rightarrow 5)-L-arabinanes et β -(1 \rightarrow 4)-D-galactanes et arabino-4-galactanes. Les résidus α -D-galacturonosyles peuvent être acétylés (CHEN *et al.*, 2017).

I-1-1-A-2- Polysaccharides de réserve**I-1-1-A-2-1- Amidon**

Il peut représenter jusqu'à 30 ou 60 % du poids sec d'un tissu végétal. C'est la principale réserve glucidique des végétaux et d'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répandu dans beaucoup de cellules végétales (AUDIGIE *et al.*, 2002).

L'hydrolyse acide totale, relativement longue, ne fournit que du glucose; l'hydrolyse enzymatique par une amylase conduit principalement au maltose. L'amidon est donc un polyglucose riche en liaisons (1 \rightarrow 4) (AUDIGIE *et al.*, 2002).

Les granules d'amidon contiennent deux types de polymères. L'amylose et l'amylopectine, l'amylose est un polymère non ramifié de glucose dont les résidus, entre 200 et 500 par chaîne, sont associés par liaisons glucosidiques $\alpha(1\rightarrow4)$. L'amylopectine possède le même type de liaison mais présente, en plus, des ramifications, liées en position $1\rightarrow6$ tous les 25 ou 30 résidus (JEROME *et al.*, 2004).

I-1-1-A-2-2-Gomme de Caroube

La gomme de caroube est constituée d'un D-galacto-D-mannane presque pur (90-95%), ce polymère est formé par l'enchaînement de β -D mannose liés en $1\rightarrow4$ avec des Branchement latéraux d'une seule unité d' α -D galactose liée en $\alpha(1\rightarrow6)$ (BRUNETON, 1999).

L'adhésivité et le pouvoir épaississant des solutions de gomme de caroube font qu'elle est très utilisée dans l'industrie agroalimentaire.

La gomme de caroube est utilisée largement comme un épaississement au liant en particulier pour les conserves par les produits alimentaires (KAMERLING., 2007) principalement dans la formation de produits lactés frais ou congelés (crèmes, glaces, etc.). L'industrie pharmaceutique et celle des produits cosmétiques ainsi que de nombreuses autres industries (textile, papier) (BRUNETON, 1999).

I-1-1-A-2-3- Inuline

Les fructanes sont des polymères du fructose liés par une liaison β ($2\rightarrow1$) à une molécule de glucose terminale : on peut considérer que ce sont les homologues supérieurs du saccharose comme l'amidon, ils constituent une forme de stockage du carbone fixé par la photosynthèse ; on le trouve exclusivement au niveau vacuolaire. S'ils sont assez fréquents chez les végétaux, ces polymères s'accumulent surtout dans une dizaine de familles : inuline des dicotylédones (BRUNETON, 1999).

Il s'agit en effet de levanes constituées de chaînes non ramifiées assez courtes, de 100 résidus de fructose sous forme furanique en liaison β ($2\rightarrow1$) (ALAIS, 1986), avec souvent un résidu glucose à l'extrémité non réductrice de la chaîne (AUDIGIE *et al.*, 2002).

Habituellement ils sont concentrés dans les organes souterraines (racines, bulbes, tubercules, rhizomes) et leur teneur variable selon la saison, peut être importante (50% et plus) (BRUNETON, 1999), c'est la réserve glucidique des végétaux n'accumulant pas l'amidon, comme le topinambour, le dahlia, la patate douce, etc. (GUIGRARD, 1996).

I-1-1-A-2-4-Gomme de guar

Cette gomme est extraite des graines d'une plante légumineuse annuelle *Cyamopsis tetragonolobus*, (KAMERLING *et al.*, 2007).

Le polymère est un D-galactose-D-mannose formé par l'enchaînement de β -D-mannose liés en 1→4 avec des branchements latéraux ne comportant qu'une seule unité d' α -D-galactose liée α -(16) mais ici le rapport Dgalactose : D-mannose est proche de un pour deux. **(BRUNETON, 1999).**

Si la gomme guar peut être incluse dans la composition des régimes destinés aux sujets diabétiques, c'est surtout dans la mise au point de régimes propres à diminuer la cholestérolémie, facteur de risque des maladies cardiovasculaires **(BRUNETON, 1999).**

La très haute viscosité atteint à de faibles concentrations, gomme de guar faire un excellent épaississant pour utilisation dans l'industrie alimentaire, par exemple dans les soupes, desserts, garnitures à tarte, sauces et mayonnaise **(VANDAMME,2002).**

I-1-1-A-3- Polysaccharides exsudats (gommes et mucilages)

I-1-1-A-3-1-Gommes et mucilages

Les gommes et les mucilages substances entre lesquelles il n'y a pas de différence chimique précise **(GUIGRARD, 1996)**, ce sont des classes de polysaccharides végétaux très proches et difficilement dissociables. Il est difficile de résoudre le problème de savoir si un exsudat de plante ou un extrait doit être nommé gomme (collante) ou mucilage (visqueux, gluant). Les exsudats provenant de surfaces d'arbre forment un groupe reconnaissable appelé gomme (acacia, tragacanth, karaya, ghatti,...) D'un autre côté, l'appellation de mucilage tend à s'appliquer aux extraits provenant de graines ou aux substances qui coulent d'écorce ou de tissus souples (feuilles, tiges, racine) comme dans le cas des espèces psyllium (*Plantago*) ou linseed (*Linum usitatissimum*) .

Les polymères constitutifs des mucilages sont en général des xylandes ou des dérivés pectiques et renferment le plus souvent des oses neutres (xylose, arabinose, galactose, rhamnose,...) et des acides uroniques (acide galacturonique, acide glucuronique). On peut citer pour exemple des arabinoxylanes, des rhamnogalacturonanes ou encore des arabinogalactoxylanes extraits de graines de lin **(DELATTRE, 2005)**, les mucilages rencontrent au niveau de l'appareil végétatif (cellules à mucilages de la guimauve), dans les téguments des graines (lin ...) et les albumens (gomme guar, mucilage de gleditschia...) **(GUIGRARD, 1996)**, Les mucilages se déposent en couches superposées sur les parois des cellules végétales spécialisées dites cellules mucilagineuses.

Ces fractions mucilagineuses ont la capacité de former des gels grâce à leurs propriétés absorbantes et semblent jouer un rôle clé dans l'aptitude de certains tissus à retenir l'eau

Cette particularité leur confère de nombreuses applications industrielles dans le secteur des biomatériaux, de la cosmétique et de l'alimentaire. Les mucilages sont d'une

grande utilité en usage externe et usage interne ; ils sont très appréciés pour leur action adoucissante (plaies, infections). En usage interne, cas d'affections pulmonaires (ZABEIROU, 2001).

Les gommés sont des molécules complexes toujours hétérogènes et ramifiées (BRUNETON, 1999), les gommés végétales sont polyhydroxyliques et par conséquent largement hydrophiles. Ces composés d'association de monosaccharides liés via des liaisons glycosidiques (WARRANT, 2004), contenant des acides uroniques. (BRUNETON, 1999).

La gomme est un exsudat végétal qui peut être produit par différents végétaux en particulier les Acacias dont il existe au moins 600 espèces différentes. La gomme arabe proprement dite est fournie par l'Acacia Verek ou Acacia sénégal.

La gomme arabe est un polysaccharide complexe dont le poids moléculaire varie de 300.000 à 1 millions, constitué par des chaînes de galactose, de rhamnose, d'arabinose et d'acides uroniques. il a de multiples usages :

- Dans l'alimentation (bonbons, ice-creams, chewing-gum, sodas, succédanés de jus de fruits, composés solubles en poudre pour la préparation de boissons instantanées, etc....)
- Dans la pharmacie (fabrication de sirops pectoraux, de "boules de gomme ", supports de produits chimiques de synthèse, pastilles, pullules, etc....)
- Dans l'industrie des parfums, des cosmétiques (crèmes, fards, etc....)
- Dans l'industrie des adhésifs, des peintures, des encres (DOAT, 1974).

I-1-1-A-3-2- Galactomannanes

Les galactomannanes sont des polysaccharides qui sont constituées de mannose et de galactose (VANDAMME, 2002). En générale, structurellement galactomannanes sont étroitement liées et se composent d'une longue chaîne (1000-1500 unités de mannose), linéaire poly- β - 1,4-mannopyranose épine dorsale à laquelle α 1,6-D galactopyranose résidus sont joint à l'unité chaînes latérales (KAMERLING, 2007).

Valeur publiées pour le poids moléculaire de GM varient largement, de 100KDa (VANDAMME, 2002) .

Les galactomannanes sont utilisés dans les industries alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques, textiles, papier, huiles de forage, des industries et des explosifs. Epaissement, gélifiant, la relieuse, de suspension, émulsion, la synergie, ainsi que la formation du film et de rétention en eau sont importantes capacités de propriétés.

I-1-1-A-3-3- Glucomannanes

Dans ces polymères 20 à 50% des unités D-mannose de la chaîne sont remplacées par des Glucose. Les liaisons interosidiques sont, là encore, (1→4)-β .

Plus abondants chez les gymnospermes que chez les angiospermes fréquentes dans les organes souterraines de diverses monocotylédones ils s'accumulent dans les tubercules de l'Amorphophallus Konjac (**BRUNETON, 1999**).

I-1-1-A-3-4-Konjac glucomannanes (KGM)

KGM qui constitue 60-80% du tubercule est obtenu par pulvérisation de fines tranches de tubercules séchés en poudre et est généralement séparés par le vent de tamisage .

KGM neutre est un polysaccharide qui se compose de β (1 → 4) Mannose et Glucose avec environ un dans 19 unités acétylé (**KAMERLING et al., 2007**).

KGM est considéré comme noncalorie alimentaire au Japon, KGM peut être extrudé en films ou de mélange pour les membranes de revêtement et d'emballage application et gels KGM prometteurs ont recours comme une matrice à libération contrôlée.

Outre son utilisation dans les produits cosmétiques, la taille et la composition de surface pour la surface de calibrage de papier, carton.

I-1-1-B-Polysaccharides animaux

Hormis le glycogène et la chitine, les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycane et sont issus des protéoglycane (association GAG protéine par une séquence saccharidique).

Ces polymères sont soit impliqués dans la structure des tissus conjonctifs (hyaluronane, dermatane sulfate et chondroïtine), soit dans des mécanismes de communications cellulaires via leurs propriétés fonctionnelles (héparine et héparine sulfate) (**DELATTRE ,2005**).

I-1-1-B-1- Glycogène

Le glycogène est un polysaccharide de réserve utilisé comme source de carbone et d'énergie par les animaux et les bactéries. Egalement connue sous le nom "d'amidon animal" (**JEROME et al., 2004**).

Le Glycogène est un polymère ne contenant qu'un seul type de monomère –le glucose. La plupart des sucres élémentaires d'une molécule de Glycogène sont unis entre eux par des liaisons glucidiques α (1→ 4) (**GERALD, 1998**).

La structure chimique du Glycogène est analogue à celle de l'amylopectine, mais sa masse moléculaire est généralement plus élevée, 1x10⁶ daltons ou plus, correspond à une molécule plus branchée (**AUDIGIE et al., 2002**).

Il y a une ramification tous les dix sucres élémentaires environ : chaque ramification, un sucre est lié à trois unités voisines au lieu de deux dans les segments non ramifiés du polymère. Le 3^{ème} sucre, qui est à l'origine de la ramification, est attaché par une liaison glucidique α (1 \rightarrow 6). Chez la plupart des animaux, le rôle du Glycogène est de servir d'entrepôt pour les surplus d'énergie chimique, les muscles squelettiques de l'homme par exemple, contiennent normalement assez de Glycogène pour alimenter une activité modérée pendant 30 minutes environ. Plusieurs facteurs influencent le poids moléculaire du Glycogène, qui atteint normalement un à quatre millions de daltons environ (**GERALD, 1998**).

I-1-1-B-2-Acide hyaluronique

Isolé de l'humeur vitrée puis de nombreux autres tissus et liquides biologiques (liquides synovial, pleural, tissus conjonctifs dont le derme), c'est un polymère de l'acide hyaluronique. Ce disaccharide est formé par l'association d'acide β -gluconique et de N acétylglucosamine selon une liaison osidique (1 \rightarrow 3) (**AUDIGIE et al., 2002**).

I-1-1-B-3-Chondroïtine et chondrite – sulfates

La Chondrite, isolée de la cornée de Bœuf (et assez rarement rencontrée), ne diffère de l'acide hyaluronique que par la présence de galactosémie au lieu de glucosamine (**BISERTE et al., 1977**).

Les acides chondroïtine-sulfuriques, ce composé extrait du cartilage possède une structure voisine mais la N-acétylglucosamine est remplacée par la N acétylgalactosamine estérifiée par l'acide sulfurique en position 4 ou 6 selon l'origine (**AUDIGIE et al., 2002**).

I-1-1-B-4-Dermatane-sulfate

On trouve le Dermatite-sulfate dans la peau, les tendons, les ventricules cardiaques et l'aorte. L'acide uronique est ici l'acide L-Id uronique (**BISERTE et al., 1977**).

I-1-1-B-5- Kératine-sulfate

Le Kératane-sulfate a été isolé de la cornée (Kératane-sulfate I). On le trouve notamment au niveau des cartilages costaux et des disques intervertébraux (kératane-sulfate II). Il ne contient pas d'acide uronique (**BISERTE et al., 1977**).

I-1-1-B-6- Héparine

L'héparine est sécrétée par les mastocytes du tissu conjonctif. Elle est abondante dans le foie, les muscles et le poumon. Elle possède une action anticoagulante et permet la libération de la lipoprotéine lipase ou facteur clarifiant (**BISERTE et al., 1977**). Héparine-sulfate ou héparine-sulfate On trouve l'héparine sulfate dans le derme et dans l'aorte.

I-1-1-C-Polysaccharides des bactéries

Les bactéries synthétisent plusieurs types de polysaccharides qui peuvent être classés en trois grands groupes selon leur localisation dans la cellule: le premier groupe rassemble les polysaccharides du cytosol, ils servent de source de carbone et d'énergie à la cellule ; le second groupe concerne les constituants de la paroi tels que les acides téichoïques et les peptidoglycanes; le troisième groupe qui, réunit les polysaccharides élaborés par la cellule et secrétés dans le milieu (**DELATTRE, 2005**).

I-1-1-C-1- Polysaccharides exocellulaires

Les polysaccharides exocellulaires sont synthétisés à la fois par des bactéries à Gram positif, négatif et des cyanobactéries. Ils se présentent soit sous forme d'une capsule enrobant la cellule soit secrétés dans le milieu environnant. Ces polymères ont été nommés polysaccharides capsulaires (**DELATTRE, 2005**).

Les dextrans : les dextrans sont des polymères du glucose, des glucanes formés de résidus α -D-glucopyranosyl liés (1→6). Molécules plus ou moins ramifiées et de masse moléculaire importante (40-50x10), les dextrans sont élaborés par une enzyme exocellulaire de différentes bactéries appartenant aux genres *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*: l'enzyme-la dextrane-sucrase (**BRUNETON, 1999**).

Polysaccharides de surface. A savoir : les LPS, les CPS et, les EPS.

I-1-1-C-2- Lipopolysaccharides (LPS) :

Ce sont les constituants les plus abondants de la membrane externe pariétale des bactéries à Gram négatif ce qui leur confère un rôle antigénique. Les LPS sont composés d'un « Core » (squelette oligosaccharidique de structure variable) (**DELATTRE, 2005**).

I-1-1-C-3- Exopolysaccharides (EPS) :

Sont des composés extracellulaires, généralement hydrosolubles et non liés aux enveloppes bactériennes. Ce sont des polysaccharides de haute masse molaire excrétés dans le milieu extracellulaire des bactéries Gram positif, Gram négatif mais aussi, des cyanobactéries, sous la forme caractéristique de gangue mucoïde appelée "slime" (**DELATTRE, 2005**).

L'utilisation des EPS dans les secteurs industriels représente une part importante du marché mondial. Une large majorité de leurs applications industrielles exploitent leurs propriétés physicochimiques et en particulier, leurs propriétés rhéologiques (épaississantes, gélifiantes, émulsifiantes...).

Le xanthane, produit par une bactérie phytopathogène, *Xanthomonas campestris* pv *campestris* est largement employé dans l'industrie comme épaississant, stabilisant, émulsifiant et agent gélifiant.

La gomme xanthane est un hétéropolysaccharide ramifié, dont l'unité de répétition est un pentasaccharide constitué d'une chaîne principale cellulosique avec en alternance au C-3 de chaque résidu glucose, une chaîne latérale formée d'un trisaccharide comportant des résidus α -mannose, acide glucuronique et β -mannose. Les résidus mannose internes sont généralement acétylés en C-6, alors que 30 % des résidus mannoses terminaux sont pyruvates en C-4/C-6 (DELATTRE, 2005).

I-1-1-D- Polysaccharides fongiques

Les champignons représentent un ensemble extrêmement hétérogène d'organismes dont les individus sont distribués dans toutes sortes d'habitats. Cette caractéristique a pour conséquence une grande diversité métabolique et biochimique. Les polysaccharides représentent un pourcentage majeur de la biomasse fongique (jusqu'à environ 75 %). Ces biopolymères assurent un rôle de soutien où forment une gaine protectrice autour du mycélium. Le principal représentant de ces polymères fongiques est la chitine (DELATTRE, 2005).

I-1-1-D-1- Chitine

La chitine est un constituant majeur des cellules de certaines plantes et des certains animaux. Elle entre dans la composition de la paroi cellulaire de beaucoup des champignons et présente chez les crustacés (homard, crevettes, crabes). La chitine forme le tégument externe rigide des sauterelles, des scarabées, des cafards et de nombreux autres insectes (JEROME *et al.*, 2004). Classé par certains auteurs parmi les mucopolysaccharides, parce qu'elle est composée d'acétyl glucosamine, la chitine est plutôt considérée actuellement comme un homopolysaccharide, c'est-à-dire comme un homoglycane de structure linéaire (CHARELES, 1963), résulte de l'enchaînement par des liaisons (1 \rightarrow 4), de β -glucosamine, acétylée au niveau de sa fonction amine (N acétyl glucosamine) (AUDIGIE *et al.*, 2002), avec un degré d'acétylation, généralement supérieur à 70 %. Le chitosane est un copolymère linéaire polycationique à pH inférieur à 6 de type homo-aminoglycane constitué de β -(1 \rightarrow 4)-poly-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose. Il est obtenu par désacétylation de la chitine.

Le chitosane est largement utilisé comme agent chélatant ou échangeur d'ions. Ces dérivés chimiques permettent l'obtention de biomatériaux applicables aux domaines médical et industriel. Ainsi, ils peuvent être utilisés comme peaux artificielles dans l'ingénierie tissulaire en vue d'une régénération de différents tissus.

Certains champignons produisent outre la chitine, des nombreux autres polysaccharides essentiellement de type β -D-glucanes. On retrouve principalement des β -(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 6) glucanes tels le lentinane chez *Lentinus edodes*, le scléroglycane chez *Sclerotium rolfsii* ou le schizophyllane chez *schizophyllum*. Le pachymane, un β - (1 \rightarrow 3) glucane isolé des parois de *Poria cocos* est également décrit. Une majorité de ces glucanes présente des activités antitumorales et sont très utilisés dans l'immunothérapie du cancer car ils présentent une très faible toxicité même pour des doses importantes. Dans la familles des α -D-glucanes, le pullulane synthétisé par *Aureobasidium pullulans*, possède des liaisons α -(1 \rightarrow 6) linéaires, unissant des molécules de maltotriose et maltotétraose. Le pullulane a une très bonne solubilité dans l'eau (même en présence d'ions). Il est utilisé au Japon comme film d'emballage alimentaire. Des activités biologiques ont été décrites avec des dérivés carboxyméthylés de α -(1 \rightarrow 3)Glucanes linéaires issus de champignons (*Agrocybe cylindracea* et *Amanita muscaria*) induisant une augmentation de la sécrétion de macrophages de l'ordre de 50 % dans les exsudats péritonéaux. Notons également la présence de polysaccharides isolés de différentes familles de Lichens. Ainsi, on retrouve des β -glucanes tels que : le pustulane (un (1 \rightarrow 6) β -glucane), la lichenine et l'isolichenine (un (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4) β -glucane) de chez *Cetraria richardson* (DELATTRE, 2005).

I-1-1-E- Polysaccharides extraits d'algues

Les algues les plus étudiées sont classées selon la nature des pigments contenus dans leur thalle :

- Pigments bruns : Phaeophyceae (algues brunes)
- Pigments verts : Chlorophyceae (algues vertes)
- Pigments rouges : Rhodophyceae (algues rouges)

Les parois des algues rouges contiennent essentiellement des galantines sulfatées tels que:

- les carraghénanes (DELATTRE ,2005).

I-1-1-E-1- Carraghénanes

Les carraghénanes sont des galactanes, polymères du D-galactose fortement sulfatés, polyélectrolytes anioniques de masse moléculaire comprise entre 10^5 et 10^6 . Tous les carraghénanes ont une structure linéaire de type (AB) $_n$ à liaisons alternées (1 \rightarrow 3)-(1 \rightarrow 4) où A et B sont des résidus galactopyranosyle (BRUNETON ,1999).

Les carraghénanes entrent également dans la formulation des produits d'hygiène et de cosmétique : pâtes dentifrices, shampooings, crèmes, gels, laits, lotions, etc.

Comme gélifiants, stabilisants, inhibiteurs de cristallisation de glaces,... etc., dans les produits laitiers et dans des produits aqueux (ex:nappages); Comme stabilisants d'émulsions ou épaississants (**BRUNETON, 1999**).

I-1-1-E-2- Agar-agar (gélose)

Comme les carraghénanes, l'agar-agar est extrait à partir des thalles de diverses Rhodophyceae. Ce polysaccharide est un galactane complexe, autrefois considéré comme un mélange de deux fractions, l'agarose et l'agaropectine.

C'est un support pour chromatographie d'exclusion et, après greffage de substances diverses, pour la chromatographie d'affinité; c'est aussi un support d'électrophorèse et de techniques immunologiques. Comme les autres hydrocolloïdes d'origine végétale, l'agar-agar est inscrit dans la catégorie des agents de texture autorisés (E406) et utilisé à ce titre par l'industrie agroalimentaire (**BRUNETON, 1999**).

I-1-1-E-3-Alginate

L'alginate est donc un copolymère linéaire d'acide β -Dmannuronique et, l'acide α -L-gul

Sa masse moléculaire peut atteindre 800 k Da. Ces résidus d'acides uroniques sont arrangés en blocs qui peuvent être soit des séquences homopolymériques, soit des séquences hétéropolymériques. En pharmacotechnie, les alginates sont recherchés pour leurs propriétés épaississantes, liantes (stabilisation des émulsions, des suspensions) et désintégrantes (formulation des comprimés). Ils sont également utilisés pour des formulations retard (comprimés à matrice hydrophile) et résistantes.

