



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire N° série.....

وزارة البحث العلمي و التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED

كلية العلوم الطبيعية و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية و الجزئية

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
(*in vitro*) des extraits polysaccharidiques issus de
Trigonella foenum-graecum L. (Fabaceae)**

Présentée Par :

M^{elle} SELMI Hiba Manar

M^{me} BERRAHMOUNE Romaisa

M^{elle} MANANE Manal

Devant le jury composé de :

Président : Mr GHANIA Ahmed

M.A.A Université d'El Oued

Examinatrice : M^{me} MEHELLOU Zineb

M.A.A Université d'El Oued

Promotrice : M^{me} YOUMBAI Asma

M.C.B Université d'El Oued

Année universitaire: 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant qui nous données la santé, la force, le courage,

La volonté, la patience et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.

On exprime d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice Madame

 **YOUMBAI Asma** 

maître conférence B au Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,

Université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued

pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous

encadrer, pour son soutien, ses attentions,



ses bons conseils, ses qualités humaines, et aussi pour sa gentillesse.

Pour tout cela on tient à lui exprimer toute notre gratitude.

acceptée d'encadrer ce travail, son assistance

*Nous tenons à remercier les membres de jury, le Président **DR. GHANIA Ahmed** (MAA) et*

*l'examinatrice **DR. MEHELOU Zineb** (MAA), d'avoir accepté de juger nôtre*

 *travail.* 


Nous voulons remercier tous les enseignants du primaire

Jusqu'à ce niveau.

Au responsables du laboratoire qui ont accepté de nous

accueillir, et de faciliter notre intégration dans le milieu de la pratique, on exprime nos

gratitudes.



Dédicace

**A mes parents
Entémoignage de leur
amour et soutien Que dieu
les préserve en bonne santé
Et leur accorde longue vie.**

**A toute ma famille et mes
amis.**

**A tous ceux que j'aurais
oublié de citer mais qui
existent au fond de mon
coeur et de ma pensée .**

Hiba, Romaiissa, Manal

Résumés

La présente étude visant à déterminer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L, par macération à chaud. Le rendement massique de polysaccharides hydrosolubles a été estimé à 11,09% nous avons également déterminé les composants des extraits polysaccharidiques, qui sont constitués de 96,83 % d'oses totaux, 61,80 % d'oses neutres et 1,56 % de protéines.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L a été réalisée par le test de stabilisation de la membrane érythrocytaire humaine (HRBC), le pourcentage de dissolution des globules rouges et de protection de l'extrait a été estimé à 74,46 % et 64,33 %, respectivement, cet extrait possède un effet anti-inflammatoire proche à celui de diclofénac (témoin) avec un pourcentage de 72,61 %, et le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (ovalbumine), les pourcentages d'inhibition était de 61,11 % et 66,66 % et cet effet est faible par rapport à l'effet de diclofénac dont un pourcentage de 91,66 %, le test d'inhibition de la dénaturation des protéines(BSA) a été estimé à 97,68 % et 93,06 % respectivement a des concentration 2.7 et 2.97 mg /ml et il a une activité élevée par rapport au diclofénac 90,12 %.

Mots clés : polysaccharides, *Trigonella foenum-graecum* L, Activité Anti-Inflammatoire.

الملخص

تهدف هاته الدراسة إلى تحديد النشاط المضاد للالتهابات في المخبر للسكريات القابلة للذوبان في الماء، المستخرجة من بذور الحلبة. قدر مردود السكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء بنسبة 11.09٪، كما تم تحديد المكونات الكيميائية حيث قدرت السكريات المجملة بنسبة 96.83 ٪ ، أما السكريات المتعادلة فقد قدرت بنسبة 61.80 ٪، و نسبة 1.56٪ مثلت كمية البروتينات.

تم اجراء تجربة النشاط المضاد للالتهابات للسكريات المتعددة عن طريق اختبار تثبيط غشاء الكريات الدم الحمراء البشرية (HRBC)، حيث قدرت نسبة حماية خلايا الدم الحمراء من الانحلال بعد اضافة المستخلص ب 74.46٪ و 64.33٪ على التوالي مقارنة مع الشاهد الديكلوفيناك له نشاط مقارب حيث قدرت نسبة حماية الشاهد للخلايا ب 72.61 ٪ ، أما بالنسبة لاختبار تثبيط تحلل البروتين (ovalbumine) فقد بلغت نسبة تثبيط 61.11٪، 66.66٪ وكان لديه نشاط منخفض مقارنة مع الشاهد الديكلوفيناك بنسبة 91.66٪ ، واختبار تثبيط تحلل البروتين (SBA) حيث قدرت نسبة 97.68٪، 93.06٪ على التوالي بتركيزات 2.7 و 2.97 مغ / مل ولديه نشاط مرتفع مقارنة مع الشاهد الديكلوفيناك (نسبته 90.12٪).

الكلمات المفتاحية: متعدد السكريات، بذور الحلبة ، النشاط المضاد للالتهابات .

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	La composition chimique de graine de fenugrec	04
Tableau 02	Rôles biologiques des quelques homopolyosides	08
Tableau 03	Rôles biologiques des quelques hétéropolyosides	09
Tableau 04	Origine des principaux polysaccharides	10
Tableau 05	Caractéristiques des polysaccharides hydrosolubles de graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L	36
Tableau 06	Résultats des pourcentages de stabilisation de la membrane des globules rouge	38
Tableau 07	Résultats des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines (ovalbumine)	39
Tableau 08	Résultats des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines(BSA)	40

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Feuilles et fruit de <i>Trigonellafoenum-graecum</i> L	03
Figure 02	Graines de <i>Trigonellafoenum-graecum</i> L	03
Figure 03	schémas montrant la différence entre la structure des homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides	08
Figure 04	molécule d'héparine	11
Figure 05	Structure chimique du glycogène	11
Figure 06	Motif osidique de base des agarcolloïdes (1) et des carragenanes (2)	12
Figure 07	Structure des alginates	13
Figure 08	Chaîne de dextrane avec trois points de départ de chaînes latérales	14
Figure 09	Structure de la cellulose	16
Figure 10	Structures de l'amylose et de l'amylopectine	17
Figure 11	Structure moléculaire des galactomannanes	18
Figure 12	schéma général de différentes étapes de l'extraction des polysaccharides	28
Figure 13	Extrait des polysaccharides hydrosolubles de graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L	35
Figure 14	Histogramme de la Composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des <i>Trigonella foenum-graecum</i> L	36

Liste des abréviations

CMI : concentration inhibitrice minimale

CPS : polysaccharides capsulaires

DIS : Diclofenac sodium.

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

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique

EPS : Exopolysaccharide.

Fru : Fructose

g : gramme

GAG : glycosaminoglycanes

GalA : galacturonique

GalNAc : N-acétylgalactosamine

GaM : Galactomannanes

GlcA : L'acide glucuronique

GlcNAc : N-acétylglucosamine.

GM : Glucomannanes.

GR : Globules rouges.

Gram - : Gram negative.

Gram+ : Gram positive.

HBPM : héparines de bas poids moléculaire

HNF : l'héparine non fractionnée

HRBC : Méthode de la stabilisation de la membrane des érythrocytes humaine

IC50 : Concentration Inhibitrice de 50 %.

IR : infrarouge

LPS : lipopolysaccharides

mg : Milligramme.

mL: Millilitre.

NaCl : Saline hypotonique.

NK : Natural Killer

nm : nanomètre

PH : Potentiel hydronium

R : Rendement

SAB : méthode dénaturation de sérum albumine bovine

SBA : Sérum d'albumine bovine

Mg : Microgramme

μl : Microlitre.

PBS : Tampon de phosphate saline

Table des matières

Remerciement	
Dédicace.....	
Résumés.....	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Table des matières.....	
Introduction	01

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1: *Trigonella foenum –graecum L*

I.Ethnobotanique du <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	02
I.1.Étymologie de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	02
I.2.Répartition géographique.....	02
I.3.Description botanique du <i>Trigonella foenum –graecum L</i>	02
I.4.Partie utilisée.....	03
I.5.Classification botanique.....	04
I.6.Composition biochimique.....	04
I.7.utilisation thérapeutiques traditionnelle de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	05
I.8. Activités biologiques connues de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	06

Chapitre 2: Polysaccharides

II.Polysaccharides.....	07
II.1.Classification des polysaccharides.....	07
II.1.1.Selon la composition chimique en monomères.....	07
II.1.1.1.Homopolysaccharides.....	08
II.1.1.2.Hétéropolysaccharides.....	09
II.1.2.Selon leurs origines.....	10
II.1.2.1.Polysaccharides animaux.....	10

II.1.2.1.1.L'héparine.....	10
II.1.2.1.2.Le glycogène.....	11
II.1.2.2.Polysaccharides d'origine algales.....	11
II.1.2.3.Polysaccharides bactériens et fongiques.....	14
II.1.2.4.Les polysaccharides végétaux.....	15
II.1.2.4.1.Les polysaccharides de structure.....	15
II.1.2.4.2.Polysaccharides de réserve.....	16
II.1.2.4.2.1.Amidon.....	16
II.1.2.4.2.2.mannanes.....	17
II.1.2.4.2.2.1.Glucomannane.....	17
II.1.2.4.2.2.2.Galactomannanes (GM).....	18
II.2.1.3.Exsudats et mucilages.....	18

Chapitre 03 : Les activités biologiques des polysaccharides

III. Les activités biologiques des polysaccharides.....	19
III.1.Activité antimicrobienne.....	19
III.2.Activité anti-oxydante.....	20
III.3.L'activité immunomodulatrice.....	21
III.4.Activité anti inflammatoire.....	23
III.5.Activité antiviral.....	24

Partie II : expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et méthodes

I.Matériels	26
I.1.Principe adopté.....	26
I.2.Matériel d'étude.....	26
I.2.1.Matériel biologique.....	26
I.2.1.1. Choix de l'espèce végétale.....	26
I.3.Méthode d'étude.....	26

