



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
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 de l'activité anti - inflammatoire
des polysaccharides hydrosolubles d'*Astragalus gombo*
chez les rats *Wistar albinos***

Présentés Par :

M^{elle} ZOBIRI Ouidad

M^{elle} HAMAITI Meriem

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} .MAHBOUB N.	M.C.B,	Université d'El Oued
Examinateur :	Mr.TLILI M.L	M.A.A,	Université d'El Oued
Promotrice :	M ^{elle} .MEHELLOU Z.	M.A.B,	Université d'El Oued

- Année universitaire 2018/2019-

REMERCIEMENTS

*Nos remerciements vont tout d'abord à **ALLAH** le tout puissant pour nous avoir donné la volonté, la patience et le courage de réaliser ce modeste travail.*

*A l'issue de l'actualisation de cette étude, nous tenons à remercier **Mlle MEHELLOU Zineb** pour avoir bien voulu de prendre en charge ce travail. En tant que promotrice, ses conseils et son aide, à la fois sur le contenu et sur la rédaction, ont été très précieux. Nous lui adressons également toute notre gratitude pour son soutien moral.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mme N. MAHBOUB** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire malgré ses nombreuses charges.*

*Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à **Mr Med. L. TLILI** d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à lui l'expression de notre grand respect.*

*De même, nos remerciements s'adressent à **M^{lle} CHENNA Djihad** pour ses assistes et ses conseils au cours de la réalisation de ce travail*

*De même, nous remercions tous **les membres de laboratoire de la faculté de sciences de la nature et de la vie de l'université ECHAHID HAMMA LAKH DAR d'El Oued**, qui nous avoir aidé à la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons notre profonde gratitude à nous famille qui ont nous a toujours soutenu, et à **l'ensemble des enseignantes** qui ont contribué à nos formation au niveau de tous les cycles d'études.*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

A mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

A mes très chers frères et sœurs

A mes chères neveux et nièces « Tahar ,Yassar , Asile ,lylaf »

MERJEM et OUIDAD



Liste des Photos

Photo 1 : <i>Astragalus gombo</i> à DEBILA (El Oued, Algérie)	19
Photo 2 : Observation microscopique des globules blancs	36
Photo 3 : Lots expérimental	60
Photo 4 : Gavage gastrique	60
Photo 5 : L'injection de la carragénine	60
Photo 6: Mesure de l'œdème	60
Photo 7 : Préparation de frottis	60

Liste Des Figures

Figure 1 : Structure du glycogène (PAL <i>et al.</i> ,2015)	06
Figure 2: Structure d'héparine (MALLEDAN ,2017)	07
Figure 3 : Structure du kératane sulfate (FRANCIS SUH et MATTHEW,2000)	07
Figure 4 : Structure de la cellulose (YVES, 2008)	08
Figure 5 : Structure de la pectine (POPA,2011)	09
Figure 6 : Structure de l'amylose (VOET & VOET, 2005)	10
Figure 7 : Structure de l'amylopectine (GABERT & GALONS, 2011)	10
Figure 8 : Structure de galactomannanes (GEETA <i>et al.</i> , 2018)	11
Figure 9 : Structure d'un fructane (ZHANG <i>et al.</i> ,2013)	12
Figure 10:: Composition des extraits bruts de polysaccharides d'A. gombo	29
Figure 11: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait brut des polysaccharides d'A. gombo et de l'acide ascorbique	30
Figure 12 : Pourcentages d'inhibition la dénaturation des protéines en fonction de la concentration diclofénac de soduim	32
Figure 13: Pourcentages de l'augmentation de patte (%AUG) des rattes des différents groupes au cours du temps	33
Figure 14: Pourcentages d'inhibition de patte (%INH) des rattes des différents groupes au cours du temps	34
Figure 15: Courbe d'étalonnage pour les oses totaux (DUBOIS, 1956)	58
Figure 16 : Courbe d'étalonnage des oses neutres (MONSIGNY, 1988)	58
Figure 17 : Courbe d'étalonnage pour les protéines (BRADFORD, 1976)	59

Liste des Annexes

Annex 1 : Dosage des oses et protéines **58**

Annex 2 : Activité anti inflammatoire *in vivo* **60**

Sommaire

Remerciements
Dédicace
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des annexes
Introduction

Chapitre I – Synthèse bibliographique

I.- Aperçu sur les polysaccharides et leurs activités biologiques	05
I.1.- Généralités sur les polysaccharides	05
I.1.1.- Polysaccharides animaux	05
I.1.1.1.- Glycogène	06
I.1.1.2.- Héparine	06
I.1.1.3.- Kératane sulfate	07
I.1.2.-Polysaccharides végétaux	07
I.1.2.1.- Polysaccharides structuraux	08
I.1.2.1.A.- Cellulose	08
I.1.2.1.B.- Hémicelluloses	08
I.1.2.1.C.- Pectines	09
I.1.2.2.- Polysaccharide de réserve	09
I.1.2.2.A.- Amidon	10
I.1.2.2.B.-Galactomannanes	11
I.1.2.2.C.- Fructane	11
I.1.3.-Gommes et mucilages	12
I.2.-Propretés des polysaccharides	12
I.3.- Activités biologiques des polysaccharides	13
I.3.1.-Activité immunomodulatrice des polysaccharides	13
I.3.2.-Activité anti-inflammatoire	14
I.3.3.- Activité antioxydante	15

Chapitre II - méthodologie de travail

II.1.-Principe d'étude	17
II.2.- Matériel d'étude	18
II.2.1.- Choix des espèces végétales	18
II.2.1.1.- <i>Astragalus gombo</i> Coss. et Dur	18
II.2.1.2.- Position botanique	19
II.2.2.- Matériel biologique	19
II.2.2.1.- Matériel végétal	19
II.2.2.2.- Matériel animal	19
II.3.- Méthodes d'étude	20
II.3.1.- Technique de séchage et de broyage	20
II.3.2.- Extraction des polysaccharides hydrosolubles	20
II.3.2.1.- Calcul du rendement	20
II.3.3.- Composition des extraits bruts de polysaccharides	21
II.3.3.1.- Dosage des protéines	21
II.3.3.1.1.- Principe	21
II.3.3.1.2.- Mode opératoire	21
II.3.3.2.- Dosage des oses totaux	21
II.3.3.2.1.- Principe	21
II.3.3.2.2.- Mode opératoire	22
II.3.3.3.- Dosage des oses neutre	22
II.3.3.3.1.- Principe	22
II.3.3.3.2.- Mode opératoire	22
II.4.- Activités biologiques des polysaccharides	23
II.4.1.- Activité antioxydante	23
II.4.1.1.-Principe	23
II.4.1.2.-Mode opératoire	23
II.4.1.3.- Pourcentage d'inhibition	23
II.4.1.4.- Calcul le concentration d'inhibition (IC ₅₀)	24
II.4.2.- Activité anti- inflammatoire	24
II.4.2.1.- Test d'activité anti inflammatoire <i>in vitro</i>	24
II.4.2.2.- Evaluation l'activité anti- inflammatoire <i>in vivo</i>	24
II.4.2.2.1- principe	25
II.4.2.2.2- Mode opératoire	25
II.4.2.2.3.- Pourcentage d'augmentation	25

II.5.-Préparation frottis	26
II.5.1.- Préparation des lames	26
II.5.2.-Coloration de May-Grunewald Giemsa	26
II.6.- Analyse statistiques	26
Chapitre III - Résultats et discussion	
III.1.- Rendements d'extraction	28
III.2.- Composition des extraits bruts des polysaccharides	29
III.3.- Activités biologiques des extraits polysaccharidiques	30
III.3.1.- Activité antioxydante	30
III.3.2.- Activité anti inflammatoire	31
III.3.2.1.- Activité anti inflammatoire <i>in vitro</i>	31
III.3.2.2.- Activité anti inflammatoire <i>in vivo</i>	32
Conclusion et perspectives	38
Références bibliographiques	41
Annexes	58
Résumés	

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles (KHALDI, 2015). L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population globale dépend notamment de la médecine traditionnelle pour les soins sanitaires. Il est rapporté aussi que 51% des préparations médicamenteuses dans les pays industrialisés dérivent de plantes qui agissent comme sources d'agents thérapeutiques modèles pour de nouveaux composés synthétiques ou comme matière de base pour la production semi synthétique de molécules de haute complexité (ZIANE, 2016).

Le genre *Astragalus* contient environ 3000 espèces et représente l'un des plus grands genres de la famille des Fabaceae. Il est largement répandu dans les régions tempérées du monde et principalement situé en Europe, en Asie et en Amérique du nord. Ce genre est représenté en Algérie par environ 40 espèces, y compris *Astragalus gombo* Coss et Dur. Cette plante vivace endémique se développe dans les pâturages arides et désertiques de l'Algérie (QUEZEL et SANTA, 1963). Elle est utilisée traditionnellement dans le traitement de plusieurs maladies dont la douleur, la fièvre, et les blessures (BOUAL *et al.*, 2014).

Par ailleurs, les polysaccharides qui sont appelés polyosides ou glycanes sont formés de nombreuses unités monosaccharidiques liées entre elle par liaison glucidique (BECHOUA *et al.*, 2017). Les polysaccharides présents dans la plupart des organismes vivants, se trouve dans les algues, les animaux et principalement dans les végétaux (GABERT et GALONS, 2011). Au cours des dernières années, les polysaccharides naturels ont suscité de plus en plus d'attention pour des activités pharmacologiques intéressantes sans entraîner d'effets secondaires significatifs. Il est rapporté que des polysaccharides isolés à partir de différentes ressources naturelles présentaient des activités anti-tumorales, analgésiques (CHEN *et al.*, 2019), immunomodulatrice, radioprotectrice, antidiabétique, hépatoprotectrice, antivirale, antifatigue (WANG *et al.*, 2019), antioxydantes et anti-inflammatoire (CUI *et al.*, 2018). Ces propriétés fonctionnelles des polysaccharides sont étroitement liées à leurs structures chimiques (JEDDOU *et al.*, 2016).

L'objectif de la présente étude est d'identifier des polysaccharides et fournir des nouvelles connaissances au sujet de leurs activités biologiques (anti-inflammatoire et antioxydant). Ainsi, on cible vers un élargissement de leurs spectres d'exploitation dans le domaine biomédical. Comme on vise aussi vers une contribution à la valorisation des plantes spontanées à caractère médicinal du Sahara septentrional Est algérien et une justification de leurs utilisations en médecine traditionnelle.

Le présent document est structuré en trois chapitres, dont la première est consacrée à une synthèse bibliographique qui décrit un aperçu général sur les polysaccharides, dans laquelle est présentée leurs activités biologiques (anti-inflammatoire et antioxydant). La seconde chapitre porte principalement sur les techniques expérimentales d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des graines d'*Astragalus gombo* et de la détermination de leur composition globale. Ainsi, il indique les tests réalisés pour l'évaluation des activités anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*, et l'activité antioxydante *in vitro*. Le troisième chapitre expose les principaux résultats obtenus, suivi d'une discussion. Enfin, une conclusion générale qui porter sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives qui sont un ensemble de réflexions, achèvent ce travail.

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

I.- Aperçu sur les polysaccharides et leurs activités biologiques

Ce chapitre traite dans sa première partie des généralités sur les polysaccharides, en particulier les polysaccharides animaux et végétaux. La deuxième partie de ce chapitre porte sur les polysaccharides extraits à partir des plantes et leurs activités biologiques.

I.1.- Généralités sur les polysaccharides

Les glucides ou saccharides sont les molécules biologiques les plus abondantes. Leur formule brute générale $(CH_2O)_n$ qui donne le nom d'hydrates de carbone ou carbohydrates. Les unités de base des glucides sont appelées monosaccharides ou oses. Ce sont des polyhydroxyaldéhydes ou des polyhydroxycétones contenant entre 3 et 7 atomes de carbone. Les osides sont des polymères d'oses liés entre eux par des liaisons de type O glycosidique. Ces derniers sont classés en deux catégories en fonction de leur degré de polymérisation (dp). Les polysaccharides (polyholosides ou polyosides ou glycanes) dont le dp est supérieur à 10 (CHOUANA, 2017).

Les structures des polysaccharides sont majoritairement constituées d'hexoses et/ou de pentoses liés les uns aux autres par des liaisons O-glycosidiques. Il est distingué les homopolysaccharides constitués d'un seul type d'oses et les hétéropolysaccharides constitués de plusieurs types d'oses (BENAOUN, 2017). Ces polymères peuvent être linéaires ou ramifiés, avec un poids moléculaire de dizaines de milliers voire de millions (YUE YUA *et al.*, 2018).

Les polysaccharides peuvent être obtenus à partir d'un certain nombre de sources, y compris les algues, les plantes, les bactéries, les champignons, les insectes, les crustacés et les animaux. Ils peuvent être ajustés structurellement grâce au génie génétique (PRAJAPATI *et al.*, 2014). Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure, leur solubilité, leurs sources, leurs rôles biologiques et leurs applications (CHOUANA, 2017).

I.1.1.- Polysaccharides animaux

Les glycosaminoglycanes sont une famille de polysaccharides complexes, linéaires et non ramifiés (VIVES, 2011), sulfatés, négativement chargés et poids moléculaire qui varie entre 10- 100 KDa (NERÉE, 2016). Ils se constituent de la répétition d'unités disaccharidiques qui sont

composées d'une hexosamine, D-glucosamine ou D-galactosamine et d'un acide uronique, acide D-glucuronique ou L-iduronique ou d'un galactose (MARTINEZ, 2014).

I.1.1.1.- Glycogène

C'est la forme de stockage du glucose chez les animaux et chez certains organismes unicellulaires comme les levures (WEIL, 2009). Le glycogène s'accumule temporairement comme réserve énergétique dans les muscles squelettiques et dans le foie (BLECHER-BARDELETTI, 2014). Il trouve la structure ramifiée du glycogène à partir d'une structure linéaire. Il est fixé sur une protéine. Des ramifications apparaissent toutes les 4 à 10 résidus glucose fixés sur la chaîne linéaire par des liaisons α (1 \rightarrow 6) (KAMOUN *et al.*, 2003).

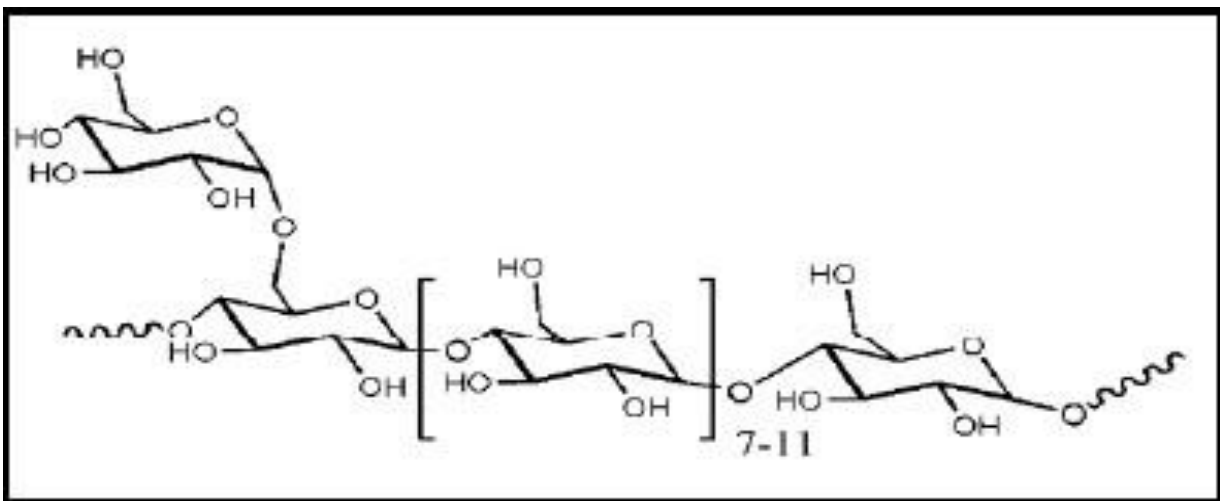


Figure 01.- Structure du glycogène (PAL *et al.*, 2015)

I.1.1.2.- Héparine

L'héparine est un polysaccharide linéaire hautement sulfaté contenant principalement une unité disaccharidique répétée (α -D-glucosamine en alternance avec de l'acide α -L-iduronique) (SOUSA *et al.*, 2015). Il est retrouvé dans des grains de sécrétion de cellules présentes à la surface vasculaire et abondante dans les poumons le foie et la peau (HENNEN, 2006).