Les acides alginiques sont reconnus comme étant dépourvus de toxicité à court et long terme et donc autorisés comme additifs alimentaires (**DELATTRE, 2005**).

I-2-Estomac

L'estomac humain est un organe digestif, endocrinien et exocrinien qui fonctionne comme un filtre microbien efficace (**SAENZ et MILLS, 2018**). L'estomac avec sa fonction principale de la sécrétion acide ($\text{pH} < 2$) initie non seulement le processus digestif (**HUNT et al., 2015**), mais favorise également l'absorption des minéraux comme le phosphate, le calcium, le fer et des vitamines (B12) (**ENGEVIK et al., 2020**).

I-2-1- Anatomie de l'estomac

L'estomac des vertébrés est une partie musculaire et incurvée de manière caractéristique du tube digestif proximal. Provenant de l'endoderme de l'intestin antérieur, l'épithélium de l'estomac devient régionalisé le long de l'axe proximal-distal (**KIM et SHIVDASANI, 2016**). En fonction de l'organisation de leurs glandes, l'estomac humain se divise principalement en deux régions anatomiques et fonctionnelles distinctes : le corps et l'antra (Figure 1). Le corps

gastrique structuré majoritairement en glandes oxyntiques. En revanche, les unités gastriques de l'antré ; la partie distale de l'estomac sont principalement constituées de cellules muqueuses (SAENZ et MILLS, 2018).

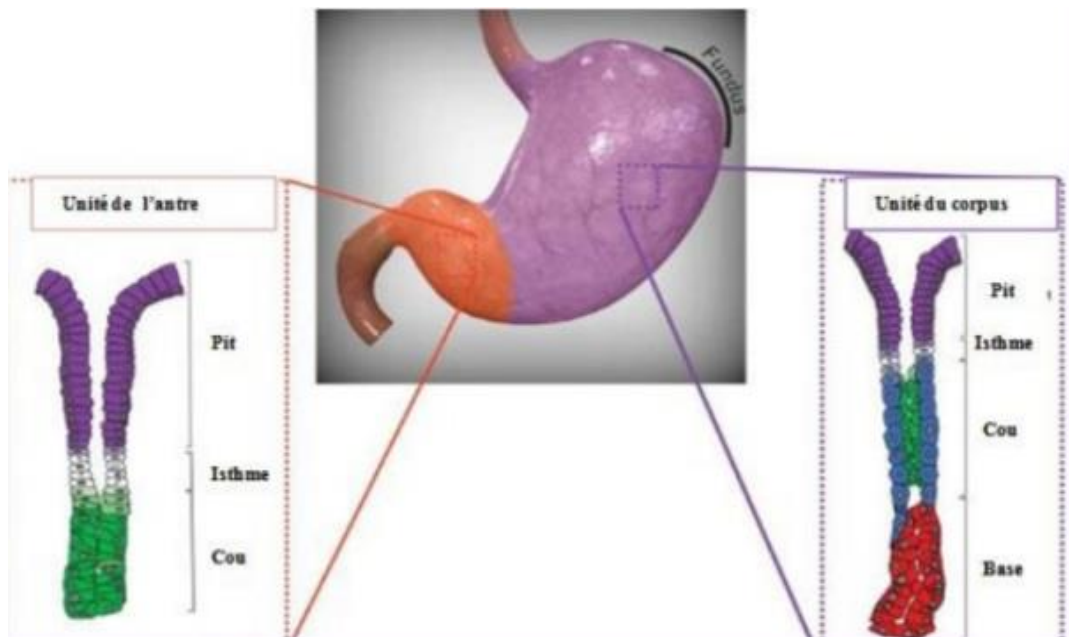


Figure 1 : Anatomie de l'estomac humain (SAENZ et MILLS, 2018)

I-2-2- Histologie de l'estomac

L'épithélium gastrique est stratifié en couches dont chacune se distingue de l'autre sur le plan structural et fonctionnel. De l'intérieur à la lumière, l'épithélium gastrique est organisé en :

- Séreuse** : correspond à la partie externe de la paroi.
- Muscleuse** : répartie en trois couches : Externe longitudinale, Intermédiaire circulaire et Interne oblique (OBERDIAC et MINEUR, 2010).
- **Sous muqueuse** : constituée d'une couche de tissu conjonctif lâche, contenant des vaisseaux sanguins, des neurofibres et de nombreuses cellules libres (lymphocytes, plasmocytes...) ; elle assure l'apport sanguin artériel principal pour l'estomac humain. À partir de laquelle un plexus artériel continu fournit le flux sanguin à la muqueuse et le manteau musculaire (RAU et al., 2019).
- Muscularis mucosa** : une fine couche entre la muqueuse et la sous muqueuse (figure 2).

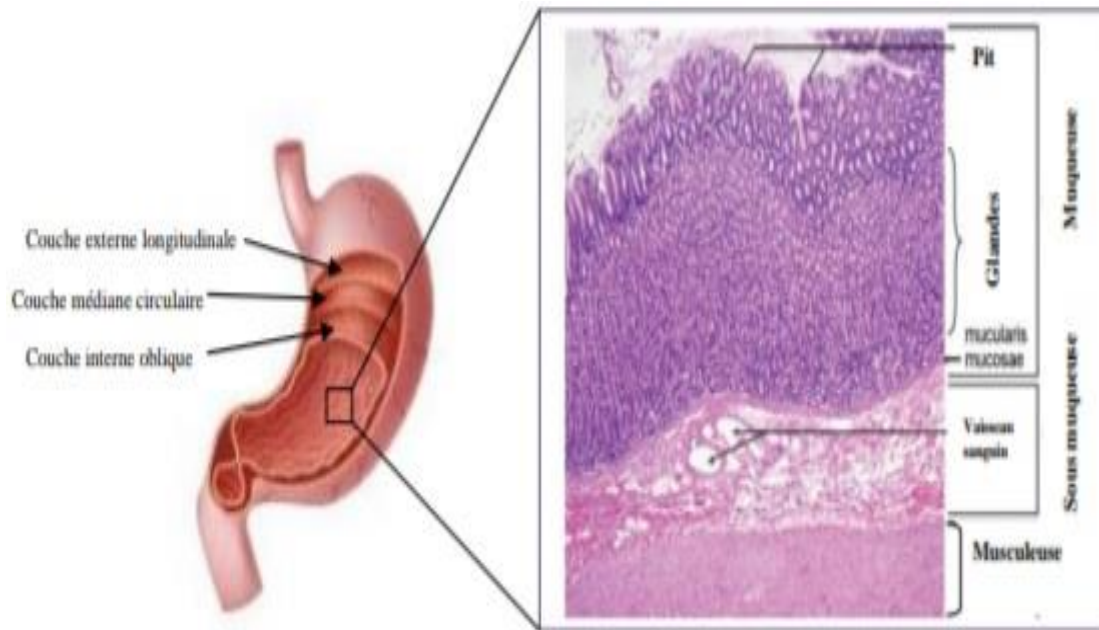


Figure 2 : Schéma représentatif de l'histologie de la paroi gastrique (KANG *et al.*, 2013)

I-2-3- Ulcère gastrique

I-2-3-1- Définition

L'ulcère gastrique est une perte de substance qui atteint la musculeuse de la paroi gastrique .

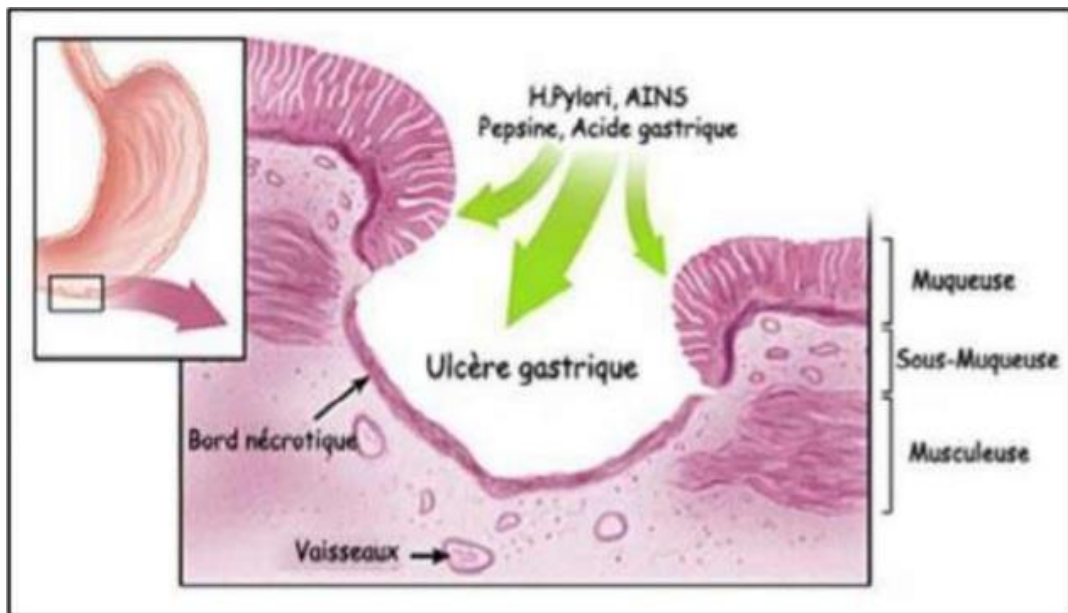


Figure 3 : Représentation de l'ulcère gastrique (LABAYLE *et al.*, 2001)

I-2-3-2- Prévalence et incidence

L'ulcère gastrique est une pathologie fréquente observée chez les personnes âgées plus généralement, avec une prévalence de 5% dans les pays occidentaux (**HORTON-SZAR et al., 2013**).

I-2-3-3- Etiologie

Dans les conditions non pathologiques, il existe une balance (équilibre) entre les facteurs protecteurs de la muqueuse gastrique (mucus, bicarbonate, flux sanguin, prostaglandine, glutathion, etc.) et les facteurs d'agression (consommation excessive d'alcool est caractérisé par une pénétration rapide dans la muqueuse gastrique,tabac, AINS, infection par l'Hélicobacter pylori) . Alors que dans la maladie ulcéreuse, un déséquilibre affecte cette balance soit par diminution de la résistance ou l'augmentation de l'agression de la muqueuse gastrique (**GIMENEZ, 2000**)

I-3- Activités biologique des polysaccharides

La diversité structurale des polysaccharides quelle que soit leur origine, qui peut être animale, végétale ou microbienne, confère à ses macromolécules de nombreuses activités biologiques. Grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également dans l'activité de nombreuses enzymes (**COLLIEC-JOUAULT et al., 2004**).

I-3-1- Activité antioxydant

Le concept d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) a acquis une reconnaissance importante au cours des dernières années par diverses études dans des laboratoires à travers le monde. Les ERO sont des molécules chimiquement actives formées en tant que sous-produits naturels du métabolisme normal de l'oxygène (**LIU et al., 2013**). En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défenses antioxydants. On parle de stress oxydatif lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de prooxydants conduisant à des perturbations cellulaires irréversibles (**CAESAR, 2007**).

Les ERO jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et l'homéostasie (**LIU et al., 2013**). Elles peuvent être également une source d'agression. Elles peuvent peroxyder les lipides membranaires, au niveau du poumon, du système nerveux central et de la rétine (**CAESAR, 2007**). Comme elles peuvent endommager les acides gras, les protéines, l'ADN et d'autres macromolécules dans le corps, ce qui se traduit par diverses maladies, dont les

maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives ou les troubles liés au vieillissement (GAO *et al.*, 2015; ZHAO *et al.*, 2013).

Il est largement admis que la supplémentation appropriée avec un antioxydant exogène peut aider à réduire les ERO des dommages oxydatifs induites (ZHANG *et al.*, 2013). Des études récentes ont démontré que beaucoup de polysaccharides naturels jouent un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs induits par le stress dans les piègeurs de radicaux libres chez les organismes vivants (GAO *et al.*, 2015). Des études antérieures signalent que les activités antioxydantes peuvent être étroitement liées aux caractéristiques structurales des polysaccharides. Néanmoins, ce n'est pas tous les polysaccharides qui possèdent des activités anti-oxydantes. Il est rapporté que les capacités antioxydantes des polysaccharides dépendent généralement de l'unité d'ose, des liaisons glycosidiques, du degré de ramification et de conformation du polysaccharide (LI *et al.*, 2013). Toutefois, en ce qui concerne les méthodes d'extraction, l'extraction hydrosoluble à chaud représente la méthode la plus efficace dans la préservation de l'activité antioxydante des polysaccharides (LIU *et al.*, 2015).

I-3-2- Activité anticoagulante

Selon SOUZA *et al.* (2015), les polysaccharides sulfatés isolés à partir d'algues marines et les invertébrés constituent un groupe complexe de macromolécules qui sont largement étudiés comme anticoagulants et anti-thrombotiques dépourvus du risque indésirable d'hémorragie. D'après MULLOY *et al.* (2000), quatre classes distinctes de polysaccharides sulfatés (héparine, dermatane-sulfate, chondroïtine sulfate fucosylé et fucoidane des algues) ont toutes une activité anticoagulante, due à leur interaction avec les enzymes et les inhibiteurs du système de la coagulation.

I-3-3- Activité anti diabétique

L'incidence du diabète a considérablement augmenté, et devient la troisième maladie chronique grave après le cancer et les maladies cardiovasculaires (ZHU *et al.*, 2014). ZHOU *et al.* (2015) ont étudié l'activité hypoglycémique et les mécanismes potentiels des polysaccharides issus de *Misgurnus anguillicaudatus* chez les souris diabétiques. L'administration orale de ces polysaccharides diminue de manière significative les niveaux de glucose, des triglycérides, de cholestérol total et des lipoprotéines de basse densité-cholestérol (LDL-cholestérol) sanguins et augmente les niveaux des lipoprotéines de haute densité-cholestérol (HDL-cholestérol) et d'insuline chez les souris diabétique, parallèlement à une augmentation du poids du corps et le contenu de l'insuline du pancréas. Ces polysaccharides présentent aussi des activités anti-inflammatoires et anti-oxydantes puissantes, comme en

témoignent la diminution de facteur de nécrose tumorale- α , (TNF- α) et d'interleukine-6, il améliore également de façon significative les marqueurs sanguins de l'insuffisance hépatique et la fonction rénale chez les souris diabétiques.

I-3-4-Activité antibactérienne :

De nombreux travaux antérieurs et actuels pour la recherche de nouvelles molécules étaient focalisés sur la mise en évidence de pouvoir antibactérien de plantes médicinales en raison de l'évolution rapide des bactéries pathogènes vers la multi-résistance aux antibiotiques. Ceux dont l'efficacité contre les micro-organismes pathogènes ont été prouvés, trouvent des applications pratiques dans divers domaines., les polyphénols et les huiles essentielles constituent les extraits les plus largement exploités. Les huiles essentielles et les polysaccharides ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. (CHIBANI .,2013).

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 μ m. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (BOUDJOUREF.,2011) Il convient de souligner que la taille des molécules joue un rôle déterminant dans l'inhibition de la croissance des bactéries gram négatives, les molécules de petite taille passent plus facilement à travers la membrane via les porines . En outre, la stéréochimie des molécules impliquées, influence l'activité antimicrobienne. (BOUZABATA .,2015).

Un extrait brut contenant des polysaccharides sulfatés a été préparé à partir de l'algue verte *Ulva armoricana* récoltée en Bretagne et testé pour son activité antibactérienne contre cinq souches de pathogènes bactériens: *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O78 et *E. coli* K88. L'extrait était plus efficace pour inhiber la croissance de *L. monocytogenes*, *E. coli* k88 et *E. coli* O78. L'extrait avait une activité antibactérienne contre des agents pathogènes rencontrés dans les élevages. Cet extrait pourrait donc être utilisé dans l'alimentation des animaux d'élevage pour inhiber la croissance de certaines bactéries et stimuler la réponse immunitaire pour augmenter la résistance des animaux aux infections et réduire l'utilisation des antibiotiques (BERRI *et al.*, 2015).

I-3-5- Activité anti-inflammatoire

L'inflammation ou réaction inflammatoire, une réaction physiologique à une lésion tissulaire ou à un traumatisme chirurgical (RJEIBI *et al.* , 2019) L'inflammation est une

réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse. Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (**NDIAYE *et al.*, 2006**).

ZHANG *et al.*,(2019) Ont signalé que les polysaccharides isolés du *Arctium lappa* possèdent une activité anti-inflammatoire important, ils entraînent une augmentation des cytokines anti-inflammatoires (interleukin-10) et une diminution des cytokines pro-inflammatoires (interleukin-1 β , interleukine-6 et factor de nécrose tumorale- α). De même, la fraction polysaccharidique extraite de *Morinda citrifolia* Linn montre une efficacité anti inflammatoire, ils servent à réduit la migration de leucocytes au site d'inflammation et inhibé la production des cytokines pro- inflammatoire (**SOUSA *et al.*, 2018**).

***Chapitre II : Description de
famille et de plante étudiée***

II- Famille des cucurbitacées

Les cucurbitacées sont une grande famille de plantes, également appelées morceaux de cucur, avec 130 genres et 800 espèces. Le nom de la famille Cucurbitaceae vient du latin, où le mot *corbis* signifie bouteille ou panier, les cucurbitacées étaient utilisées de diverses manières dans le passé légumes mûrs servis comme récipients ou même instruments de musique. Les cucurbitacées sont la famille de plantes la plus diversifiée et sont cultivées dans le monde entier dans diverses conditions environnementales. Plus de 300 espèces végétales sont utilisées par les humains, mais seulement 150 espèces sont cultivées de manière extensive, et 30 d'entre elles sont cruciales pour la production alimentaire mondiale. Les principaux producteurs de Cucurbitaceae sont la Turquie, la Chine, l'Inde et les États-Unis. La culture des cucurbitacées pour des objectifs alimentaires ont commencé il y a plus de 3000 ans à l'Asie occidentale.

Les cucurbitacées proviennent d'un groupe important et significatif de légumes, et les plus courants sont la citrouille, le melon, la pastèque et l' concombre. De nombreuses cucurbitacées sont consommées autour du monde, et la majorité des plantes ont une valeur médicinale. Ces plantes ont été utilisées en médecine traditionnelle comme remède contre diverses maladies pendant des siècles, en particulier en chinois et en ayurvédique. Certains rapports montrent les nombreuses propriétés, telles que les activités cardiovasculaires, hépatoprotectrices, immunorégulatrices et anti-inflammatoires. *Cucurbita pepo* a été utilisé en médecine traditionnelle dans des pays comme la Chine, l'Inde, l'Argentine, Le Brésil et le Mexique, par exemple, pour traiter les patients en interne et à l'extérieur pour les vers et les parasites. En Afrique, les graines de citrouille sont utilisées pour traiter le ténia, alors que dans d'autres médicaments folkloriques, les graines font partie de leur traitement des troubles de la vessie et des reins.

La pomme amère (*Citrullus colocynthis*) est une plante qui appartient à la famille des cucurbitacées et pousse abondamment dans les pays arabes. En médecine traditionnelle, cette plante était utilisée comme cheveux promoteur de croissance, agent purgatif, analgésique et abortif. En Amérique indigène, les cucurbitacées étaient utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les affections urinaires et les vers intestinaux. Les graines des cucurbitacées ont été utilisées pour guérir l'hypertension artérielle et prévenir calculs rénaux. Dans le sud-est de l'Europe, *Cucurbita pepo* a aidé à guérir les hypertrophies de la prostate et les vessies irritables. Snake gourd (*Trichosanthes cucumerina*) est prescrit par les locaux guérisseurs en Inde pour soigner les maux de tête, les tumeurs abdominales, la fièvre, diarrhée et allergies cutanées. *Melothria heterophylla* est une plante aromatique qui appartient à la Famille des

cucurbitacées et pousse dans de nombreuses régions différentes de l'Inde. L'herbe était utilisée en médecine traditionnelle pour ses effets purgatifs et revigorants. Les feuilles de cette plante servaient à préparer des jus.

Connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires. *Citrullus colocynthis* est une autre plante qui appartient à la famille des cucurbitacées, et bien que originaire d'Afrique et d'Asie tropicale, la plante est maintenant cholagogue et traitement de la toux, et ses racines étaient un remède pour l'inflammation mammaire ainsi que les douleurs utérines et arthritiques. *Momordia charantia* appartient aux cucurbitacées et est connue comme amère concombre moulu ou africain. Tous les fruits de *Momordia* sont riches en de nombreux composés nutritionnels et phytochimiques favorables à la santé. Le sol amer a été utilisé dans la médecine traditionnelle pour de nombreux maladies telles que l'hypertension, le cancer, l'obésité, ainsi que les maladies virales et infections bactériennes. En Afrique, la plante était utilisée pour la syphilis, le ver les cucurbitacées sont une bonne source de nutriments et de composés non nutritifs, tels que les protéines, les glucides, les vitamines et les minéraux.

La famille des cucurbitacées a un rôle économique important car les légumes et les fruits de cette famille sont utilisés dans divers produits alimentaires. Les cucurbitacées peuvent être utilisées non seulement comme source de nourriture, mais également dans l'industrie cosmétique. Le concombre est souvent ajouté à la peau produite en raison de ses propriétés cicatrisantes, rafraîchissantes et apaisantes, et est également un ingrédient dans de nombreux savons naturels. Fruits mûrs de *Luffa aegyptiaca* ont été utilisés comme éponges naturelles à travers l'histoire en raison de leur structure.

Lors de la production alimentaire des cucurbitacées, de nombreux fruits et tables de légumes sont destinés à être éliminés. La plupart de ces déchets sont des pelures, des graines, et les fruits, qui ne satisfont pas les exigences esthétiques mais sont source de composés, tels que les polyphénols, et montrent un antioxydant et des propriétés anti-inflammatoires, ce qui rend également les cucurbitacées attractives pour l'industrie cosmétique (AGATA et BEATA.2020).

II-1- Caractéristiques botaniques

Les cucurbitacées sont pour la plupart des plantes vivaces annuelles et rares. Leurs tiges sont herbacées et anguleuses, généralement traînantes ou grimpant à travers les vrilles ; les feuilles sont généralement lobées ou divisées, réticulé et palmé veiné avec un pétiole long et creux. Les tiges et les feuilles sont pleines de sève juteuse. En raison du stockage de eau et nourriture, les racines et la branche s'épaississent. Les fleurs de cucurbitacées sont pour la plupart blanches ou jaunes et généralement unisexuées. Tous les deux les fleurs femelles et

mâles se trouvent sur la même plante. Les inflorescences sont grandes et voyantes. Ses fruits sont moelleux et charnus, en particulier indéhiscent et souvent énorme, de taille ronde, avec des variations de motifs de forme, de taille et de couleur dans différentes espèces au sein de cette famille.