I.3.1. Extraction des polysaccharides.....	27
I.3.1.1.Calcul du rendement.....	27
I.3.2 Composition de l'extrait polysaccharidiques.....	29
I.3.2.1.Dosages des oses totaux.....	29
I.3.2.1.1.Principe.....	29
I.3.2.1.2.Mode opératoire.....	30
I.3.2.2.Dosage des oses neutres.....	30
I.3.2.2.1.Principe.....	30
I.3.2.2.2.Mode opératoire.....	30
I.3.2.3.Dosages des protéines.....	30
I.3.2.3.1.Principe.....	31
I.3.2.3.2.Mode opératoire.....	31
I.4.Activités anti-inflammatoires des extraits bruts polysaccharidiques <i>in vitro</i>	31
I.4.1.Préparation de tampon Phosphate Buffer Saline (PBS).....	31
I.4.1.1.La méthode de stabilisation membranaire des globules rouges (méthode1).....	31
I.4.1.1.1.Principe.....	31
I.4.1.1.2.Mode opératoire.....	32
I.4.2.2. La méthode d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes (méthode 2).....	32
I.4.2.2.1.Princip.....	32
I.4.2.2.2.Mode opératoire.....	32
I.4.3.3.Méthode de l'inhibition la dénaturation des protéines.....	33
I.4.3.3.1.Principe.....	33
I.4.3.3.2.Extraction de l'ovalbumine.....	33
I.4.2.2.3.Mode opératoire.....	33
I.4.4.4.La méthode de dénaturation de sérum albumine bovine (SAB).....	34
I.4.4.4.1.Princip.....	34
I.4.4.4.2.Mode opératoire.....	34

Chapitre 02: Résultats et discussion

II.1.Etude des polysaccharides.....	35
II.1.1.Rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles.....	35
II.1.2.Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble.....	36
II.1.3.Activités anti-inflammatoire de l'extrait polysaccharidique in vitro.....	37
II.1.3.1.Effet des polysaccharides hydrosolubles de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L sur la stabilisation de la membrane des érythrocytes.....	38
II.1.3.2.Effet des polysaccharides hydrosolubles de <i>Trigonella foenum- graecum</i> L sur d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes (H ₂ O ₂).....	39
II.1.3.3.Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines.....	39
II.1.3.4.Le pourcentage d'inhibition de dénaturation de sérum albumine bovine (SAB).....	40
Conclusion et perspectives	42
Références bibliographiques.....	43

Introduction

Introduction

Les médicaments utilisés pour le traitement actuel de différentes maladies mais présentent le plus souvent des effets indésirables donc les chercheurs réfléchissent à remplacer ces derniers par des molécules naturelles thérapeutiques et moins d'effets indésirables comme les polysaccharides. Les médicaments à base de plantes ont suscité un intérêt considérable en tant que remèdes alternatifs contre le cancer en raison de leur faible toxicité et de leur faible coût (Boual *et al.*, 2015). Les polysaccharides sont connus et exploités depuis de nombreuses années du fait de leur abondance, de leur caractère renouvelable, de leur non-toxicité, et de leur biodégradabilité (Chouana, 2017).

Le fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des fabacées. Il se trouve partout dans le monde, mais il est d'origine méditerranéenne. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles très importantes vu l'utilisation traditionnelle et les activités pharmacologiques des composés phytochimiques présents dans les extraits des graines de cette plante (huiles essentielles, saponines et flavonoïdes...) (Rahmani, 2017).

Face à ce constat la présente étude est orientée vers la recherche des effets biologiques de certains polysaccharides hydrosolubles issus de cette plante à caractère médicinal et leurs effets officinaux. Il s'agit de *Trigonella foenum-graecum* L. L'étude porte sur l'étude des activités anti-inflammatoires.

Le document est structuré en deux parties. La première partie porte sur la synthèse bibliographique, rappelant le chapitre 1 généralités sur la plante *Trigonella foenum-graecum* L et le chapitre 2 sur les polysaccharides, le troisième chapitre est porté sur les activités biologiques des polysaccharides extraits des plantes. Dans la seconde partie, le premier chapitre sur la méthodologie de travail est développé. Le deuxième chapitre porte les différents résultats obtenus suivis de discussions. Une conclusion et des perspectives achèvent ce travail.

Partie I
Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Trigonella foenum-graecum

L

I. Ethnobotanique du *Trigonella foenum-graecum* L

I.1. Étymologie de *Trigonella foenum-graecum* L

Le fenugrec, scientifiquement connu sous le nom de *Trigonella foenum-graecum*, appartient au genre botanique *Trigonella* qui vient du latin « trigonum » signifiant trigone/triangle, se référant probablement à la forme triangulaire des fleurs. Le nom latin de l'espèce *foenum-graecum* signifie « foin grec », en référence au parfum intense de la plante séchée du fenugrec (Parthasarathy *et al.*, 2008).

I.2. Répartition géographique

Le fenugrec était connu et utilisé à différentes fins dans les temps anciens, notamment dans la région méditerranéenne, la Chine, l'Inde et l'Indonésie. Cependant, l'origine exacte de cette plante est difficile à déterminer (Petropoulos *et al.*, 2002). Certains auteurs ont suggéré qu'elle est originaire de la région méditerranéenne, d'autres ont proposé une origine asiatique (Mehrafarin *et al.*, 2011). Elle est largement distribuée à travers le monde, notamment dans les pays de l'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie, Maroc et en Egypte), et également en Asie du sud-ouest, en Inde, au Pakistan, en Chine et au Japon. Sa culture s'étend plus récemment à l'Europe centrale, au Portugal, en Espagne, au Royaume-Uni et aux États-Unis (Petropoulos *et al.*, 2002).

I.3. Description botanique du *Trigonella foenum-graecum* L

Le fenugrec est une plante herbacée, annuelle, poilue ou glabre selon les variétés, La famille des *Fabaceae* est la deuxième grande famille des plantes fleurissantes avec 650 genres et 18000 espèces ((Wichtl., 2003 ; Singh *et al.*, 2008). Son pied peut atteindre une hauteur entre 30 à 60 cm. Sa culture ne nécessite qu'une terre calcaire et un peu d'humidité. Il possède une racine principale bien développée et une tige dressée rameuse, cylindrique, légèrement pubescente, de couleur souvent rose (Wichtl., 2003). Les feuilles sont alternes, longuement pétiolées munies de 2 stipules, composées à 3 folioles ovales et denticulées. La fleur du fenugrec est sessile, dite papilionacée, assez grande, de couleur jaune pâle à violet clair, se compose d'un calice à cinq sépales non divisés, d'une corolle à cinq pétales libres de forme triangulaire (d'où le nom de trigonelle) et de dix étamines et un ovaire pluriovulé. Le fruit, qui renferme de 10 à 20 graines, est une gousse linéaire, glabre avec de fines nervures longitudinales, se terminant par un bec (Ait Youssef., 2006) (figure 1).



Figure 01 : Feuilles et fruit de *Trigonella foenum-graecum* L (Oueslati et al.,2015)

I.4.Partie utilisée

Les graines sont de consistance très dure, rhomboïdales, de couleur jaune brunâtre, marquées par un sillon les partageant en deux parties inégales (Ait youssef .,2006) (figure2).



Figure 02 : Graines de *Trigonella foenum-graecum* L (Oueslati ., 2015).

I.5. Classification botanique

- **Règne** : Plantae
- **Sous-règne** : Tracheobionta
- **Embranchement** : Magnoliophyta
- **Sous-embranchement** : Magnoliophytina
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous-classe** : Rosidea
- **Ordre**: Fabales
- **Famille** : Fabaceae
- **Genre** : *Trigonella* L
- **Espèce** : *Trigonella foenum-graecum* L (Rahmani *et al.*2015).

I.6. Composition biochimique

La graine de fenugrec est riche en protéine (20 à 30%), les acides aminés tels que la 4-hydroxyisoleucine (0,1 à 0,3% du poids de la drogue sèche), les glucides (20 à 45%) , les lipides (7 à 10%)., les sapogénines (0,1-2,2%), la trigonelline (méthylbétaine, 0,37%), du phosphore, du calcium, du β -carotène et une huile essentielle (environ 0,015%) mais aussi à des constituants volatils (sesquiterpènes, lactones, etc.) (Ghédira *et Oueslati.*, 2015).

La composition chimique de la graine dans le Tableau 1.

Tableau 01: La composition chimique de graine de fenugrec (Ghedira et al., 2010).

Classe de constituants chimiques	Constituants chimiques
Protéine (28-30%)	Nucléoprotéines
Glucides (20-45%)	Fibres: cellulose, hémicellulose, mucilages, galactomannane, phytine, inositol hexaphosphat de Ca et de Mg

Sapogénines et saponosides stéroïdiques (4,5%)	Foenugracine, trigofenoside A et autres hétérosides de la diosgénine ; nombreuses sapogénines stéroïdiques
Coumarine	Scopolétine
Flavonoïdes	Vitexine , vicénines , dérivés de l'orientine
Acides aminés	4-hydroxyisoleucine
Autres	Amide de l'acide nicotinique, trigonelline (méthylbétaine, 0,37%), gamma schizandrine, phosphore, calcium, fer
Lipides, huile grasse (dans l'embryon: 6-10%)	Acide linoléique et linoléique, lécithine

I.7. utilisation thérapeutiques traditionnelle de *Trigonella foenum-graecum* L

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

- ✓ Stimuler l'appétit, soulager les troubles digestifs et respiratoires, et redonner de l'énergie aux convalescents et aux personnes déprimées. Il est également utilisé pour favoriser la production du lait maternel.
- ✓ Lutter contre la chute des cheveux.
- ✓ Traiter les ulcères de jambe, la goutte, les douleurs musculaires et l'eczéma.
- ✓ Prévenir l'apparition de certains types de cancers, en particulier du colon, du sein, et de la vésicule biliaire.
- ✓ Arrêter la constipation.
- ✓ Eliminer les infections et les inflammations des voies respiratoires.
- ✓ Soigner les blessures cutanées et les douleurs rhumatismales (Yadav *et al.*, 2014).