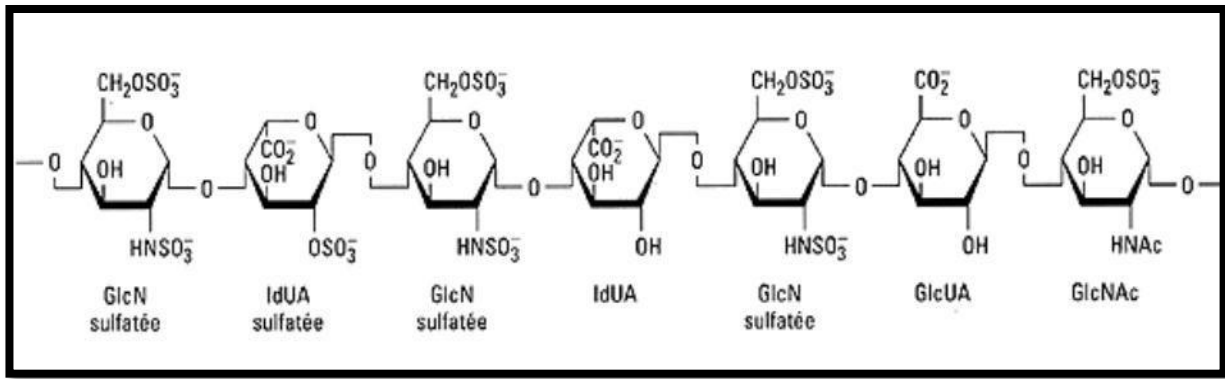


Figure 02.- Structure d'héparine (MALLEDAN, 2017)

I.1.1.3.- Kératane sulfate

Le kératane sulfate est présent dans le cartilage, la cornée et les disques intervertébraux. Avec une protéine, il forme un protéoglycane, dont l'unité de base est la N-acétyllactosamine sulfatée sur la position 6 de la N-acetyl-glucosamine (BEAMONT, 2015). Le kératane sulfate est le seul type de glycosaminoglycane qui ne porte pas un résidu acide tel que l'acide glucuronique ou de l'acide iduronique fréquemment observés dans le chondroïtine sulfate (POMIN, 2015).

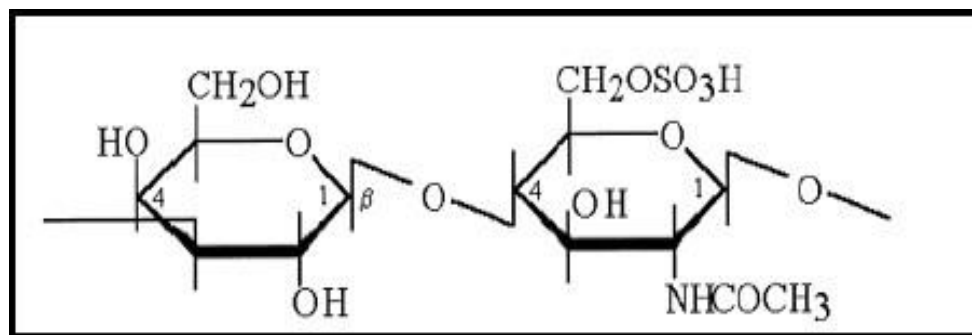


Figure 03.- Structure du kératane sulfate (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000)

I.1.2.- Polysaccharides végétaux

Les polysaccharides se trouvent principalement dans des plantes et des algues qui produisent plus de 90 % des polysaccharides totaux existant sur la terre. Sur la base de leur rôle biologique, ils peuvent être classés en polysaccharides structuraux, en polysaccharides de réserves d'énergie et en exsudats et mucilages (DI DONATO *et al.*, 2015).

I.1.2.1.- Polysaccharides structuraux

Il est indiqué la cellulose, les hémicelluloses et les pectines.

I.1.2.1.A.- Cellulose

La cellulose est un polymère linéaire et très ordonné, avec un poids moléculaire élevé de 10^6 Da ou plus. Elle contient de résidus de D-glucose unis par des liaisons β (1 \rightarrow 4) (FLOCH *et al.*, 2015). Elle est insoluble dans la plupart des solvants. Sa structure cristalline en découlant des propriétés mécaniques de résistance, et un arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles qui apporte également une grande flexibilité. L'ensemble de ces propriétés physico-chimiques et mécaniques, en plus de sa grande abondance et disponibilité, font de la cellulose l'un des polysaccharides le plus étudié. Elle est un des polysaccharides les plus exploités dans différents domaines tels que l'agroalimentaire, l'industrie chimique, la pharmacie, les biocarburants et pour la production de matières plastiques telles que la cellophane (CHOUANA, 2017).

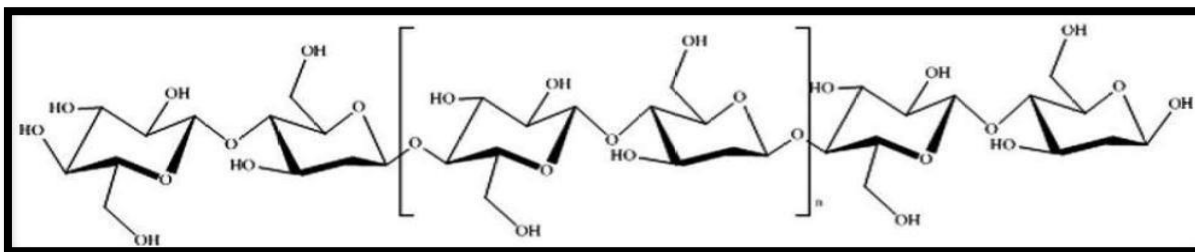


Figure 4.- Structure de la cellulose (YVES, 2008)

I.1.2.1.B.- Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont un groupe de polysaccharides hétérogènes qui sont formés par des voies biosynthétiques différentes de celles de la cellulose (ASHTER, 2018). Les hémicelluloses présentent un haut degré de variabilité en fonction des espèces végétales, du type de tissus et des stades de maturité (ADLER, 2014; MOINE, 2005). Contrairement à la cellulose qui est un homopolysaccharide, les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides. Les hémicelluloses fonctionnent comme matériel de soutien dans les parois cellulaires. Ils sont facilement hydrolysés par les acides à leurs composants en monomères, composé de D-glucose, de D-mannose, de D-galactose, est D-xylose, L-arabinose et de petites quantités de L-rhamnose en plus de l'acide D-

glucuronique, de l'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique et de l'acide D-galacturonique. En raison de leurs structures amorphes, les hémicellulose ont une réactivité plus élevée que celle de la cellulose (ASHTER, 2018).

I.1.2.1.C.- Pectines

Les pectines sont une famille de polysaccharides complexes (JIKE *et al.*, 2019) et l'un des composants majeurs des parois cellulaires primaires et cellulaires moyennes des plantes supérieures (CHEN *et al.*, 2019). Elle est principalement composée de trois types, dont homogalacturonanes (HGA), rhamnogalacturonans I (RGI) et rhamnogalacturonans II (RGII) (MUNGURE *et al.*, 2018).

Le squelette HG est composé de résidus d'acide galacturonique et peut être estérifié, méthyle et / ou acétylé. Les résidus de rhamnose dans RG-I peuvent être substitués par des chaînes latérales composées d'arabinose et de galactose (BROXTERMAN *et al.*, 2018).

Les pectines sont largement utilisés en tant qu'agent épaississant, texturant, émulsifiant, stabilisant et gélifiant dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Ils ont diverses activités biologiques telles que la cicatrisation, la réduction de l'activité de la lipase, l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses humaines par la stimulation de l'apoptose et la diminution du taux de cholestérol (MELIH *et al.*, 2019).

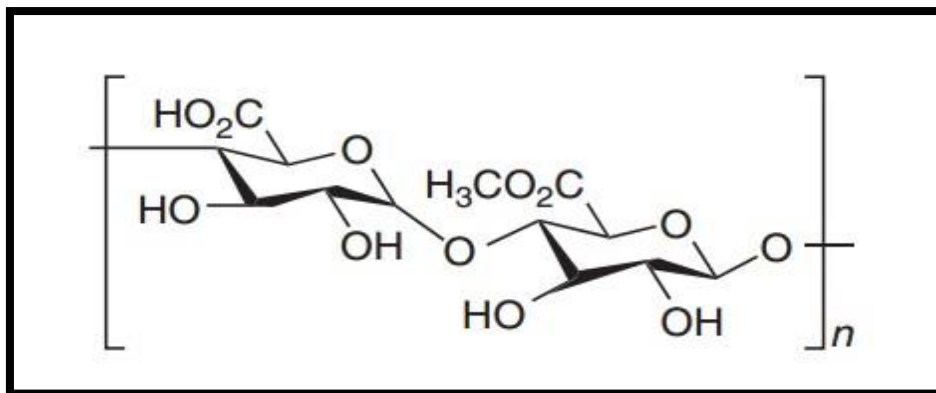


Figure 5.- Structure de pectine (POPA, 2011)

I.1.2.2.- Polysaccharide de réserve

Il est noté l'amidon, les galactomannanes et les feuctanes.

I.1.2.2.A.- Amidon

L'amidon est un homopolymère de D-glucose. Les unités D-glucosyl sont liées majoritairement par des liaisons de type α (1 \rightarrow 4) (95 – 96 %) et, dans une moindre mesure, par des liaisons de type α (1 \rightarrow 6) (4 – 5 %). L'amidon est composé de deux polymères de structure primaire différente, dont l'amylose, molécule linéaire, et l'amylopectine, molécule ramifiée (KARA SLIMANE, 2010).

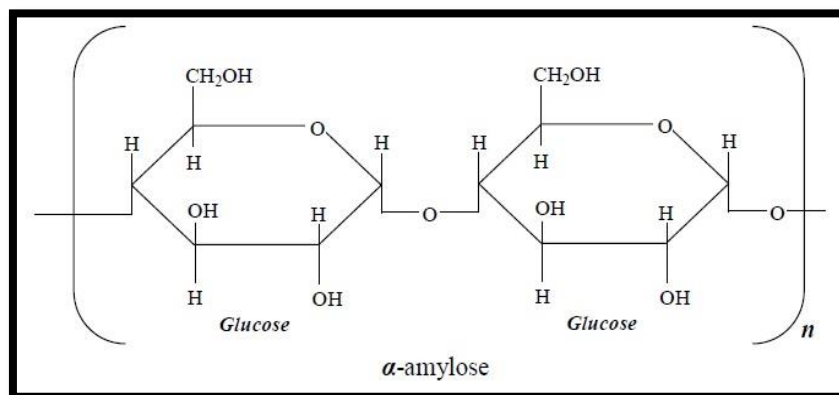


Figure 6.- Structure de l'amylose (VOET & VOET, 2005)

L'amylopectine est une molécule fortement ramifiée de D-glucopyranosyl liés en α -(1 \rightarrow 4) et leurs branchements liés par α -(1 \rightarrow 6). L'amylopectine est l'une des plus grandes molécules présente dans la nature, d'un poids moléculaire de l'ordre de 1.10^7 à 1.10^9 g. mol⁻¹. L'amidon est un excellent matériel pour les utilisations industrielles en raison de ses propriétés non toxiques, renouvelables et biodégradables (LIU *et al.*, 2015).

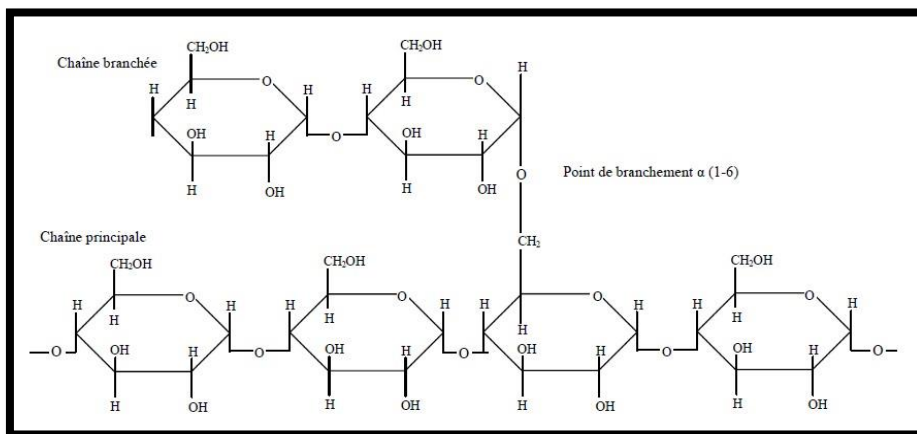


Figure 7.- Structure de l'amylopectine (GABERT & GALONS, 2011)

I.1.2.2.B.- Galactomannanes

Les galactomannanes sont des hétéropolysaccharides. Ils sont principalement composés de D-mannose comme chaînes principales avec D-galactose comme groupes latéraux. Les propriétés physiochimiques des galactomannanes sont influencées par le rapport entre le mannose et le galactose. Il est composé d'une longue chaîne polymérique qui lui permet de former une structure en forme de film dans l'eau (WANG *et al.*, 2001). Les galactomannanes ne sont pas toxiques dans la nature, ce qui le rend admissible à la consommation humaine et à un usage intensif en application biomédicale (PRAJAPATI *et al.*, 2014; SHAHBUDDIN *et al.*, 2013) en raison de ses propriétés diverses telles que son poids moléculaire élevé, sa biocompatibilité, sa solubilité dans l'eau, son caractère non ionique et ses propriétés gélifiantes à des concentrations plus faible. Ces polymères sont largement utilisés dans les industries alimentaire, pharmaceutique, biomédicale, cosmétique, textile et papier (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; PINHEIRO *et al.*, 2011).

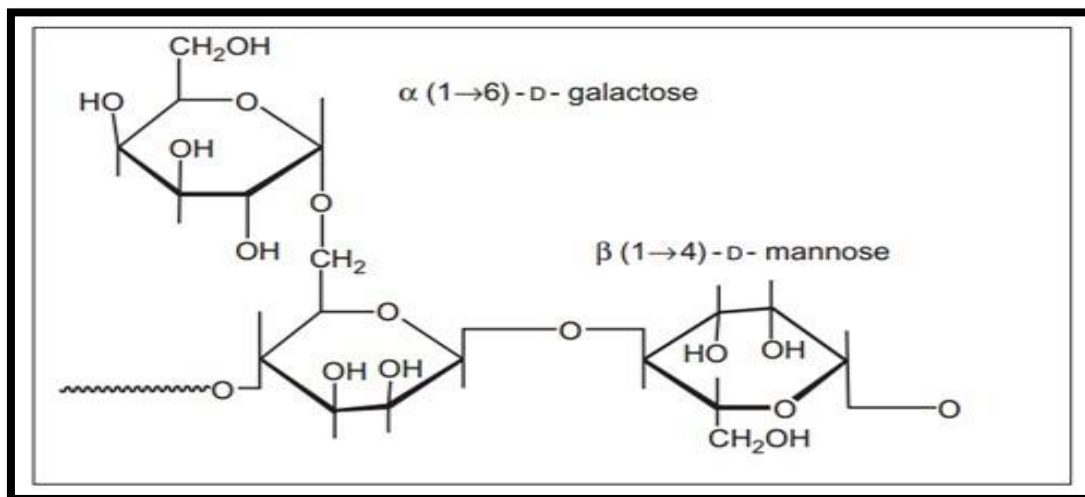


Figure 8.-Structure de galactomannane (GEETA *et al.*, 2018)

I.1.2.2.C.- Fructanes

Les fructanes sont appelés aussi fructosanes. Ils existent sous forme d'une large gamme d'oligo- et de polysaccharides chez de nombreuses espèces des bactéries, des champignons et des plantes (CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016). Les fructanes sont des polymères de fructose liés au résidu fructosyle ou glucosyle d'une molécule de saccharose. Les résidus fructosyles sont liés entre eux par des liaisons O-glycosidiques en $\beta(2\rightarrow1)$ ou en $\beta(2\rightarrow6)$ (LOTHIER, 2007).

Ils sont classés en différentes familles sur la base de leurs liaisons glycosidiques, consistant des unités D-fructofuranoses liées en β -(2 \rightarrow 1) telles que l'inuline, des unités D-fructofuranoses liées en β -(2 \rightarrow 6) telles que les lévanes, ou des structures hautement ramifiées constituées à la fois des résidus D-fructofuranoses liées en β -(2 \rightarrow 1) et β -(2 \rightarrow 6) tels que les graminanes. (CHANDRASHEKARA et VENKATESH., 2016).