Cucurbita pepo, également connu sous le nom de citrouille, est l'un des légumes les plus connus dans le monde de la famille des cucurbitacées en raison de sa forme typique, grande, ovoïde-elliptique. *Cucurbita pepo* a trois différents motifs de couleurs, le plus reconnu étant orange et les autres vert clair ou foncé avec blanc longitudinal lignes ou rayures et minuscules taches blanches et vertes. La citrouille est une plante rampante annuelle insensible aux températures basses et élevées. La plupart de ses parties, de la coque charnue à ses graines, sont comestibles. Dans de nombreux pays, l'huile des graines est souvent consommée, ainsi que les graines séchées comme collation saine.

L'un des légumes les moins populaires de la famille des cucurbitacées est la courgette, également connue sous le nom de courgette. Sa forme ressemble à un strié concombre, mais la courgette est disponible en jaune et vert. Botaniquement, ce légume est considéré comme un fruit, mais en gastronomie termes, c'est un légume. La courgette a une texture ferme avec un fruit et une fleur caractéristique (AGATA et BEATA.2020).

II-2- *Citrullus colocynthis*

II-2-1- Historique

Le *Citrullus colocynthis* est un ancien purgatif, qui a été mentionné depuis 1500 ans av. J.C dans le papyrus Ebers (l'un des plus anciens traités médicaux rédigé au XVIe siècle avant notre époque, pendant le règne d'Amenhotep Ier), dans la bible (II Kings 4 : 38-41) et dans les manuscrits du médecin, pharmacologue et botaniste grec Pedanius Dioscoride. Les médecins Egyptiens utilisaient cette plante comme un puissant purgatif. De sa part, un écrivain arabe, mesue, a cité l'utilisation de deux préparations à base du *Citrullus colocynthis* nommées : trochisci alhandal et electuarium majus hamech dans la Pharmacopoeia Augustana de 1581. Dans les années 1800, la plante a été inscrite dans chaque numéro de la pharmacopée américaine (*US pharmacopeia*). La toxicité de la plante a été également bien connue aux médecins médiévaux, qui ont constatés la présence d'ulcères hémorragiques dans les intestins suite à l'ingestion des graines de coloquinte (LLOYD ET CINCINNATI, 1898).

Le genre *Citrullus* contient quatre espèces : *C. colocynthis*, *C. ecirrhosus*, *C. lanatus*, *C. fistulosus* et *C. naudinianus* (GURUDEEBAN, 2007).

II-2-2-Noms vernaculaires

La plante porte plusieurs nominations communes à travers les différents pays du monde : coloquinte, colocynth, pomme amère (bitter apple), concombre amer, concombre d'avidité, pomme de diable. Les divers noms communs de la plante sont représentés selon les régions dans tableau 1

Tableau 1 : Noms communs de *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.

Nom commun	Pays	Références
Arabes: Hadag, Hidej, Handhal, Tatoor Says, Alqam, Mararet essahra. Dellaa El-Wed Berbères: Tifersit, Taferzizt, Alkat, Tadjellet, Ubruzi, Tabarka, Tijjeltil	Algérie, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Lybie	(BABA AISSA., 1999) (MARZOUK <i>et al.</i> , 2010) (MEZIANE <i>et al.</i> , 2012)
Bitterapfel, Bitterzitrulle Koloquinte, bitter melone	Allemagne	(SINCICH, 2002)
Lubenica	Serbia	(MILOVANOVIE et JOVANOVIE, 2007)
Alhandal, Coloquintida	Espagne	(AL-SNAFI, 2016)
Kolovint	Suède	(AL-SNAFI, 2016)
Coloquintida	Portugal	(AL-SNAFI, 2016)
Chicotin, Coqueret Coloquinte, colocynth	France	(SINCICH, 2002)
Tumba Pei kumatti	Inde	(SAIN <i>et al.</i> , 2004) (MATHEW et JHON BRITTO, 1981)
Handhal Hindal, Sherry	Emirate Arabie Saoudite	(ALGHAITHI <i>et al.</i> , 2004) (AL-YAHIA <i>et al.</i> , 2000)
Agushi	Nord du Niger	(AMBI <i>et al.</i> , 2007)
Abujahl Watermelon, Hendavaneyeaboojahl Kabast, Sharang, Khia Talkh Kharboze talkhak, Kharboze roubah, Hanzal, Hindavane Aboujahl, Algham, Kousht	Iran (Persian)	(SHAFAEI <i>et al.</i> , 2012) (ZAMANI <i>et al.</i> , 2007) (RAHIMI <i>et al.</i> , 2012)

II-2-3- Position systématique

Citrullus colocynthis (L.) Schrad. Ou coloquinte est une plante vivace appartenant à la Famille des Cucurbitaceae, sous famille des Cucurbitoidae, tribu des Benincaseae, sous tribu des Benincasinae (ROBINSON et DECKER-WALTERS, 1997 ; ZYYAT *et al.* 1997).

Position systématique du *Citrullus colocynthis* (CRONQUIST, 1988 ; APG, 1998 ;2003)

Super division	<i>Spermatophytae</i>
Division	<i>Magnoliophyta (Angiospermae)</i> (Plantes à fleurs)
Classe	<i>Magnolipsida</i> (Dicotylédones)
Sous classe	<i>Dialypétales</i>
Ordre	<i>Cucurbitales</i>
Famille	<i>Cucurbitaceae</i>
Genre	<i>Citrullus</i>
Espèce	<i>colocynthis</i>

Selon les classifications botaniques classiques pré-moléculaires, les Cucurbitaceae sont des dicotylédones appartenant à l'ordre des Cucurbitales. Parmi les classifications basées essentiellement sur des critères morphologiques et anatomiques, celle de Cronquist est la plus utilisée (CRONQUIST, 1988). Le développement de la systématique moléculaire basée sur l'analyse des séquences de gènes, ont bouleversé les classifications usuelles et ont donné naissance en 1998 à une nouvelle classification ordinaire des plantes à fleurs « classification APG : the « Angiosperm Phylogeny Group » (APG, 1998). Cette classification a été révisée à deux reprises «APG II» en 2003 et «APG III» en 2009.

II-2-4- Description botanique

C'est une espèce annuelle ou vivace, liane herbacée à tiges angulaires, rampantes ou migrantes, munir de leurs jaunes verdâtres à sexes séparés, pédonculées, solidaires aux axilles des feuilles. Les feuilles sont larges de 5 à 10 cm de longueur, rugueuses et découpées en 3 à 7 lobes. Chaque plante produit 15-30 fruits appelés gourdes, de 8 à 12 cm de diamètre, dont la couleur varie du jaune clair au roux, garnis de pulpe intérieure, spongieuse dans laquelle se fixent les graines (MERAD CHIALI R,1973).

- ✓ **Des tiges** munies de vrilles, ramifiées, anguleuses, rudes, rampantes et étalées radialement pouvant atteindre plus de 5 m, desséchées après fructification (YANIV *et al.*, 1999) (figure 5A).
- ✓ **Des feuilles** alternes, longues de 5 à 10 cm, avec un limbe découpé en 5 à 7 lobes séparés par des sinus larges, le lobe central est parfois ovale. Elles sont rugueuses composées-palmées ou digitées avec absence de stipules. Elles sont ordinairement glanduleuses et fétides quand on les froisse (SPICHIGER *et al.*, 2004) (figure 5B).

- ✓ **Des fleurs** solitaires à la base des feuilles, de couleur jaune pale et de sexes séparés sur la même plante (monoïque) apparaissant pendant la période de floraison, vers le mois d'avril-mai, à l'aisselle des feuilles. La corolle de couleur jaune comporte cinq lobes. Ces fleurs sont gamopétales, monoïques ou dioïques, rarement polygames; 5 étamines soudées en 3 phalanges (2-2-1) ; anthères extrorses à connectif flexueux, stylet court; 3 à 5 stigmates bilobées, ovaire infère primitivement triloculaire (**DANIEL, 2006**) (**figure 5C**).
- ✓ **Des fruits** sphériques charnus de 5 à 10 cm de diamètre. Ils ont une couleur verte panachée de jaune clair qui devient complètement jaune à maturité (de Septembre à Novembre) (**figure 5D**). Ils sont revêtus d'une écorce mince autour d'une chaire (pulpe) légère, spongieuse, de couleur jaune orangé, très amère et toxique (**ROBINSON ET DECKER- WALTERS, 1997**) (**figure 5E**) .
- ✓ **Les graines** sont ovoïdes et aplaties, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre. Leur nombre peut atteindre 200 à 300 graines par fruit (**SAWAYA et al., 1988**) (**figure 5F**)
- ✓ **Des racines** sous forme de rhizome tubéreux, charnue épaisse et riche en eau (**SPICHIGER et al., 2004**) (**figure 5G**).



Figure 4 : La plante *Citrullus colocynthis* (KHARE, 2004)



Figure 5 : les différentes parties du *Citrullus colocynthis* (EL FENNONI , 1985)

II-2-5- Composition chimique

Le screening phytochimique de différentes parties de *Citrullus colocynthis* (racines, tiges, graines et feuilles) permis de caractériser les familles de composés chimiques existantes dans les plantes.

Les graines de *Citrullus colocynthis* contiennent 26,6% d'huiles, 13,5% des protéines, 2,1% des cendres, 52,9% des fibres brutes, 4,9% d'azote libre et contient 322 mg/100g de Potassium, 119 mg/100g de Phosphore et 3,3 mg/100 g de Fer (SAWAYA *et al.*, 1986). Elles contiennent aussi la phytosteroline (ipurand), 2 phytostérols, 2 hydrocarbures, saponines,

alcaloïdes, polysaccharides, glycosides, et des tanins, comme métabolites secondaires (DUKE, 2008).

II-2-6- Répartition géographique

Citrullus colocynthis est adaptée aux régions tropicales et sub-tropicales, les régions désertiques arides et les régions tempérées (TIMOTHY, 1993). Sa capacité de liaison au sol sec est importante (YANIV *et al.*, 1999 ; SAIN *et al.* 2004; SPICHIGER *et al.*, 2004). Elle peut tolérer des températures annuelles situées entre 14.8 et 27.8 C° et des pH allant de 5 à 7.8 (DUKE, 1983). D'après OZENDA (1991), la *Citrullus colocynthis* pousse dans tout le Sahara, au niveau des terrains sablonneux et sablo-argileux, des lits d'oued et des dépressions. C'est une espèce résistante à la sécheresse, qui peut survivre dans les environnements arides en maintenant son contenu hydrique sans flétrissement des feuilles ou dessiccation, même dans des conditions de stress sévères (DANE *et al.*, 2007). *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad, a un habitat si étendu, de l'Inde à l'Afrique tropicale, qui peut inclure la Méditerranée (ZOHARY et HOPF, 2000). C'est une espèce subspontanée originaire des régions désertiques sablonneuses d'Afrique, comme les autres espèces de *Citrullus*, notamment : le Maroc, la Tunisie, la Lybie, l'Egypte, le Soudan et l'Algérie (SEN GUPTA et CHAKRABARTY, 1963 ; ZIYYAT *et al.*, 1997) (Fig. 3). En Algérie, le *Citrullus colocynthis* est rencontré au niveau de plusieurs régions depuis le nord jusqu'au sud (MEZIANE *et al.*, 2012). *Citrullus colocynthis* est aussi répandue dans les régions sèches de l'Asie telles que : Iran, Iraq, Jordanie, Pakistan et surtout l'Inde (SAIN *et al.* 2004). Elle est répandue en prévalence au Najd, au Hijaz et les régions de l'Arabie Saoudite (AGEEL *et al.* 1987). En Europe, elle est cultivée en France, en Grèce, en Italie, en Allemagne, au Chypre, en Espagne, en Australie et dans d'autres pays du sud de l'Europe pour des buts ornementaux (DE SMET *et al.* 1997).

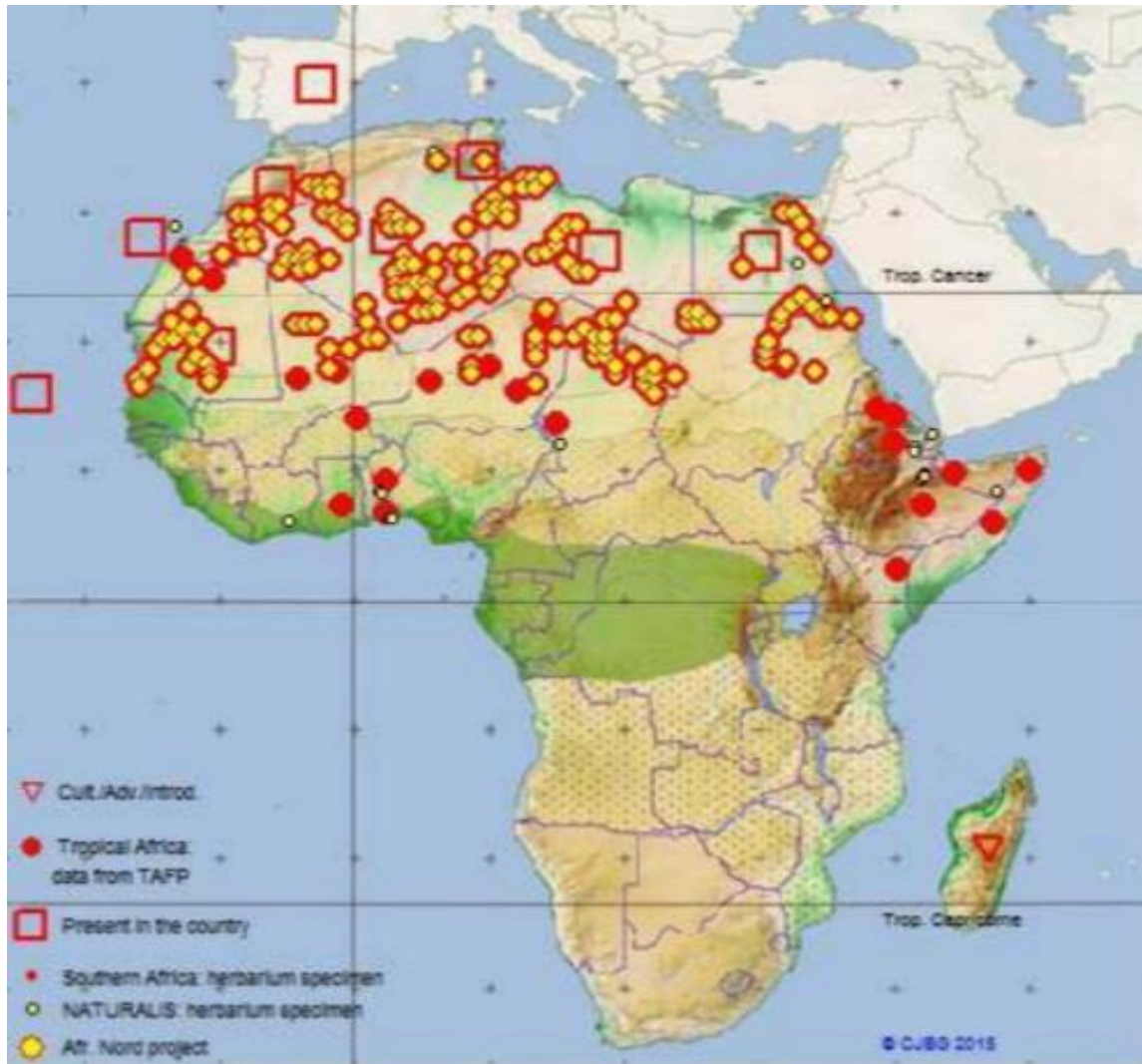


Figure 6 : Carte de distribution africaine du *Citrullus colocynthis* (STEVEN, 2001)

II-2-7- Utilisation traditionnelle

La plante *Citrullus colocynthis* est utilisée en plusieurs modes : Pulvérisée elle est très utilisée contre les hémorroïdes en application locale soit seule, soit associée à des feuilles de tabac ; et utilisée comme insecticide par la décoction de cette plante, dans les régions Saharienne ; les graines de *Citrullus colocynthis* sont utilisées comme aliment de bétail. Concernant le traitement du diabète par la coloquinte, plusieurs modes d'utilisation ont été mentionnés :

-graines séchées (mettre une sous la langue 2 à 3 graines par jour).

-Décoction de 30g des graines broyées dans 1 litre d'eau et à prendre oralement 3 X50ml, par jour (SAID *et al.*, 2002).

-fruits frais coupés en tranche utilisés dans le bain de pied.

-préparation d'une poudre à partir de l'épicarpe séché et mélangé avec les aliments (MERZOUKI *et al.*, 2009)

II-2-8- Toxicité

Depuis l'Antiquité, les fruits de la *Citrullus colocynthis* sont considérés comme poison mortel (YANIF *et al.* 1999). A des doses élevées, cette plante est hautement toxique pour les animaux et les humaines. Les signes d'intoxication sont : douleurs gastro-intestinales avec diarrhée, vomissement, rétention urinaire, fatigue, hypothermie, désordre cardiaque et congestion cérébrale produisant un effondrement fatal (CHARNOT, 1945). Les effets toxiques après utilisation chronique de cette plante, provoquent une hypokaliémie, oligurie et les œdèmes, semblable à une néphrite aiguë (HAMMOUDA *et al.*, 2005).

Deuxieme partie :
Partie pratique

Chapitre I : Matériels et méthodes

La méthodologie de travail porte sur le principe d'étude, le matériel d'étude, l'extraction d'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles, la détermination de leur composition en protéines, en polyphénol en oses totaux, en oses neutres et les tests biologiques dont l'activité antioxydant, et l'activité antiulcéreuse gastrique, l'activité anticoagulante.

I-1- Principe d'étude

Les polysaccharides sont une sorte de polymères naturels, largement répandu chez les animaux, les plantes et les micro-organismes, qui exerce diverses activités biologiques, tel que antitumorale, antivirale, antioxydante et immunorégulatrice (CHEN et HUANG, 2018).

Le présent travail est une contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles issus d'une plante spontanée à caractère médicinal *Cirtullus colocynthis.L* de la famille des cucurbitacées récoltée au Sahara septentrional Est Algérien (région d'El Oued). L'étude porte sur l'extraction des polysaccharides hydrosoluble issus le plus *Cirtullus colocynthis L*. important vise à l'étude les propriétés biologiques dont les activités : antioxydant, antiulcéreuse gastrique, anticoagulante des extraits bruts polysaccharidiqes de *Cirtullus colocynthis L* .

I-2-Matériel d'étude

Le matériel d'étude regroupe les appareillages de laboratoire, les solvants et les produits Chimiques, en plus du matériel biologique.

I-2-1- Matériel biologique

Il est présenté par l'espèce végétale choisie du *Cirtullus colocynthis L*. sang humain et les rats *wistar albinos*.

I-2-1-1- Matériel animal

L'activité *in vivo* est réalisé sur des rats males *wistar albinos* au nombre de 12 rats, pesant environ 280-300g, obtenus à partir de institut d'Algérie et alétoirement distribuées différents groupes expérimentaux. Les rats sont identifiés et placés dans les cages pour une période. D'adaptation de 15 jours avant le début de l'étude, pour leur permettre de s'acclimater aux conditions du laboratoire. Les rats sont logés dans des Cages en plastique (3 rats par cages n=3) qui sont tapissées d'une couche de copeaux de bois renouvelée chaque 2 jour à une température ambiante et disposé de granules .

D'aliment standards. Cette alimentation est composée d'orge, de maïs et de son. Ils ont accès libre à l'eau de robinet. Les cages sont munies d'un porte étiquette où le nom du lot est mentionné selon le traitement.

I-2-2-Choix de plante

La plante de la présente étude est une plante de la famille des cucurbitacées, il s'agit de *Citrullus colocynthis* (L.) elle est choisie à la base d'une recherche bibliographique méticuleuse qui a montré que cette espèce végétale n'est pas étudiée tant qu'une source des polysaccharides mais comme source des alcaloïdes.

I-2-3- Récolte et partie étudiée

Pour la présente étude l'espèce *Citrullus colocynthis* .L sont récoltés au début de l'automne en 2020, à la région Taleb Larbi, (Sahara septentrional Algérien) qui située nord-est de El-Oeud, et Les échantillons récoltés sont séchés et conservés à une température ambiante.



Figure 7: Représentation de la région Taleb Larbi - El-Oeud

Dans le présent travail, la partie utilisée pour l'extraction et l'étude des polysaccharides hydrosolubles, est les graines et les tiges de *Citrullus colocynthis* L (**photo1,2,3**).



Photo 1 : *Cirtullus colocynthis* L.



Photo 2 : Les graines *Cirtullus colocynthis* L.



Photo 3 : Les tiges *Cirtullus colocynthis* L.

I-3- Méthodes d'étude

I-3-1- Etude des polysaccharides

L'étude des polysaccharides concerne l'extraction et le dosage des différents constituants en oses totaux, en oses neutres, en polyphénol et en protéines, aussi les tests biologiques effectués.

I-3-1-1- Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Les différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des graines et tiges de *Cirtullus colocynthis* L.

I-3-1-1-1- Extraction des polysaccharides des graines de *Citrullus colocynthis*

Le broyat séché de la matière végétale à étudier (20g), est prétraité par 100ml d'éthanol 99.5% et par sous agitation constante pendant 2 heures à température ambiante (TABARSA *et al.*, 2017). Le marc obtenu est macéré dans 200ml d'eau distillée (LV *et al.*, 2017), pendant 2 heures à 80°C (HE *et al.*, 2017). L'extrait est filtré et centrifugé à 3900tr / min pendant 20 min est effectuée. Le culot est macéré une deuxième fois par 100ml d'eau distillée dans les

mêmes conditions. Une troisième extraction par macération son ajouté 70ml d'eau distillée pendant 2 heures à 90°C, puis les trois surnageant sont réunis. Les surnageants récupérés sont précipités à l'aide de 3 volumes d'éthanol 99,5% (YANG *et al.*, 2008), à 4° C pendant une nuit (HONG *et al.*, 2018). Après une centrifugation les culots sont lavés par l'acétone quatre fois, puis séchés à l'étuve à température (40°C-45°C)(figure 8).