I.8. Activités biologiques connues de *Trigonella foenum-graecum* L

Plusieurs études sur *Trigonella foenum-graecum* L rapportent que les extraits de cette plante présentent des propriétés antioxydants. La supplémentation de la poudre de graines de fenugrec dans l'alimentation conduit à une réduction des biomarqueurs de dommages oxydatifs chez les rats diabétiques alloxanes (Ravikumar *et al.*, 1999). En outre, les polyphénols des graines de fenugrec

ont empêché l'hémolyse oxydative et la peroxydation lipidique induite par H₂O₂ in vitro dans les érythrocytes humains (Kaviarasan *et al.*, 2007). Les extraits méthanolique et aqueux des graines de fenugrec ont montré une activité antibactérienne contre des bactéries Gram positifs et négatifs notamment vis-à-vis de *Escherichia coli*, *S. marcescens*, *Bacillus cereus* et *P. aeruginosa* (Oueslati *et al.*, 2015). *Trigonella foenum-graecum* L est riche en nombreux composés anti-inflammatoire tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les saponines. Il a été démontré que ces composants réduisent le stress oxydatif et l'inflammation en réduisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Ahmadani *et al.*, 2001).

De nombreuses études ont démontré que le fenugrec possède d'autres activités comme : anti-diabétique, gastroprotecteur, hépatoprotecteur, hypocholestérolémiant et hypoglycémiant (Oueslati *et al.*, 2015).

Chapitre 2

Polysaccharides

II. Polysaccharides

Les polysaccharides sont appelés les polysides ou les glucanes sont de longues chaînes polymères de monosaccharides liées entre eux par des liaisons glycosidiques de configuration α ou β , et sans taille moléculaire définie. Ces chaînes peuvent être linéaires comme cellulose ou ramifiées substituées (galactomannanes), ou ramifiées (gomme arabique). Ils sont composés de plus de monosaccharides pouvant compter plusieurs milliers d'unités et avoir des poids moléculaires considérables (Robyt.,1998). 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 (Shi., 2016).

Les polysaccharides sont retrouvés dans les algues, les plantes ou synthétisés par des microorganismes qui produisent respectivement l'alginate, l'amidon et la gomme xanthane. Les B-glucanes sont une famille de polysaccharides retrouvées dans plusieurs sources différentes (plante, champignon, levure, etc.) qui sont largement étudiées. Ces derniers possèdent la même caractéristique structurale soit d'être majoritairement composés de 3-D-glucose mais le type de liaison glycosidique et leurs poids moléculaires se diffèrent. Ces polymères possèdent plusieurs activités intéressantes (Rioux.,2010). parmi les quelles l'activité antioxydante l'activité anticoagulante, l'activité antifongique, et l'activité antivirale (Youmbai.,2015).

II.1.Classification des polysaccharides

II.1.1. Selon la composition chimique en monomères

Selon leur composition chimique et en se basant sur les chaînes de sucres répétitives dont ils sont composés ces polymères: La classification chimique permet de distinguer deux grands types de polysaccharides : les homopolysaccharides et les hétéro-polysaccharides. Tandis que les homopolysaccharides sont constitués d'un seul type de monomère d'ose, les hétéropolysaccharides peuvent contenir plusieurs types d'oses (figure 03).

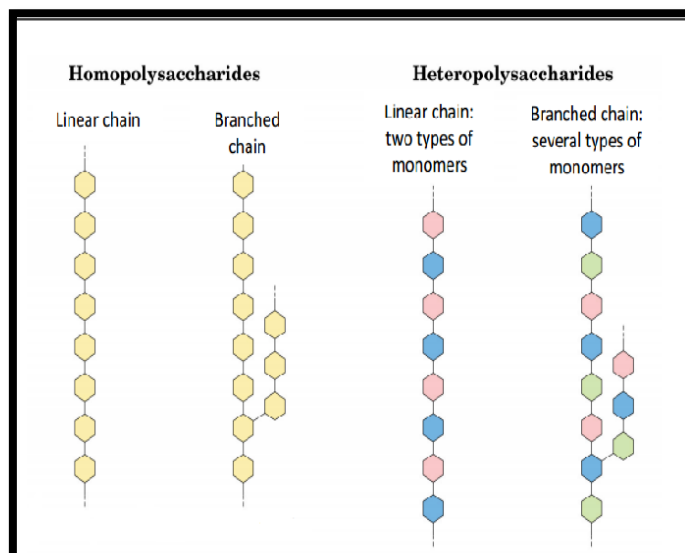


Figure 03 : schémas montrant la différence entre la structure des homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides (Larouci., 2017)

II.1.1.1. Homopolysaccharides

La synthèse extracellulaire d'homopolysaccharides est réalisée par un enzyme sécrétée spécifique, et la synthèse peut se produire soit en dehors du cellule ou à l'intérieur de la paroi cellulaire (Donot *et al.*, 2012). Elles peuvent être classées en fonction de la nature de leur unité monosaccharides (Chouana., 2017) (tableau 02).

Tableau 02: Rôles biologiques des quelques homopolysaccharides (Guilloton *et al.*.,2013)

Hétéro-polysaccharide	Unité osidique et Enchaînement	Nombre d'unités	Rôle biologique
Acide hyaluronique	- GlcA β -(1 \rightarrow 4)- β -GlcNAc-	>10000	Composant de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif ; constituant du cartilage.
Chondritine sulfate	β (1 \rightarrow 4) GalNAc- +sulfaté	<1000	Constituent de la matrice extracellulaire.

Pectine	(1→4)- α -GalU partiellement ésterifié (methyl); présente de pentose et d'hexoses.	<1000	Groupe hétérogène de polysaccharides des parois des cellules végétale.
Héparine	α (1→4) -GlcN . L Ido	Variable	Anticoagulant

II.1.1.2. Hétéropolysaccharides

Les hétéropolysaccharides sont une classe de polysaccharides formés de deux ou plusieurs types de monosaccharide (répétition d'une unité disaccharidique). Les principaux hétéropolysaccharides sont le chitosane, l'alginate, les glycosaminoglycanes (GAG), et dextran. Chacun d'eux est composé de milliers de molécules. Dans la nature, les hétéro-polysaccharides fournissent un support extracellulaire pour tous les organismes (Stefano *et al.*, 2019) (tableau 03).

Tableau 03 : Rôles biologiques des quelques hétéropolyosides (Guilloton *et al.*, 2013)

Hétéro-polysaccharide	Unité osidique et enchainement	Nombre d'unités	Rôle biologique
Acide hyaluronique	- GlcA β -(1→4)- β - GlcNAc-	>10000	Composant de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif ; constituant du cartilage.
Pectine	(1→4)- α -GalU partiellement ésterifié (methyl); présente de pentose et d'hexoses	<1000	Groupe hétérogène de polysaccharides des parois des cellules végétale.
Héparine	α (1→4) -GlcN . L Ido	Variable	Anticoagulant

II.1.2. Selon leurs origines

Les polysaccharides naturels proviennent principalement des végétaux, mais il existe aussi des sources animales, algales et bactériennes (tableau 04).

Tableau 04 : Origine des principaux polysaccharides (Sandrine ., 2004)

Origine des polysaccharides	polysaccharides
Végétal	Amidon Cellulose pectines Gomme
Algale	Alginates Agars Carraghénanes Fucanes
Animal	Héparine Chondroïtine
Microbien	Dextranes Xanthanes

II.1.2.1. Polysaccharides animaux

II.1.2.1.1 L'héparine

Les héparines sont des glycosaminoglycanes, de masse moléculaire variant de 5000 à 30000 daltons, d'origine biologique (particulièrement abondantes dans le foie, d'où son nom héparine). On retrouve physiologiquement des molécules d'héparine dans les granules des mastocytes, ainsi qu'à la surface de la cellule endothéliale, de tailles très différentes. À partir d'un produit d'extraction constituant l'héparine non fractionnée (HNF), on obtient, par différents procédés de dépolymérisation, des fractions de plus faible masse moléculaire appelées héparines de bas poids moléculaire (HBPM), les héparines font partie des anticoagulants, c'est une famille de médicaments antiprotéasiques agissant par voie indirecte en catalysant l'activité d'un inhibiteur naturel, cette classe d'osides est constituée de polymères dont le protomère est constitué d'un acide uronique avec une osamine (D- glycosamine) liés par une liaison osidique (Benckroun.,2010) (figure 04).

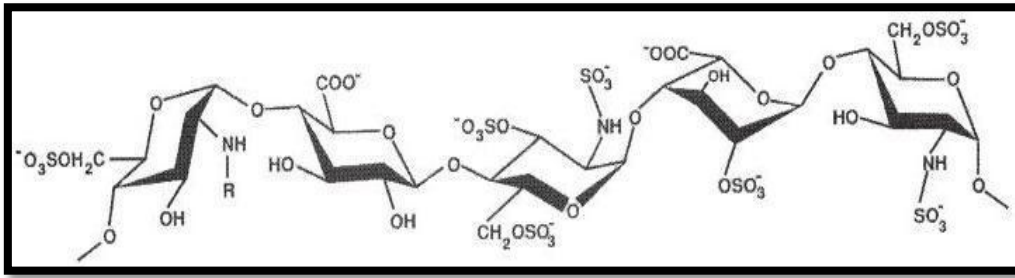


Figure 04: molécule d'héparine (Benchekroun.,2010)

II.1.2.1.2. Le glycogène

Le glycogène est l'analogue de l'amidon dans les plantes, appelé parfois l'amidon animal, ayant une structure similaire à l'amylopectine mais plus ramifié et compact que l'amidon. Le glycogène est constitué de nombreuses unités de D-glucose lié en α (1 \rightarrow 4) et est branché en α (1 \rightarrow 6) tous les 8 ou 12 résidus et une ramification tous les 20 à 30 résidus chez l'amylopectine. Le glycogène du foie contient ainsi 30000 unités de glucose. Son poids moléculaire varie de 1 à 5×10^6 g/mol selon son origine. Le glycogène est un polymère hydrosoluble homogène avec des branches réparties relativement uniformément (Chouana., 2017) dont les structures sont illustrées sur (la figure 05).