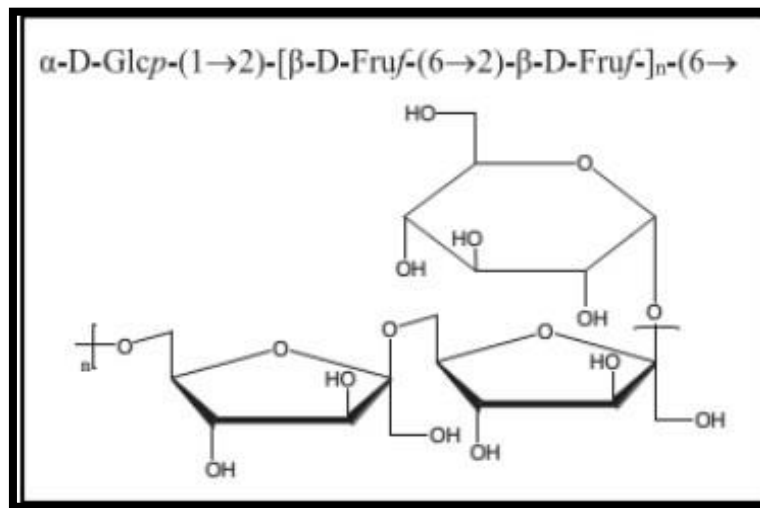


Figure 09.-Structure d'un fructane (ZHANG *et al.*, 2013)

I.1.3.-Gommes et mucilages

Les gommes et les mucilages, substances entre les quelles il n'y a pas de différence chimique précise, ont la propriété de gonfler au contact de l'eau et de former des masses gélatineuses ou des solutions colloïdales visqueuses. Les gommes sont fréquent chez les Rosaceae et les Fabaceae (gomme arabique, gomme adragante...), tandis que les mucilages sont obtenus principalement à partir des graines ou d'autres parties des plantes. Certains sont obtenus à partir d'algues, et à partir de microorganismes sélectionnés (GUIGNARD, 2000; HASSAN *et al.*, 2015).

I.2.-Propriétés des polysaccharides

Les polysaccharides appartiennent à une classe spéciale de biopolymères présentant des caractéristiques particulières telles que la biocompatibilité, la bio adhésivité, la non-toxicité (SANJA *et al.*, 2018), le faible cout, le disponibilité, la renouvelabilité (XIE *et al.*, 2015; TIZZOTTI *et al.*, 2010) et la biodégradabilité dans l'hôte en interagissant directement ou indirectement avec les

composants du système immunitaire, déclenchant divers événements cellulaires, moléculaires, et menant à l'activation du système immunitaire (YOUNG-RAN *et al.*, 2018). À cet égard, le poids moléculaire (MW) joue un rôle important dans la structure et la fonction des polysaccharides (NEREAMUÑOZ *et al.*, 2018).

En pharmacologie, des attentions croissantes sont attirés aux polysaccharides dues à la diversité de leurs activités biologique et physiologique, telles que les effets antitumoraux, antidiabétique, anticoagulation et l'amélioration de l'immunité humaine. La plupart des polysaccharides sont utilisés pour produire des aliments de santé ou des médicaments (LIANGLIANG *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2013).

I.3.- Activités biologiques des polysaccharides

Des rapports récents ont révélé que les activités biologiques des polysaccharides sont étroitement liées à leur conformation en chaîne et leur structure, et compris la composition chimique, le poids moléculaire, et le degré de ramification. L'élucidation de la structure et la conformation est nécessaire afin de mieux comprendre les fonctions biologiques des polysaccharides (FEDAIL *et al.*, 2016; HE *et al.*, 2017).

I.3.1.- Activité immunomodulatrice des polysaccharides

L'immunomodulation est définie comme l'action des substances qui peuvent stimuler, supprimer ou moduler les composantes de système immunitaire inné ou adaptatif (CHEN *et al.*, 2017), afin de prévenir ou de traiter les maladies (ZHAO *et al.*, 2018). Les polysaccharides immunomodulateurs sont capables de stimuler simultanément les différentes composantes de système immunitaire. Ce qui leur confère différentes propriétés thérapeutique, notamment des propriétés anti-tumorales et anti-inflammatoires (SANCHEZ, 2006). Au cours des dernières années, les activités immunomodulatrices de polysaccharides dérivés de plantes ont suscité une attention croissante (NIE *et al.*, 2018).

Un polysaccharide isolé à partir de la paroi du corps de *Sipunculus nudus* L, active les macrophages. Il a une activité immunostimulante puissante. Sa composition en monosaccharides est déterminée avec 28% de rhamnose, 16% de fucose et 56% du galactose. Sa masse moléculaire est de 350 kDa (ZHANG et DAI, 2011).

I.3.2.-Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est la réponse défensive vitale déclenchée par le système immunitaire (XUE *et al.*, 2018) contre diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse (NDIAYE *et al.*, 2006). Le processus inflammatoire comprend l'activation des phagocytes conduisant à la libération de médiateurs chimiques tels que les prostaglandines, le facteur de nécrose tumorale et les interleukines (SHEHATA *et al.*, 2018). Les anti-inflammatoires sont classés parmi les agents qui inhibent ou réduisent l'inflammation (SAHLAN *et al.*, 2018). Selon des études, les anti-inflammatoires peuvent être divisés en deux types, à savoir les anti-inflammatoires stéroïdiens et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (DOMIATI *et al.*, 2016; HAWKEY et LANGMAN, 2003).

Un effet anti-inflammatoire est observé *in vivo* chez les rats Wistar mâles nourris avec les polysaccharides d'*Astragalus* constitué d'une chaîne de type glucane et de masse moléculaire de $3,6 \cdot 10^4$ Da vis-à-vis de la glomérulonéphrite induite par sérum albumine bovine cationique (C-BSA). Le C-BSA augmente les niveaux de toutes les cytokines et réduit les concentrations de IL-2, IL-6 et de TNF- α dans le plasma. Pendant ce temps, l'APS a diminué de façon significative la protéinurie et les changements morphologiques induits par la C-BSA, ce qui indique que l'APS pourrait être utilisé comme agent thérapeutique pour la glomérulonéphrite. L'APS a également montré des effets thérapeutiques sur l'arthrite induite par adjuvant (AA) chez les rats Wistar mâles. IL a ainsi trouvé que le traitement avec l'APS peut réduire l'accumulation cellulaire, le gonflement des articulations et les concentrations sériques de TNF-1 et IL-1 de manière dépendante chez les rats atteints d'arthrite induite par adjuvant (AA) (CHOUANA, 2017).

L'activité anti-inflammatoire des polysaccharides est principalement due à l'inhibition de l'expression des chimiokines et des facteurs d'adhésion, ainsi qu'à l'activité d'enzymes clés dans le processus inflammatoire (CHEN *et al.*, 2016). Tous les fucoïdanes isolés ont montré une activité anti-inflammatoire, le traitement avec des polysaccharides sulfatés de *Cystoseira sedoides*, *Cystoseira compressa* et *Cystoseira crinita* (à la dose de 50 mg/kg) a inhibé la formation de l'œdème, 3h après l'administration de carraghénane qu'induit une inflammation. Les fucoïdanes peuvent avoir inhibé la libération ou les actions des divers médiateurs chimiques tels que l'histamine, les kinines et les prostanoïdes connus pour induire une inflammation aiguë induite par des agents phlogistiques (HADJ AMMAR *et al.*, 2015).

1.3.3.- Activité antioxydante

Les espèces réactives de l'oxygène, telles que les radicaux hydroxyles et le peroxyde d'hydrogène, sont souvent générées spontanément dans la cellule vivante au cours du métabolisme et jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire. L'oxydation induisant des radicaux libres peut entraîner une désintégration de la membrane cellulaire et une dégradation des protéines membranaires (AYTURSUN *et al.*, 2019). 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 pro-oxydants conduisant à des perturbations cellulaires irréversibles (CAESAR, 2007). Les polymères naturels jouent un rôle crucial dans la défense contre le stress oxydatif chez les organismes humains et la protection contre les maladies associées telles que les maladies neurologiques, cardiovasculaires, l'asthme et le diabète (RJEIBI *et al.*, 2019).

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). Les recherches sur les plantes médicinales se sont multipliées dans le monde entier en raison de leur vaste application pharmaceutique. Il est bien signalé que les polysaccharides naturels peuvent atténuer ou supprimer les effets des espèces réactives de l'oxygène. L'utilisation accrue de ces macromolécules naturelles est essentiellement due à leurs diverses applications industrielles telles que des additifs alimentaires, des fibres alimentaires, émulsifiants (RJEIBI *et al.*, 2018).

Le polysaccharide de *Panax ginseng* est un composant bioactif précoce des polysaccharides, mais son effet puissant sur le corps humain ne peut être comparé à celui du ginsenoside. Son activité biologique se manifeste principalement sous l'aspect de l'activité anti-oxydante (CHEN *et al.*, 2019). Ils peuvent supprimer l'inflammation en inhibant la sécrétion d'oxyde nitrique (NO) et de cytokines (TNF- α , IL-6 et IL-1 β) qui sont des médiateurs apparentés à l'inflammation (LOH *et al.*, 2015).

Les polysaccharides de *Potentilla anserine* peuvent protéger les cellules de souris contre les dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène. De plus, YUE *et al.* (2014) ont constaté que ces polysaccharides peuvent améliorer l'effet de la superoxyde dismutase (SOD) sur le dommage oxydatif (LIU *et al.*, 2018).

CHPITRE II

Matériel et méthodes

Dans le présent chapitre, nous sommes traité le principe adopté, le matériel utilisé, les méthodes d'étude des extraits bruts des polysaccharides hydrosolubles, à savoir leur extraction, la détermination de leur composition en protéines, en oses totaux, en oses neutres et leurs activités biologiques dont l'activité anti-inflammatoire et l'activité antioxydante.

II.1.- Principe d'étude

La phytothérapie traditionnelle est une partie importante des systèmes de soins de santé primaires dans les pays en développement. Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la vie quotidienne de nombreuses personnes (ONDUA *et al.*, 2018). Les composés organiques naturels dans les plantes sont produits par les métabolites primaires et secondaires. Dans la voie métabolique principale, les métabolites primaire présents dans toutes les plantes et jouent un rôle métabolique essentiel (EMIRHAN *et al.*, 2019).

Actuellement, une plus grande attention porté à l'extraction et à la bioactivité des biomacromolécules, en particulier des polysaccharides (YANG *et al.*, 2018) dans les champignons, les algues et les plantes supérieures (YU *et al.*, 2017). L'application de polysaccharides peut être divisée en deux catégories, dont l'un est l'utilisation de polysaccharides qui forment facilement des gels, avec une pression osmotique élevée, une viscosité élevée, une absorption d'eau et d'autres propriétés physiques et chimiques uniques pour la préparation de produits pharmaceutiques, agent de démoulage et substituts plasmatique. L'autre catégorie concerne les activités biologiques des polysaccharides telles que leur antigénicité et leurs propriétés antitumorales pour la préparation de vaccins ou de nouveaux médicaments (YU *et al.*, 2018).

Les polysaccharides sont considérés comme des substances efficaces à faible toxicité. Beaucoup de chercheurs indiquent que les polysaccharides ont des activités bioactives telles qu'antibactérienne, anti-inflammatoire, antioxydante, antitumorale et anti-hyperglycémique (YANG *et al.*, 2018).

Le présent travail s'oriente sur l'étude des polysaccharides hydrosolubles potentiellement actifs dans la plante spontanée médicinale *Astragalus gombo* de la région d'El Oued et l'évaluation de leurs activités anti - inflammatoire *in vivo* et *in vitro* et leurs activités antioxydant *in vitro*.

II.2.- Matériel d'étude

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

II.2.2.- Matériel biologique

Il est présenté par l'espèce végétale choisie et le modèle animal adopté.

II.2.1.- Choix de l'espèce végétale

Le genre *Astragalus* est un genre des plantes communes dans la médecine traditionnelle utilisées comme remèdes pour moduler la réponse immunitaire et réguler l'équilibre du corps. Il est également utilisé pour traiter les maladies débilitantes chroniques, les états inflammatoires, la fatigue, l'haleine raccourcie, la perte d'appétit, la transpiration spontanée et la diarrhée (FARAG *et al.*, 2019). Le genre *Astragalus* contient de nombreux molécules actifs, tels que des flavonoïdes, des polysaccharides et des triterpènes (SAOUDI, 2008).

L'étude porte sur une plante spontanée à caractère médicinal, *Astragalus gombo* Coss. et Dur., présente dans le Sahara de la wilaya d'El Oued en Algérie. L'organe végétal choisi pour la réalisation des expérimentations de cette étude est les grains car c'est le lieu de stockage des réserves comme les polysaccharides (BOUAL *et al.*, 2015).

II.2.1.1.- *Astragalus gombo* Coss. et Dur.

L'espèce *Astragalus gombo* Coss. et Dur. est une plante vigoureuse et basse à port chamaephytique dont les bourgeons se situent près du sol, de 10 à 50 cm de haut, aux tiges dressées, tomenteuses (cotonneuses) recouvertes de poils épais blancs. Elles sont de couleur claire, pourvues de très longues feuilles aux nombreuses petites folioles. Les pétioles, deviennent coriaces et piquants à l'extrémité en perdant leurs folioles (OZENDA, 2004). Les fleurs papilionacées de 25 mm sont jaunes, regroupées en grappes compactes axillaires, sessiles (dépourvues de pédoncules) ou presque, insérées à l'aisselle des feuilles terminales. La gousse est divisée complètement en deux loges par une cloison longitudinale, à paroi épaisse, ligneuse, renflée, très dure, et couverte d'un duvet soyeux dépassant 1 cm de diamètre (QUEZEL et SANTA, 1962; OZENDA, 2004).



Photo 1.- *Astragalus gombo* à DEBILA (El Oued, Algérie)

II.2.1.2.- Position botanique

Selon QUEZEL (1962) et OZENDA (1977) la position systématique d'*Astragalus gombo* est:

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyta
Sous embranchement	Embryophyta
Classe	Dicotyledoneae
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	<i>Astragalus gombo</i> Coss. et Dur.

II.2.2.2.- Matériel animal

L'étude est réalisée sur des rats mâles *Wistar albinos* au nombre de 12 rats, pesant environ 280-300 g, obtenus à partir de l'institut Pasteur d'Alger et aléatoirement distribués dans différents groupes expérimentaux. Les rats sont identifiés et placés dans les cages pour une période

d'adaptation de 45 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 transparent 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.

II.3.- Méthodes d'étude

Dans cette partie, il est développé la méthode d'extraction, les différents dosages colorimétriques et les tests biologiques des polysaccharides.

II.3.1.- Technique de séchage et de broyage

Les grains sont nettoyés et séchés à l'abri de la lumière et à température ambiante (FERHAT et MEHYACH, 2016). Les graines de cette plante sont broyées (GAO *et al.*, 2015) avec un mixeur et retenues pour le présent travail.

II.3.2.- Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Le broyat séché de la matière végétale à étudier (20g), est prétraité par l'éther de pétrole à température ambiante (MANU *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2014), et par 200 ml d'éthanol 99.5% sous agitation constante pendant une nuit 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 3500 tr / min pendant 10 min à température ambiante (ZHANG *et al.*, 2010). Les surnageants récupérés sont précipités à l'aide de 3 volumes d'éthanol 99,5% (YANG *et al.*, 2008) à 4° C pendant 16 h (HONG *et al.*, 2018). Après une centrifugation, les culots sont lavés par l'acétone, puis séchés à température ambiante (TABARSA *et al.*, 2017).

II.3.2.1.- Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction des polysaccharides bruts est calculé selon DIALLO et al.(2004) par la formule suivante:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids des polysaccharides bruts sec (g)}}{\text{Poids de la poudre sec de la plante (g)}} \times 100$$

II.3.3.- Composition des extraits bruts de polysaccharides

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

II.3.3.1.- Dosage des protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de BRADFORD (1976).

II.3.3.1.A.- Principe

La réaction se base sur une coloration au bleu de Coomassie qui traduit des interactions non covalentes avec les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines. La concentration en protéines est obtenue par référence à une gamme étalon de sérum albumine bovine (AUTRAN, 1991).