I-3-1-1-2- Extraction des polysaccharides des tiges de *Citrullus colocynthis*

Les tiges séchées (30g) sont écrasées et prétraitées par de l'éthanol pendant 3 × 24 heures. (DIALLO *et al.*, 2004), à température ambiante et sous agitation douce puis filtrées pour éliminer les composés solubles dans l'éthanol, après séchage, le broyat est macéré dans l'eau distillée à 80°C pendant deux heures (HE *et al.*, 2017). L'extraction est répétée deux fois. après une centrifugation à 3900tr / min pendant 20 min les trois surnageants sont réunis . Les surnageants récupérés sont précipités à l'aide de 3 volumes d'éthanol 99,5% (YANG *et al.*, 2008), à 4° C pendant une nuit (HONG *et al.*, 2018). Après une centrifugation les culots sont lavés par l'acétone quatre fois , puis séchés à l'étuve à température (40°C-45°C)(figure 8).

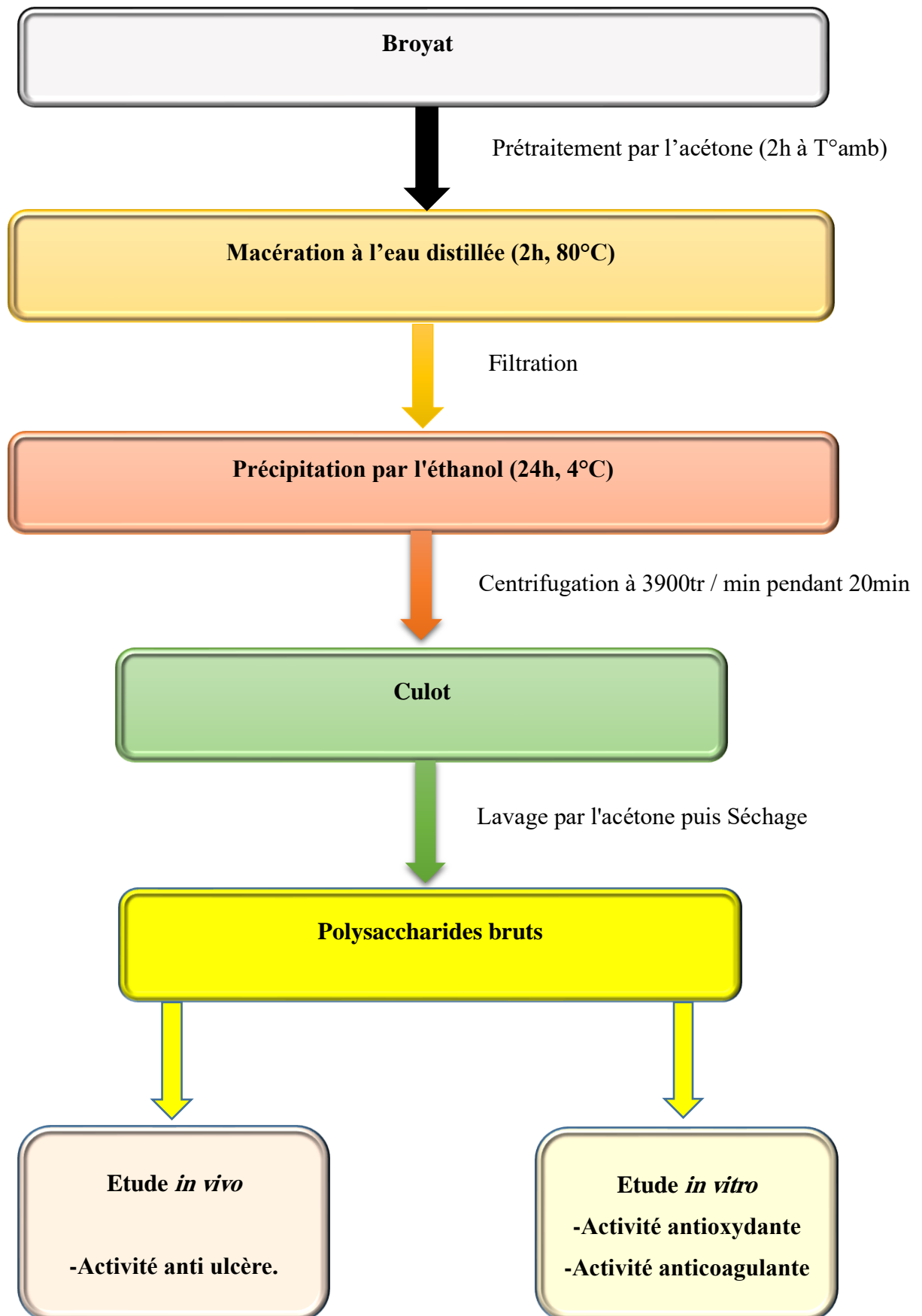


Figure 8: Protocole d'extraction des polysaccharides hydrosolubles

- Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction des polysaccharides bruts est calculé selon (WANG *et al.*, 2018) par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids d'extrait (g)}}{\text{Poids de l'échantillon(g)}} \times 100$$

I-3-1-2- Composition des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles

L'étude de la composition des extraits des polysaccharides hydrosolubles consiste à déterminer les teneurs en oses totaux, en oses neutres, en polyphénols et la teneur en protéines par des dosages colorimétriques.

I-3-1-2-1-Dosage des oses totaux

La teneur des oses totaux dans l'extrait brut polysaccharidique de *Cirtullus colocynthis* et est déterminée selon la méthode (DUBOIS *et al.*, 1956).

A-Principe

En présence de l'acide sulfurique concentré, les oses sont déshydratés en composés de la famille de dérivés furfuriques. Ces produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orangés. L'apparition de ces complexes est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490nm (LACHHEB, 2010).

B-Réactif

La solution de réactif de phénol à 5% est préparée par l'ajout de 100ml d'eau distillée à 5g de phénol. La solution mère d'étalon est préparée par l'ajout de 1g de glucose dans 100ml d'eau distillée.

C-Mode opératoire

Dans des tubes en verres placer un mélange de 200µl d'échantillon et 200µl de phénol 5%. Après homogénéisation, 1ml d'acide sulfurique H₂SO₄ (95.97%), est rapidement introduit dans le milieu réactionnel. Les tubes sont ensuite incubés à 100°C pendant 5 mn, puis ils sont laissés 30 mn à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 492 nm (BRUDIEUX, 2007; RUIZ, 2005; GENESTIE, 2006).

I-3-1-2-2-Dosage des oses neutres

La teneur des oses neutres est dosée par la méthode de (MONSIGNY *et al.*, 1988).

A-Principe

En milieu acide concentré, les glucides se transforment en dérivés furfuraux, qui en se complexant avec le résorcinol, donnent des composés de couleur orange. Leur absorbance est lue à la longueur d'onde 490 nm, au spectrophotomètre UV visible (DUBOIS *et al.*, 1956; MONSIGNY *et al.*, 1988).

B-Réactif

La solution de réactif du résorcinol à 0,6% est préparée avec 0,3g du résorcinol dans 50ml d'eau distillée selon la méthode de (MONSIGNY *et al.*, 1988) modifiée.

C-Mode opératoire

Dans des tubes en verres, 200 µL de solutions à doser sont mélangés avec 200 µL de résorcinol et 1ml d'acide sulfurique (95.97%). Ensuite, les tubes sont placés durant 30 min dans un bain marie à 90°C, puis placés dans un bain de glace et à l'obscurité durant 30 min. L'absorbance est mesurée 490nm (MONSIGNY *et al.*, 1988).

I-3-1-2-3-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par une méthode adaptée par (SINGLETON et ROSSI, 1965).

A-Principe

Le principe de dosage repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstique (réactif de Folin Ciocalteu) par les composés phénoliques. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (NaCO₃). Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (SINGLETON et ROSSI, 1965; DIF *et al.*, 2015).

B-Réactif

La solution de réactif de carbonate de sodium à 20% est préparée par l'ajout de 100ml d'eau distillée à 20g de carbonate de sodium. La solution mère d'étalon est préparée par l'ajout de 4g d'acide gallique dans 4ml d'eau distillée.

C-Mode opératoire

40 µL d'extrait (ou d'étalon) sont mélangés à 1160 µL d'eau distillée et 200 µL de réactif Folin- Ciocalteu. Le milieu est ensuite mélangé et incubé 3min à température

ambiante avant d'y ajouter 600 μL d'une solution de carbonate de sodium à 20%. Le mélange incube ensuite 2h à l'obscurité avant de lire l'absorbance à 750 nm

I-3-1-2-4-Dosage des protéines

La teneur en protéines dans les extraits bruts des polysaccharides hydrosolubles est déterminée par la méthode de **(BRADFORD, 1976)**.

A-Principe

En milieu acide, le réactif de Coomassie de coloration marron se lie aux protéines provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue qui absorbe entre 465 et 595 nm. Une courbe d'étalonnage est tracée en utilisant du sérum albumine bovine (SAB) comme référence standard **(WARRANT, 2004)**.

B-Réactif

Réactif de Bleu de Coomassie est préparée avec À 25mg de Bleu de coomassie sont ajoutés 12,5ml d'éthanol (99.8%), puis agités pendant 2h, après filtration sur papier Whatman N°1, 25ml d'acide phosphorique 85% sont ajoutés. Le réactif est dilué jusqu'à 250ml par l'eau distillé. Le réactif est stocké à l'obscurité et à la température ambiante.

La solution mère d'étalon est préparée par l'ajout de 0,01g de SAB à 100ml d'eau distillée.

C-Mode opératoire

Dans des tubes en verre, il est additionné un volume 200ul de solution à doser, puis 1ml de réactif de coomassie. Le mélange est homogénéisé pendant 30 secondes. L'absorbance est mesurée à 595 nm après 2mn. La coloration est stable pendant une heure **(BRADFORD, 1976)**.

I-3-1-2-5- Spectroscopie Infra Rouge a Transformée de Fourier (IRTF) :

A- Principe :

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistre une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise.

Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} ($2.5 - 25\ \mu\text{m}$) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules.

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier (Agilent Cary 640 FTIR) qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe et les intensités de l'absorption.

Le faisceau infrarouge provenant de la source A est dirigé vers l'interféromètre de Michelson qui va moduler chaque longueur d'onde du faisceau à une fréquence différente. Dans l'interféromètre le faisceau lumineux arrive sur la séparatrice. La moitié du faisceau est alors dirigée sur le miroir fixe, le reste passe à travers la séparatrice et il est dirigé sur le miroir mobile.

Quand les deux faisceaux se recombinent, des interférences destructives ou constructives apparaissent en fonction de la position du miroir mobile. Le faisceau modulé est alors réfléchi des deux miroirs vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Le faisceau arrive ensuite sur le détecteur pour être transformé en signal électrique.

Les spectres d'absorption infrarouge (IR) ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre à transformée de Fourier. La décroissance des bandes caractéristiques de la double liaison acrylate à 1637 cm^{-1} et 810 cm^{-1}

(Élongation de C=C), a été suivie au cours de la polymérisation pour évaluer le taux de conversion. (KREVELEN ; NIJENHUIS, 2009)

B- Mode opératoire

Les échantillons sont administrés directement dans l'appareil.

I-3-2- Activités biologiques des extraits bruts polysaccharidiques

La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité anti-oxydante, et à l'activité anticoagulante et l'activité anti ulcère.

I-3-2-1- Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante de l'extrait polysaccharidique d'*Cirtullus colocynthis* est mesurée par le test DPPH.

I-3-2-1-1-Test de la réduction du radical 2,2'-diphényl picrylhydrazyl (DPPH)

Le dosage de la réduction des radicaux DPPH est parmi les méthodes les plus fréquemment utilisées et offre la première approche pour l'évaluation de l'activité antioxydante (SHAHIDI et ZHONG, 2015).

I-3-2-1-1-1.-Principe du test

La réduction du radical libre 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants qui comporte comme donneur d'hydrogène. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se

réduit en 2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazine incolore (WANG, 2014; WANG *et al.*, 2010; BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).



Figure 9: Schéma de réduction du radical DPPH

I-3-2-1-1-2-Mode opératoire

Dans la présente étude, ce test a été évalué suivant le protocole appliqué en (SAMARTH *et al.*, 2008). Brièvement, 1.9ml d'une solution méthanolique de DPPH (4%) a été mélangé avec 100 μ l de différentes dilutions des extraits de plante. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1.9ml de la solution de DPPH et de 100 μ l d'eau distillée.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; BHA dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\%PI = [(Abs\ contrôle - Abs\ échantillon) / Abs\ contrôle] \times 100$$

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC_{50}); la valeur d' IC_{50} la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l' IC_{50} est exprimée en μ g/ml (LARABA *et al.*, 2016).

L'indice de l'activité antioxydant AAI est calculé selon BOUHADDOUDA (2016)

$$\frac{\text{Concentration finale de DPPH}(\mu\text{g/ml})}{IC_{50}(\mu\text{g/ml})}$$

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suit :

AAI < 0.5 \rightarrow faible activité antioxydant , > AAI > 1 \rightarrow forte activité antioxydant , AAI > 0.5 \rightarrow activité antioxydant modérée , AAI > 2 \rightarrow très forte activité antioxydant

I-3-2-2-Activité anticoagulante

L'effet des polysaccharides hydrosolubles sur la coagulation du sang, est évalué par des tests de coagulation qui sont le temps de prothrombine (TP), le temps de céphaline activée (TCA) à l'aide d'un coagulomètre. Le plasma utilisé est obtenu à partir du sang de sujets sains (20-50ans). Le prélèvement est fait par ponction veineuse. Le sang est mélangé au citrate trisodique (3,8%) et centrifugé (2400 g/mn, 20 mn) pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le plasma citraté est recueilli et stocké à -80°C jusqu'à utilisation (ZHANG *et al.*, 2010).

- Le temps de céphaline activée (TCA), est un test de la voie intrinsèque (indication des facteurs VIII, IX, XI et XII).

- Le temps de prothrombine (TP), est un test de la voie extrinsèque (indication des facteurs V, VII et X, II).

Une solution mère de polysaccharides hydrosolubles de 1mg/ml est préparée à l'eau physiologie.

I.3.2.2.1.- Mesure du temps de céphaline activée (TCA)

A 90µl de plasma humain normal citraté sont ajoutés 10µl de solution polysaccharidique, puis 100µl de réactif de TCA est ajouté. Le mélange est incubé 5mn à 37°C. Après l'ajout de 100µl de CaCl₂ (0,025 mol/l), le temps de céphaline (kaolin) activée est enregistré (WANG *et al.*, 2013).

I-3-2-2-2- Mesure du temps de prothrombine (TP)

A 90µl de plasma sont ajoutés 10µl de polysaccharides hydrosolubles et incubés à 37°C pendant 5mn. La réaction est déclenchée par addition de 200 µl de thromboplastine. Le temps de coagulation est mesuré. Les résultats de tests sont exprimés en temps de Quick (TQ) en secondes. Le TQ est converti en taux de prothrombine (%) et en International Normalised Ratio (INR) correspondant à l'aide d'un tableau de conversion (YOON *et al.*, 2002).

Calcul de INR = (Temps de Quick échantillon/de Quick moyen normal)

I-3-2-3- Activité antiulcéreuse gastrique

Le test consistait à vérifier l'action protectrice des extraits contre l'ulcère provoqué chez les animaux par administration d'un agent ulcérogène (l'éthanol).

I-3-2-3-1-Etude de l'activité anti ulcère

Afin de tester l'effet gastro-protecteur de l'extrait polysaccharidique obtenu de la grain d'*Cirtullus colocynthis* (PGCC) sur des rats, le protocole de (ADIARATOU *et al.*, 2014) appliqué comme un modèle d'ulcération, avec des modifications. Les rats ont été mis à jeun

pendant 24 heures avant l'expérimentation mais avaient accès libre à l'eau. La répartition des rats a été faite en quatre lots de 3 rats pour chacun. Les solutions ont été administrées par voie intra-gastrique avec une sonde de gavage de 1ml (tableau 2). Une partie de ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de recherche de la faculté de sciences de la nature et de vie de l'université Echahide Hamma Lakhdar d'El-oued.

-Préparation des solutions à administrées

Préparation des solutions de l'extrait polysaccharidique (PGCC)

Des solutions polysaccharidiques de concentration différente ont été préparées, de l'extrait PGCC. Des quantités de 50 et 75 mg d'PGCC ont été solubilisées dans un volume de 2 ml d'eau pour chaque dose.

Préparation du contrôle positive (Oméprazole)

Pour préparer la solution du contrôle positive une quantité de 20 mg d'Oméprazole, est dissout dans un volume de 2 ml d'eau.

Induction de l'ulcère gastrique par l'éthanol

Les ulcères ont été induits par gavage intra-gastrique de l'éthanol à 99.8% avec une dose de 0.5ml/kg).

Tableau 2: Répartition des rats avec les traitements administrés

Lot	Groupe des rats (n=3)	Traitement utilisé	Dose administrée
1	Témoin	Eau	2ml/kg
2	Control(-)	Ethanol (99.8%)	0.5ml/kg
3	Control(+)	Oméprazole	20mg/kg
4	Test	Extrait PGCC	50 mg/kg
5	Test	Extrait PGCC	75mg/kg

Sacrifice des animaux

Après le passage d'une heure à l'administration des différentes solutions préparées, les rats ont été sacrifiés par la dislocation cervicale sous l'anesthésie au chloroforme. Une dissection ventro-médiane est effectuée pour le prélèvement des estomacs, en subissant une ouverture selon la grande courbure et lavés avec de l'eau physiologique froide (NaCl à 0,9 %), ainsi que les observations ont été réalisées à l'œil nu et à l'aide d'une loupe binoculaire, puis les estomacs ont été conservés dans le formol (10%), dont le but est d'étudier l'histopathologie ulcéreuse.

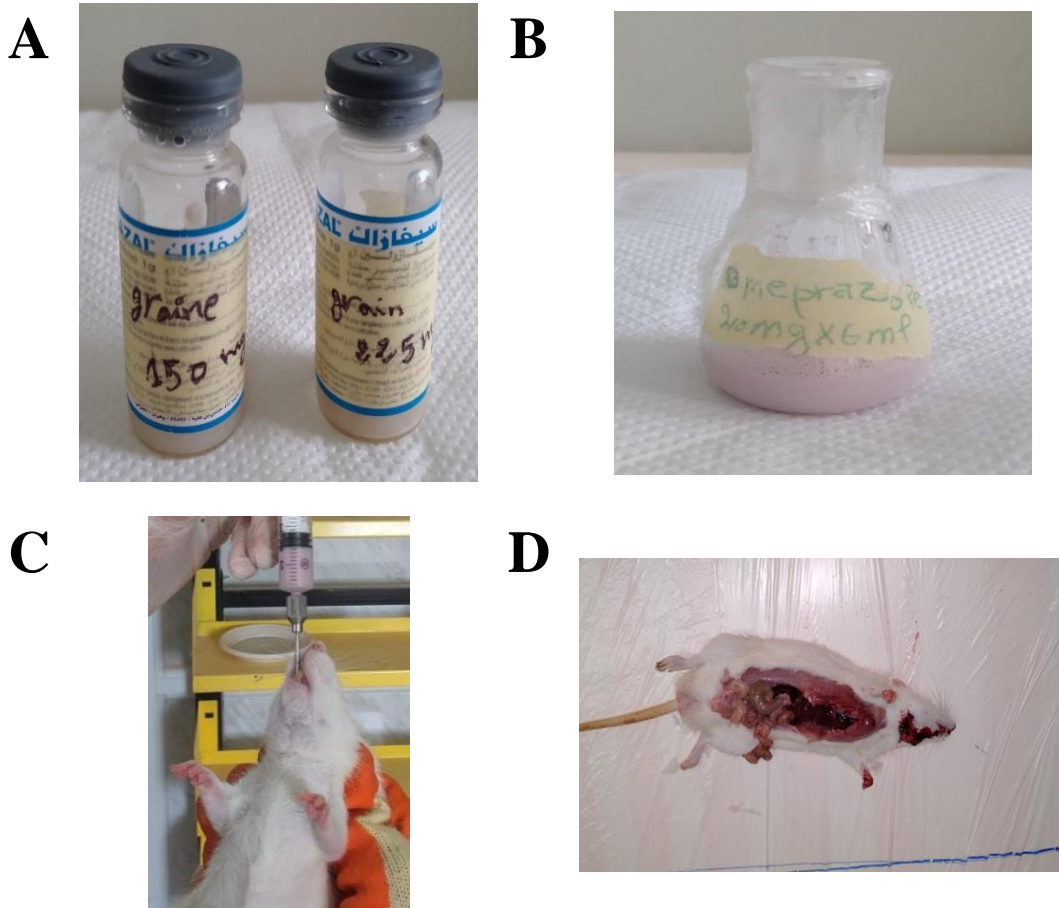


Photo 4 : A : Extrait (PGCC) ; B : Contrôle (+) ; C : Gavage intra-gastrique; D : rats disséqués

Evaluation de l'activité anti-ulcéreuse

L'évaluation de l'activité anti-ulcéreuse nécessite des méthodes pour pouvoir calculer le taux d'inhibition de l'ulcère gastrique par l'extrait de la gomme utilisée. Les photos des estomacs obtenues ont été enregistrées sur l'ordinateur et analysées à l'aide du logiciel image J qui permet de mesurer la surface totale de l'estomac et la surface de la région ulcérée (YOUNG-SIK *et al.*, 2019), dont deux paramètres ont été obtenus. Le pourcentage d'ulcération est calculé par la formule suivante :

$$\text{Indice d'ulcération} = \frac{\text{surface totale des lésions}}{\text{surface totale de l'estomac}} \times 100$$

Le pourcentage de protection ou d'inhibition de l'ulcère pour chaque groupe traité est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PP} = (\text{IU}_{\text{témoin}} - \text{IU}_{\text{traité}}) / \text{IU}_{\text{témoin}} * 100$$

PP: Pourcentage de protection

IU: L'indice d'ulcère.

***Chapitre II : Résultats
et Discussion***

Les résultats d'analyses et les activités biologiques testées des extraits bruts de Polysaccharides hydrosolubles des graines et des tiges de *Citrullus colocynthis* sont développés dans ce chapitre.

II-1- Rendement et caractéristique des polysaccharides hydrosolubles de *Citrullus colocynthis*

Les résultats relatifs portent sur des extraits bruts des deux fractions polysaccharidiques hydrosolubles. La première fraction polysaccharidique extraite à partir des graines de *Citrullus colocynthis* nommée PGCC (**Photo 5**), la deuxième fraction polysaccharidique des tiges de *Citrullus colocynthis* nommée PTCC (**Photo 6**)

Les extraits obtenus par prétraitement, macération à chaud dans l'eau distillé, précipitation par éthanol froid et lavage par l'acétone sont séchés et pesés pour déterminer le rendement.