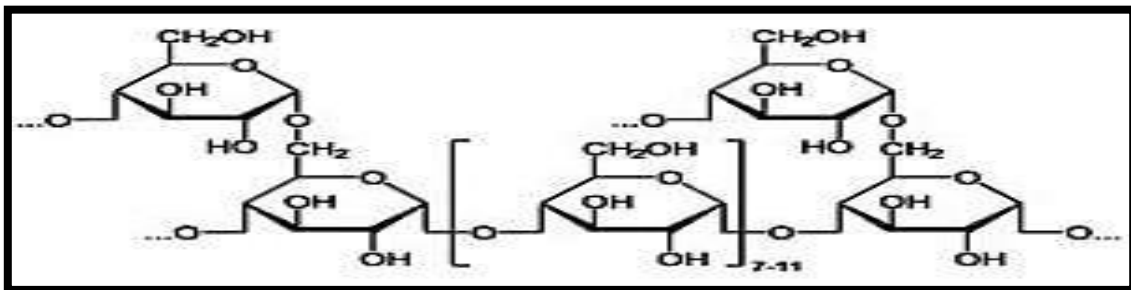


Figure 05: Structure chimique du glycogène (Chouana., 2017)

II.1.2.2. Polysaccharides d'origine alguales

Une variété importante de polysaccharides tels que les ulvanes, les alginates, et la grande famille des galactanes sulfatés incluant l'agar, l'agarose et les carraghénane peut être obtenue à partir de macroalgues marines (Laurienzo., 2010). Les trois grandes classes d'algues auxquelles appartiennent les espèces actuellement utilisées ont chacune leurs polysaccharides caractéristiques : acide alginique et fucanes des phaeophyceae ,galactanes sulfatés-Carraghénanes et agar agar-des Rhodophyceae, polysaccharides complexes, souvent sulfatés, des Chlorophyceae (Tinamri *et al*, 2014). Les polysaccharides algaux forment une vaste famille au sein de laquelle on distingue :

Les carraghénanes sont des galactanes, polymères du D- galactose fortement sulfatés, polyélectrolytes anioniques de masse moléculaire comprise entre 105 et 106. Tous les carraghénanes ont une structure linéaire de type (AB)_n à liaisons alternées (1 →3)- (1→4) où A et B sont des résidus galactopyranosyle. Les carraghénanes entrent également dans la formulation des produits d'hygiène et de cosmétique : pâtes dentifrices, shampoings, crèmes, gels, laits, lotions, etc. Comme gélifiants, stabilisants, inhibiteurs de cristallisation de glaces,... etc., dans les produits laitiers et dans des produits aqueux . Les carraghénanes sont normalement classés en fonction de leurs caractéristiques structurales. Il existe au moins 15 structures différentes de carraghénanes . Les carraghénanes les plus pertinents industriellement sont les formes κ, ι et λ. les carraghénanes, sont au centre de nombreuses recherches pour leurs activités biologiques. Les carraghénanes, sont capables de réduire l'absorption du cholestérol de présenter des propriétés anticoagulantes, antioxydantes, antitumorales, anti-inflammatoires,et antivirales (Chouana., 2017 ; Jiao *et al.*, 2011).

Agar-agar (gélose) ,C'est un polysaccharide extrait d'algues rouge (chondres), il se compose d'unités de D'et L- galactose associées en (1→3). Ce polysaccharide est un galactane complexe c'est un mélange de deux fraction l'agarose et l'agaropectine .L'agar-agar est inscrit dans la catégorie des agents autorisés et utilisé par l'industrie agroalimentaire (Djabali *et al.*,2016)(figure 06).

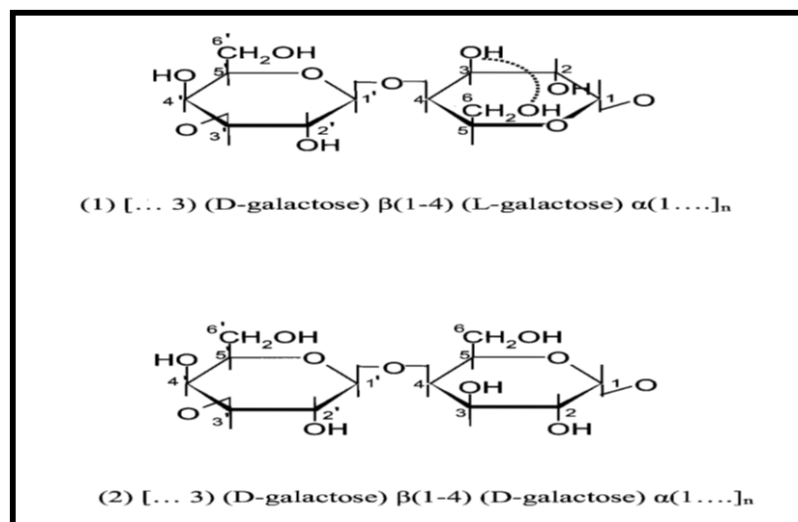


Figure 06: Motif osidique de base des agarcolloïdes (1) et des carragenanes (2)

(Garon-Lardiere., 2004)

Fucanes Ce sont des constituants de la paroi cellulaire de certaines algues brunes. Il semblerait que ces polysaccharides sulfatés ne soient pas présents chez toutes les Phaeophyceae, on les trouve chez les Fucales et les Laminariales (Faller., 2011). Les fucanes, ou fucoïdanes, constituent une famille hétérogène de polymères à base d'unités de L-fucose liées en α - (1,2) et sulfatés en C4 . Leur composition varie des molécules riches en fucose vers des molécules les plus pauvres en cet ose. Ces dernières comportent de grandes proportions de galactose, de xylose ou encore d'acide uronique (Oudiai *et al.*, 2019). Leur teneur peut varier de 3 à 30 % du poids sec de l'algue (Faller., 2011).

L'acide alginique est un polymère linéaire constitué de deux unités monosaccharidiques: l'acide β -D-mannuronique et son épimère en Cs l'acide α -L- guluronique, liés entre eux par des liaisons glycosidiques de type (1,4). La molécule d'acide alginique comporte des fractions riches en acides mannuroniques (appelées blocs M), des zones uniquement formées par des acides guluroniques (blocs G), et une fraction où les deux unités d'acides uroniques sont liées alternativement entre elles (blocs MG ou GM). Chaque bloc pouvant contenir 20 à 30 unités. La structure primaire de l'acide alginique dépend donc à la fois du rapport M/G, mais aussi des proportions relatives des trois types de blocs dans la chaîne. Ce rapport M/G varie généralement de 0,25 à 2,25 selon l'espèce, l'âge des tissus et leur nature, ainsi que la saison et le lieu de récolte (Garon-Lardiere.,2004).

Les propriétés biologiques des alginates sont également fortement dépendantes de leur teneur en différents types de blocs. A titre d' exemple il semble que les propriétés immunostimulantes de ces polyuronides soient dépendantes de la teneur en blocs M. Les alginates font l' objet de nombreuses applications industrielles principalement comme texturant (agents gélifiant et épaississant). Dans l' industrie textile, la papeterie ou la céramique, ils sont utilisés pour les traitements de surface. Le caractère gélifiant de l' alginate est aussi utilisé pour l' immobilisation d' enzymes ou de cellules (Chouana., 2017) (figure 07).

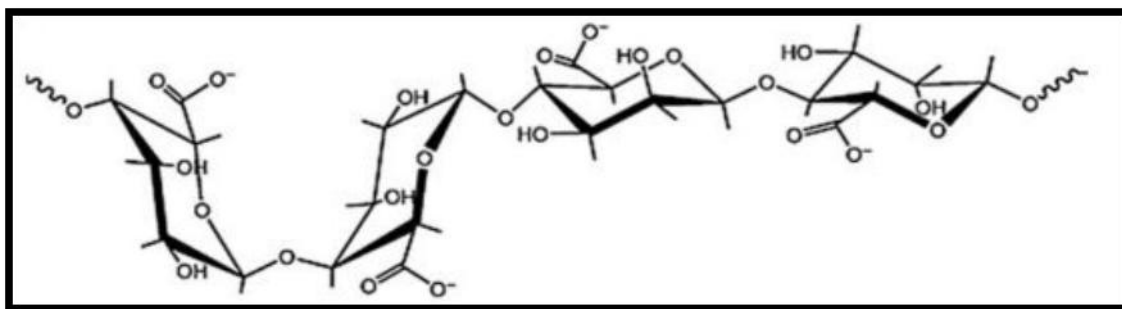


Figure 07: Structure des alginates (Coviello *et al.*, 2007)

II.1.2.3. Polysaccharides bactériens et fongiques

Les microorganismes et les macromycètes constituent une source importante de polysaccharides dans le milieu naturel (Singh *et al.*, 2015). Les bactéries produisent plusieurs types de polysaccharides classés selon leur localisation cellulaire. Les principales familles identifiées sont les lipopolysaccharides notés LPS, les polysaccharides capsulaires notés CPS et enfin les exopolysaccharides ou EPS. Les EPS ne sont pas liés aux enveloppes bactériennes de façon covalente et présentent une grande variété de structures (souvent espèce dépendante) ayant des caractéristiques physiques et chimiques uniques. Ces macromolécules de très haute masse molaire sont généralement hydrosolubles et leur excrétion dépend des conditions de culture telles que le rapport C/N ou l'environnement physico-chimique. La grande famille des glucanes bactériens comprend une multitude de polysaccharides différents (Chouana., 2017), Les dextrans sont des polysaccharides formés par des résidus glucose liés en α (1→6)-D-glucanes variablement ramifiés par des chaînes latérales composées elles aussi de courtes chaînes de α -(1→6)-D-glucanes liés à la chaîne principale par des liaisons α -(1→2), α -(1→3) ou α -(1→4). Ils sont synthétisés par des bactéries du type *Leuconostoc* et *Streptococcus* et sont utilisés en microchirurgie comme anticoagulant. Les dextrans sont disponibles commercialement dans une large gamme de poids moléculaires allant de 10 000 à 150 000 Daltons. En présence d'eau, les dextrans forment des mucilages visqueux ou des gels qui après réticulation chimique sont utilisés pour la séparation des macromolécules (gels Sephadex) (Yves., 2008 ; Chouana., 2017) (Figure 08).