II.3.3.1.B.- Mode opératoire

Une quantité de 200 µl de l'étalon ou de l'échantillon, est placée dans un tube propre et sec en verre. Il est ajouté 2 ml de réactif de Coomassie et homogénéisé pendant 30 secondes. Après 2 mn de réaction et avant une heure, l'absorbance est mesurée à 595 nm par un spectrophotomètre de type UV visible. La courbe d'étalonnage est tracée en fonction de la concentration en sérum albumine bovine (BRADFORD, 1976).

II.3.3.2.- Dosage des oses totaux

La teneur des oses totaux dans l'extrait brut est déterminée par la méthode de DUBOIS (1956).

II.3.3.2.A.- Principe

Le principe est basé sur la formation d'une coloration jaune-rouge dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des oses (LECHEB, 2010). En présence de l'acide sulfurique concentré et à chaud, les liaisons glycosidiques sont hydrolysées. Une tétradéshydratation suivie d'une cyclisation des monosaccharides libérés donne des dérivés furfuraliques et des dérivés

d'acide 5-formylfuroïque. Ces produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orangé. L'apparition de ces complexes est suivie par une mesure de l'absorbance à 490 nm qui permet de déterminer la concentration en oses totaux de l'échantillon analysé en se référant par projection à une courbe d'étalonnage $DO=f(c)$ dont le glucose est utilisé comme étalon (JAISSON, 2014).

II.3.3.2.B.- Mode opératoire

Dans des tubes à essai en verre, 200 μ l de de solutions à doser sont mélangés avec 200 μ l de solution aqueuse phénol à 5%. Le mélange est agité manuellement pendant 2 minutes et 1 ml d'acide sulfurique à 95% est ajouté au milieu réactionnel. Le mélange est porté au bain Marie à 90 °C durant 5 min. Les tubes sont refroidis dans un bain de glace, puis placés à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est par la suite mesurée à 490 nm par un spectrophotomètre UV-visible (RUIZ, 2005; BRUDIEUX, 2007).

II.3.3.3.- Dosage des oses neutres

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

II.3.3.3.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).

II.3.3.3.B.- Mode opératoire

Dans des tubes en verres, 200 μ L de solutions à doser sont mélangés avec 200 μ L de résorcinol et 1ml d'acide sulfurique (98%). 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'abri de la lumière durant 30 min. La lecture est effectuée à la longueur d'onde 490 nm, au spectrophotomètre UV visible 490nm (MONSIGNY *et al.*, 1988).

II.4.- Activités biologiques des polysaccharides

L'évaluation des effets anti-inflammatoire et antioxydant par l'extrait polysaccharidique de graines d'*Astragalus gombo* est effectuée à partir des tests *in vivo* et *in vitro*.

II.4.1.- Activité antioxydante

Pour mettre en évidence l'activité antioxydante de l'extrait polysaccharidique, nous sommes utilisé le test *in vitro* de piégeage du radical libre DPPH.

Cette méthode permet de suivre spectrophotométriquement la cinétique de décoloration de radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette (BOUMARFEGUE *et al.*, 2012).

II.4.1.1.-Principe

La méthode du DPPH^{*} (diphénylpicryl-hydrayl) est basée sur la réduction de l'espèce radicalaire stable DPPH^{*} en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPHH (diphényl Picryl-hydrazine) (MANSOURI *et al.*, 2005). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en DPPHH de couleur jaune (MAATAOUI *et al.*, 2006). La réduction du radical libre DPPH^{*} peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (MOLYNEUX *et al.*, 2004).

II.4.1.2.- Mode opératoire

Quatre concentrations de l'extrait polysaccharidique (0,2 à 1 mg/ml) sont préparées. Ensuite, 1 ml de chaque concentration (échantillon ou étalon) à est ajouté à 1 ml de solution de DPPH. Le mélange est agité et maintenu pendant 30 minutes à la température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectromètre UV-visible (HADDAD *et al.*, 2016).

II.4.1.3.- Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition (%I) du radical DPPH par l'extrait est calculé comme suit:

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

- AC : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)
- AE : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon) (TRABSA, 2015).

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif. Chaque valeur représente la moyenne de trois expériences indépendantes (HADDAD *et al.*, 2016).

II.4.1.4.- Calcul de la concentration inhibitrice de 50% (IC₅₀)

La concentration inhibitrice de 50 % (IC₅₀) est la concentration de la solution nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. La concentration d'inhibition est calculé graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés; dont les pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations testées.

II.4.2.- Activité anti- inflammatoire

Pour mettre en évidence de l'activité anti- inflammatoire de l'extrait polysaccharidique, nous sommes réalisé le test *in vitro* de l'inhibition de la dénaturation des protéines et *in vivo* .

II.4.2.1.- Test d'activité anti inflammatoire *in vitro*

Le mélange réactionnel (2,5 ml) consistait en 0,1 ml d'albumine (provenant d'œufs frais de poule), 1,4 ml de solution tampon de phosphate saline (PBS, pH 6,4) et 1 ml de solution doser de l'extrait à concentration 1g/l . Un volume similaire d'eau distillée a servi de témoin. Ensuite, les mélanges sont reste dans une température ambiante pendant 20 min, puis chauffé à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660 nm. Le diclofénac de sodium aux concentrations finales de 125, 250, 500, 1250 et 2500 µg/ml, est utilisé comme médicament de référence (CHANDRA *et al.*, 2012).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé selon BOUHLALI *et al.* (2017) en utilisant la formule suivante:

$$\text{Pourcentage d'inhibition (IP\%)} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

II.4.2.2.- Evaluation de l'activité anti- inflammatoire *in vivo*

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait polysaccharidique, il est effectué la méthode de WINTER *et al.* (1962).

II.4.2.2.A- Principe

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire est réalisée selon la méthode décrite par WINTER *et al.* (1962) selon laquelle l'inflammation est induite par une injection de la carragénine au niveau de la voûte plantaire de la patte du rat. L'œdème causé par cet agent phlogogène est traduit en volume et mesuré par le pléthysmomètre ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire (RIAHI *et al.*, 2013).

II.4.2.2.B- Mode opératoire

Après une période d'adaptation de 45 jour, 12 rats sont répartis en 3 lots, et mis à jeun pendant 24 heures avant l'expérimentation, dont la période du traitement est de 1 jour.

- Lot référence; où les rats de ce lot sont traités par voie oral avec un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique appelé diclofénac de sodium à la dose de 25 mg/Kg (ZLATANOVA *et al.*, 2017) 30 minutes avant l'injection de la carragénine (CADI *et al.*, 2011).
- Lot essai; où les rats de ce lot sont traités oralement par l'extrait polysaccharidique avec 400 mg/kg (SHIH *et al.*, 2017) 30 minutes avant l'injection de la carragénine (CADI *et al.*, 2011).
- Lot malade; où les rats de ce lot sont injectés par 100 µl de carragénine de 1% dissout dans une solution d'eau physiologique (BOUHLALI *et al.*, 2017).

Le diamètre de la patte est mesuré avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'un 30 minute à cinq heures (FERHAT et MEHYACH, 2016).

II.4.2.2.C.- Pourcentage d'augmentation

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe par la formule suivante (NDIAYE *et al.*, 2006).

$$\%AUG = [(Volume\ de\ la\ patte\ au\ temps\ T\ (Vt) - Volume\ initial\ (Vo)) \times 100] / volume\ initial\ (Vo)$$

L'activité anti-inflammatoire est évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH) (NDIAYE *et al.*, 2006).

$$\%INH = [(\% AUG\ témoin - \% AUG\ traité) \times 100] / \% AUG\ témoin$$

II.5.- Préparation des frottis

Les frottis sont réalisés afin de mettre en évidence les types de cellules infiltrées dans la zone enflammée par l'observation microscopique.

II.5.1.- Préparation des lames

La goutte prélevé après le grattage est étalée de façon uniforme et en couche mince sur la lame (DESCAMPS *et al.*, 2004) de manière concentrique sur 2 cm de diamètre à l'aide du coin d'une lame bistouri. Celle-ci est ensuite séchée et colorée au Giemsa. L'observation microscopique s'effectue au grossissement x100 (MERLIN, 2018).

II.5.2.- Coloration de May-Grünwald Giemsa

Elle est réalisée par trois solutions de coloration selon les instructions de fournisseur (RAL 555):

- ❖ **1^{ère} Coloration** par bleu de méthylène (basique) 5 fois de suite pendant une seconde qui colore l'ADN des noyaux, l'ARN du cytoplasme et les granulations des basophiles (en bleu foncé) .
- ❖ **2^{ème} Coloration** les frottis sont placés dans éosine (acide) 5 fois de suite pendant une seconde pour colorer les granulations des éosinophiles (en rose orangé).
- ❖ **3^{ème} Coloration** les lame sont Trempées 5 fois de suite pendant une seconde dans la solution 3 qui contient alcool méthylique (Fixateur kit RAL 555) et bien égoutter l'excédent. puis les frottis sont lavées avec l'eau distillé.

Avant l'observation microscopique avec un objectif $\times 100$, il faut ajouter quelques gouttes d'huile à immersion.

II.6.- Analyse statistique

La comparaison des pourcentages moyens d'augmentation et d'inhibition est faite avec le t-test de Student (ANOVA). Les différences significatives sont représentées par $p < 0.05$, $p < 0.01$ et $p < 0.001$, où $n = 3$, $n = 4$ représente le nombre d'expériences par groupe.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

Au vu des résultats obtenus, une seule fraction polysaccharidique est isolée après une extraction hydrosoluble des polysaccharides des grains d'*Astragalus gombo*. L'étude biochimique de la fraction obtenue est réalisée par des dosages colorimétriques.

III.1.- Rendement d'extraction

Le rendement relatif est calculé par rapport au poids de la matière sèche ayant servi à l'extraction (MOURADI *et al.*, 2006). Il apparaît que le rendement massique de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles des grains d'*A. gombo* par rapport à la matière sèche est de 8,13 %. Ce rendement est inférieur à celui trouvé par MEHELLOU (2015), soit 12.77% d'un extrait polysaccharides à partir des graines d'*Astragalus gombo*. Par contre, il est supérieur de celui obtenu par BOUAL *et al.* (2014), soit 4.21% de polysaccharides hydrosolubles d'*Astragalus armatus*. Il est proche de celui obtenu par OLENNIKOV *et al.* (2008), soit de 8.50 % de polysaccharides hydrosolubles d'*Astragalus sericeocanus*.

Les différences de rendements peuvent être expliquées par l'état physiologique des plantes, sachant que les polysaccharides sont des métabolites primaires donc ils sont utilisés comme des précurseurs d'autres métabolites secondaires et comme source d'énergie. Elles peuvent être expliquées aussi par la saison et la période de la récolte, 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 (EBRINGEROVA *et al.*, 2003).

Parmi les conditions expérimentales, la température d'extraction a une très grande importance dans le processus d'extraction. L'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité. Elle doit être limitée pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté (BOUSBIA, 20). Pareillement, la structure des molécules influence sur leur flexibilité ou leur rigidité, par exemple la rotation autour des liaisons glycosidique, et ainsi la forme que la molécule adoptera en solution (BADOUD *et al.*, 2010).

III.2.- Composition des extraits bruts des polysaccharides

La composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des grains d'*A. gombo* est montrée dans la figure . Les teneurs en oses totaux, en oses neutres et en protéines de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des grains étudiées sont de $49.67 \pm 0.015\%$, $44.44 \pm 0.005\%$ et $17.82 \pm 0.228\%$ respectivement.

La teneur en oses totaux semble plus faible que celui trouvés par BOUAL (2014) dans les graines d'*Astragalus armatus*, soit 82,42%. En plus, la teneur en oses neutres est proche de celle obtenue par MEHELLOU (2015) dans les graines d'*Astragalus gombo* avec un taux de 44.17%. CHOUANA (2017) rapportent une teneur de 1.0% en protienes. Selon MAAMRIA *et al.* (2015) les graines du genre *Astragalus* contiennent les galactommananes.

Cette variation est discutée par les facteurs et les paramètres qui peuvent influencer sur le taux des compositions brutes d'un extrait, à savoir la température d'extraction, la quantité du solvant utilisé par rapport à la matière première, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction comme la décoction et la macération (CHAKOU *et al.*, 2017).

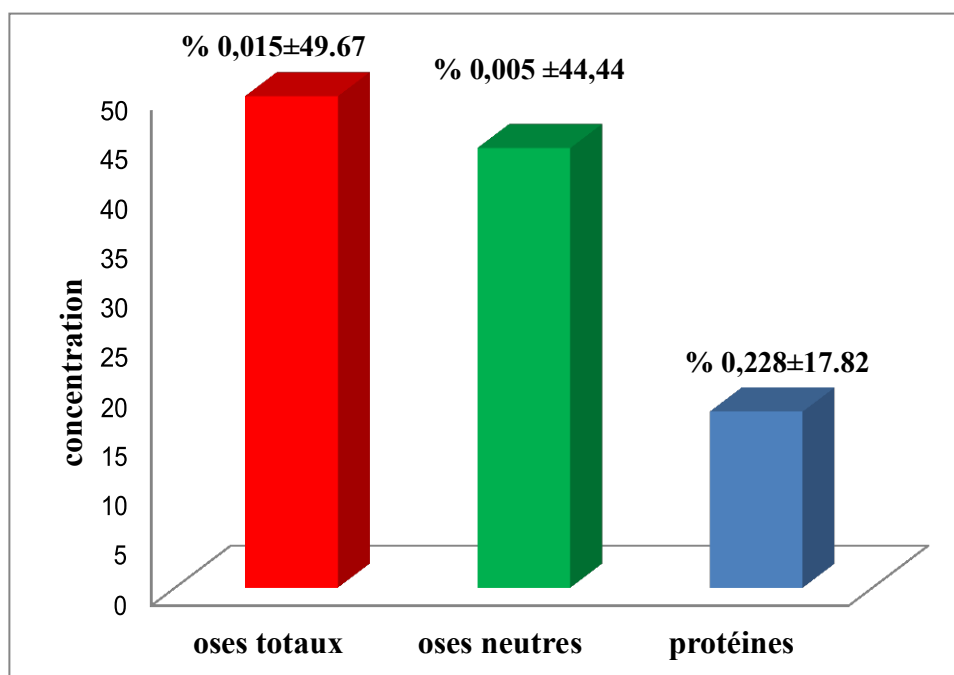


Figure 11 .- Composition des extraits bruts de polysaccharides d'*A. gombo*

III.3.- Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique

III.3.1.- Activité antioxydante

Les activités de piégeage des radicaux DPPH de l'extrait d'*Astragalus gombo* sont mesurées à 517 nm avec un phénomène de changement de couleur de la solution du violet au jaune clair (MA *et al.*, 2013). Dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (SANCHEZ-MORENO, 2002).

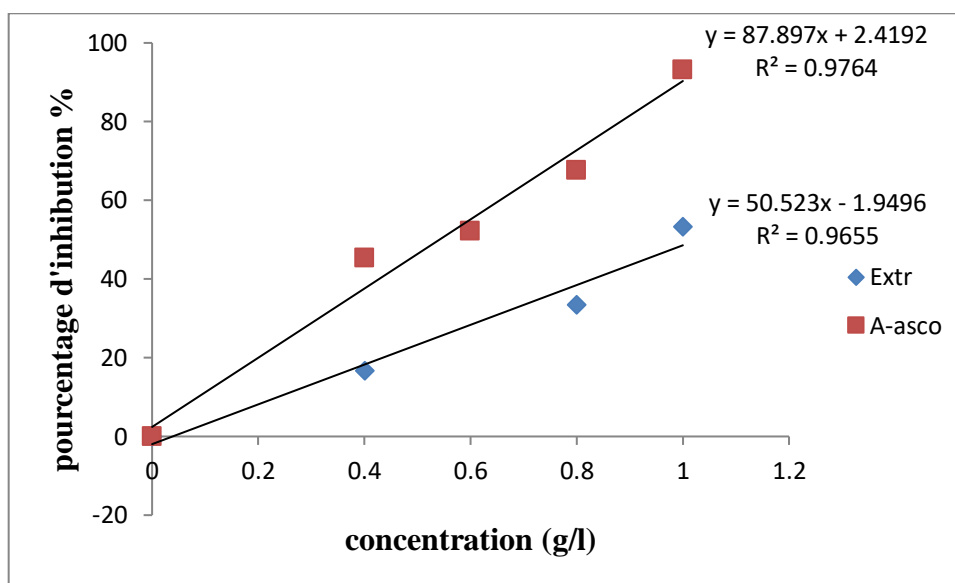


Figure 12.- Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait brut des polysaccharides d'*A. gombo* et de l'acide ascorbique

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration pour l'acide ascorbique et pour les polysaccharides des grains d'*A. gombo* (fig 12). Il est observé que le pourcentage d'inhibition de l'extrait est proche de celui de l'acide ascorbique. La concentration inhibitrice (IC_{50}) est définie comme étant la concentration de l'antioxydant nécessaire pour réduire ou inhiber 50 % du radical DPPH en solution, dont plus la valeur de IC_{50} est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est élevée (POKORNY *et al.*, 2001).