Photo 5: Extraits bruts des polysaccharidiques hydrosolubles des graines de *Citrullus colocynthis* L.



Photo 6 : Extraits bruts des polysaccharidiques hydrosolubles des tiges de *Citrullus colocynthis* L.

Le rendement relatif est calculé par rapport au poids de la matière sèche utilisé à l'extraction (**WANG *et al.* , 2018**).

Il est appaît que les rendements massiques des extraits de polysaccharides hydrosolubles par rapport aux matières sèches sont de l'ordre de 5.92 % pour les tiges et 3.5 % pour les graines de *Citrullus colocynthis*.

Tableau 3 : caractéristique des polysaccharides hydrosolubles des graines et tiges de *Citrullus colocynthis*

Caractéristique	Graines	Tiges
Aspect	Solide	Solide
Couleur	Blanc	Brune
Poids (g)	0.700g	1.718g
Rendement	3.5 %	5.92 %
Solubilité (dans l'ED)	soluble	soluble

Le rendement des polysaccharides hydrosolubles des tiges est supérieur par rapport au le rendement de polysaccharides des graines. Le rendement massique obtenus (3.5% pour les graines, 5.9% pour les tiges) sont inférieurs aux rendements d'extraction polysaccharidiques de *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae) ; soit de 48.6% observé par **FEI et al., (2021)** et 12.75% de *Gynostemma pentaphyllum* (Cucurbitaceae) observé par **WANG et LUO, (2007)**. Tandis qu'il est supérieur à celui rapporté par **VICTOR et JOAO, (2016)**, qui ont trouvé que des fruits de *Sechium edule* (Cucurbitaceae) a un rendement massique de polysaccharide (1.5%), et à celui trouvé par **ZUZANA et al., (2013)**, dont un rendement de 2.9% extraits des graines de *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae).

Les rendements de l'extrait brut des polysaccharidiques hydrosolubles des fruits *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) est de 3.09% (**JING et al., 2021**) et 3.1% obtenue par **FANG et al., (2021)** pour le même plante, ils sont proches de rendement de polysaccharide hydrosoluble extrait à partir des graines de *Citrullus colocynthis* mais sont inférieurs que de rendement massique d'extraction de polysaccharide hydrosoluble de tiges de *Citrullus colocynthis*.

Le rendement massique de l'extrait polysaccharidique des fruits de *Sicana odorifera* (Cucurbitaceae) obtenue par (**SAMANTHA et al., 2018**) possède le même rendement extrait par les tiges de *Citrullus colocynthis* soit de 5.9%.

Le rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles varie suivant diverses conditions l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique et la période de récolte (**SAENZ et al., 2004**). Elles peuvent être expliquées aussi par la saison, ou par les différences des conditions expérimentales au laboratoire tel que le type d'extraction (décoction, infusion ou par macération...), et le degré de pureté et le volume d'alcool utilisé dans la précipitation. Aussi, Le pH et la température des milieux d'extraction influent sur le

rendement massique d'extraction (EBRINGEROVA *et al.*, 2003) De plus, les interactions entre ces paramètres ont également influence le rendement d'extraction .

II-1-1-Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

La détermination de la composition des extraits polysaccharidiques hydrosolubles (figure 10) issus des graines de *Citrullus colocynthis*, des tiges de *Citrullus colocynthis* est effectuée par des dosages des oses totaux, des oses neutres, des protéines et des polyphénols totaux.

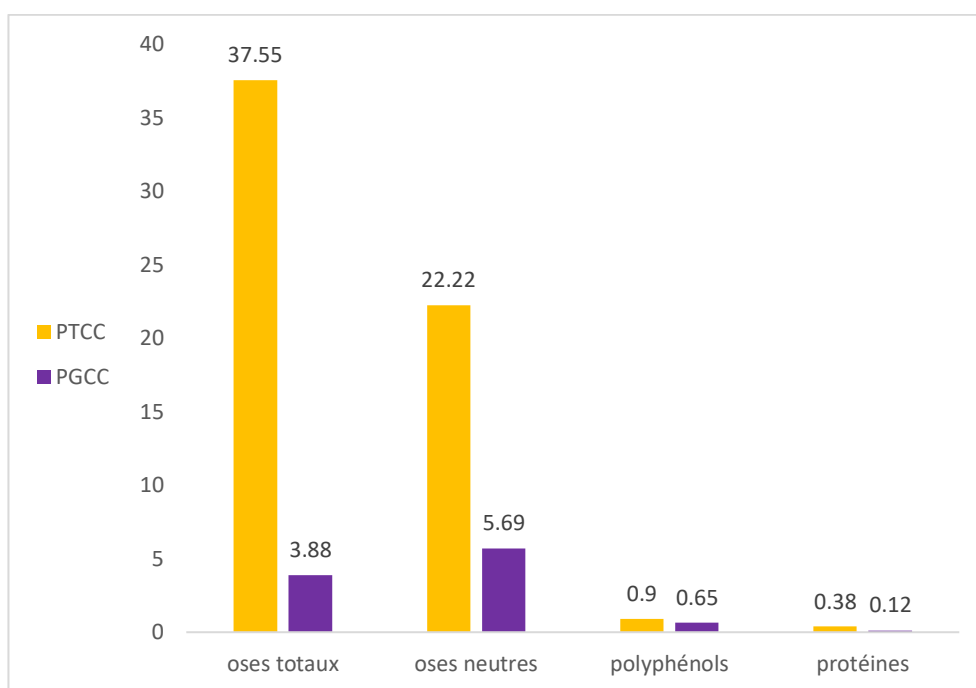


Figure 10: Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble de *Citrullus colocynthis*

PTCC : l'échantillon polysaccharidique de tiges de *C. colocynthis*.

PGCC : l'échantillon polysaccharidique de graines de *C. colocynthis*.

L'échantillon PTCC présente 37.55% d'oses totaux, 22.22% d'oses neutres, 0.38% de protéines et 0.9% de polyphénols. Tandis que l'échantillon PGCC indique 3.88% d'oses totaux, 5.69% d'oses neutres, 0.12% de protéines et 0.65% de polyphénols. Or, il est noté que l'échantillon PTCC présente un taux élevé des oses totaux, des oses neutres, de protéines et de polyphénols par rapport à l'échantillon PGCC.

FANG et al., (2019) trouvent que la teneur en oses totaux issus des *Momordica charantia* est de 74% et 94% d'oses totaux sont signalés par **FANG et al., (2021)** pour des fruits de la même plante (*M. charantia*) qui sont plus élevés de taux noté pour les deux échantillons de *C. colocynthis*.

Un taux d'oses neutres 37.8% est signalé par **FEI et al.,(2021)** pour une échantillon polysaccharidique de *Cucurbita moschata* . Il est supérieure que celle trouvé pour les deux échantillons de *C. colocynthis*.

Les teneurs en protéines des extraits polysaccharidiques de *Momordica charantia*, et de *Sicana odorifera* sont de 2,54%, et 6% respectivement (**JING et al., 2021 ; SMANTHA et al.,2018**) sont supérieures aux taux trouvés pour les deux échantillons de *C.colocynthis*. Ces contenus faibles en protéines peut s'expliquer par l'influence de température des milieux d'extraction, dont l'augmentation de la température réduit la teneur en protéines dans l'extrait (**MILANI et al., 2007**)

JING et al., (2021) distinguent des teneurs de 0.06% de polyphénols pour les polysaccharides de *Momordica charantia*. Il est remarqué que ce résultat est inférieur à celui obtenu pour les deux échantillons de *C. colocynthis*.

Il est largement décrit dans la littérature que la composition chimique des polysaccharides hydrosolubles varie suivant diverses conditions telles que l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique, la période de récolte (**SAENZ et al., 2004**) et les méthodes d'analyse utilisées (**WANG et ZHU, 2019**).

II-1-2- Analyse de spectroscopie Infra Rouge a Transformée de Fourier (IRTF)

Cette analyse se fait par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier pour suivre la cinétique de polymérisation des systèmes préparés par rayonnement UV.

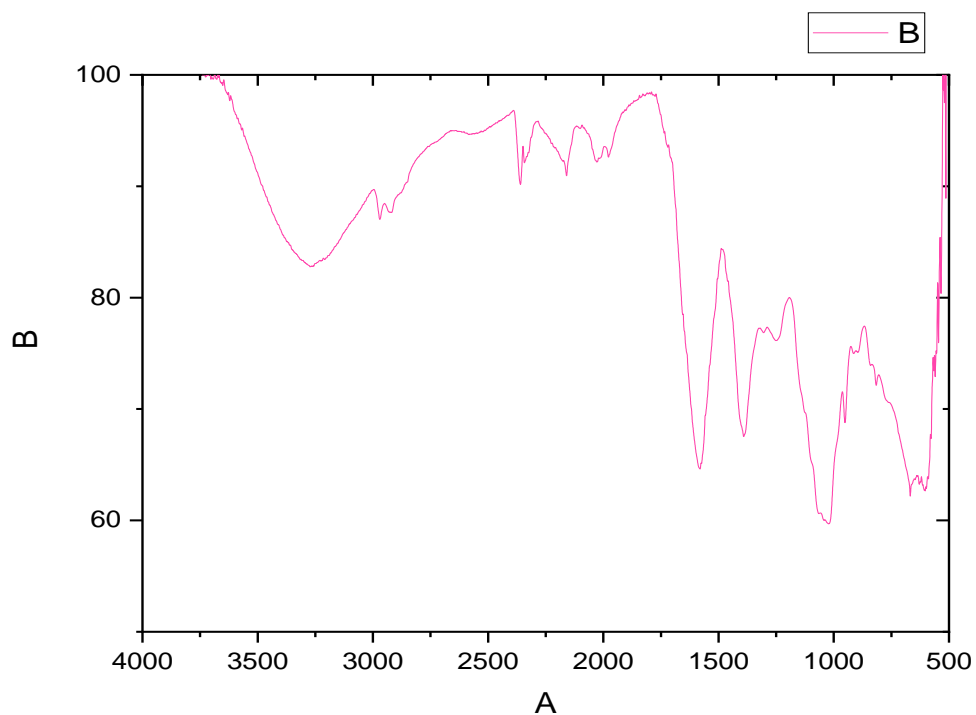


Figure 11: spectres IRTF des tiges de *C.colocynthis*

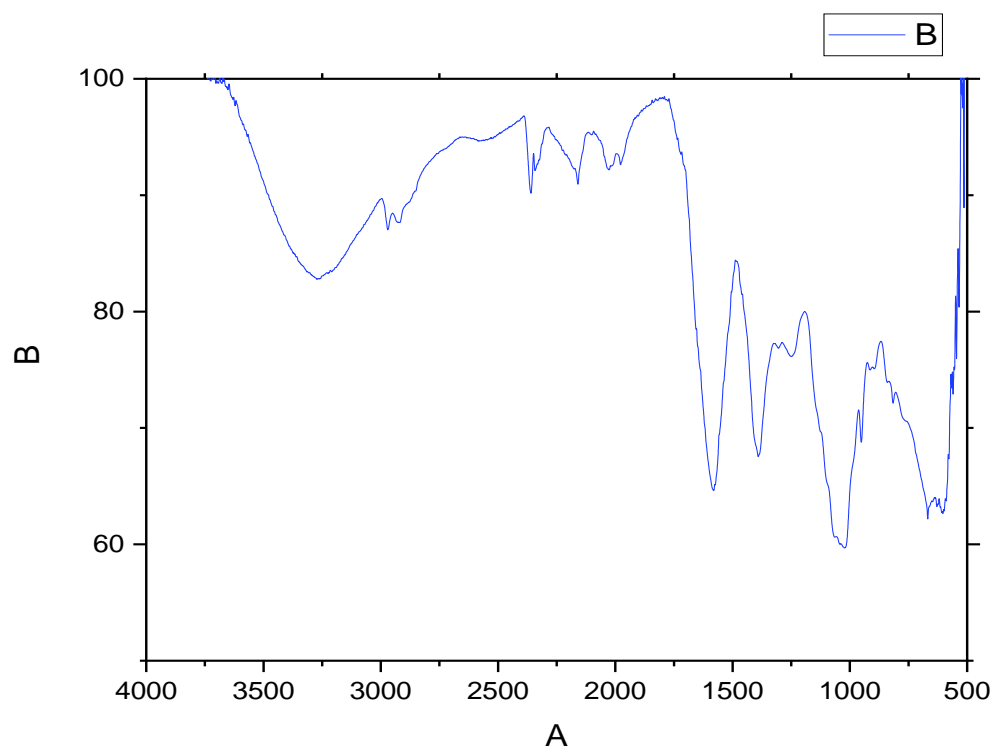


Figure 12: spectres IRTF des graines de *C.colocynthis*

Les deux échantillons PTCC et PGCC possèdent la même spectres IRTF (figures 11 ;12) si on observe :

Le pic intense largement étiré vers $3300-3500\text{cm}^{-1}$ représente l'étirement des groupes hydroxyle (OH), et les petits pics observés à environ 2920cm^{-1} a été attribué à l'étirement et à la flexion du C-H vibrations de sucres libres (JIAO *et al.*, 2018). Le carbonyle C=O vibration d'étirement asymétrique à 1610cm^{-1} (SHU *et al.*, 2018). Le pic d'absorption à 1240cm^{-1} a également été attribué à la trace d'acides uroniques et ester sulfate (JIAO *et al.*, 2018). De plus, la forte absorbance d'à 1017cm^{-1} et 1101cm^{-1} attribué aux vibrations d'étirement du C-O (REN *et al.*, 2019).

II-2- Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique

Les activités biologiques testées de l'extrait polysaccharidique de *Citrullus colocynthis* sont présentées par l'activité anti-oxydante, l'activité anticoagulante, et l'activité anti ulcère.

II-2-1- Activité antioxydante

L'étude de l'activité anti-oxydante de polysaccharides issus des graines de *Citrullus colocynthis* (PGCC), et des tiges de *Citrullus colocynthis* (PTCC) est effectuée par le test de la réduction du radical DPPH (SHAHIDI et ZHONG, 2015), ce test utilisé parce que il est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité sous forme radicalaire et de la simplicité de cette analyse.

Le tableau 4 montre que le pourcentage d'inhibition (IC_{50}) des extraits bruts des polysaccharides hydrosolubles de deux échantillons de *Citrullus colocynthis* par rapport à celui du contrôle positif utilisé (BHA) en ce qui concerne le balayage du radical libre DPPH.

Tableau 4 : Activité antioxydante des polysaccharides hydrosolubles des deux échantillons de *C. colocynthis*.

Les échantillons	IC_{50} (mg /ml)	AAI
PGCC	1.602	0.062
PTCC	0.736	0.135
BHA	0.013	7.692

Selon les résultats obtenus au (tableau 4), les polysaccharides hydrosolubles de PGCC et PTCC exercent une activité antioxydante avec $IC_{50} = 1.602\text{ mg/ml}$ et un $AAI = 0.062$ pour le PGCC, $IC_{50} = 0.736\text{ mg/ml}$ et un $AAI = 0.135$ pour le PTCC. Cependant, la capacité antioxydante de polysaccharides hydrosolubles de PTCC reste forte par rapport aux

polysaccharides hydrosolubles PGCC, et les deux échantillons présentent une capacité antioxydante très faible par rapport à l'antioxydant synthétique de référence le BHA ($IC_{50} = 0.013$ mg/ml et $AAI = 7.692$).

LI et al . , 2015 ont trouvé une valeur d' IC_{50} de 0.08 mg/ml en étudiant l'effet antioxydant des *Gynostemma pentaphyllum* , ce qui est très élevé au pouvoir antioxydant de PGCC et de PTCC.

Les feuilles de *Lepidium meyenii* possède une valeur d' IC_{50} de 3.72mg/ml obtenu par **LI et al. (2017)**, ce qui est faible au pouvoir antioxydante de deux échantillon de *C. colocynthis*. **CAICAI et al. (2018)** montre que les polysaccharides des fractions MPL-1, MLP-2 extraits des feuilles de la même espèce (*L. meyenii*) présentent des valeurs d' IC_{50} de l'ordre 0.82 mg/ml et 1.11mg/ml respectivement, ces qui sont très proche de notre résultats ; la valeur d' $IC_{50} = 0.82$ mg/ml de MPL-1 est très proche de PTCC ($IC_{50} = 0.736$ mg/ml) et $IC_{50} = 1.11$ mg/ml de MPL-2 proche de PGCC($IC_{50} = 1.602$ mg/ml).

Il est rapporté que de nombreux facteurs influent sur l'activité antioxydante des polysaccharides, y compris la composition en monosaccharide, le poids moléculaire et la conformation de la chaîne. De ce fait, en raison de diverses caractéristiques structurelles, les polysaccharides de divers origines présentent une activité antioxydante différente (**LI et al., 2017**).

Plusieurs études ont postulé que le fragment de protéine ou de peptide dans le polysaccharide est responsable d'une partie de l'effet de balayage radicalaire. En effet, il est démontré que les résidus de polysaccharides-polyphénols ont des fonctions antioxydantes notables dans de nombreux rapports (**WANG et al., 2016**). L'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles obtenu contient une faible quantité de protéines ce qui explique la faible activité antioxydante marqué.

II-2-2-Activité anticoagulante

La figure 13 laisse apparaître que les valeurs enregistrées de temps de céphaline activé des deux échantillons pour une concentration de 100 μ g/10 μ l sont de 38.5s pour l'échantillon PGCC, et 33.9s pour l'échantillon PTCC.

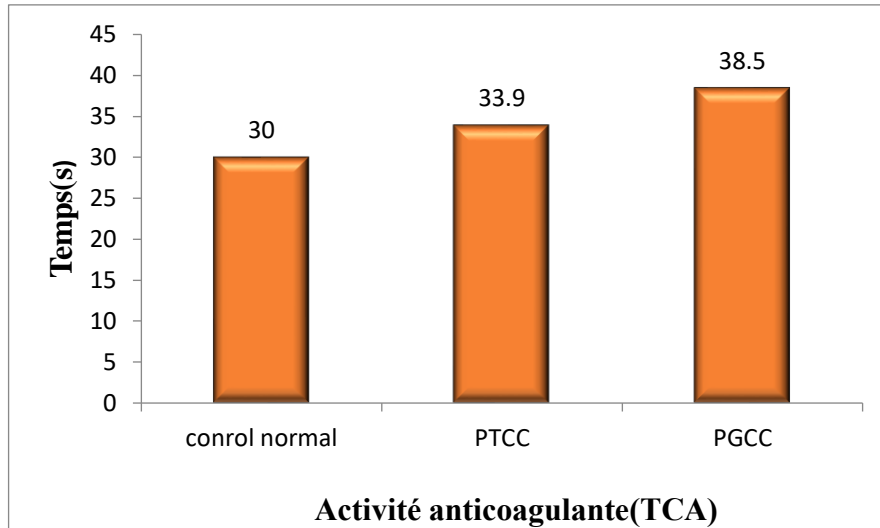


Figure13: Temps (seconde) de céphaline activée (TCA) pour chacun des deux échantillons PTCC et PGCC, pour une concentration de 100 µg/10µl.

L'étude *in vitro* de l'activité anticoagulante des deux échantillons par les deux tests (TCA, TP). Pour TCA, il est remarqué que les temps enregistrés sont de 38.5s, et de 33.9s pour les PGCC, et PTCC respectivement, ces résultats sont très proche de contrôle normal 30s.

Pour les temps de Quick (TQ), le TP des deux échantillons est 12.5s pour le PTCC et 13.3s pour le PGCC, la dernière valeur est supérieur au control normal (12.5s) mais PTCC possède la même valeur de control normal, et les valeurs de TQ sont convertis aussi en pourcentage et INR (International Normalised Ratio) comme il est présenté dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats de test TP de l'activité anticoagulante des deux échantillons de *Citrullus colocynthis*.

	%	INR	TQ
Control normal 0%	100	1.00	12.5
PGCC	92.3	1.07	13.3
PTCC	100	1.00	12.5

Les résultats de la présente étude montrent que le *C. colocynthis* possèdent une activité anticoagulante très faible.

II-2-3- Activité antiulcère gastrique

II-2-3-1-Evaluation de l'activité anti- ulcéreuse

L'activité gastro-protectrice de l'extrait polysaccharidique PGCC a été évalué par l'induction d'un model d'ulcération provoqué expérimentalement *in vivo* par l'utilisation de l'éthanol à 99.8%.

II-2-3-1-1- Observation macroscopique

L'éthanol administré oralement aux rats a provoqué chez le groupe contrôle négatif de fortes lésions (ulcérations) dans la muqueuse gastrique, ces dernières étaient visibles à l'œil nu sous forme des sillons hémorragiques (**Photo 7 : B**) contrairement à celui d'un estomac sain du groupe témoin et des estomac traités par l'Oméprazole (20mg/kg) qui ne présente aucune ulcération (**Photo 7 : A**).

Comparé au contrôle négatif, l'observation macroscopique des estomacs traités par PGCC à 50 et 75 mg/kg révèle une diminution significative dans le nombre et les tailles des bandes hémorragiques dans la muqueuse gastrique.