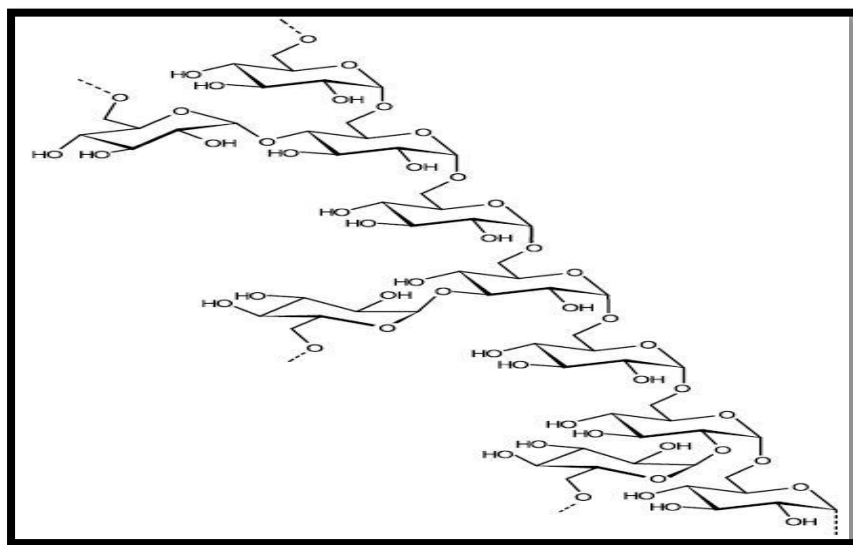


Figure 08: Chaîne de dextrane avec trois points de départ de chaînes latérales

(Chouana., 2017)

La gomme xanthane est un Exopolysaccharide hydrosoluble naturellement synthétisé par *Xanthomonas campestris* (*Pseudomonaceae* - Gram -). Cette gomme est un hétéropolysaccharide ayant une structure primaire constituée d'unités pentasaccharidiques répétées. Cette unité est constituée d'une chaîne principale de β -(1 \rightarrow 4)-D-glucane (cellulose like) ramifiée tous les 2 résidus de glucose par une chaîne latérale trisaccharidiques. Cette dernière contient un résidu D-mannose lié en α -(1 \rightarrow 3), d'un acide D-glucuronique lié en β -(1 \rightarrow 2) et d'un D-mannose terminal lié en β -(1 \rightarrow 4). Près de la moitié des résidus D-mannose terminaux contiennent un résidu d'acide pyruvique lié en O-4 et O-6 (Chouana., 2017).

La chitine est, après la cellulose, le polysaccharide le plus répandu dans la nature. Dans le règne animal, elle existe sous forme de complexe avec les protéines et les minéraux. Dans le règne végétal, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées (Djelad.,2010) .C'est le principal composant des parois cellulaires des champignons ainsi que l'enveloppe externe relativement dure. La chitine est un polymère non ramifié de N-acétyl glucosamine liée par des liaisons osidique de type β (1 \rightarrow 4) (Karp.,2005).

II.1.2.4. Les polysaccharides végétaux

La paroi végétale est une matrice extracellulaire qui délimite chaque cellule végétale. C'est un ensemble hétérogène de polysaccharides (cellulose, pectines et hémicelluloses) et de glycoprotéines ayant des structures et des compositions osidiques différentes (Angone *etal.*,2010).Les polysaccharides végétaux ont des activités biologiques diverses, à savoir des activités antitumorales , antioxydantes , antivirales, anticoagulantes , anti-compléments , anti-inflammatoires antiulcéreuses , et hypoglycémiantes (Boual *et al.*, 2015).Ces polysaccharides pariétaux peuvent être neutres ou acides, linéaires ou ramifiés par des chaînes oligosaccharidiques, ou encore substitués par des groupes méthyles ou acétyles (Angone *et al.*, 2010).

II.1.2.4.1. Les polysaccharides de structure

La cellulose est le polysaccharide le plus abondant dans la nature. Il est principalement végétal même si certaines bactéries telles que *Gluconacetobacter xylinus* sont capables de le produire comme exopolysaccharide C'est un polymère non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons β -(1 \rightarrow 4) . L'unité élémentaire de la cellulose est le cellobiose constitué de deux molécules de D-glucopyranose unies par une liaison β -(1 \rightarrow 4) (β -D glucopyranosyl- (1 \rightarrow 4)- α -D-glucopyranose) .Les résidus D-glucopyranoses (en conformation chaise de type $4C_1$) des chaînes de cellulose établissent de nombreuses liaisons hydrogène intra- et

interchaînes ce qui permet aux chaînes de s'organiser en microfibrilles insolubles dans la plupart des solvants (Chouana, 2017). La cellulose est la molécule organique la plus abondamment synthétisée sur la planète hors de la photosynthèse elle joue un rôle essentiel dans la structure des plantes et c'est la constituant majeur des fibres végétale (Marouf *et al*; 2009) (Figure 09).

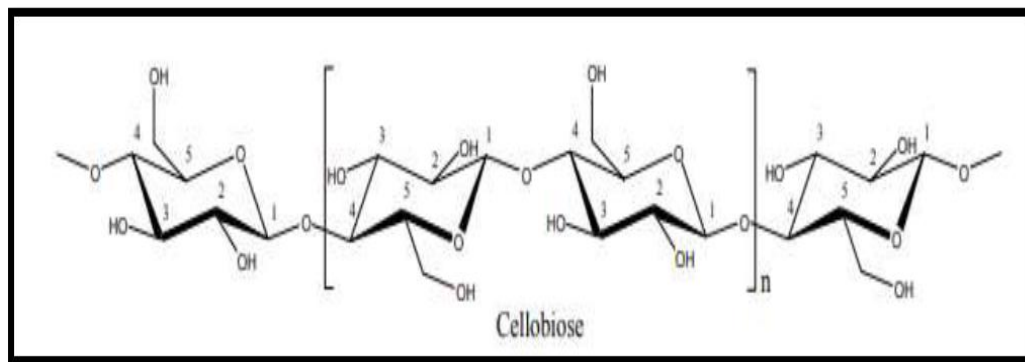


Figure 09: Structure de la cellulose (Chouana., 2017)

Les pectines sont une classe de polysaccharides hétérogènes trouvés dans les parois cellulaires de la plante. La pectine commerciale est extraite de citrus, de pomme, ou d'autres plantes supérieures. Les pectines représentent un groupe de polysaccharides contenant de l'acide galacturonique (GalA) très présent dans les parois cellulaires de nombreuses plantes et plusieurs taxons d'algues, monomères liés entre eux par des liaisons α -(1-4) et partiellement acétylés ou estérifiés par des groupements méthyles (Chouana., 2017). La structure de la pectine varie considérablement en raison de ses sources et méthodes d'extraction variées, mais elle peut être classés en trois types selon des caractéristiques communes : l'homogalacturonan , rhamnogalacturonan-I et galacturonanes substitués. (Zhang *et al.*,2015).

II.1.2.4.2. Polysaccharides de réserve

Les plantes stockent des polysaccharides comme réserve. Les plus importantes de ces réserves sont les amidons, les fructanes, les mannanes et les galactomannanes.

II.1.2.4.2.1. Amidon

L'amidon est la principale réserve glucidique des végétaux et l'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il peut présenter jusqu'à 30 ou 60 % du poids sec d'un tissu végétal. Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répandu dans certaines cellules végétales. L'hydrolyse enzymatique de l'amidon par une amylase conduit à la formation du maltose l'amidon est donc un polymère d'- glucose en liaisons 1 \rightarrow 4. L'étude des propriétés de l'amidon

ont permis de mettre en évidence deux constituants : l'amylose et l'amylopectine. (Berrada .,2009) L'amylose est un polymère linéaire constitué d'unités glucose liées par des liaisons glycosidiques de type α -(1→4). L'amylopectine est un polymère hautement ramifié constitué de chaînes relativement courtes de α -D-(1→4) glucanes qui sont interconnectées par des liaisons glycosidiques de type α -(1→6). dont les structures sont illustrées sur la (figure 10) (Chouana, 2017).

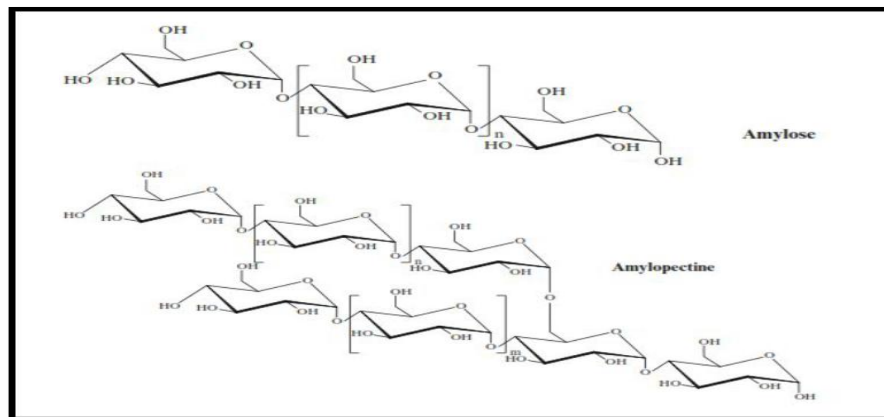


Figure 10 : Structures de l'amylose et de l'amylopectine (Chouana., 2017)

II.1.2.4.2.2.mannanes

Les mannanes, sont des polysaccharides qui sont à la fois décrits comme des hémicelluloses et des polysaccharides de stockage dans les paroi cellulaire des graines des plantes. Ils sont constitués essentiellement par la condensation de mannose par des liaisons β (1-4). Ils sont divisés en plusieurs groupes incluant des galactomannanes , des glucomannanes et des galactoglucomannanes. (Chouana, 2017 ; Buckeridge., 2010).