Ainsi, le pourcentage d'inhibition de l'extrait testé montre que l'effet est remarquable dépassant 55 % à une concentration de l'extrait de l'ordre de 1 g/l.

Selon les résultats enregistrés, l'extrait d'*A. gombo* possède une IC₅₀ de 1 g/l mais relativement faible que celle de la vitamine C, ce qui reflète la présence des composés qui peuvent réduire le radical DPPH.

L'activité antioxydante des polysaccharides est influencée par leurs masses moléculaires. Il est suggéré que les polysaccharides ayant une faible masse moléculaire ont une activité antioxydante supérieure. Des études ont également prouvé que la capacité antioxydante des polysaccharides est affectée par leurs structures et leurs composants en monosaccharides. La plupart des polysaccharides testés sont capables de réduire les radicaux DPPH. Cette activité peut résulter des groupes hydroxyle des polysaccharides susceptibles de donner de l'hydrogène. De plus, il est rapporté que les sucres réducteurs contribuent au potentiel antioxydant de polysaccharides naturels (LONG MA *et al.*, 2017).

Par ailleurs, les groupes carboxyles sont décrits pour leur capacité à activer l'atome d'hydrogène de l'atome de carbone anomérique en conduisant ainsi à augmenter leur capacité de donner d'hydrogène (PETERA, 2010). En règle générale, les propriétés anti radicalaires contre le DPPH des antioxydants naturels tels que les polysaccharides peuvent être corrélées à leur capacité de donner d'hydrogène (HU *et al.*, 2016; DELATTRE *et al.*, 2015).

III.3.2.- Activité anti-inflammatoire

La capacité de l'activité anti-inflammatoire des polysaccharides d'*Astragalus gombo* sont évaluée *in vitro* par pourcentage d'inhibition la dénaturation des protéines et *in vivo* par pourcentage d'inhibition le volume de l'œdème.

III.3.2.1- Activité anti-inflammatoire *in vitro*

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait polysaccharidique des graines d'*A. gombo*, est estimé par un test *in vitro* pour voir la capacité de l'extrait à empêcher la dénaturation thermique des

protéines du blanc d'œuf. Les résultats de l'activité anti-inflammatoire indique un pourcentage d'inhibition égal à 83.63% avec des concentrations de 1g/l de l'extrait et 236.18 µg/ml de diclofénac.

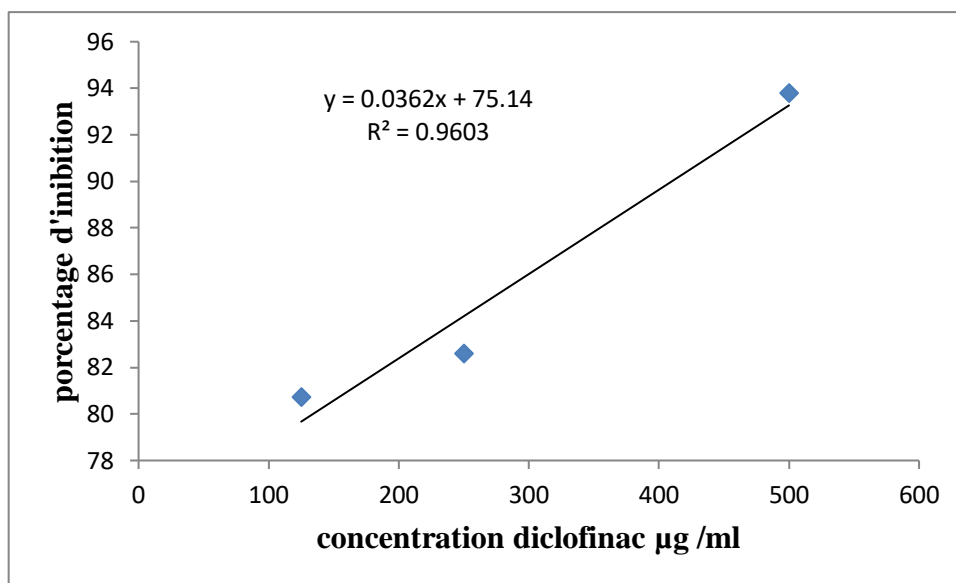


Figure 13.- Pourcentages d'inhibition la dénaturation des protéines en fonction de la concentration diclofénac de soduim

Le mécanisme possible de la dénaturation consiste de l'altération des liaisons électrostatiques, telles que les liaisons hydrogènes, hydrophobes et disulfures qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (MIZUSHIMA *et al.*, 1968 ; SANGEETHA *et al.*, 20). En effet, la chaleur provoque le changement réversible de la conformation tertiaires et même secondaires des protéines qui se traduisent par la diminution de leurs solubilités et la perte de leurs fonctions (VERMA *et al.*, 20).

III.3.2.2- Activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait polysaccharidique d'*A gombo* est évaluée par la méthode de carragénine induisant un œdème de la patte chez les rats. Le diamètre de la patte mesuré par le micromètre a donné les résultats illustrés dans les figures 13 et 14 en montrant les variations du diamètre de la patte en fonction du temps.

L'administration de la carragénine entraîne une augmentation du volume des pattes des rats dans la première demi-heure et reste élevé jusqu'à la fin (cinquième heures). Chez les rats du groupe traité par 25 mg/Kg de diclofénac , il est constaté une augmentation significative de

l'œdème de la patte des rats en comparaison à celle développée par les rats du groupe témoin. Cette augmentation est de $\pm 5.10\%$, de $17.41 \pm 1.0\%$, de $21.73 \pm 4.33\%$ et de $15.91 \pm 6.19\%$ à 30 min, 1h30min, 3h et 5h, respectivement. Une augmentation non significative de l'œdème du volume de la patte des rats est de $20.91 \pm 6.72\%$ à 2h 30.

Le traitement par 400 mg/kg d'extrait polysaccharidique des graines d'*Astragalus gombo* par voie orale note une augmentation significative de l'œdème par rapport aux rats du groupe témoin qui est de $18.18 \pm 0.00\%$, de $14.55 \pm 4.20\%$, de $20.00 \pm 4.45\%$ et de $16.36 \pm 2.10\%$ à 30 min, 2h 30min, 3h et 5h, respectivement. Une augmentation non significative de l'œdème est de $17.94 \pm 4.61\%$ à 1h 30min. Les résultats obtenus montrent que l'extrait polysaccharidique des grains d'*A gombo* à la dose de 400mg/kg réduit de façon significative l'œdème induit par la carragénine à un pourcentage d'augmentation égal $14.55 \pm 4.20\%$ par rapport au résultat de réduction de volume de patte a partir l'extrait polysaccharidique chez COURA *et al* (2015)

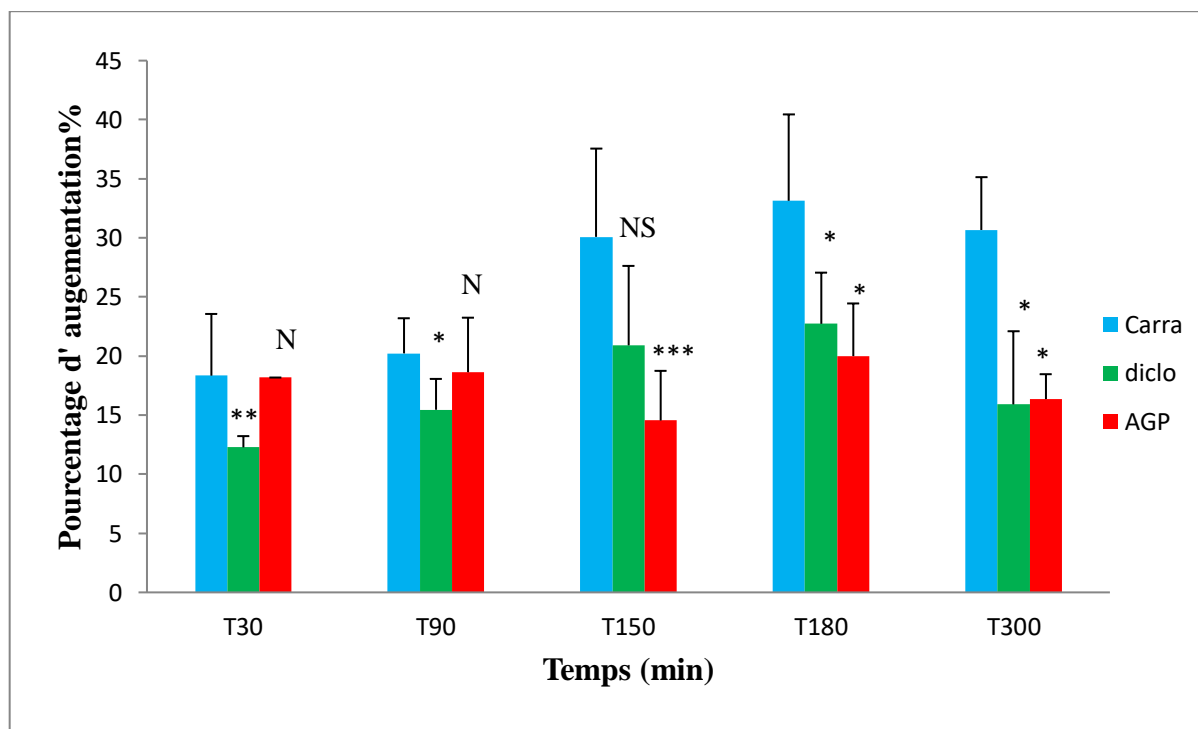


Figure 14.- Pourcentages de l'augmentation de patte (%AUG) des rattes des différents groupes au cours du temps

Carr : carragénine, **Diclo** : diclofénac, **AGP** : polysaccharide d'*Astragalus gombo*.

Avec une comparaison avec le lot témoin; NS pour une différence non significative; * pour $p < 0.05$; ** pour $p < 0.01$; *** pour $p < 0.001$

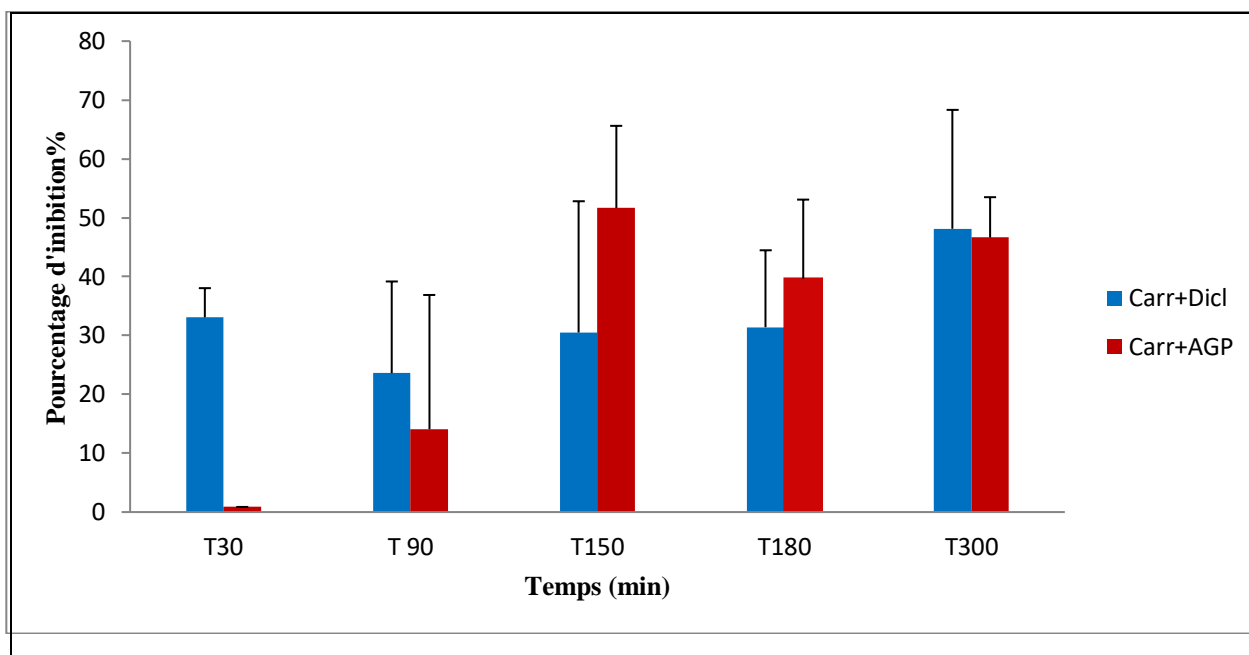


Figure 15.- Pourcentages d'inhibition de patte (%INH) des rattes des différents groupes au cours du temps

Carr+ Diclo : carragénine + diclofénac , **Carr+ AGP** : carragénine + polysaccharide d'*Astragalus gombo*

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'extrait polysaccharidique d'*A. gombo* possède une activité anti-inflammatoire. A 130 min et 180 min, l'extrait à la dose de 400 mg/kg montre respectivement un pourcentage d'inhibition de 50 % et 40 % élevé à celui de diclofénac de sodum à la dose de 25 ml/kg. Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est inférieur au pourcentage d'inhibition de 71 % signalé par LEFSIH *et al.* (2018). Il a été constaté que le pourcentage d'inhibition de l'œdème obtenu avec une concentration de 10% du polysaccharide extrait de Feuilles d'Aloe Vera (LEFSIH *et al.* ,2018).

L'œdème induit par la carragénine est le model le plus utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire, c'est un évènement qui fait intervenir trois phases distinctes:

- une première phase qui fait intervenir l'histamine et la 5-hydroxytryptamine (sérotonine) qui favorisent la vasodilatation, la transduction plasmatique et l'œdème formé suite à l'extravasation du fluid e et protéines du plasma (GAO *et al.*, 2009).
- une seconde phase qui fait appel aux kinines (bradykinines) comme médiateurs augmentent la perméabilité vasculaire.
- une troisième phase liée à la liberation des protéases, lysosomes et prostaglandine

associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée (SANOGO *et al.*, 2006; MARZOUK *et al.*, 20).

La réponse vasculaire maximale, étroitement liée à la migration de leucocytes au secteur enflammé, atteint également son niveau maximum dans la troisième phase (BABU *et al.*, 2009; LI *et al.*, 20). L'augmentation de la perméabilité vasculaire conduit à la libération de fluide riche en protéines plasmatiques incluant des immunoglobulines (Ig), des facteurs de coagulation, et des protéines du tissu lésé. Elle est le résultat de contraction et séparation des cellules endothéliales à la surface membranaire, perméable aux protéines et fluides plasmatiques (OKOLI *et al.*, 2006).

La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo* (MIZUSHIMA *et al.*, 1968; SANGEETHA *et al.*, 20). Les médicaments anti-inflammatoires interviennent en général en s'opposant à l'effet de médiateurs chimiques, dont histamine, sérotonine, kinines et prostaglandines (SANOGO *et al.*, 2006; MEQUANINT *et al.*, 2010).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (SANGEETHA *et al.*, 20). Le diclofénac sodique, un anti-inflammatoire non stéroïdien, possède des propriétés analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire. Cette dernière est liée à son inhibition de la synthèse de prostaglandines et de thromboxane en inhibant l'action des deux isoformes de l'enzyme membranaire cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2). Il provoque ainsi l'altération de la fonction des plaquettes en inhibant leur agrégation (AHMAD *et al.*, 2013). De plus, les résultats obtenus par AHMAD *et al.* (2013) montre que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), notamment le diclofénac à des doses importantes, modifient la réponse inflammatoire en inhibant l'activation des neutrophiles et d'autres cellules inflammatoires et en bloquant ainsi la production d'enzyme telle que la collagenase et l'élastase.

Aux premières durées de temps (30-90 min), l'augmentation de l'œdème de la patte des rats traités par l'extrait et le même chez les rats traitée par la carragénine, ce qui peut être expliqué par la difficulté de l'absorption de polysaccharide d'*A. gombo*. Selon XU *et al.* (2017), les polysaccharides hydrosolubles de petit poids moléculaire peuvent être facilement absorbés par l'intestin et entrent rapidement dans le sang.