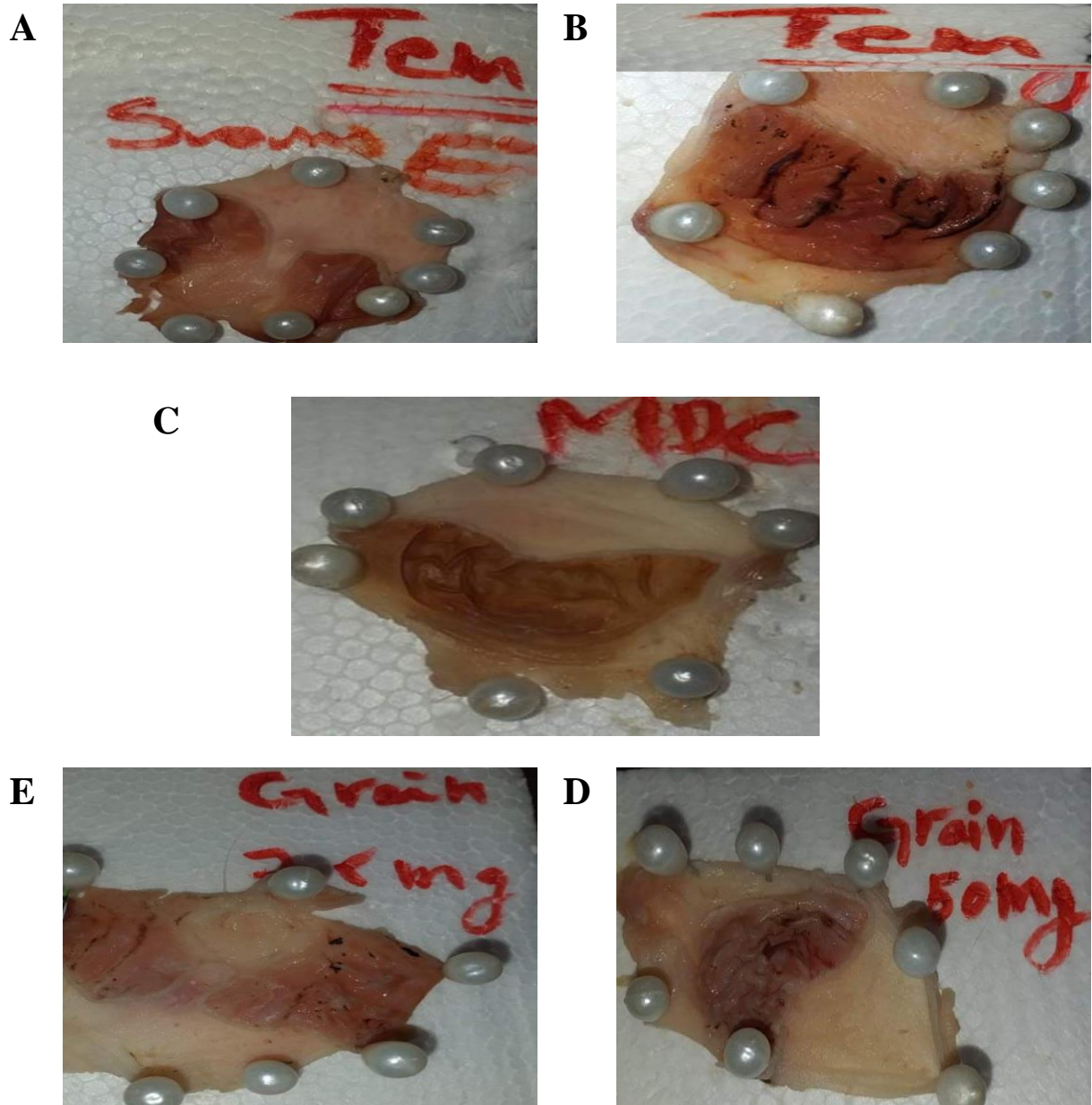


Photo 7 : Aspect macroscopique des estomacs des rats wistars prétraités par l'extrait de *C.colocynthis*. (A) Groupe témoin, (B) Contrôle négatif, (C) Contrôle positif (D) Groupe traité par PGCC de 50mg/kg, (E) Groupe traité par PGCC de 75mg/kg.

II-2-3-1-2- Evaluation des pourcentages d’ulcération et d’inhibition par l’image J

Une réduction apparente des moyens d’ulcération avec une augmentation des moyens d’inhibition a été évalué par les calculs obtenus avec l’utilisation du programme **image J**. Les résultats du test sont présentés dans le tableau 6

Tableau 6 : Résultats d’ulcération et d’inhibition calculés par **image J**

Traitement de Lot (n=3)	Dose administré	S T d’estomac	Taux de lésion	Indice d’ulcération	Moyen d’indice protection	% de protection	Moyen de Protection
Lot 1 (témoin)	2 ml d’eau distillé	- - -	- - -	0 0 0	0 0 0	- - -	
Lot 2 (control négatif)	0.5 ml/kg d’éthanol	13190.585 11913.897 22411.722	85	0,4% 2%	1,2%	-	-
Lot 3 (control positif)	2 ml/kg oméprazole	26302.219 18871.373 13177.959	0	- - -	-	100% 100% 100%	100%
Lot 4	50 mg/kg de PGCC	31815.845 27482.784 25064.418	63	0,7% 0,5%	1%	40% 60%	50%
Lot 5	75 mg/kg de PGCC	20464.538 23388.934 23993.946	83	1,2 % 0,8 %	0,6%	65% 75%	70%
Lot 6	75 mg/kg de XP	17543.173 15367.889 21608.911	56.3	1% 0,6%	0.8%	50% 70%	60%

II-2-3-1-3- Etude statistique

Les différences significatives statistiques entre les groupes traités par les concentrations polysaccharidiques, ainsi qu'avec l'éthanol (contrôle -) et l'Oméprazole (contrôle +), ont été déterminées par l'utilisation du test **t de Student**.

II-2-3-1-3-1- Pourcentages d'ulcérations

Une comparaison entre les moyennes d'ulcération a été effectuée pour les lots traités par les extraits d'PGCC et XP, à des concentrations croissantes (50,75 mg/kg) avec le lot du contrôle (-) avec une différence significative ($P < 0.05$) a été révélée, ce qui prouve l'effet ulcérogène de l'éthanol. Les descriptives des pourcentages d'ulcération sont indiquées dans la figure 14.

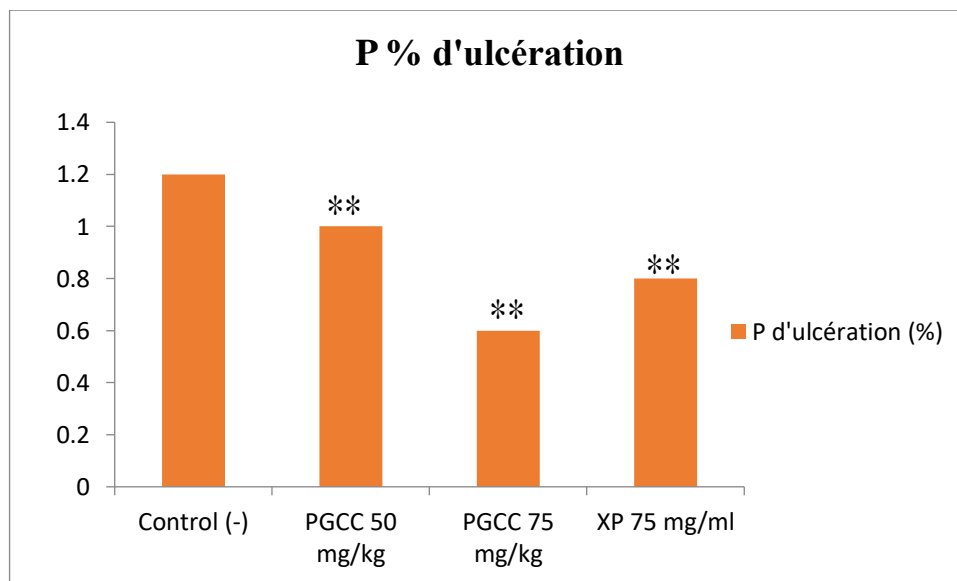


Figure 14 : Effet de l'administration orale de l'éthanol (contrôle -), et de l'extrait PGCC et XP sur l'induction de l'ulcère gastrique chez des rats.

Selon de (figure 14) le pourcentage d'ulcération les deux concentrations de PGCC (50mg/kg et 75mg/kg) et le concentration de XP (75 mg/kg) sont inférieure de contrôle (-), donc avec une augmentation de la concentration du PGCC, on observe une diminution des ulcères.

** : très significative ($P < 0.01$)

II-2-3-1-3-2- Evaluation des pourcentages de protection

Une comparaison entre les moyennes de protection a été effectuée pour les lots traités par les extraits d'PGCC et XP, à des concentrations croissantes (50, 75 mg/kg) avec le lot du contrôle (+). Les descriptives des pourcentages de protection sont indiquées dans la figure 15.

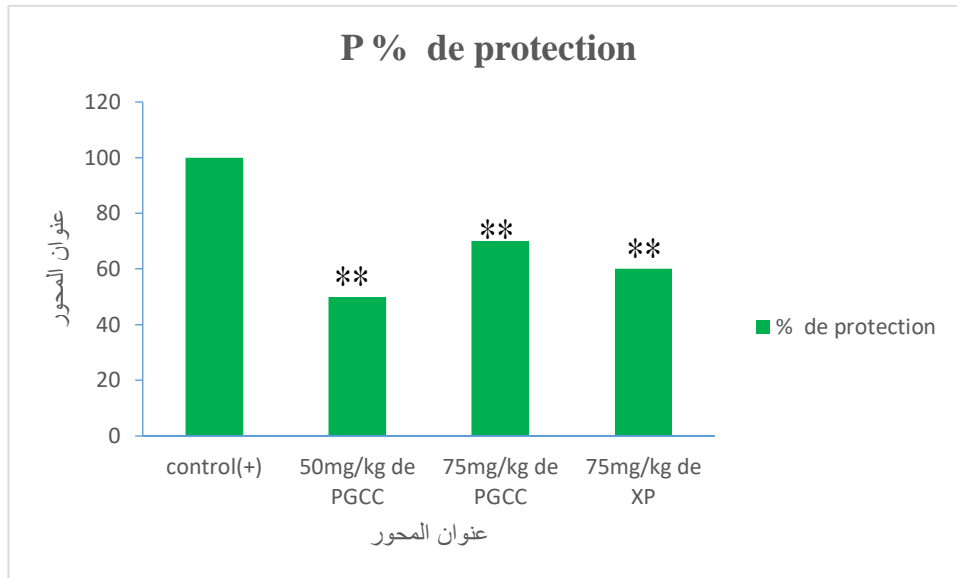


Figure 15 : Effet de l'administration orale de l'extrait PGCC et XP, et du contrôle + (Oméprazole) sur le protection de l'ulcère gastrique chez les rats.

Selon de (figure 15) le pourcentage de protection les deux concentration de PGCC (50mg/kg et 75mg/kg) et le concentration de XP (75 mg/kg) sont inférieure de contrôle (+), donc avec une augmentation de la concentration du PGCC, on observe une élève de protection, le concentration 75mg/kg possède un effet proche de contrôle (+)(Oméprazole).

II-2-3-1-4- Etude histopathologique

Afin d'affirmer les observations obtenues dans l'évaluation macroscopique, une étude histopathologique a été réalisée sur les estomacs prélevés des rats. Cette étude a permis de mieux juger l'activité gastro protectrice de l'extrait PGCC. Les résultats sont présentés dans la Photo 8.

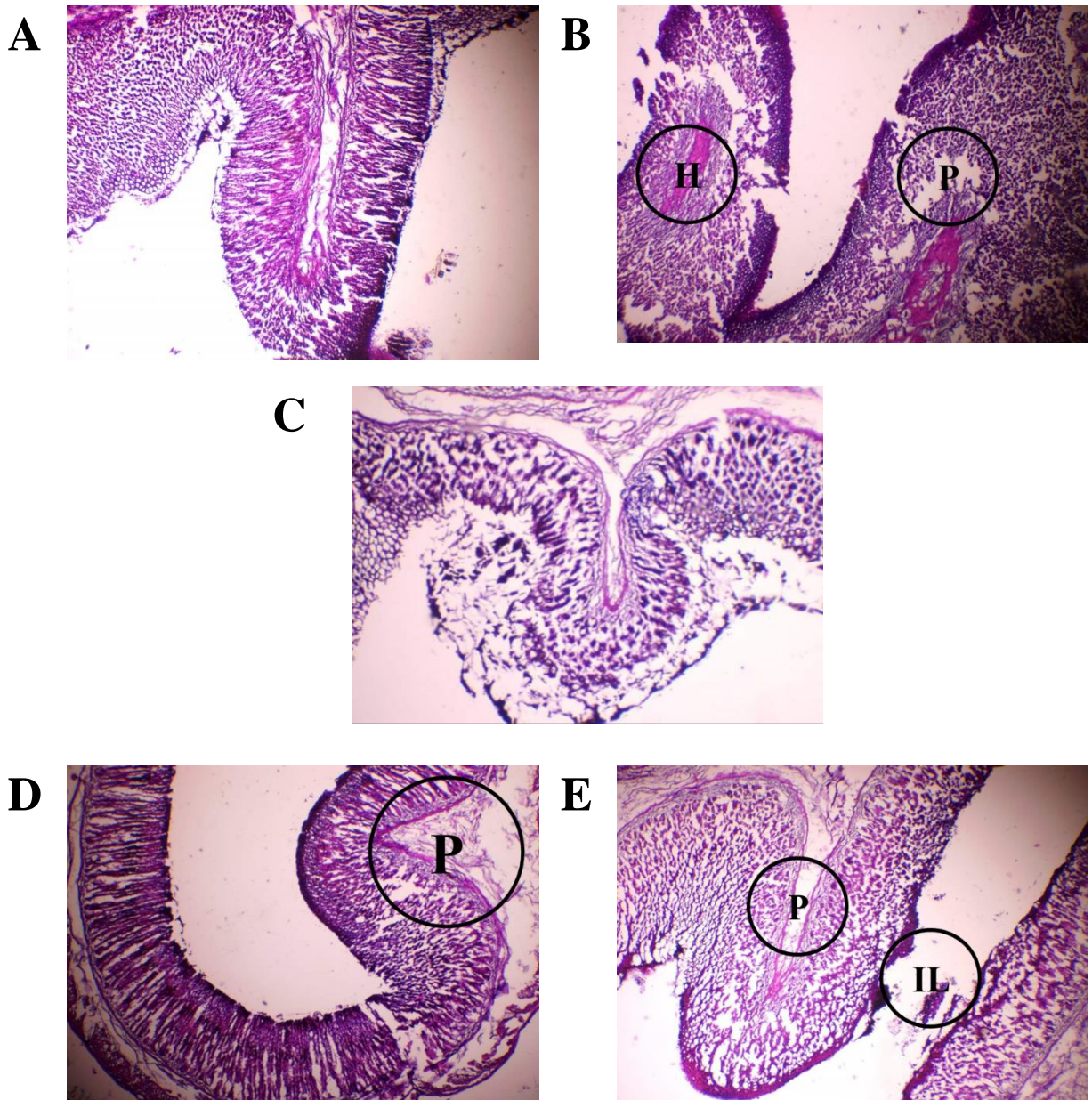


Photo 8 : Photographie Originale des coupes histologiques des estomacs : (A) Témoin, (B) Contrôle (-), (C) Contrôle (+), (D) PGCC à 50 mg/kg, (E) PGCC à 75 mg/kg.
H : hémorragie, **IL :** infiltration leucocytaire, **P :** perte de substance.

L'étude histopathologique a montré que les lésions subies les estomacs traités par l'extrait PGCC ont été réduites significativement en comparaison avec les estomacs traités par le contrôle (-), et ceux traités avec le contrôle (+). Des ulcérations focales de l'épithélium de revêtement et une congestion des vaisseaux sanguins du chorion avec des hémorragies ont été observées chez le groupe du contrôle(-), tandis que le groupe traité par l'Oméprazole a montré une protection puissante de la muqueuse gastrique en comparaison avec les dommages causés par l'éthanol. Cependant la protection chez le lot traité par une dose de 50 mg/kg de

l'extrait de PGCC a été faible avec une ulcération focale, en comparaison avec les lots traités par les dose 75 mg/kg qui ont exhibés une réduction importante vue de l'augmentation de la concentration de PGCC.

L'éthanol est un agent nécrosant bien connu, à cause de son pénétration rapide dans la muqueuse gastrique (**REPETTO et LLESUY, 2002**), il favorise l'apparition des lésions gastriques par l'exposition de ce dernier aux actions hydrolytiques et protéolytiques de l'acide chlorhydrique et de la pepsine respectivement. Ceci peut stimuler la sécrétion d'acide gastrique, entraînant des lésions micro-vasculaires qui facilitent la perméabilité membranaire, par libération intense de gastrine et d'histamine à partir de terminaisons nerveuses sensibles, présentes dans la muqueuse gastrique. De plus, il inhibe la synthèse des prostaglandines, réduire la production de mucus, et accroître la production des espèces réactives oxydantes, en favorisant le stress oxydatif (**THABREW et ARAWWAWALA, 2018**).

Visant de tester le potentiel gastro-protecteur de l'extrait PGCC, le model d'ulcération induite par l'éthanol absolu a été pratiqué sur des rats de type *Wistar albinos* (*in vivo*).

Il a été démontré que différents polysaccharides isolés de plantes ont plusieurs activités biologiques, notamment l'effet gastro-protecteur., ont prouvées une activité anti-ulcéreuse en réduisant la lésion gastrique provoquée par l'éthanol (**MELLINGER-SILVA et al., 2011**).

Conclusion et Perspectives

D'après l'étude des polysaccharides hydrosolubles de l'espèce végétale *Citrullus colocynthis* de la famille Cucurbitaceae récoltée dans la région d'ELOUED débute par une extraction à chaud dans l'eau distillé des échantillons polysaccharidiques extraites a été précipité par l'éthanol et finalement laver par l'acétone. Il est remarqué de rendement de 3.5% pour PGCC et 5.9% pour PTCC obtenu à partir du poids sec des graines (PGCC) et des tiges (PTCC) de *C. colocynthis*.

L'analyse de la composition de l'extrait brut de polysaccharide donne des valeurs de 37.55% PTCC et 3.88% PGCC d'oses totaux, 22.22% et 5.69% pour PTCC et PGCC respectivement d'oses neutres. Pour les polyphénols, est trouvé 0.9% de PTCC, 0.65% de PGCC et 0.38% (PTCC), 0.12% (PGCC) pour les protéines.

Pour l'évaluation du pouvoir antioxydant de cette plante par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, montre que l'extrait polysaccharidique de deux échantillons (PGCC ; PTCC) présente un pouvoir antioxydant important comparable à celle de BHA avec un IC_{50} 0.736mg/ml pour le PTCC et IC_{50} 1.602mg/ml pour le PGCC.

L'activité anticoagulant mesuré par le test de temps de céphaline activée (TCA) des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles de PGCC et de PTCC sont respectivement 38.5s et 33.9s, ils sont très proches par rapport au control normal (30s). Le test de temps de thrombine (TP) de PGCC 13.3s et de PTCC 12.5s.

Les résultats prometteurs, obtenus au cours de cette étude, sur l'effet antiulcéreux des graines des *Citrullus colocynthis* contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol, les différentes doses de PGCC (50 et 75 mg/kg), ont montré des résultats significatifs des pourcentages d'ulcération de 1% et 0.6% , respectivement et pourcentages de protection de 50% et 70%, respectivement. L'examen histopathologique a révélé une protection progressive de la muqueuse gastrique, parallèlement à l'augmentation des doses de PGCC. Cette protection a été comparée avec celle obtenue par l'administration du contrôle (+) (Oméprazole). La dose 75mg/kg a été proche à la protection révélé par le contrôle (+). Ces résultats suggèrent que PGCC possède un effet gastro-protecteur, qui serait dû à sa capacité à diminuer la formation de lésions, et d'induire les mécanismes de protection de la muqueuse gastrique.

Perspectives

Il est souhaitable d'optimiser les conditions d'extraction, à savoir la température, le temps d'extraction pour augmenter le rendement d'extraction des polysaccharides. L'utilisation de la méthode de chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie en phase gazeuse (GC) d'autres techniques plus avancées pour caractériser la

Conclusion et Perspectives

composition en oses constitutifs et la caractérisation structurelle de l'extrait polysaccharidiques hydrosolubles isolé.

Pour une meilleure évaluation des activités biologiques des polysaccharides, il faut purifier l'extrait polysaccharidique, afin de préciser les parties responsables des effets remarqués, en plus, de faire autres tests de l'activité anti-oxydantes.

Il est souhaitable d'étudier d'autres activités in vivo comme l'activité anti diabétique, activité anticancéreuse...

Des études plus approfondies et pendant une plus longue période seraient nécessaires pour déterminer le degré de protection et le mécanisme d'action des composés bioactifs de l'extrait éthanolique de *Citrullus colocynthis*.

Références bibliographiques

A

- ADIARATOU TOGOLA, KOROTIMI KARABINTA , ADAMA DÉNOU , MAHAMANE HAIDARA , ROKIA SANOGO et DRISSA DIALLO(2014).** Effet protecteur des feuilles de *Opilia celtidifolia* contre l'ulcère induit par l'éthanol chez le rat.
- AGATA ROLNIK MSC ,BEATA OLAS PHD.(2020).** Vegetables from the Cucurbitaceae family and their products: Positive effect on human health.
- AGGEL, A. M., MOSSA, J. S., TARIQ, M., AL-YAHIA, M. A., AL-SAID, M. (1987):** Plants used in Saudi folk medicine. Riyadh: KACST, King Saudi University Press
- AL-GHAITHI, F., EL-RIDI, M.R., ADEGHATE, E., AMIRI, M.H. (2004):** Biochemical effects of *Citrullus colocynthis* in normal and diabetic rats. Molecular and Cellular Biochemistry, 261:143–149
- AL-SNAFI, A.E. MEDICINAL PLANTS WITH ANTICANCER EFFECTS (PART 2)- PLANT BASED REVIEW. (2016):** Sch Acad J Pharm. 5(5): 175- 93.
- AL-YAHIA, M.A., AL-FARHAN, A. H., ADAM, S. E. I. (2000):** Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocynthis* and Nerium oleander in rats. Fitoterapia, 71: 385- 391.
- AMBI, A.A., ABDURRAHMAN, E.M., SULE, M.I., PATEH, U.U., ABDURRAHMAN, Y.R., IBRAHIM, N.D.G. (2007) :** Phytochemical screening and histopathological Studies on the Seeds of *Citrullus colocynthis* in Albino Rats. Nig Journ Pharm Sci, 6(2): 7-13.
- ANAS I Y., ULRICA E., and ANN-CHRISTINE A.,2017-**Transfer of Biomatrix/Wood Cell Interactions to Hemicellulose-Based Materials to Control Water Interaction .Chem. Rev, vol.17: 8177–8207.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (1998):** An ordinal classification for the families of flowering plants. Annals of the Missouri Botanical Garden, 85: 531–553.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (2003):** An update of the angiosperm phylogeny classification for the families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society, 141: 399–436.
- AUDIGIÉ Cl., ZONSZAIN F., 2002.** Biochimie structurale .Ed : doin éditeurs, Paris, 175-181.