II.1.2.4.2.2.1.Glucomannane (GM)

Le glucomannane est un type de fibre soluble dans l'eau . C'est polysaccharides composés d'une chaîne linéaire de β (1 - 4) D-mannose et d'unités de D-glucose dans un rapport de 1,6:1 avec une petite quantité de ramification (8%) à travers β -liaisons (1- 6)-glucosyle. Il est dérivé des racines tubéreuses de la plante konjac (*Amorphophallus konjac*). Le GM est non digestible dans l'intestin grêle humain. Il a un poids moléculaire élevé (200-2000 kDa), et une viscosité élevée en solution aqueuse. Il est beaucoup utilisé dans l'industrie agro-alimentaire comme additif pour ses propriétés émulsifiantes et épaississantes, et est également consommée sous forme de compléments alimentaires (Katsuraya *et al.*, 2003).

II.1.2.4.2.2. Galactomannanes (GaM)

Les galactomannanes ont la structure d'une chaîne polysaccharidique neutre, constituée d'un squelette linéaire composé d'unités de D-mannoses β (1-4), et de branchements latéraux courts formés d'unités de D-galactose α (1-6). Les GaM sont les principaux polysaccharides de l'endosperme de légumineuses. Ils sont considérés comme source d'énergie participant dans le processus de la germination (Youmbai .,2015)

Les GaM sont des polysaccharides de masse moléculaire élevée issus d' endospermes de graines de certaines *Leguminosae* (appartenant à la famille des *Fabaceae*) où ils servent de réserve de carbone et d'énergie lors de la germination. De par leurs nombreuses propriétés physico-chimiques ils sont abondamment utilisés pour diverses applications (Chouana., 2017). Les GaM extraits du fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L), présentent des activités immunostimulantes (Youmbai .,2015) (figure 11).

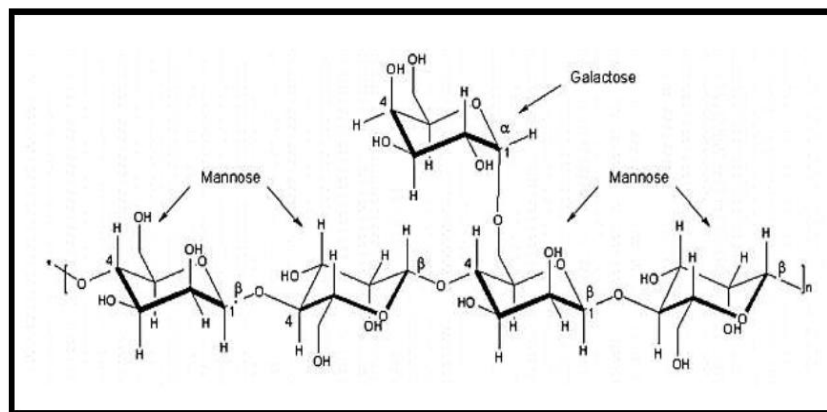


Figure 11: Structure moléculaire des galactomannanes (Chouana., 2017)

I.2.1.3. Exsudats et mucilages

Les gommés sont des produits végétaux glucidiques s'écoulant soit naturellement, soit à la suite d'une blessure de l'écorce. Les gommés ont la propriété de gonfler au contact de l'eau et de former des masses gélatineuses ou des solutions colloïdales visqueuses (Marouf et al; 2009).

Les mucilages sont des complexes polysaccharidiques formés à partir de sucre et des unités d'acide uronique. Ils forment des masses visqueuses dans l'eau qui sont typiquement de composition hétérogène. Les mucilages sont obtenus principalement à partir de graines ou d'autres parties de plantes. Certains sont obtenus à partir d'algues marines et de micro-organismes sélectionnés (Hassan et al., 2015).

Chapitre 03 :

Les activités biologiques des polysaccharides

III. Les activités biologiques des polysaccharides

La diversité structurale des polysaccharides, quelle que soit leur origine (animale, végétal ou microbienne), confère à ces macromolécules de nombreuses activités biologiques. Grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également à l'activité de nombreuses enzymes (Chouana., 2017).

III.1. Activité antimicrobienne

L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques (Ouis., 2015).

Un agent antimicrobien ou désinfectant est défini par son pouvoir de tuer des populations microbiennes. On attend d'un agent désinfectant généralement une action à large spectre et plus rarement une action ciblée sur un germe en particulier (désinfection sélective). Pour une action bactéricide globale sur les bactéries on doit s'assurer de l'activité bactéricide de l'agent antimicrobien aussi bien sur les espèces à Gram positif que négatif, sans exclure le groupe CNM (*Corynebacterium*, *Nocardia*, *Mycobacterium*). Ces trois groupes de bactéries se distinguent par la composition et la structure de leur paroi cellulaire dont dépend la perméabilité aux agents antimicrobiens (Pibiri., 2006).

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la gomme arabique est probablement effective grâce aux différents agents chimiques présents dans cet exsudat polysaccharidique y compris la saponine, les huiles essentielles, le tanin, les flavonoïdes, les polyphénols et les alcaloïdes et la teneur élevée en terpènes (Benyagoub *et al.*., 2016). Dans une étude récente, l'AMP PMAP-36PW et PMAP-36PK se sont avérés avoir une extension spectre antibactérien, et dans l'évaluation de l'efficacité *in vivo* avec des souris infectées par *Salmonella choleraesuis* C78-1 et *Listeria monocytogenes* CICC 21533, ces analogues peptidiques ont présenté effet thérapeutique impressionnant en réduisant les copies de gènes bactériens et diminution des dommages inflammatoires dans le foie et les poumons de la souris, entraînant en réduction de la mortalité (Mbarga *et al.*, 2022).

Les galactanes sulfatés possédaient une activité inhibitrice ainsi qu'une activité bactéricide contre toutes les souches à Gram+ testées (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Staphylococcus epidermidis* CIP 444). le carraghénane était seulement capable d'inhiber la croissance de *S.*

epidermidis avec une concentration inhibitrice minimale (CMI) de 0,325 mg / mL . En outre, la spectroscopie infrarouge (IR) a révélé que le carraghénane isolé était de type Lambda. *Corallina* pourrait donc être considérée comme une source potentielle de molécules bioactives pouvant être utiles au développement de nouveaux agents pharmaceutiques (Sebaaly *et al.*, 2014).

Les polysaccharides sulfatés extrait d'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* ont un potentiel antibactérien très important. Les concentrations élevés de ces polysaccharides montrent une bonne activité inhibitrice sur la formation des colonies bactériennes notamment des souches : *Bacillus subtilis*, *Streptococcus*, *Neisseria muqueuse* et *Escherichia coli* (Vishwakarma et Vavilala., 2019).

L'étude de la composition des polysaccharides hydrosolubles de la gomme-résine de *Ferula communis* (GFC) a révélé la prédominance des ON (72,7 %). Le polysaccharide est un AG acide à potentiel antihyperglycémiant fort (IC50 = 9 mg/ml), ayant des effets antibactériens moyens (CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella enterica* de 0,5 mg/ml, CMI pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* de 2,5 et 1 mg/ml, respectivement) (Youmbai *et al.*, 2021).

III.2. Activité anti-oxydante

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les radicaux libres sont produits en continu au cours du métabolisme. Ces radicaux libres sont, lorsque les systèmes de défense antioxydants sont insuffisants, à l'origine d'un état de stress oxydatif conduisant à diverses maladies dégénératives. En conséquence, l'utilisation de composés antioxydants naturels peut prévenir les troubles du stress oxydatif (Fakhfakhet *al.*, 2017). Le DPPH ou 2,2-diphényl-1-picryl(hydrazyl) est un radical stable qui peut être utilisé pour évaluer le pouvoir de réductions des radicaux libres par des antioxydants. En effet Le DPPH absorbe à 517 nm et cette absorbance diminuera proportionnellement à la présence de substances oxydantes, excepté en présence d'antioxydants qui le maintiennent dans un état réduit (Hanet *al.*, 2016).

Les Polysaccharide extrait de (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Les résultats montrent que ROP2 est composé de glucose, de mannose, de galactose, d'arabinose, de xylose, de fructose et de rhamnose avec des pourcentages molaires de 28.8, 12.5, 13.1, 15.9, 9.2, 13.7, et 6,8 c%, respectivement. Activité de piégeage des radicaux hydroxyles : Les radicaux hydroxyles sont considérés comme les plus nocifs de toutes les espèces réactives de l'oxygène, car ils peuvent endommager les biomolécules humaines telles que les protéines, les lipides, les glucides et l'ADN.

L'élimination des radicaux hydroxyles est donc censée aider à protéger le corps contre les blessures liées à l'oxydation. L'activité de piégeage des radicaux hydroxyles de la ROP-2 dépendait de la concentration. À 5 mg/mL, l'activité de piégeage était de 19,38 % avec une CI₅₀ de 11,99

mg/mL, par rapport à l'activité de l'acide ascorbique (100 %), ces résultats suggèrent que le ROP-2 n'a qu'une faible capacité de piégeage des radicaux hydroxyles. Activité de piégeage des radicaux superoxydes. L'anion superoxyde est un radical libre faible, généré par le transport d'électrons mitochondrial système. Cependant, il est important de noter qu'il peut créer d'autres radicaux libres puissants qui augmentent le risque de divers types de maladies l'activité de piégeage des radicaux superoxyde de ROP-2 dépendait également de la concentration. À 5 mg / mL, le taux de balayage était de 61,18% avec une CI_{50} de 3,12 mg / mL. Comparé au taux de balayage de l'acide ascorbique (100 %), la capacité de piégeage des radicaux superoxydes du ROP-2 est relativement faible. Activité de piégeage des radicaux DPPH bien que la DPPH soit un radical libre relativement stable, les antioxydants peuvent être utilisés pour réduire les niveaux en fournissant des électrons ou des atomes d'hydrogène (Wang *et al.*, 2018).