Aux deuxièmes durées de temps (150- 180 min), une diminution maximale de l'œdème de patte de rats traitées par l'extrait peut être due à leur capacité de rétention de l'eau. Les groupes hydroxyle, carboxyle et autres groupes polaires des polysaccharides et des molécules d'eau peuvent former des liaisons hydrogène pour conserver des teneurs massives en eau. Dans le même temps, les chaînes de polysaccharides peuvent s'imbriquer les unes dans les autres et former une structure de réseau importante pour la garantie de la teneur en humidité (LI *et al.*, 2017). Cette propriété se réfère à la présence des galactommanes (CHOUANA *et al.*, 2017).

Ainsi, il est suggéré que l'effet anti-inflammatoire du polysaccharide est due à la capacité d'inhibition la migration des leucocytes et l'infiltration des neutrophiles au cours de l'inflammation (SOUSA *et al.*, 2018). Les neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants dans la circulation humaine et jouent un rôle clé dans les réponses inflammatoires (SOEHNLEIN *et al.*; 2017). Les effets de ce polysaccharide peuvent être associés à l'inhibition des médiateurs pro-inflammatoires (SOUSA *et al.*, 2018). Pareillement, le TNF- α , IL-1 β et IL-6 accélèrent la migration des neutrophiles vers la région endommagée et autre cellules inflammatoires (CASTRO *et al.*, 2013).

A la fin de l'expérience dans le temps 300 min, l'œdème de la patte revenu élevé. Il est probablement due au fait que les polysaccharides isolés induisent une réduction durable de l'œdème de manière dose-dépendante (JOUINI *et al.*, 2017).

III.3.2. 3.- Observation microscopique des frottis

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire. Les cellules les plus importantes sont les polynucléaire neutrophile qui sont attirés au niveau des lésions tissulaires par la présence des médiateurs précoces de l'inflammation (KINDT *et al.*, 2007). Ils génèrent des signaux chimiotactiques qui attirent les monocytes et les cellules dendritiques, et influencent la différenciation des macrophages en un état principalement pro ou anti-inflammatoire. Elles sont également impliquées dans la réparation tissulaire (NATHAN, 2006). D'autres cellules sont attirées sur le site de l'inflammation et participent à la constitution de l'infiltrat inflammatoire : les macrophages migrent vers le foyer lésé sont capable d'éliminer les agressions par phagocytose (GUILLOT *et al.*, 20). Cependant, ils sont la source principale des cytokines, chemokines, et d'autres médiateurs inflammatoires qui propagent ou suppriment la réaction immunitaire (MOLDOVEANU *et al.*, 2009).

les monocytes migrent et deviennent des macrophages activés capables de phagocytose, de production de protéines antibactériennes et de médiateurs pro-inflammatoires (GARRIDO *et al.*, 2007). Les basophiles sont les plus rares et représentent moins de 1 % des cellules inflammatoires. Lorsqu'ils sont activés, les basophiles se dégranulent pour libérer une variété de médiateurs immunitaires tels que l'histamine, les protéoglycanes et les enzymes protéolytiques, qui sont pré-stockés dans des granules cytoplasmiques (SCHROEDER *et al.*, 2009). Enfin, les lymphocytes B et T produisent les cytokines pro-inflammatoires, initient la réponse immunitaire adaptative et contribuent à l'activation des PNN par la production d'immunoglobulines par les B-lymphocytes (MALE *et al.*, 2007).

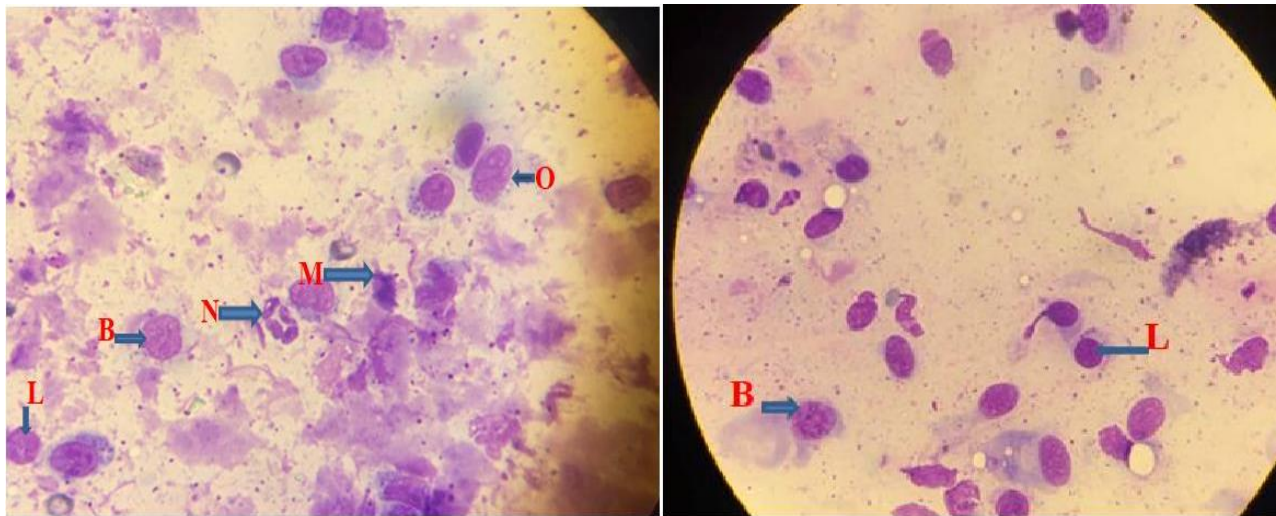


Photo 2.- Observation microscopique des globules blancs

O: monocyte, **N:** neutrophile, **L:** lymphocyte, **B:** basophile, **M:** macrophage

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés polysaccharidique auxquelles on attribue des capacités antioxydantes et anti-inflammatoires.

La présente étude participe à l'évaluation des effets biologiques des polysaccharides hydrosolubles extrait par l'eau chaude à partir des graines de la plante spontanée *Astragalus gombo* (Fabaceae).

Le rendement d'extraction obtenu est de 8.13% par rapport à la matière sèche. L'étude montre que la composition totale des polysaccharides hydrosolubles contient 49.67% d'oses totaux, 44.44% d'oses neutres et 17.82 % de protéines.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait polysaccharidique par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, montre que l'extrait polysaccharidique présente un pouvoir antioxydant important comparable à celle de la vitamine C avec un pourcentage d'inhibition significative, soit 55 %.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro des polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Astragalus gombo* prouve une activité de protection des protéines contre la dénaturation thermique avec un pourcentage d'inhibition significative de 83.63% en comparaison à celle de diclofénac sodique.

Concernant la mesure de l'activité anti-inflammatoire in vivo, l'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les rats permet de conclure que l'extrait polysaccharidique possède une activité anti-inflammatoire importante avec un pourcentage d'inhibition de 50%. Cette activité est comparable à celle de diclofénac sodique qui est un anti-inflammatoire de référence.

Perspectives

Il est souhaitable, pour augmenter le rendement d'extraction des polysaccharides, d'agir au cours de l'extraction sur la température, le temps, le type et le pourcentage d'alcool-eau ajouté au cours de la précipitation des polysaccharides. Une utilisation des techniques de purification des polysaccharides pour l'étude de leurs propriétés biologiques diverses. De même l'analyse par chromatographie échangeuse d'anions, de haute performance (HPAEC), pour déterminer la composition en oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles obtenus.

Malgré les recherches avancées sur les polysaccharides, les études restent encore très peu en comparant leurs grands nombres. Il sera intéressant donc d'identifier et de caractériser de nouvelles activités biologiques des polysaccharides surtout celles d'origines botanique, afin d'augmenter l'utilisation des remèdes naturels dans les domaines médicaux et alimentaires. Pour une meilleure évaluation des potentialités biologiques des polysaccharides, il est souhaitable d'exploiter et d'élargir les différentes recherches investigatrices.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. - **BOUSBIA N ; 2011**- Extraction des huiles essentielle riches en anti oxydants a partir de produits naturels et de Co- produit Agroalimentaire, Thèse de doctorat Ecole nationale supérieure Agronomique, chimie 79p.
2. **ADLER S., VERDEIL J., LARTAUD M., FOCK-BASTIDE I., JOËT T., CONÉJÉRO G., NOIROT M., 2014**- Morphological and histological impacts of the laurina mutation on fructification and seed characteristics in *Coffea arabica* L. vol .28 : 585-595.
3. **AHMAD I., QURESHI T. A., SADIQUE U., KHAN S. A., AHMED S., REHMAN Z. U and MUSHTAQ M. 2013**- Hematological effects of diclofenac sodium in goat. The J of Animal and Plant Sci, vol .23: 103-107.
4. **ALBUQUERQUE P.B.S., BARROS W., SANTOS G.R.C., CORREIA M.T.S., MOURÃO P.A.S., TEIXEIRA J.A et CARNEIRO-DA-CUNHA M.G. 2014**- Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia Grandis*, Carbohydr. Polym, vol .104 :127–134.
5. **AUTRAN J. C., 1991**- Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc, Paris: 115-137.
6. **BABU N .,PANDIKUMAR P and IGNACIMUTHU S. 2009** - Anti-inflammatory activity of *Albizia lebbeck* Benth., an ethnomedicinal plant, in acute and chronic animal models of inflammation. Journal of Ethnopharmacology, vol.125: 356–360.
7. **BEAMONT S. 2015**- Biochimie. UA1. 1 ère année santé. 4ème Ed: Ediscience. P : 52-53
8. **BECHOUA M., DEKKICHE S and MOUDJARI F Z.2017**- L'activité antioxydante *in vitro* des polysaccharides extraits à partir des feuilles de *Ziziphus lotus*.mémoire de master , Université des Frères Mentouri Constantine,60p.
9. **BENAOUN F.,2017**-Caractérisation Structurale et Potentiel Biologique des Polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) et *Urginea noctiflora* Batt. et Trab. (Liliaceae) Thèse de doctorat à l'Université Kasdi-Merbah Ouargla 209 p.
10. **BLEICHER-BARDELETTI F, DUCLOS B, et VAMECQ J , 2014**-Biochimie tout le cours en fibres hience. PAcés- UE1 –CARES. Dunod. P : 30-33.
11. **BOUAL Z., 2014**- Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara

- septentrional Est algérien): Activité biologique. Thèse doctorat. Université de Ouargla. 219p.
12. **BOUAL Z., PIERRE G., DELATTRE C., BENAOUN F., PETIT E., GARDARIN C., MICHAUD P., and OULD EL HADJ M.D. 2015** -Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* , vol .5 :10-18.
 13. **BOUHLALI E. T ., EL HILALY J ., ENNASSIR J., BENLYAS M., ALEM C ., AMAROUCHE M . Y and ZEGZOUTI .2017-** Anti-inflammatory properties and phenolic profile of six Moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties, vol.30:519-526.
 14. **BOUMERFEG S., BAGHIANI A., DJARMOUNI M., AMENI D., ADJADJ M., BELKHIRI F., CHAREF N., KHENNOUF S and ARRAR L. 2012-** Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts. *Chinese Medicine* , vol 3: 30-41.
 15. **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.
 16. **BRIAN-JAISSON F., 2014** - Identification et caractérisation des exo-polymères de biofilms de bactéries marines. Thèse doctorat. Université de Toulon. 257p.
 17. **BROXTERMAN S. E and SCHOLS H. A., 2018-** Characterisation of pectin-xylan complexes in tomato primary plant cell walls. *Carbohydrate Polymers*, vol 197 : 269–276.
 18. **BRUDIEUX V., 2007** - Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thème doctorat. Université de Limoges. 193p.
 19. **CADI E.M ., MAKRAM S., ANSAR M ., KHABBAL Y., ALAOUI K ., FAOUZI M.A., . CHERRAH Y et TAOUFIK J. 2011-** Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*, vol.70 :113-116 .
 20. **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.

21. **CASTRO A. J. G., CASTRO L. S. E. P. W., SANTOS M. S. N., FAUSTINO M. G. C., PINHEIRO T. S., DORE C. M. P. G and LEITE E. L., 2013-** Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antioxidant activities of polysaccharide-rich extract from fungi *Caripia montagnei*. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, vol .4 : 121–129.
22. **CHAKOU F Z, MEHELLOU Z, BOUAL Z, ADDOUN N, MICHAUD PH et OULD EL HADJ M D., 2018.-** Activité antidiabétique des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*oudneya africana r. Br.* Récoltée au sahara septentrional est algérien. Depot institutionnel de l'Université Kasdi Merbah Ouargla UKMO.
23. **CHANDR A SHEKARA P.M and VENKATESH Y.P., 2016-**Immunostimulatory properties of fructans derived from raw garlic (*Allium sativum L.*).*Bioactive, Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 8: 65–70.
24. **CHANDRA S ., CHATTERJEE P., DEY P et BHATTACHARYA S.2012-** Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein p 178-180.
25. **CHANDRASHEKARA P.M and VENKATESH Y.P., 2016 -**Immunostimulatory properties of fructans derived from raw garlic (*Allium sativum L.*).*Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 8: 65–70.
26. **CHEN F and HUANG G., 2019 -**Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol 125 : 906-908.
27. **CHEN H., SUN J., LIU J., GOU Y., ZHANG X., WU X. and JIN C., 2019-** Structural characterization and anti-inflammatory activity of alkali-soluble polysaccharides from purple sweet potato. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol 131: 484–494.
28. **CHEN J., FUNK J. L., FRYE J. B., OYARZO J. N., ZHANG H and TIMMERMANN B. N., 2016-** Anti-inflammatory effects of the essential oils of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) in experimental rheumatoid arthritis. *PharmaNutrition*, 4: 123–131.
29. **CHEN P., LIU H.P., JI H.H., SUN N. X and FENG Y.Y., 2018-** A cold-water soluble polysaccharide isolated from *Grifola frondosa* induces the apoptosis of HepG2 cells through mitochondrial passway. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 125 : 1232-1241.

30. **CHEN X., QI Y., ZHU C and WANG Q., 2019-** Effect of ultrasound on the properties and antioxidant activity of hawthorn pectin. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 131 :273-281
31. **CHEN X., WANG S., and CAO W., 2018-** Mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation in cell therapy of neurodegenerative diseases. *Cellular Immunology*, vol 326: 8–14.
32. **CHEN Z G., ZHANG D. N., ZHU Q., YANG Q. H. and HAN Y. B., 2014-** Purification, preliminary characterization and *in vitro* immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, vol. 106: 217-222.
33. **CHOUANA T.,2017-** Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah d'Ouargla,203p
34. **CUI M., WU J., WANG S., SHU H., ZHANG M., LIU K. and LIU K., 2019-** Characterization and anti-inflammatory effects of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gelidium pacificum* Okamura. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 129 :377-385.
d'hémicelluloses du bois. Université de Limoges. Thesis Limoge, 240 p.
35. **DELATTRE C., PIERRE G., GARDARIN C., TRAIKIA M., ELBOUTACHFAITI R., ISOGAI A and MICHAUD P.2015-** Antioxidant activities of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPOMediated oxidation of xanthan. *Carbohydrate Polymers*, vol .116 : 34–4
36. **DESCAMPS P., BALDAUF J.J et BONNIER P .2004-**Dépistage des cancers gynécologiques et mammaires. Édition Masson .ISBN: 2-294.
37. **DI DONATO, P., POLI A., TAURISANO V., et NICOLAUS B., 2015-** In Kishan Gopal Ramawat, K. G. and Mérillon, J-M. *Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology*. 604-634.
38. **DIENG1 S., FALL1 A., DIATTA-BADJI K., SARR1 A., SENE2 M., SENE1 M., MBAYE1 A., DIATTA1 W et BASSENE1 E. 2017-** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach, Vol .11 : 768-776.