B

- BABA AISSA, F. (1999)** : Encyclopédie des plantes utiles. Edition : Librairie Moderne-Rouiba.
- BAHORUN, T. (1997)** : Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food. Agric. Res. Council, Réduit, Mauritius: 83-94
- BERRI M, SLUGOCKI C, OLIVIER M ,HOLBERT S HELLOIN E .JACQUES I, SALMON H , NYVALLCOLLEN, LE GOFF M, et DEMAIS H. 2015.** L'activité antibactérienne et immunomodulatrice d'un extrait d'algue verte riche en polysaccharides sulfatés. Journées Recherche Porcine, Vol : 47. P : 309-310
- BISERTE G., BOOLANGER P., MANDEL P., POLONOVSKI J., TAYEAU F., 1977.** Biochimie médicale .Ed: Masson, 60-73.
- BO LI A, , XIAOYU ZHANG B, MINGZHU WANG B, LILI JIAO B,(2015).** Characterization and antioxidant activities of acidic polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Markino.
- BOUDJOUREF M. 2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. mémoire de magister Université Ferhat Abbes, Sétif . 64P
- BOUHADDOUDA N. (2016)-** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* . thèse doctorat . Université Badji Mokhtar Annaba.
- BOURGAUD, F., GRAVOT, A., MILESI, S., GONTIER, E. (2001):** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science ,161: 839 -851
- BOUZABATA A. 2015.** CONTRIBUTION A L'ÉTUDE D'UNE PLANTE MÉDICINALE ET AROMATIQUE MYRTUS COMMUNIS L.thèse de doctorat Université Badji Mokhtar Annaba.199P
- BRADFORD M.M., 1976.-** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding.. Analytical biochemistry vol.72: 248-254.
- BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M., BERSSET C.(1995)-** Use of a free radical methode to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel- Wissenschaft and Technology.,vol (28)., 25-30 p
- BRUDIEUX V., 2007.-** Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. A l'occasion de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 220p.
- BRUNETON J; 1999.** Pharmacognosie (Phytochimie, Plantes médicinales) 3e Ed: Tec et Doc, Paris, 34-102.

C

CAESAR L. N., 2007- Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* L. (Combretaceae) ET *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (Crassulaceae). Thèse de doctorat. Université de bamako, 179p.

CAICAI K., LIMIN H., LIMING Z., ZHIQIANG Z and YONGWU Y., 2018- Isolation, purification and antioxidant activity of polysaccharides from the leaves of maca (*Lepidium Meyenii*). International Journal of Biological Macromolecules. vol. 107: 2611-2619.

CHARELES JEUNIAUX., 1963. Chitine et chitinolyse : ED Masson, Paris, 16p.

Charnot ; 1945.la toxicology au Maroc. Mémoire Soc. Sci. Nat. Du maroc,Rabat ; n° XL VII : 826

CHEN DA., PHILIP J., HARRIS., IAN M S, ZORAN Z., LAURENCE D and MELTO N.,2017- Polysaccharide compositions of collenchyma cell walls from celery (*Apium graveolens* L.) petioles. BMC Plant Biology, vol. 17:1-13

CHEN F., HUANG G. 2018- Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng. International Journal of Biological Macromolecules.13p

CHIBANI. S. (2013)- Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'Est Algérien. Thèse de doctorat. de Constantine.199 p.

CIOLACU D., PITOL-FILHO L and CIOLACU F., 2012-Studies concerning the accessibility of different allomorphic forms of cellulose. Cellulose, vol. 19: 55–68.

COLLIEC – JOUAULT S., ZANCHETTA P., HELLEY D., RATISKOL J., SINQUIN C., FISCHER A.M. and GUEZENNEC J., 2004- Les polysaccharides microbiens d'origine marine et leur potentiel en thérapeutique humaine. Pathologie Biologie. 4p

CRONQUIST, A. (1988): The evolution and classification of flowering plants. 2nd ed. Bronx, N.Y., USA: New York Botanical Garden.

D

D.W. VAN KREVELEN; K. TE NIJENHUIS. COPYRIGHT, 2009 Elsevier B.V. Properties of polymer. Their correlation with chemical structure; their numerical estimation and prediction from additive Group contributions.

DANE, F. LIU, J., ZHANG, C. (2007): Phylogeography of the Bitter Apple, *Citrullus Colocynthis*. Genetic Resources and Crop Evolution, 54 (2): 327–336.

DANIEL, D. (2006) : Médicinal plantes, Etats Unis, p111

DE SMET, P. A. G. M., KELLER, K., HÄNSEL, R., CHANDLER, R. F. (1997) : *Citrullus colocynthis*. In Adverse Effects of Herbal Drugs. Springer (Eds). Springer-Verlag

Références bibliographiques

Berlin Heidelberg, pp: 29- 36.

DÉLATTRE CÉDRIC., 2005. Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate, pdf, 4-11.

DIALLO, D., SANOGO, R., YASAMBOU, H., TRAORE, A., COULIBALY , K. et MAIGA, A., 2004. Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.

DIF M ., BENCHIHA H ., MEHDADI Z ., BENALI-TOUMI F ., BENYAHIA M and BOUTERFAS K., 2015- Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, vol.13:314-319.

DOAT JACQUELINE., 1974. Application de la chromatographie sur couche mince a l'analyse des gommés et des bois tropicaux, pdf, 67-68.

DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. D., REBERS P. A., SMITH F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances . *Anal .vol 28:350-356.*

DUKE J.A., 1978. The quest for tolerant germplasm. In: ASA Special Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. Am. Soc. Agron. Madison; WI: 1-61

DUKE, J. A., DUKE P. K. DUCHELLIE J. L. (2008) : Duke's handbook of medicinal plants of the bible. Taylor & Francis Group, CRC Press, 6000 Broken, USA.

E

EBRINGEROVA A., KARDOSOVA A., HROMADKOVA Z., HRIBALOVA V.(2003)- Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia.*, (74)., 52–61 p.

ELFENNOUNI, M. (1985) : Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V. Casablanca, Maroc.

ENGEVIK AC., KAJI I., GOLDENRING JR ,2020 . The Physiology of the Gastric Parietal Cell. *Physiol Rev.*:100(2):573-602.

F

FANG CHEN A , GANGLIANG HUANG A, HUALIANG HUANG B(2021). Preparation, analysis, antioxidant activities in vivo of phosphorylated polysaccharide from *Momordica charantia*.

FANG CHEN, GANGLIANG HUANG, ZHIYUAN YANG, YUPENG HOU,(2019). Antioxidant activity of *Momordica charantia* polysaccharide and its derivatives.

FEI LI A,B , YUNLU WEI A,B , LI LIANG A,B , LINLIN HUANG A,B , GUOYONG YU A,B , QUANHONG LI A,B(2021). A novel low-molecular-mass pumpkin polysaccharide: Structural characterization, antioxidant activity, and hypoglycemic potential.

G

GAO J., ZHANG T., JIN Z. Y., XU X. M., WANG J. H., ZHA X. Q. and CHEN H. Q., 2015- Structural characterization, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb. Food Chemistry, vol. 169: 430-438.

GENESTIE B., 2006.- Optimisation de la production d'arabinoxyloligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales: roches méthodologiques. Thèse de doctorat, 'université de Limoges: 30-50.

GERALD KARP., 1998. Biologie cellulaire et moléculaire. 1^{edi}, De Boeck université, Paris, 47-48.

GIMENEZ F. ,BRAZIER M., CALOP J., DINE T. ,TCHIAKPE L.,et CLAERBOUT JF., 2000 _ traitement de ulcers gastro - duodenal dans pharmacies Clinique et thérapeutique ,Paris :Edition Masson ,p.1065.-

GUIGRARD JEAN.LOUIS., 1996. Biologie végétale, centre culturel universitaire ALGER, 96-107.

H

HAMMOUDA F.M., ISMAIL S.I., ABDEL-AZIM N.S., SHAMS K.A., 2005. *Citrullus colocynthis* L. A Guide to Medicinal Plants in North Africa: 87-89

HANIFI, N. (1991): Importance des ressources phylogénétiques et leur utilisation en Algérie. In conservation des ressources végétales. Publication de Actes éditions: 47-49.

HE P.F., HE L., ZHANG A.Q., WANG X.L., QU L and SUN P.L., 2017- Structure and chain conformation of a neutral polysaccharide from sclerotia of *Polyporus umbellatus*. Carbohydrate Polymers, vol. 155: 61-67.

HONG Y and YING T. 2018 - Isolation, molecular characterization and antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide extracted from the fruiting body of *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim. International Journal of Biological Macromolecules. vol 122 :115-126.

HUNT RH., CAMILLERI M., CROWE SE., et al 2015. The stomach in health and disease. Gut. ; 64(10):1650-1668.

J

J., ZHANG Y., TIAN Z., LIU F., SHI Y., LIU Y and XIA P. 2017- Astragalus polysaccharides protect against dextran sulfate sodium-induced colitis by inhibiting NF- κ B activat

JEROME J., PERRY. JAMES T., STALEY. STEPHEN LORY., 2004. Microbiologie. Ed:

Références bibliographiques

DUNOD, Paris, 247-248.

JIAO, Y. C., KUANG, H., HU, J. J., & CHEN, Q. H. (2018). Structural characterization and anti-hypoxia activities of polysaccharides from the sporocarp, fermentation broth and cultured mycelium of agaricus bitorquis (quel.) sacc. Chaidam in mice. *Journal of Functional Foods*, 51, 75-85.

JING-KUN YANA, YUN-BO YUA , CHUN WANGA , WU-DAN CAIA , LI-XIA WUA , YAN YANGB,C , HE-NAN ZHANGB,C,(2021). Production, physicochemical characteristics, and in vitro biological activities of polysaccharides obtained from fresh bitter melon (*Momordica charantia* L.) via room temperature extraction techniques.

K

KAMERLING L., BOONS GL., LEEY CH., SUZUKIA. TANIGUCHIN et VORAGENA., 2007. COMPREHENSIVE GLYCOSCIENCE, volume 2 ELSEVIER, Paris, 450-617.

KANG HC., MENIAS CO., GABALLAH AH., et al 2013. Beyond the GIST: mesenchymal tumors of the stomach. *Radiographics*. ;33(6):1673-1690.-

KAUR S., KANWARPAL S.D., ROBIN B and JASWINDER S., 2017-Genome-wide analysis of the cellulose synthase-like (Csl) gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology* .vol. 193:1-17.

KHARE, C. P. (2004): Indian medicinal plants. Springer; New York, USA, ISBN:978-0-387-70637- 5: 152.

KIM TH., SHIVDASANI RA 2016. Stomach development, stem cells and disease. *Development*.;143(4):554-565.

L

LACHHEB F., 2010-Extraction et Caractérisation Physic-Chimique et Biologique de La Matière Grasse du Noyau des Dates Essai D'incorporation dans Une Crème Cosmétique de Soin. Mémoire de Magister. Faculté des Sciences de L'ingénieur. Université de Boumerdes.112p.

LARABA, M . SERRAT ,A . OUASSAA, G.(2016). Etude *in vitro* de l'activité antioxydant des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de master en toxicologie et santé, Université des Frères Mentouri Constantine. P 40-41.

LEE Y., AYEH KO., AMBROSE M and HVOSLEF-EIDE AK.,2016- Immunolocalization of pectic polysaccharides during abscission in pea seeds (*Pisum sativum* L.) and in abscission less def pea mutant seeds. *BMC Res Notes*, vol. 31:9-427.

LEI S., 2016-Bioactivities, Isolation and Purification Methods of Polysaccharides from

Références bibliographiques

Natural Products: A review. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 92:37-48.

LI J. E., NIE S. P., XIE M. Y. and LI C., 2013- Isolation and partial characterization of a neutral polysaccharide from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru and its antioxidant and immunomodulatory activities. Journal of Functional Foods. Article in press, 9p

LIU J., WILLFO S. and XU C., 2015- A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol. 5: 31 – 61.

LI S., HAO L., KANG Q., CUI Y., JIANG H., LIU X & LU J., 2017-Purification, characterization and biological activities of a polysaccharide from *Lepidium meyenii* leaves. International Journal of Biological Macromolecules. Vol.103:1302–1310.

LLOYD, J. U., CINCINNATI, O. (1898). *Citrullus colocynthis*, botanical description, habitat and cultivation. Reprinted from the Western Druggist, Chicago. pp: 1-11

LIU D., SHENG J., LI Z., QI H., SUN S., DUAN Y. and ZHANG W., 2013- Antioxidant activity of polysaccharide fractions extracted from *Athyriummultidentatum* (Doll.) Ching. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 56: 1-5

M

MANISH KAPOOR , NAVNEET KAUR, CHANCHAL SHARMA¹ , GURDEEP KAUR , RUPINDER KAUR , KAJAL BATRA¹ and JYOTI RANI (2020). *Citrullus colocynthis* an Important Plant in Indian Traditional System of Medicine.

MARZOUK B., MARZOUK Z., DÉCORC R., EDZIRI H., HALOUID E., FENINAD N., AOUNI M., 2009. Antibacterial and anticandidal screening of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. from Medenine. J. Ethnopharmacol.; 125: 344-349.

MARZOUK, B., MARZOUK, Z., HALOUI, E., FENIN, N., BOURAOUI, A., AOUNI, M. (2010). Screening of analgesic and anti-inflammatory activities of *Citrullus colocynthis* from southern Tunisia. Journal of Ethnopharmacology, 128: 15–19.

MARZOUK, Z., MARZOUK, B., MAHJOUB, M.A. (2010): Screening of the antioxidant and the free radical scavenging potential of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. from Mednine. J Food Agric Environ., 8:261–265.

MATHEW, K.M., JHON BRITTO, S. (1981): The flora of the Tamil Nadu Carnatic, First Edition, Trichy, The Rapinat Herbarium.

MELLINGER-SILVA CAROLINE , FERNANDA F SIMAS-TOSIN , DANIELE N SCHIAVINI , MARIA FERNANDA WERNER , CRISTIANE (2011). Isolation of a gastroprotective arabinoxylan from sugarcane bagasse . Bioresource technology 102(22),

10542-10528.

MEZIANE, R. K., KHEMMAR, L., AMAMOU, F., YAZIT, M., DIDI, A., CHABANE-SARI, D. (2012). Anti- obesity and anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis* oil in the offspring of obese rats. *Annals of Biological Research*, 3(5): 2486-2490 .

MILANI, J. M., EMAM-DJOMEH, Z., REZAEI, K., SAFARI, M., GUNBARZADEH, B., & GUNASEKARAN, S. (2007). Extraction and Physicochemical Properties of Barijeh (*Ferula galbaniflua*) Gum. *International Journal of Agriculture & Biology*, 9(1), 80-83.

MILOVANOVIĆ, M., JOVANOVIĆ, K. P. (2007) : Characteristics and composition of melon seed oil. *Journal of Agricultural Sciences*, 50(1): 41- 47.

MONSIGNY M., PETIT C., ET ROCHE A.C., 1988- Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. *Analytical biochemistry*, vol. 175: 525-530.

N

NDIAYE M, SY GY , DIEYE AM, TOURÉ MT, FAYE B. (2006). Evaluation de l'activité antiinflammatoire de feuilles de *Annona reticulata* (annonaceae) sur l'oedème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* Vol: 14. P. 179-186

O

OBERDIAC P., & MINEUR L (2010). Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains: l'estomac. *Cancer/Radiothérapie.* ;14(4-5), 336-339.

OZENDA, P. (1991) : Flore et végétation du Sahara. 2éme édition. Ed. C.N.R.S. Paris. 662p.

P

PATRICK, R.L., WILLEY, E.N., FETER, B.F. (1960): Bitter apple (*Citrullus colocynthis*) poisoning. A discussion of its use as an abortifacient . *N Carolina Med J*, 21: 23-27

PENG F., PENG P., XU F AND SUN R. C., 2012-Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. *Biotechnology Advances*, vol.30: 879–903.

pp:114-115.

R

RAHIMI, R., AMIN, G., ARDEKANI, M.R.S. (2012): “A Review on *Citrullus colocynthis* Schrad: from traditional Iranian medicine to modern phytotherapy”. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 18(6): 551–554.

RAU W., HOHAUS C., JESSEN E 2019. A Differential Approach to Form and Site of Peptic Ulcer. *Sci Rep.*;9(1):8683.

REN, D. Y., ZHAO, Y., ZHENG, Q., ALIM, A., & YANG, X. B. (2019). Immunomodulatory effects of an acidic polysaccharide fraction from herbal *Gynostemma*

pentaphyllum tea in raw 264.7 cells. Food and Function, 10(4), 2186-2197.

REPETTO, MG and LLESUY, SF. (2002) .Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. Brazilian journal of medical and biological research 35(5), 523-534.

RJEIBI I . , HENTATI F . FERIANI A . HFAIEDH N, DELATTRE C, MICHAUD PH . and PIERRE G .2019. Novel Antioxidant, Anti- α -Amylase, AntiInflammatory and Antinociceptive Water-Soluble Polysaccharides from the Aerial Part of *Nitraria retusa*. vol 28: 2-17

ROBINSON, R.W., DECKER-WALTERS, D.S. (1997): Cucurbits. CABI, Wallingford, Oxfordshire.

RUIZ G., 2005.- Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat, 'université de Limoges, 230p.

S

SÁENZ C., SEPÚLVEDA E ., MATSUHIRO E. (2004)-*Opuntia* spp. Mucilages : A functional component with industrial perspectives. Journal of Arid Environment .,(57) ., 275 - 290 p.

SÁENZ JB., MILLS JC 2018. Acid and the basis for cellular plasticity and reprogramming in gastric repair and cancer. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.;15(5):257-273.

SAID O., KHALIL K., FULDER S., AZAIZEH H., 2002. Ethnopharmacology survey of medicinal herbs in Israel, the Golan height and the West Bank region. J. Ethnopharmacol.; 83: 251-265.

SAIN, R.S., JOSHI, P., SHARMA, S.N. (2004): Etude cytomorphologique dans le genre (*Citrullus* cucurbitacées). Inde.

SAMANTHA SHAROL KIENTEKA1 , MARÍLIA LOCATELLI CORRÊA-FERREIRA1 , CARMEN LÚCIA DE OLIVEIRA PETKOWICZ,(2018). Characterization of cell wall polysaccharides from *Sicana odorifera* fruit and structural analysis of a galactan-rich fraction pectins as side chains.

SAMARTH RM, PANWAR M, KUMAR M, SONI A, KUMAR M, KUMAR A 2008. Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. Food Chem; 106 (2): 868-873.

SAWAYA W.N., DAGHIR N.J., KHALIL J.K., 1986. *Citrullus colocynthis* seeds as a potential source of protein for food and feed. Journal-of Agricultural and Food Chemistry; 34 (2): 285-288.

SAWAYA, W.N., DAGHIR, N.J., KHALIL, J.K. (1988): *Citrullus colocynthis* seeds as a

potential source of protein for food and feed. J. Agric. Food Chem., 34: 285-288

SEN GUPTA, A., CHARKRABARTY, M.M.J. (1963): The science of food and agriculture, Varanasi.

SHAFAEI, H., ESMAEILI, A., SOLEIMANI RAD, J., DELAZAR, A. BEHJATI, M. (2012): *Citrullus colocynthis* as a medicinal or poisonous plant: A revised fact. Journal of Medicinal Plants Research., 6(35) :4922-4927.

SHAHIDI F. and ZHONG Y., 2015- Measurement of antioxidant activity. Journal of functional foods, 25p.

SHU, Z. P., YANG, Y. N., XING, N., WANG, Y., WANG, Q. H., & KUANG, H. X. (2018). Structural characterization and immunomodulatory activity of a pectic polysaccharide (calb-4) from fructus aurantii. International Journal of Biological Macromolecules, 116, 831-839.

SINCICH, F. (2002): Bedouin traditional medicine in the Serian steppe. Rome, FAO.

SINGLETON V. L and ROSSI J. A., 1965- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, vol.16:144–158.

SNEHASISH B., OKAKO O., DAVID G., SRINIVAS T., JOCHEN Z., JEFFREY M and CATCHMAR K.,2016- Cellulose Microfibril Formation by Surface Tethered Cellulose Synthase Enzymes. American Chemical Society, vol.10: 1896–1907.

SOUSA S G., OLIVEIRA L. A., DE AGUIAR MAGALHÃES D., DE BRITO T. V., BATISTA J. A., PEREIRA C. M. C and DOS REIS BARBOSA A. L., 2018- Chemical structure and anti-inflammatory effect of polysaccharide extracted from *Morinda citrifolia* Linn (Noni). Carbohydrate Polymers, vol.197: 515–523.

SPICHIGER, R. E., SAVOLAINEN, V.V., FIGEAT, M., JEANMONED, D. (2002): Botanique systématique des plantes à fleur. Presses polytechniques et Universitaires romandes, CH Lausanne.

STEVENS P.F. (2001): Angiosperm Phylogeny Website (APweb).[www.mobot.org/MOBOT/research /A Pweb/](http://www.mobot.org/MOBOT/research/A_Pweb/) (accessed 12 July 2015).

T

TABARSA M., YOU, S., DABAGHIAN E. H and SURAYOT U., 2018 –Water-soluble polysaccharides from *Ulva intestinalis*: Molecular properties, structural elucidation and immunomodulatory activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, vol 26: 599–608.

THABREW M. I., ARAWWAWALA L. D. A. M., 2018 -An Overview of In Vivo and In Vitro Models that can be used for Evaluating Anti-Gastric Ulcer Potential of Medicinal Plants”. Austin publishing group,.

THIMOTHY, J. N. (1993): New opportunities in the cucurbitaceae. In: Jarala J. Simon J. E. (eds), *New corps*. Wiley, New York. pp: 538-546.

V

VANDAMME EJ., S.DE BÆTS AND A.STEINBÜCHEL. 2002. Imp.: WILEYVCH. *Biopolymers –polysaccharides II*, 322-323.

VERBERT ANDRE., JEAN MONTREUIL,1997. *Analyse des glucides et des glycoprotéines*, ELSEVIER, CNRS, Univ des Sciences et Technologie de Lille, 1p.

VICTOR COSTA CASTRO-ALVES A , JOÃO ROBERTO OLIVEIRA DO NASCIMENTO A,B,C,(2016). Polysaccharides from raw and cooked chayote modulate macrophage function.

W

WALISZEWSKA H. M., ZBOROWSKA M ., WALISZEWSKA B ., BORYSIK B. A., ANTCZAK W and CZEKAŁ A.,2018- Transformation of *Miscanthus* and *Sorghum* cellulose during methane fermentation.*Cellulose*, vol. 25.1-10.

WANG D., YEATS T. H., ULUISIK S., ROSE J. K. C & SEYMOUR G. B., 2018- Fruit Softening: Revisiting the Role of Pectin. *Trends in Plant Science*. Vol.23(4): 302–310.

WANG J., HU S., NIE S., YU Q., XIE, M. 2016- Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–13.

WANG L., ZHANG B., XIAO J., HUANG Q., LI C & FU X., 2018- Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit. *Food Chemistry*. Vol.249:127–135.

WANG X., ZHANG Z., YAO Z., ZHAO M., QI H., 2013.- Sulfation, anticoagulant and antioxidant activities of polysaccharide from green algae *Enteromorpha linza*. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.58: 225-230.

WANG Z. B., PEI J. J., MA H. L., CAI P. F. and YAN J. K., 2014-Effect of extraction

Références bibliographiques

media on preliminary characterizations and antioxidant activities of *Phellinus linteus* polysaccharides. Carbohydrate Polymers, vol. 109:49–55.