Une étude de (Mengome *et al.*, 2014) montre que parmi les fractions polysaccharidiques sont extraites des plantes endémiques du Gabon évalués dans cette étude, certains d'entre eux présentent des taux de réduction élevés capacité et activités de piégeage des radicaux libres mais pas de métal activité chélatante. Des études antérieures rapportent que les polysaccharides d'origines diverses présentent des activités antioxydantes. Cependant, les motifs glycaniques ou polysaccharide lié à un ester les substituants impliqués dans les activités observées n'étaient pas étudiés dans les détails. Les données rapportées dans cette étude fortement suggèrent que des motifs spécifiques sont impliqués dans l'antioxydant activité. En conséquence, d'autres fractionnements de la cellule les fractions de paroi et les dosages sur des fractions homogènes doivent être réalisés pour mieux définir ces motifs puis détecter et quantifier leur occurrence dans les plantes. En outre, les résultats obtenus à partir de cette étude peuvent être utilisés étant donné que ces plantes sont des sources facilement accessibles de antioxydants naturels et comme complément alimentaire possible ou dans l'industrie pharmaceutique.

III.3.L'activité immunomodulatrice

Plusieurs polysaccharides d'origines fongiques sont capables de stimuler simultanément les différentes composantes du système immunitaire, ce qui leur confère différentes propriétés thérapeutiques, notamment des propriétés anti tumorales et anti-inflammatoires. Pour cette raison, ils sont appelés immunomodulateurs, immunostimulateurs ou modificateurs de la réponse biologique. Puisque les polysaccharides, y compris les 3 glucanes, ne peuvent pénétrer dans les cellules en raison de leur grande taille moléculaire, Ils exercent leur action en se liant à des récepteurs spécifiques à la surface des cellules Immunes telles que les macrophages, les neutrophiles, les cellules cytotoxiques naturelles (NK) et les lymphocytes T. Parmi ces récepteurs, le CR3, un des plus importants récepteurs membranaires chez les phagocytes impliqués dans la

reconnaissance des pathogènes, a été identifié comme un des récepteurs des β -glucanes. L'affinité différentielle montrée par les récepteurs vis-à-vis les différents β -glucanes varie en fonction du poids moléculaire, de la conformation acquise en solution, ainsi que du degré de ramification de ces molécules. Cette affinité différentielle affecte de manière significative leur activité immunomodulatrice (Sanchez., 2006).

Avec les progrès récents dans la compréhension de la manière dont les cellules communiquent avec leurs autres fonctions de vecteur, il est devenu possible de concevoir des stratégies pour manipuler ces voies de signalisation afin d'influer sur les réponses de l'hôte. Le fait que certains composés améliorent ou suppriment les réponses immunitaires peut dépendre d'un certain nombre de facteurs, notamment la dose, la voie d'administration et le moment d'administration du composé en question. Le type d'activité de ces composés peut également dépendre de leur mécanisme d'action ou du site de l'activité. La stratégie de base de l'immunomodulation consiste à identifier les aspects de la réponse de l'hôte qui peuvent être améliorés ou supprimés de manière à augmenter ou compléter une réponse immunitaire souhaitée. Cette approche, qui devrait permettre à l'hôte de mieux se défendre contre les microorganismes envahisseurs au cours de l'infection (Tzianabos., 2000). Activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale des plantes en Afrique Les polysaccharides pectiques sont parmi les constituants principaux de la paroi cellulaire des plantes et sont l'une des classes les plus complexes des polysaccharides. Beaucoup de polysaccharides pectiques de plantes, de bactéries, de lichens et de champignons exercent des effets sur le système immunitaire humain. Certains de ces polysaccharides pectiques sont acides ou neutres. Plusieurs articles récents ont décrit la caractérisation et l'immunomodulation des polysaccharides pectiques isolés dans diverses plantes utilisées en médecine traditionnelle, avec des effets variant du système de complément aux activités prolifératives des cellules B. Ci-dessous, nous traitons les activités immunologiques des pectines acides et des pectines neutres (Angone *et al.*, 2010). La complexité structurelle de l'arabinoxylane de polysaccharide peut être responsable de l'activité immunomodulatrice dans les jeunes feuilles d'orge, les cultivars de haute altitude (1200~3500 m) ont montré une activité plus élevée d'arabinoxylane (39,8–68,6%), d'anthocyanine (11,0–60,9%), de β -glucane (7,5–30,8%) et de chélation des métaux (16,6–43,2%) 97-126 m). β -1,3-1,4-Le glucane est un composant accumulateur majeur dans la paroi cellulaire de la BG. Le glucuronoarabinoxylane et le polysaccharide de rhamnogalacturonane-I ramifiés avec la chaîne latérale d'arabinogalactane II avec immunostimulant peuvent être importants pour l'expression étant donné l'association avec l'activité stimulante des macrophages dans la feuille d'orge (Zeng *et al.*, 2018).

III.4. Activité anti inflammatoire.

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse. Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (Ndiaye et al., 2006), qui sont exprimés sur les tissus-résidents des macrophages et induisent la production de cytokines inflammatoires (par exemple, TNF, IL-1, IL-6) et des chimiokines (par exemple, CCL2 et CXCL8), ainsi que des prostaglandines. Ces médiateurs inflammatoires alors agir sur les tissus cibles, y compris locaux vaisseaux sanguins, pour induire une vasodilatation, extravasation de neutrophiles et fuite de plasma dans les tissus infectés. Des neutrophiles recrutés dans la circulation, des macrophages résidents des tissus, et les mastocytes cherchent et détruisent les envahisseurs pathogènes. Ce processus est facilité par des composants plasmatiques, y compris les anticorps et le complément. En outre, IL-1, Le TNF et l'IL-6 peuvent avoir des effets systémiques lorsqu'il est sécrété en quantités suffisantes. Ils induisent les cellules hépatiques (hépatocytes) à produire des protéines en phase aiguë telles que Protéine C-réactive et facteurs de coagulation, et ils activent l'endothélium cérébral pour produire des prostaglandines, y compris le prostaglandine pro-inflammatoire majeure, PGE2. PGE2 produit localement, à son tour, induit des populations spécifiques de neurones dans le système nerveux central pour favoriser un comportement dit de maladie: fièvre, anorexie, fatigue, somnolence et troubles sociaux retrait (Medzhitov., 2010).

Une étude visait à évaluer les propriétés anti-inflammatoires de l'acide 2-[3-Acétyl-5-(4-chlorophényl)-2-méthyl-pyrrol-1-yl]-4-méthylsulfanyl-butyrique (composé 3e). Composé 3e (2-[3-acétyl-5 -(4-chlorophényl)- 2- (méthyl-pyrrol-1-yl) - 4-méthylsulfanyl-butyrique acide) montre une activité anti-inflammatoire significative, inhibant les phases vasculaires et cellulaires de inflammation après administration multiple (14 jours) chez le rat. L'effet anti-inflammatoire est similaire à celui induit par le diclofénac, ce qui suggère pertinence du composé en tant que nouveau potentiel médicament anti-inflammatoire (Zlatanova *et al.*, 2018). le polysaccharide hydrosoluble purifié (ALP-1) d'*Arctiumlappa* a été utilisé pour intervenir macrophage RAW264.7 induit par les lipopolysaccharides et souris inflammatoires systémiques. Nos résultats ont montré que ALP-1 pourrait accueillir efficacement les niveaux de cytokines inflammatoires dans les macrophages et le sérum des souris, y compris une augmentation de la cytokine anti-inflammatoire (interleukine-10) et des cytokines pro-inflammatoires régulées à la baisse (interleukine-1 β , interleukine-6 et facteur de

nécrose tumorale- α). De plus, selon nos données de 16 s séquençage à haut débit, par rapport au groupe modèle LPS, de la composition du microbiote intestinal chez la souris a été amélioré dans le groupe de traitement ALP-1. Il y avait des niveaux plus élevés de plusieurs probiotiques dans les selles d'ALP-1 groupe de traitement, tel que *Lactobacillus*, *Alistipes*, *Odoribacter* et *Phascolarctobacterium*. Simultanément, des bactéries symbiotiques comme *Bacteroides* ont été inhibées par ALP-1. En outre, ALP-1 pourrait considérablement améliorer la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC) dans l'intestin (Zhang *et al.*, 2019).

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 3,6.10⁴ Da vis-à-vis de la glomérulonéphrite induite par sérum albumine bovine cationique (CBSA). 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).

Deux récentes études ont montré que d'autres polysaccharides sulfatés, plus précisément des polygalactofucanes sulfatés issus de l'algue brune *Sargassum wightii* et des polygalactanes sulfatés issus de deux algues rouges *Kappaphycus alvarezii* et *Gracilaria opuntia*, présentaient également une activité anti-inflammatoire. Cette activité a été démontrée via le potentiel inhibiteur de la 5-lipoxygénase avec une CI 90 de 1,02 mg/ml pour les polygalactofucanes sulfatés de *S. wightii* et des CI50 de 0,34 mg/ml et 0,24 mg/ml pour les polygalactanes sulfatés de *K.alvarezii* et *G. opuntia* respectivement (Mathilde ., 2021).

la fraction polysaccharidique extraite de *Morinda citrifolia* Linn montre une efficacité anti inflammatoire, ils servent à réduit la migration de leucocytes au site d'inflammation et inhibé la production des cytokines pro-inflammatoire (Sousa *et al.*, 2018).

III.5. Activité antiviral

Les maladies infectieuses virales mettent gravement en danger la santé humaine. Dans la recherche de médicaments antiviraux efficaces, les chercheurs ont trouvé que les polysaccharides ont une bonne activité antivirale. En tant que composant antiviral efficace et peu toxique, les polysaccharides ont de larges perspectives d'utilisation médicinale et méritent d'être étudiées plus avant (YU *et al.* ., 2018).

L'adhésion des organismes pathogènes aux tissus hôtes et a condition préalable à l'initiation de l'infection. Habituellement, les lectines présentes à la surface virale se lient aux glucides complémentaires sur la surface des cellules hôtes. Après l'adhésion, le virus peut obtenir accès au cytoplasme par endocytose médiée par les récepteurs ou entrée médiée par les récepteurs indépendante de l'endocytose. Le génome viral est libéré et traduit en protéine polymérase virale.

L'ARN viral et la protéine structurale sont répliqués, transcrits ou synthétisés dans le cytoplasme, puis traduit dans le ribosome hôte. L'ARN viral et les protéines sont assemblés pour former un virion mature, puis libéré des cellules hôtes pour une infection ultérieure (Lu *et al.*, 2021).