- 39. DOMIATI S., EL-MALLAH A., GHONEIM A., BEKHIT A and EL RAZIK H. A., 2016-** Evaluation of anti-inflammatory, analgesic activities, and side effects of some pyrazole derivatives. *Inflammopharmacology*, vol 24: 163–172.
- 40. DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. D., REBERS P. A and SMITH F., 1956-** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chern.*, vol. 28: 350-356.
- 41. EBRINGEROVA A., KARDOSOVA A., HROMADKOVA Z. et HRIBALOVA V., 2003-** Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, vol. 74: 52–61.
- 42. EMIRHAN G.-M., NEMUTLU E and DEMIREZER L.O., 2019-** A new perspective on evaluation of medicinal plant biological activities: The correlation between phytonics and matrix metalloproteinases activities of some medicinal plants. *Saudi Pharmaceutical Journal*.
- 43. FARAG M.R ., W M. ELHADYA., AHMEDB Y.A., TAHA H. C. S.A and ALAGAWANYD M.2019 -** Astragalus polysaccharides alleviate tilmicosin-induced toxicity in rats by inhibiting oxidative damage and modulating the expressions of HSP70, NFkB and Nrf2/HO-1 pathway, vol.124:137-148.
- 44. FEDAIL J.S., AHMED A.A., MUSA H.H., ISMAIL E., SIFALDIN A.Z and MUSA T.H., 2016-** Gum arabic improves semen quality and oxidative stress capacity in alloxan induced diabetes rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, vol.5: 434-441.
- 45. FERHAT I et MEHYACH R.,2010.-** Etude de l'activité anti inflammatoire et antioxydant d'*Artemisia campestris* L et *Spitzelia coronopifolia* Désf dans la région d'El-oued .mémoire de master . Université d'El Oued,100p.
- 46. FLOCH A.L., JOURDES M and TEISSEDRE P.L., 2015-** Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. *Carbohydrate Research*, vol. 417:94–102.
- 47. FRANCIS SUH J. K. and MATTHEW H. W. T., 2000-** Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials*, vol. 21:2589-2598 .

48. **GABERT J and GALONS H. 2011-** Chapitre 14 : Glucides : Structure et fonctions. Atomes Biomolécules Génome Bioénergétiques Métabolisme. Ed : Flammarion, Paris. p : 194-201.
49. **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 .
50. **GAO Y .,LI G ., LI C ., ZHU X .,LI M .,FU C and LI B. 2009 -** Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of sophocarpine. *Journal of Ethnopharmacology* ,vol.125 : 324– 329.
51. **GARRIDO, G ; GONZÁLEZ , D ; LEMUS, Y ; GARCIA , D ; LODEIRO , L ; QUINTERO , G ;DELPORTE , C ; NÚÑEZ-SELLÉS, A ; DELGADO, R . (2007) .**In vivo and in vitro antiinflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®). *Pharmacological Research*, 50, 143–149.
52. **GEETA K W., VERMA D .2018-** Polysaccharides as biomaterials. *Fundamental Biomaterials: Polymers*. p 37-70.
53. **GUIGNARD J. L., POTIER P., 2000-** Biochimie végétale. 2éme édition. Dunod. Paris: 97- 99-123 .
54. **GUILLOT, X ; SEMERANO, L; DECKER, P; FALGARONE, G ; BOISSIER, M-C. (2011).** Douleur et immunité. *Revue du rhumatisme*, 78, 503–511.
55. **HADDAD M., ZEIN S., SHAHROUR H., HAMADEH K., KARAKI N and KANAAN H. 2017-** Antioxidant activity of water-soluble polysaccharide extracted from *Eucalyptus* cultivated in Lebanon. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol 7: 157–160.
56. **HADDAD1 M., ZEIN1 S., SHAHROUR2 H., HAMADEH1 K., KARAKI1 N and KANAAN H.2016-** Antioxidant activity of water-soluble polysaccharide extracted from *Eucalyptus* cultivated in Lebanon ,vol.7:157-160.
57. **HADJ AMMAR H, MAJDOUB H, LAJILI S, BEN SAID R, LE CERF D, et BOURAOUIA.2015-** Caractérisation physico-chimique et évaluation pharmacologique des polysaccharides sulfatés de trois espèces d'algues brunes méditerranéennes du genre *Cystoseira*. vol: 23.
58. **HASSAN L.K., HAGGAG H.F., ELKALYOUBI M.H., ABD EL-AZIZ M., EL-SAYED M.M and SAYED A.F.,2015-** Physico-chemical properties of yoghurt

- containing cress seed mucilage or guar gum. *Annals of Agricultural Science*, vol. 60: 21–28.
- 59. HAWKEY C. J and LANGMAN M. J. S. 2003-** Non-steroidal anti-inflammatory drugs: overall risks and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors. *Gut*, vol 52: 600–608.
- 60. 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.
- 61. HENNEN G. 2006-** Biochimie approche bioénergétique et médicale. 4^{ème} Ed : Dunod. P : 17-18 .
- 62. 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.
- 63. HU S., YIN J., NIE S., WANG J., PHILLIPS G.O., XIE M and CUI S.W., 2016 -** In vitro evaluation of the antioxidant activities of carbohydrates Bioactive . *Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol.7 : 19-27.
- 64. JEDDOU F. CHAARI S. MAKTOUF O. NOURI-ELLOUZ C.B. HELBERT and R.E. GHORBEL . 2016-** Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels, *Food Chem*. vol 205 :97–105.
- 65. JOUINI M., ABDELHAMID A., CHAOUCH M. A., LE CERF D., BOURAOUI A., MAJDOUB H and BEN JANNET H. 2017-** Physico-chemical characterization and pharmacological activities of polysaccharides from *Opuntia microdasys* var. *rufida* cladodes. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 107: 1330–1338.
- 66. KARA S, 2010 -** Préparation des copolymères hydrosolubles à base d’amidon, Modification et contrôle des propriétés. Thèse de Magister, UNIVERSITE ABOU-BAKR BELKAID – TLEMCEM,133p
- 67. KHALDI F..Z.2015-** évaluation de l’activité antioxydant et anti inflammatoire des plantes médicinales algériennes *Thymus vulgaris*, *Matricaria recutita* *Anethum graveolens*.Mémoire De master .Université frères mentouri Constantine 77p.
- 68. KINDT T J, GOLDSBY R, OSBORNE B A. (2007) -**Immunologie. *Edition W&H* . p329-330

69. **LECHEB F., 2010** - Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau de dattes: essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. Thèse de Magistère Université M'hamed Bougara-Boumerdès, Algerie: 39p.
70. **LEE M.S., SHEU S. C., LYU Y., and CHENG J.H. , 2013** - Immunomodulatory effects of polysaccharides isolated from *Hericium erinaceus* on dendritic cells. *Process Biochemistry*, vol 48 :1402–1408.
71. **LEFSIH K, IBOUKHOULEF L, PETIT E, BENOUEATAS H, PIERRE G, et . DELATTRE .C., 2018-** .Anti-inflammatory and Antioxidant Effect of a D-galactose-rich Polysaccharide Extracted from Aloe vera Leaves. *Adv Appl Chem Biochem* ,vol .1: 18-26.
72. **LI S., LIU H., WANG W., WANG X., ZHANG C., ZHANG J and JIA L. 2018-** Antioxidant and anti-aging effects of acidic-extractable polysaccharides by *Agaricus bisporus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol .106: 1297–1306.
73. **LI Y. F ., XIAN Y.C.,IP S.P .,SU Z.R .,SU J.Y .,HE J.J ., XIE Q. F .,LAI X.P and LIN Z.X .2011-** Anti-inflammatory activity of patchouli alcohol isolated from *Pogostemonis Herba* in animal models. *Fitoterapia*; vol .82:1295–1301.
74. **LIANGLIANG D., CAI L., ZOU S and LUAN L., 2017-** Structural characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Sophorae tonkinensis Radix*. *Carbohydrate Polymers*, vol 184: 354–365.
75. **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.
76. **LIU Y., FANG S., ZHOU M., SHANG X., YANG W and FU X. 2018-** Geographic variation in water-soluble polysaccharide content and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* leaves. *Industrial Crops and Products*, vol 121 : 180–186.
77. **LOH S. PARK J., CHO E.H., NAH S.Y., AND KANG S.Y.,2015-** Animal lectins: potential receptors for ginseng polysaccharides 9p .
78. **LONG M . Y.L., ZHU D.Y., THAKUR K., WANG C.H., WANG H., REN Y.F and WEI Z. J., 2017-** Antioxidant and antibacterial evaluation of polysaccharides sequentially extracted from *onion (Allium cepa L.)*. *International Journal of Biological Macromolecules*,vol .111 : 92–101.

- 79. LOTHIER.,2007-** Métabolisme des fructanes chez *Lolium perenne* L.: Identification de deux gènes codant des fructane exohydrolases (FEHs) et étude de la régulation de l'activité FEH par les sucres solubles. Thèse de doctorat, Université de Caen,204p
- 80. LU J., LI J., JIN R., LI S., YI J and HUANG J. 2019-** Extraction and characterization of pectin from *Premna microphylla Turcz leaves*. International Journal of Biological Macromolecules. vol 131 :323-328.
- 81. LV 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 activation. International Journal of Biological Macromolecules, vol.98:723-729.
- 82. MALE D, BROSTOF J, ROTH D B, ROITT I. (2007) -**Immunologie. *Edition elssivieur*. Paris, p 3.
- 83. MALLEDAN .Y.2017 -** Méthode de surveillance de l'héparine non fractionnée par TC ou anti-Xa .thèse , université de ANGERS, vol . 70 p.
- 84. MANSOURI A., EMBAREK G., KOKKALOU and KEFALAS P. 2005-** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). FoodChemistry,Vol .89: 411-420.
- 85. MANU J., Aravind S. R., George S. K., Varghese S and Sreelekha T. T. 2013-** A galactomannan polysaccharide from *Punica granatum* imparts in vitro and in vivo anticancer activity. Carbohydrate Polymers, 98: 1466–1475.
- 86. MARZOUK B .,MARZOUK Z ., HALOUI E .,TURKI M ., BOURAOUI A .,AOUNI M and FENINA N. 2011 -** Anti-inflammatory evaluation of immature fruit and seed aqueous extracts from several populations of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. African Journal of Biotechnology, vol .10: 4217-4225.
- 87. MEDZHITOV, R. 2010-** Inflammation: new adventures of an old flame. Cell, vol.140,771-776.
- 88. MEHELLOU Z.,2015-** Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien. Thèse de Magister, Université Kasdi Merbah d'Ouargla,170p.
- 89. MELIH , G and AKPINAR O. ,2019-** Valorisation of fruit by-products: " Production characterization of pectins from fruit peels, Food and Bioproducts Processing .

90. **MEQUANINT W., MAKONNEN E and URG A K. 2010** - In vivo anti-inflammatory activities of leaf extracts of *Ocimum lamiifolium* in mice model. *Journal of Ethnopharmacology*, vol.134: 32–36.
91. **MERLIN J.2018**- Etude de la trypanosomose a trypanosoma evansi chez le dromadaire (camelus dromedarius) aux emirats ARABES UNIS , Thèse de doctorat Université claud-bernard - lyon I 177p.
92. **MIZUSHIMA Y and KOBAYASHI M .1968**-Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with same biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol.20:169-173.
93. **MOINE C., 2005**- Extraction, caractérisation structurale et valorisation d'une famille
94. **MOLDOVEANU B, OTMISHI P, JANI P,WALKER J, SARMIENTO X, GUARDIOLA J, SAAD M, YU J. (2009)** -Inflammatory mechanisms in the lung. *Journal of Inflammation Research*. p 3.
95. **MOLYNEUX P and SONGKLANAKARIN J . 2004**- The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology* ,Vol .26 :211-219.
96. **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.
97. **MOURADI A., CHIKHAOUI-KHAY M., AITAKKI S., AKALLAL R and HRRIMLE I., GIVERNAUD T., 2006**- Analyse structurale des fractions polysaccharidiques extraites de la paroi cellulaire d'*Hypnea musciformis* (Rhodophyceae, Gigartinales). *Afrique SCIENCE*, vol. 2: 226-244.
98. **MUNGURE T. E., ROOHINEJAD S., BEKHIT A. E.D., GREINER R and MALLIKARJUNAN, K. ,2018**- Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. *Current Opinion in Food Science*, vol 19 : 72–76.
99. **NDIAYE M, SY GY, DIÈYE AM, TOURÉ MT and FAYE B. ,2006**- Evaluation de l'activité antiinflammatoire de feuilles d'*annona reticulata* (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat indit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* vol.14: 179-186.
100. **NEREAMUÑOZ A., RICO-RODRIGUEZ F., VILLAMIEL M. and MONTILLA A. 2018**- Pectin characterisation using size exclusion chromatography: A comparison of ELS and RI detection. *Food Chemistry*, vol 252: 271–276.

- 101. NERÉE A .,2016-** caractérisation biophysique et rôles biologiques des interactions hormone peptidique- glycosaminoglycane. Thèse de Magister, Université du Québec à montréal,136p.
- 102. NIE C., ZHU P., MA S., WANG M and HU Y. ,2018-** Purification, characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from *stem lettuce*. Carbohydrate Polymers, vol 188: 236–242.
- 103. OKOLI C.O., AKAH P.A., NWAFOR S.V., ANISIOBI, A.I ., IBEGBUNAM I.N and EROJIKWE O. 2007 -** Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D.Adams. Journal of Ethnopharmacology, vol.109 :219–225.
- 104. OLENNIKOV D. N et ROKHIN A. V., 2008.-** Polysaccharides of Fabaceae.I. Galactomanna of *Astragalus sericeocanus* seeds. Chemistry of Natural Compounds, vol. 44: 685-687.
- 105. ONDUA M., NJOYA E. M., ABDALLA, M. A. and MCGAW L. J. ,2018-** Anti-inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. Journal of Ethnopharmacology. vol 234 :27-35.
- 106. OZENDA P., 197.-** Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 p.
- 107. OZENDA P., 2004.-** Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 pages.
- 108. PETERA B ; 2010-** Option : Nutrition et sciences des aliments valorisation de plantes succulantes au service du developement rurale : cas du genre cereustriangularis thèse doctorale:4.
- 109. PINHEIRO A.C., BOURBON A.I., ROCHA C., RIBEIRO C., MAIA J.M ., GONALVES M.P et VICENTE A.A. 2011-** Rheological characterization of carrageenan/galactomannan and xanthan/ galactomannan gels: Comparison of galactomannans from non-traditional sources with conventional galactomannans, Carbohydr. Polym, vol. 83 : 392–399.
- 110. POKORNY J., YANISHLIEVA N and GORDON M .2001-**Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.
- 111. POMIN V. H., 2015-** Sulfated glycans in inflammation. European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 92: 353-369.

- 112. PRAJAPATI V.D., MAHERIYA P.M., JANI G.K and SOLANKI H.K., 2014-** Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*, vol.105: 97-112.
- 113. QUEZEL P. and SANTA S., 1962-1963-** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS Paris. vol. 1 et 2:1170 p.
- 114. RAPRA S.,2011-** Polysaccharides in Medicinal and Pharmaceutical Applications,Paris,430p
- 115. RIAHI R .C, TARHOUNI S and KHARRAT R .2013-** Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée . *Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis* ,vol .88 :19-28.
- 116. RJEIBI I, FERIANI A., SAAD A. B., NCIB S., SDAYRIA J., HFAIEDH N and ALLAGUI, M. S. ,2018-** *Lycium europaeum* Linn as a source of polysaccharide with in vitro antioxidant activities and in vivo anti-inflammatory and hepato-nephroprotective potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, vol 225 : 116–127.
- 117. DIALLO D., SANOGO R., YASAMBOU H., TRAORE A., COULIBALY K., MAIGA A., 2004 -** Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie*, vol. 7: 1073–1080.
- 118. RUIZ G., 2005-** Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat de l'université de Limoges: 36- 38.
- 119. SAHLAN M., DEVINA A., PRATAMI D. K., SITUMORANG H., FARIDA S., MUNIM A and LEDYAWATI, M. 2018-** Anti-inflammatory activity of *Tetragronula* species from *Indonesia*. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- 120. SANCHEZ M P., 2006-** Polysaccharides ayant une activité immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec. Thèse de doctorat de l'Université Laval de Québec: 119p.
- 121. SÁNCHEZ-MORENO C.2002-** Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems, vol.8:1-18.
- 122. SANGEETHA M ., KOUSALYA K., LAVANYA R., CHERUKURU S.,CHAMUNDEESWARI D and MAHESWARA R.2011-** In-vitro Anti-

- inflammatory and Anti-arthritic Activity of Leaves of Cleodendron Inerme. RJPBCS, Vol.2 : 822-827.
- 123. SANJA S., NEŠIĆ A., RUŽIĆ J., KALAGASIDIS KRUŠIĆ M., VELIČKOVIĆ S., AVOLIO, R and MALINCONICO, M., 2018-** Edible blend films of pectin and poly(ethylene glycol): Preparation and physico-chemical evaluation. Food Hydrocolloids, vol 77: 494–501.
- 124. SANOGO R., MAIGA A and DIALLO D. 2006-** Activités analgesique et antiinflammatoire des extraits de maytenus senegalensis, stereospermum kuntrianum et tricrilia emetica utilisées dans le traitement traditionnel des dysmenorrhées au Mali. Pharm. Méd. Trad. Afr., XIV, 123-136 .
- 125. SCHWARTZ E, TZULKER R, GLAZER I, BAR-YA'AKOV I, WIESMAN Z, TRIPLER E, BAR-LLAN I, FROMM H, BOROCHOV-NEORI H, HOLLAND D, AMIR R., 2009.** Environmental conditions affect the color, taste, and antioxidant capacity of 11 pomegranate accessions' fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry **57**, 9197–9209
- 126. SHAHBUDDIN M ., SHAHBUDDIN D., BULLOCK A .J., IBRAHIM H., RIMMER S.et MACNEIL S .2013-** High molecular weight plant heteropolysaccharides stimulate fibroblasts but inhibit keratinocytes, Carbohydr. Res , Vol .375: 90–99.
- 127. SHEHATA I A., EL-HARSHANY E., ABDALLAH H. M., ESMAT A and ABDEL-SATTAR E. A., 2018-** Anti-inflammatory activity of Kleinia odora. European Journal of Integrative Medicine. vol 23 :64-69.
- 128. SHIH C., HWANG H.R ., CHANG C., SU H.M., CHEN P.C ., KUO H.M., LI P.J ., DAVID WANG H.M ., TSUI K.H., LIN Y.C., HUANG S.Y and WEN Z.H. 2017-** Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of Ethyl Acetate Fraction of an Edible Red Macroalgae Sarcodia ceylanica, vol. 18: 2-15.
- 129. SOEHNLEIN O., STFFENS S., HIDALGO, A and WEBER C., 2017-** Neutrophils as protagonist and targets in chronic inflammation. Nature Reviews – Immunology, vol.17: 248 – 261.
- 130. 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.