WANG, J., ZHANG, Q.B., ZHANG, Z.S., SONG, H.F and LI, P.C., 2010b- Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 46: 6-12.

WANG, S., ZHU, F. (2019). Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). Food chemistry, 288, 422-443.

WARRAND J., 2004- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Thème doctorat. Université de Picardie Jules Verne, Amien cedex. Pp 79-80.

WARRAND J., 2004.- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitassimum*). Thèse de Doctorat, Université de Picardie jules verne, 238 p.

Y

YANG X., ZHAO Y., et LV Y., 2008 - In vivo macrophage activation and physicochemical property of the different polysaccharide fractions purified from *Angelica sinensis*. Carbohydrate Polymers, vol. 71: 372-379.

YANIF Z., ELLASHABELSKY, SCHAFFERMAN D., 1999. Colocynth : Potential arid land oil seed from an ancient cucurbit. in: J. Janick (Ed). Perspectives on new corps and new use. ASHS press; Alescendria VA

YANIV, Z., SHABELSKY, E., SCHAFFERMAN, D. (1999): Colocynth: Potential arid land oil seed from an ancient cucurbit. Journal of janich(ed) Prespectives on new crops and new uses. J. Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA. pp: 257-p261.

YOON S.J., PEREIRA M. S., PAVA M. S. G., HWANG J. K., PYUN Y. R., MOURA P. A. S., 2002.- The medicinal plant *Poranavolubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II. Thrombosis Research, vol. 106: 51– 58.

YOUNG-SIK KIM ,HYO JIN PARK,HOICHEOL KIM,JUNGBIN SONG,and DONGHUN LEE 2019.Gastroprotectrive Effects of Paeonia Extract Mixture HT074 against Experimental Gastric Ulcers in Rats.Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Z

ZABEIROU H., 2001. Contribution à l'inventaire des plantes spontanées et leur utilisation éventuelle en médecine traditionnelle par la population de Ouargla. Mémoire. Ing. Agro. Sah, INF/AS, Ouargla, 180p.

- ZAMANI, M., ALIREZA, O.R., REZA, M., MOHAMMED, N., MORTEZA, V.J., HASSAN, R., ABBAS, D.,LUTFUN, N., SATYAJIT D.S. (2007):** Assessment of anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis*. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 17(4), 492-496
- ZHANG N., WANG Y., KANJ., WU X., ZHANG X., TANG S., SUN R., LIU J., QIAN C and JIN C., 2019-***In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory effects of water soluble polysaccharide from *Arctium lappa*. International Journal of Biological Macromolecules. Vol.135:717-724. 127.
- ZHANG Y., ZHANG J., MO X., LU X., ZHANG Y. and QIN L., 2010.-** Modification, characterization and structure–anticoagulant activity relationships of persimmon polysaccharides. Carbohydrate Polymers, vol. 82: 515–520.
- ZHANG Z., LV G., HE W., SHI L., PAN H. and FAN L., 2013-** Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes*. Carbohydrate Polymers, vol. 98: 1524-1531.
- ZHAO B., ZHANG J., GUO X. and WANG J., 2013-** Microwave-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb and its antioxidant activities evaluation. Food Hydrocolloids, vol. 31: 346-356.-
- ZHAOJING WANG , DIANHUI LUO,(2007).** Antioxidant activities of diVerent fractions of polysaccharide puriWed from *Gynostemma pentaphyllum* Makino.
- ZIYYAT A., LEGSSYER A., MEKHFI H, DASSOULI A., SERHROUCHNI M., BENJELLOUN W. (1997):**Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. Journal of Ethnopharmacology, 58: 45-54.
- ZIYYAT A., LEGSSYER A., MEKHFI H, DASSOULI A., SERHROUCHNI M., BENJELLOUN W. (1997) :** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. Journal of Ethnopharmacology, 58: 45-54.
- ZOHARY, D. HOPF, M. (2000):** Domestication of Plants in the Old World. Oxford University Press, Oxford, UK.
- ZUZANA KOST'ÁLOVÁ ~ A, ZDENKA HROMÁDKOVÁA, ANNA EBRINGEROVÁA, MARTIN POLOVKA B, TERJE EINAR MICHAELSENC, BERIT SMESTAD PAULSENC,(2013).** Polysaccharides from the Styrian oil-pumpkin with antioxidant and complement-fixing activity.

Annexes

Annexe 1

Les différentes gammes étalons sont illustrées dans les tableaux suivants :

Tableau 7 : Préparation de la courbe d'étalonnage d'oses totaux et d'oses neutres

Réactifs	Blanc	0.01%	0.02%	0.04%	0.06%	0.08%	0.1%
Eau distillée (ml)	1	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0.9
Glc (solution mère 0,1%) (ml)	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	0.1
Concentration (g/l)	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	0.1

Tableau 8 : Préparation de la courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

Concentration (g/l)	Blanc	0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	1
Eau distillée (ml)		0.95	0.9	0.75	0.5	0.25	4
Acide gallique (mg)		0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	4

Tableau 9 : Préparation de la courbe d'étalonnage des protéines (**BRADFORD**)

Réactifs	Blanc	0.001%	0.002%	0.005%	0.008%	0.01%
Eau Distillée	0	0.9	0.8	0.5	0.2	0
BSA (solution mère 0,01%) (ml)	1	0.1	0.2	0.5	0.8	1
Concentration (g/l)	1	0.1	0.2	0.5	0.8	1

Tableau 10 : Préparation de la courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante

Concentration (mg/ml)	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
Eau distillée (ml)	0.45	0.4	0.3	0.2	0.1	0
BHA	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5

BHA : une solution méthanolique de 1mg/ml

Annexe 2

Les différentes courbes d'étalonnages

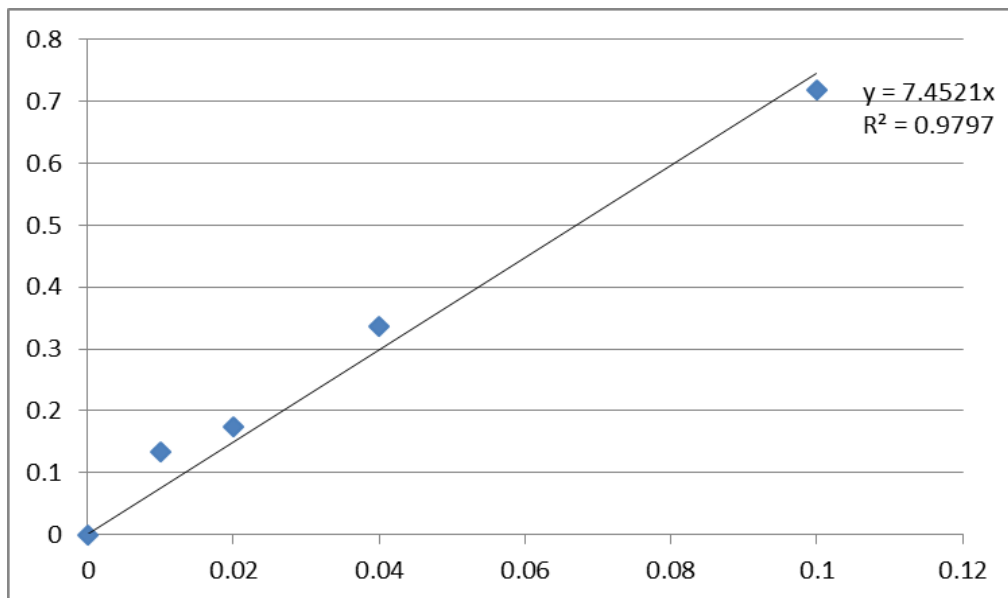


Figure 16: Courbe d'étalonnage des oses totaux (glucose)

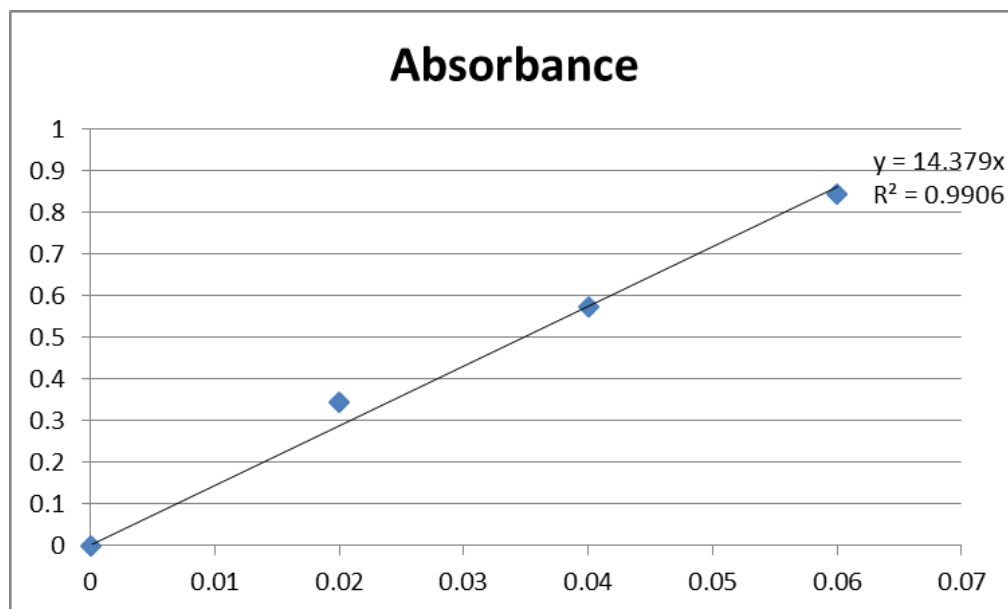


Figure 17: Courbe d'étalonnage des oses neutres (glucose)

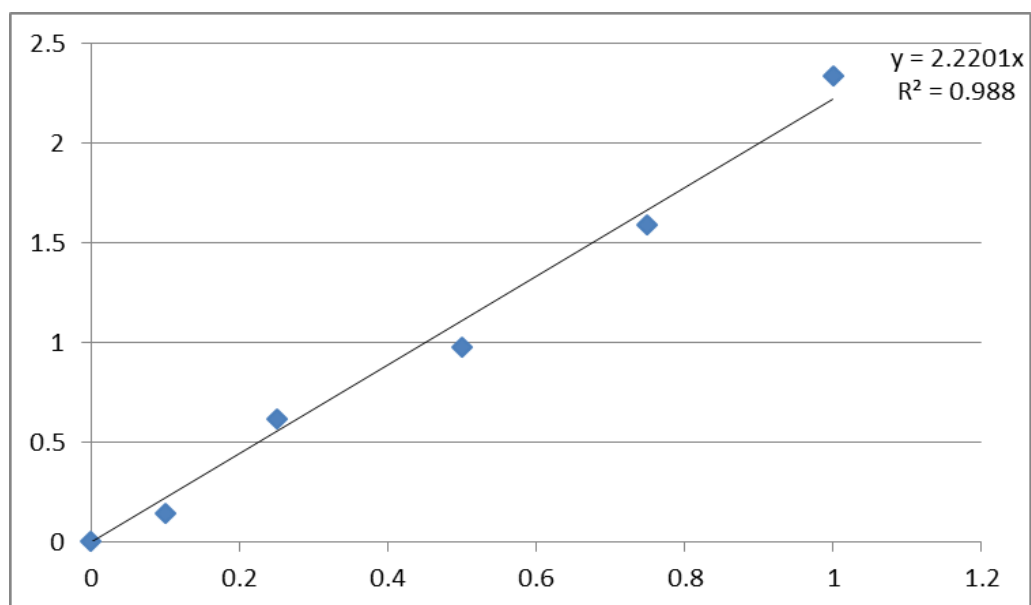


Figure 18: Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux (acide gallique)

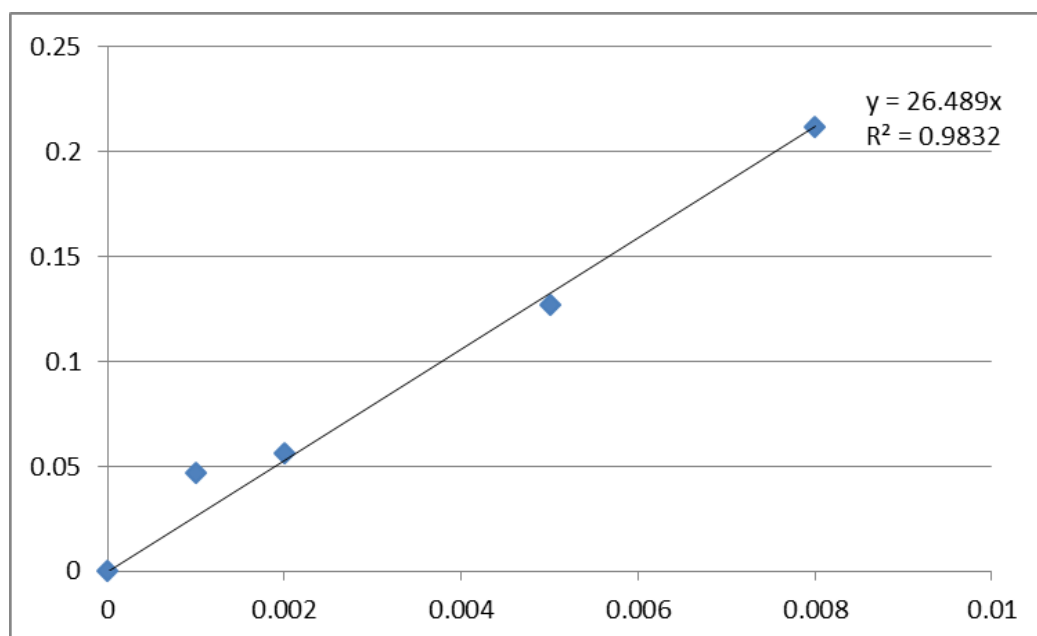


Figure 19: Courbe d'étalonnage des protéines (BSA) la méthode de **BRADFORD**

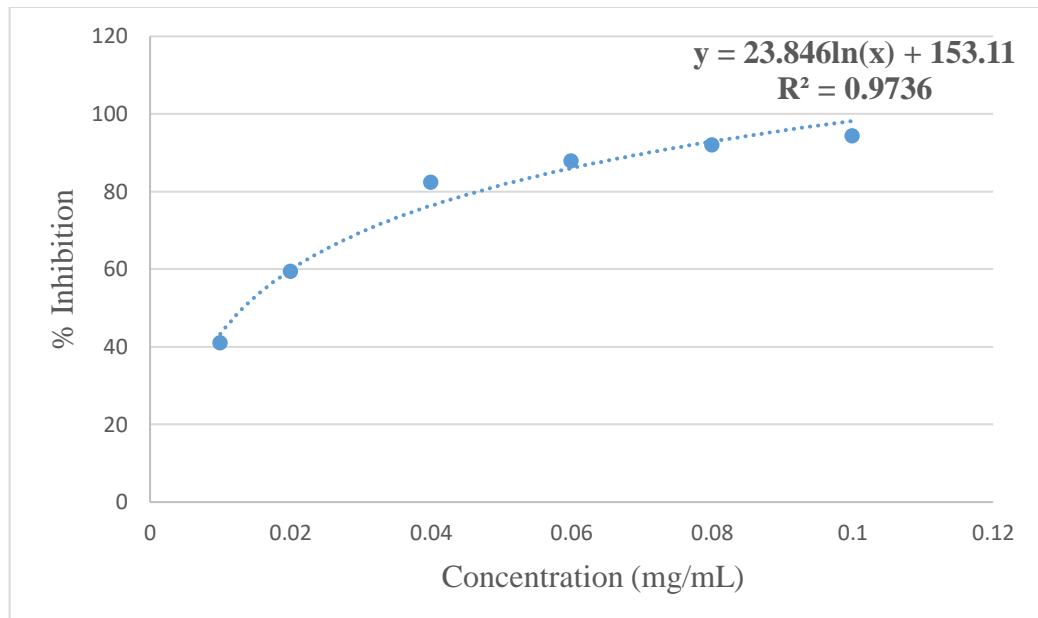
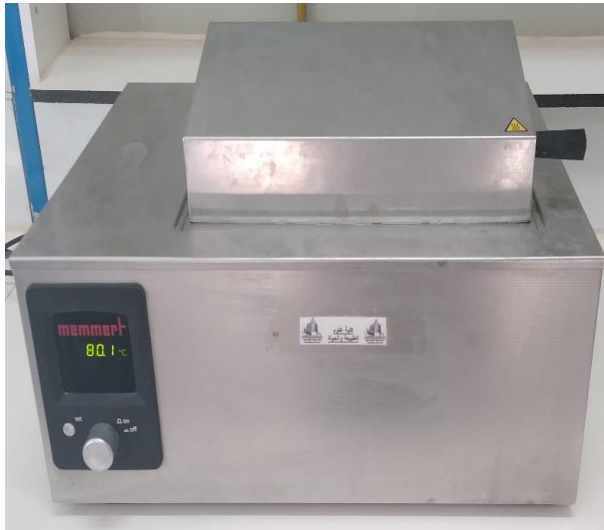


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de BHA pour le test de DPPH

Annexe 3

Les photos du matériel utilisé au cours de l'expérimentation sont présentées



Bain marie



Etuve



Spectrophotomètre



Centrifugeuse



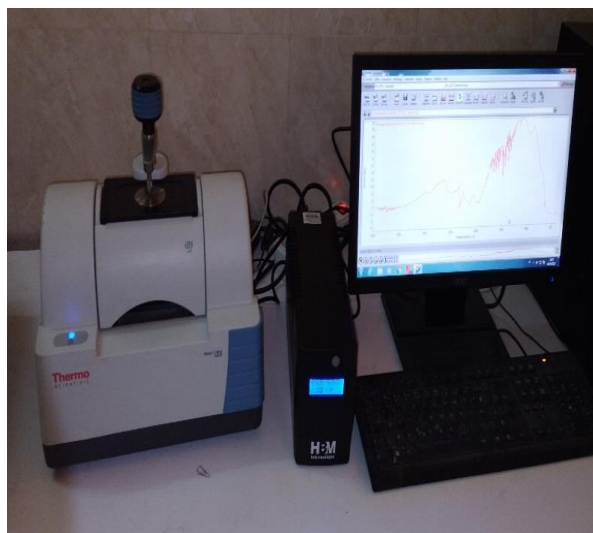
Thrombotimer



Agitateur magnétique/



Balance



Spectre IR

Balance de précision



Rotavapeur

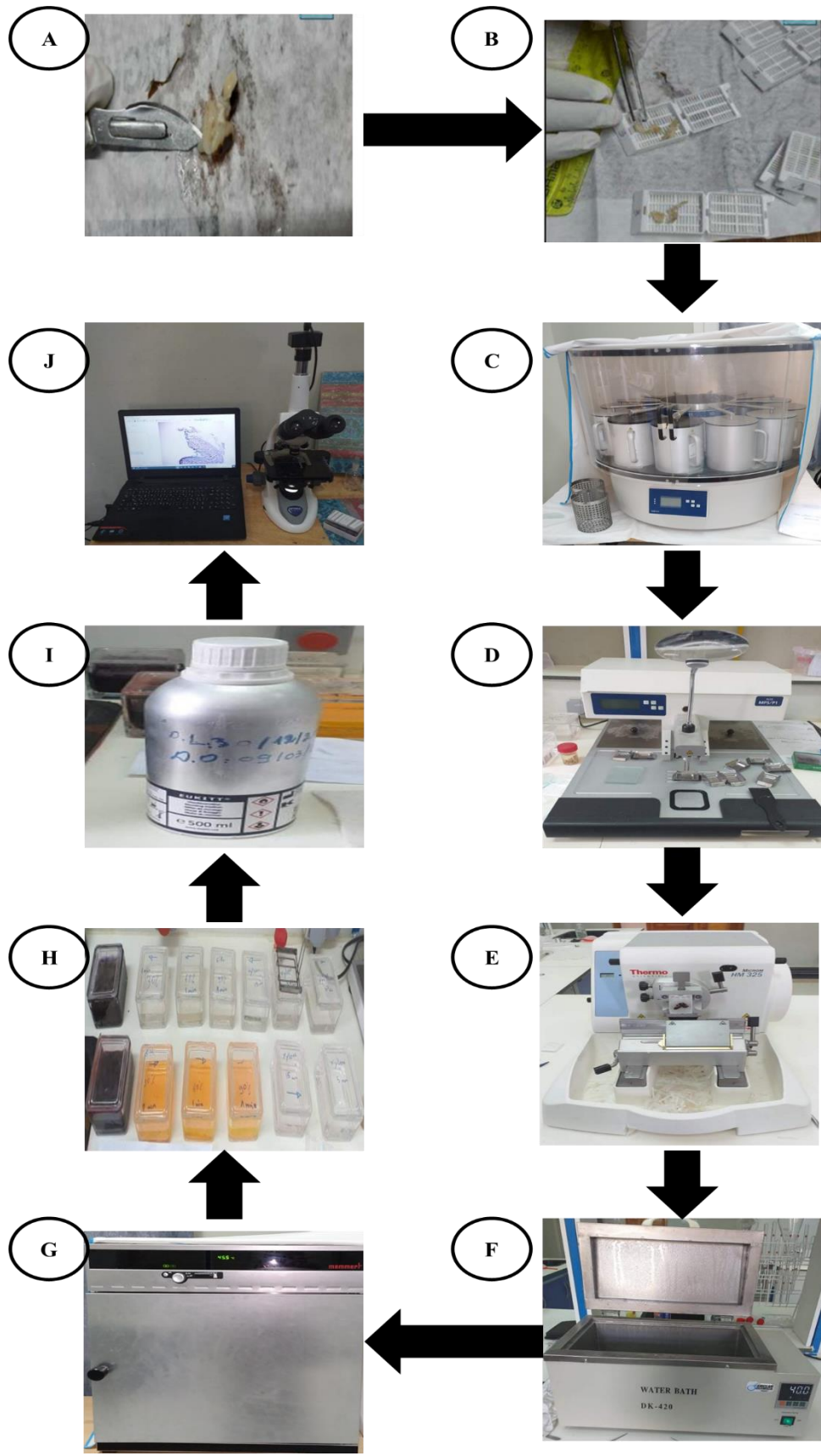


Figure 21 : les étapes d'observation microscopique

Annexes

- A** : Découpage de l'échantillon.
- B** : Mis en cassettes.
- C** : Automate
- D** : Appareil d'inclusion
- E** : Microtome.
- F** : Bain marie.
- G** : Etuve
- H** : Processeur de coloration
- I** : Montage des lames.
- J** : Lecture des lames sous Microscope.