- 131. SOUZA R.O. MADEIRA S, J.C, CHAGAS F.D.S, PARREIRAS, L.A, SANTOS G.R.C, ASSREUY, A.M.S, MOUR A.O, et PEREIRA, M.G , 2015-** Purified polysaccharides of *Geoffroe aspinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. *Carbohydrate Polymers*, vol .124 : 208-21 .
- 132. 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.
- 133. TER S. A., 2018-** Chemistry of cellulosic polymers. *Technology and Applications of Polymers Derived from Biomass*, 57–74.
- 134. TIZZOTTI M. J., SYAHARIZA Z. A., SAR S., HASJIM J and GILBERT, R. G., 2010-** The importance of amylose and amylopectin fine structures for starch digestibility in cooked rice grains. *Food Chemistry*, vol 136 : 742–749.
- 135. TRABSA H.,2015-** Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : *Sedum sediforme* et *Lycium arabicum* Université Farhat Abbas 1 . 100p.
- 136. VERMA, M., AJAY KUMAR, P., KAVITHA, D. and AURAG, K.B. 2011-** Antidenaturation and antioxidant activity of *Annon cherimola* in vitro. *International Journal of Pharma and Bio Science*, vol. 2 : 1-6.
- 137. VOET D., VOET J.D., 2005-** *Biochimie*. 2^e edi de bock université paris : 368-369.
- 138. WANG J., CHEN, S., ZHANG Y., GUAN J., SU G.Y., DING M and ZHAO Y .Q., 2019-** Anti-inflammatory and analgesic activity based on polymorphism of cedrol in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. vol 68 :13-16.
- 139. WANG W., MCCONAGHY A.M., TETLEY L et UCHEGBU I.F .2001-** Controls on polymer molecular weight may be used to control the size of palmitoyl glycol chitosan polymeric vesicles,*Langmuir*, vol .17 : 631–636.
- 140. WANG, Y., LAI, L., TENG, L., LI, Y., CHENG, J., CHEN, J and DENG, C., 2019-** Mechanism of the anti-inflammatory activity by a polysaccharide from *Dictyophora indusiata* in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 126: 1158-1166.
- 141. WEIL. J. 2009-** *Biochimie générale* .11^eme Ed : Dunod. P : 213-215.
- 142. WEILL B., BATTEUX, F. et DHAINAUT, J. 2003-** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Eds, De Boeck Université (Paris), 12-23.

143. WINTER C .A., RISLEY E. A and NUSS G . W. 1962-Carragenin-induced oedema in hind paws of rats as an assay for antiinflammatory drugs. Proc Soc Exp Biol Med ,vol .111:50 -540.
144. XIE J.H., ZHANG F., WANG Z.J., SHEN M.Y., NIE S. P and XI M.Y., 2015- Preparation, characterization and antioxidant activities of acetylated polysaccharides from *Cyclocarya paliurus leaves*. *Carbohydrate Polymers*,vol 133: 596–604.
145. XUE N., WU X., WU L., LI L and WANG F.,2018- Antinociceptive and anti-inflammatory effect of Naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models. *Life Sciences*. vol 217 :148-154.
146. YANG X ZHAI X., ZHU C., ZHANG Y., SUN J and ALIM A., 2018 -Chemical characteristics, antioxidant capacities and hepatoprotection of polysaccharides from pomegranate peel. *Carbohydrate Polymers*. vol 202 :461-469.
147. 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.
148. Young-Ran S., Han A. R., Lim, T. G., Lee, E. J and Hong, H.D., 2018- Isolation, purification, and characterization of novel polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves and their immunostimulatory effects. *International Journal of Biological Macromolecules*.vol 128 :546-555.
149. YU X.H ., LIU Y., WU X.L., LIU L.Z FU W and SONG D.D., 2017- Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides derived from American ginseng. *Carbohydrate Polymers*, vol. 156: 9–18.
150. YU Y., SHEN M., SONG, Q and XIE J., 2018- Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*, vol 183 : 91–101.
151. YUE Y., WU S., ZHANG H., ZHANG X., NIU Y., CAO X and DING H., 2014- Characterization and hepatoprotective effect of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex HF Chou sarcocarp. *Food Chem. Toxicol.* vol 74:76–84.
152. YVES R ., 2008- biopolymères dynamiques :oligo et polysaccharides. thèse de doctort. Université louis pasteur de stars bourg.
153. YVES R ; 2008- biopolymères dynamiques :oligo et polysaccharides thèse de doctort. Université louis pasteur de stars bourg.

- 154. ZHANG A. Q., ZHANG Y., YANG J., JIANG J., HUANG F. F. and SUN P. L., 2013-** Structural elucidation of a novel water-soluble fructan isolated from *Wedelia prostrata*. *Carbohydrate Research*, vol. 376: 24-28.
- 155. ZHANG C. X. et DAI Z. R., 2011-**Immunomodulatory activities on macrophage of a polysaccharide from *Sipunculus nudus* L. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 9: 2961-2967.
- 156. ZHANG H., YE L and WANG K. .,2010-** Structural characterization and anti-inflammatory activity of two water-soluble polysaccharides from *Bellamyia purificata*. *Carbohydrate Polymers*, vol 81 : 953–960.
- 157. ZHAO Y., HU W., ZHANG H., DING C., HUANG Y., LIAO J and YUAN M., 2019-** Antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from the rhizome of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai. *International Journal of Biological Macromolecules*. vol 130 :238-244.
- 158. ZHAO Z., UKIDVE A., DASGUPTA A and MITRAGOTRI S., 2018 -** Transdermal immunomodulation: Principles, advances and perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol 127:3–19.
- 159. ZIANE L.2016-** Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de *Limoniastrum Feei* -Blombaginaceae - (Mlefet Khadem).Thèse de doctorat. Université abou-bekr belkaid – tlemcen.92p.
- 160. ZLATANOVA1 H., VLADIMIROVA2 S., KOSTADINOV1 I and ATANAS T. B.2017-** In Vivo Evaluation of Anti-inflammatory Activity of 2-[3-Acetyl-5-(4-chlorophenyl)-2-methyl-pyrrol-1-yl]-4-methylsulfanyl-butyril Acid, vol.60:270-274.

ANNEXES

Annexe 1

L'étude de la composition de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles est réalisée par des dosages colorimétriques. La teneur en oses totaux est déterminée par la méthode de DUBOIS (1956). Tandis que les oses constitutifs neutres sont dosés selon la méthode de MONSIGNY et al. (1988), à partir de différentes concentrations de glucose (Glc). De même, la méthode de BRADFORD (1976) a donné les concentrations des protéines à partir de gamme d'étalons de sérum albumine bovine.

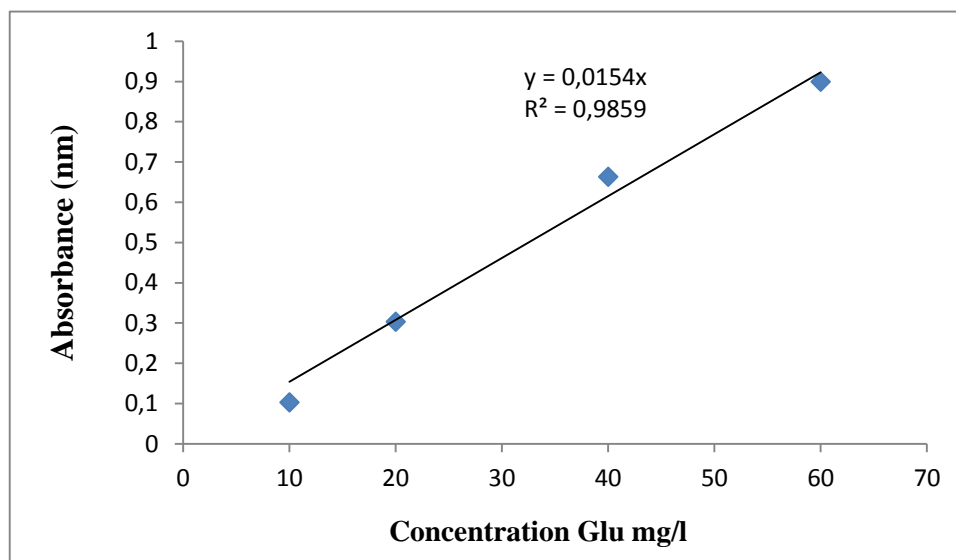


Figure 15.- Courbe d'étalonnage pour les oses totaux (DUBOIS, 1956)

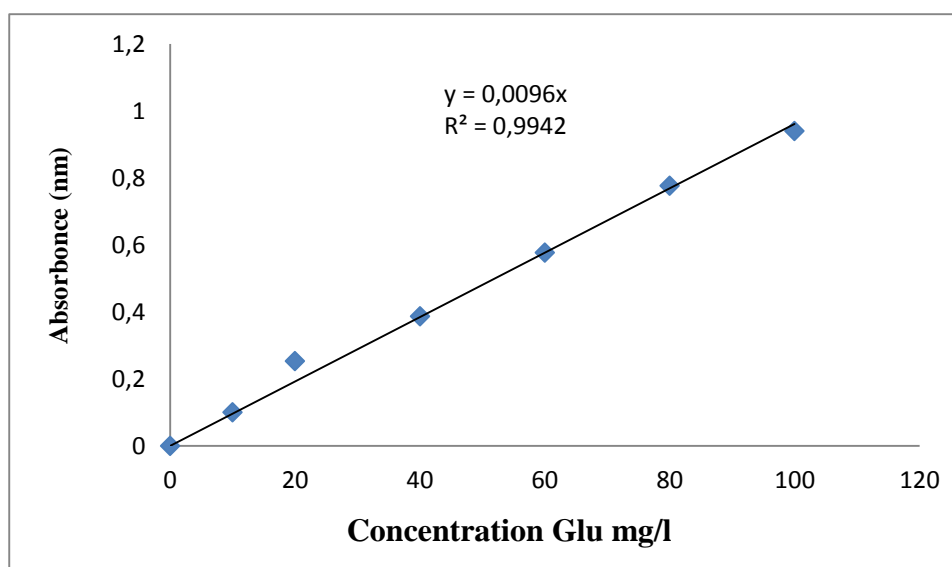


Figure 16.- Courbe d'étalonnage des oses neutres (MONSIGNY *et al.*, 1988)

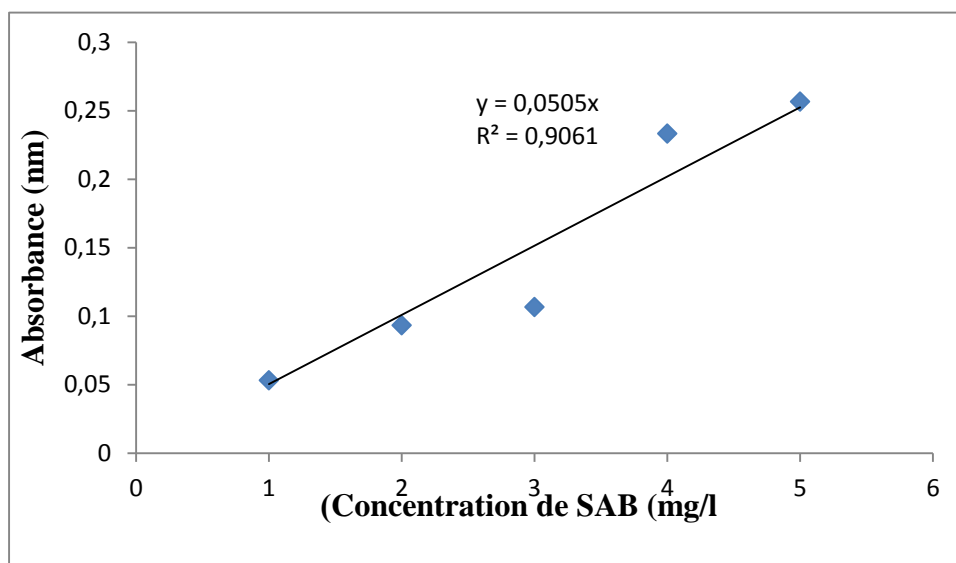


Figure 17.- Courbe d'étalonnage pour les protéines (BRADFORD, 1976)

Annexe 2

Les photos ci-dessous présentent les étapes expérimentales de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*.



Photo 3. – Lots de l'expérimentation



Photo 4. – Gavage gastrique



Photo 5. - l'injection de la carragénine



Photo 6. – Mesure de l'œdème



Photo 7.– Préparation des frottis

Annexe 4

Les types des appareils utilisés au cours de l'expérience.



Spectrophotomètre



Balance de précision



Bain marie



Centrifugeuse



Agitateur magnétique



Microscope optique

RÉSUMÉS

Résumé

Ce travail est porté sur l'étude des polysaccharides hydrosoluble extrait des graines de la plante spontanée à caractère médicinal *Astragalus gombo* (Fabaceae), récoltée dans la région d'El Oued. L'étude note un rendement massique de l'extraction hydrosoluble de 8.13% et enregistre également que la composition des polysaccharides hydrosolubles isolés est de 49.67% d'oses totaux, de 44.44% d'oses neutres et de 17.82 % de protéines. L'activité antioxydant est évaluée à l'aide de la méthode de l'élimination de radicaux libre (DPPH) dans laquelle l'activité antioxydante indique que la fraction obtenue possède un pourcentage d'inhibition de 55 %. Par addition, l'activité anti-inflammatoire est mesurée par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines où le pourcentage d'inhibition est de 83.63 %. L'estimation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* dépende de leur capacité à inhiber le gonflement de l'œdème, où il est constaté que ces polysaccharides ont un pouvoir inhibiteur de 50 %.

Mots clés: *Astragalus gombo*, Polysaccharides hydrosolubles, Anti-inflammatoire, Antioxydante.

Abstract

This work focuses on the study of water-soluble polysaccharides extracted from the seeds of the spontaneous medicinal plant *Astragalus gombo* (Fabaceae), harvested in the region of El Oued. The study notes a mass yield of the water-soluble extraction of 8.13% and also records that the composition of the water-soluble polysaccharides isolated is 49.67% of total sugars, 44.44% of neutral sugars and 17.82% of proteins. Antioxidant activity is evaluated using the free radical scavenging (DPPH) method in which the antioxidant activity indicates that the fraction obtained has a percent inhibition of 55%. By addition, the anti-inflammatory activity is measured by the protein denaturation inhibition test where the percent inhibition is 83.63%. The estimation of the anti-inflammatory activity *in vivo* depends on their ability to inhibit the swelling of the edema, where it is found that these polysaccharides have an inhibitory power of 50%.

Key words: *Astragalus gombo*, Water-soluble polysaccharides, Anti-inflammatory, Antioxidant.