Dans l'étude de (Guo *et al.*, 2021) il existe une gamme restreinte de médicaments antiviraux avec certains effets secondaires toxiques, mais avec l'émergence de nouvelles souches de virus mutants et résistants, la disponibilité de médicaments antiviraux hautement efficaces et peu toxiques est de plus en plus importante. Recherche sur les médicaments antiviraux pour les virus résistants est imminente. Le polysaccharide EMPs présente les caractéristiques d'un effet multi composant, multivoies, multi cibles, et a des avantages uniques en antiviral, pas facile de générer une résistance aux médicaments. L'avantage unique des polysaccharides EMPs contre les virus est leur capacité à agir directement sur les virus, inhiber leur prolifération et, plus important encore, moduler la réponse immunitaire de l'hôte, atténuer les dommages inflammatoires et exploiter pleinement les effets antiviraux grâce à de multiples voies et cibles, recherchant ainsi des polysaccharides EMPs naturels est un moyen important de développer de nouveaux médicaments antiviraux très efficaces et peu toxiques, *in vivo* En tant que médicament antiviral potentiel, son effet antiviral reste doit être validé par la pratique clinique. Les espèces de polysaccharides EMPs sont nombreuses, et leur absorption et leur distribution dans le corps étaient très variés.

La nouvelle pneumonie à coronavirus, nommée COVID-19 par l'Organisation mondiale de la santé, est devenue une pandémie. Il est hautement pathogène et se reproduit rapidement. Il n'existe actuellement aucun médicament spécifique pour prévenir la reproduction et la propagation de la COVID-19. Certaines médecines traditionnelles chinoises, en particulier la Décoction Nettoyante et Détoxifiante des poumons (Qing Fei Pai Du Tang), ont montré des effets thérapeutiques sur les patients COVID-19 légers et ordinaires. Les polysaccharides sont des ingrédients importants dans cette décoction. Cette revue résume les activités pharmacologiques potentielles des polysaccharides isolés par extraction à l'eau chaude d'une décoction nettoyante et détoxifiante des poumons, ce qui est conforme à sa méthode de production, afin de fournir la base théorique des recherches en cours sur son application (cao *et al.*, 2021).

Partie expérimentale

Chapitre 01

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Dans le présent chapitre, il est traité le principe adopté, les matériaux utilisés, la méthode d'étude de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles et leurs activités anti-inflammatoires.

I. Matériels

I.1. Principe adopté

Le présent travail est une contribution à l'étude de l'activité anti-inflammatoire des polysaccharides issus d'une plante à caractère médicinal; *Trigonella foenum-graecum* L de la famille des Fabacées. L'étude porte sur l'extraction des polysaccharides hydrosoluble et la détermination de leurs compositions en oses totaux, en oses neutres, et en protéines et l'étude l'activité anti-inflammatoire par différents tests *in vitro*.

I.2. Matériel d'étude

Le matériel d'étude regroupe les appareillages de laboratoire, les solvants et les produits chimiques en plus du matériel biologique (Annexes 01 et 02).

I.2.1. Matériel biologique

Dans cette partie, il est présenté par l'espèce végétale choisie (*Trigonella foenum-graecum* L), du sang humain et de blanc d'œuf.

I.2.1.1. Choix de l'espèce végétale

Trigonella foenum-graecum L est une plante médicinale et aromatique très ancienne (Rahmani., 2017). 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). Ce type a été choisi pour l'étude en raison de son utilisation fréquente en médecine traditionnelle depuis l'antiquité (soulager l'inflammation par exemple) et d'autre part peu d'études sur les activités anti-inflammatoires *in vitro* de cette plante.

I.3. Méthode d'étude

Dans cette partie, il est développé les étapes d'extraction, les dosages colorimétriques et les tests biologiques effectués.

I.3.1. Extraction des polysaccharides

Quinze (15g) grammes de poudre sont prétraités quatre fois par 2 volumes d'éther de pétrole pendant 5 heures à la température ambiante avec une agitation constante et douce (Wang *et al.*, 2013). Les résidus sont séchés après filtration à l'abri de la lumière et à température ambiante. Les graines ainsi séchées sont macérées dans l'eau distillée (Chidouh *et al.*, 2014) pendant 1heure à 80°C et sous agitation constante. L'extraction est répétée deux fois. Après une centrifugation à 3500rpm pendant 10 min (Chen *et al.*, 2010), les deux surnageant sont réunis . Après une filtration sur papier filtre, le filtrat récupéré est précipité par addition de trois volumes d'éthanol à 95% à 4 °C pendant 24h (Wang *et al.*, 2017). Les culots obtenus, après une centrifugation à 3500rpm pendant 10 min (Zhang *et al.*, 2010), sont lavés avec l'acétone trois fois (Li *et al.*, 2018). Les polysaccharides obtenus sont séchés à température ambiante (Bahramzadeh *et al.*, 2018), il représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles.

I.3.1.1. Calcule du rendement

Le rendement polysaccharidique a été calculé selon la formule suivante : (Jing *et al.*, 2017)

$$\%R = \frac{\text{Poids de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles (g)} \times 100}{\text{Poids de la poudre sec de la plante (g)}}$$

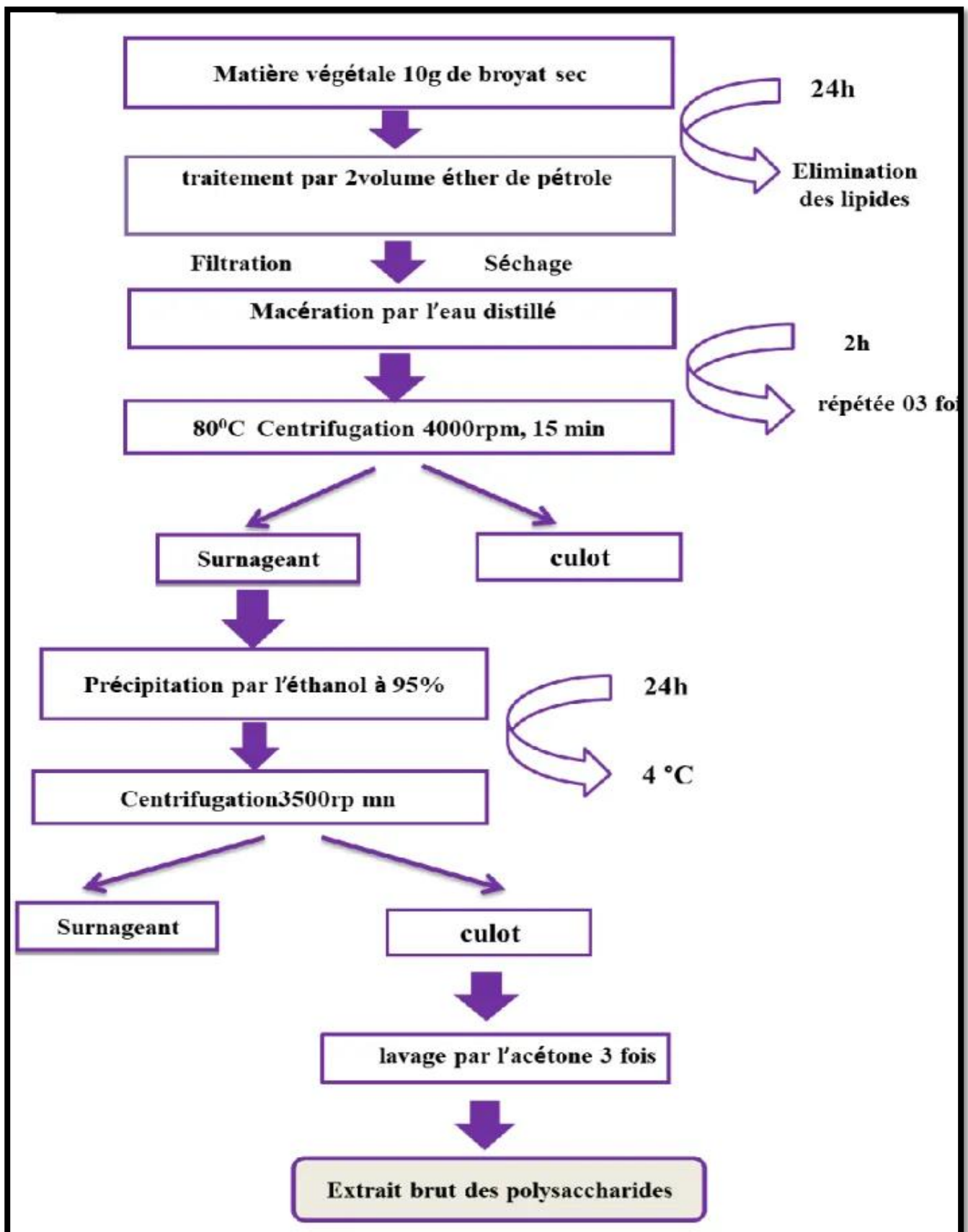


Figure 12: schéma général de différentes étapes de l'extraction des polysaccharides

I.3.2 Composition de l'extrait polysaccharidiques

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

Préparation de solution mère: la solution mère préparé à une concentration de 0.1%, cette solution est diluée 1/10 pour obtenir une solution de 0.01% soit la concentration testées dans les différents dosages.

I.3.2.1.Dosages des oses totaux

La teneur des oses totaux dans l'extrait polysaccharidique brut *Trigonella foenum-graecum* L est déterminée selon la méthode phénol-acide sulfurique décrit selon (Dubois *et al.*, 1956).En présence de l'acide sulfurique concentre. Les oses sont déshydratés en composés de la famille de dérivés furfuraliques. Ces produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orange. La teneur en oses totaux est déterminée par spectrométrie à une longueur d'ordre de 490 nm par référence à une gamme étalon de glucose est réalisée avec des concentrations comprises entre 0.1 et 1 g/l (Boual *et al.*, 2013 ; Du *et al.* 2016 ; Akram *et al.*, 2017)(Annexe1).

I.3.2.1.1.Principe

Les oses et leurs dérivés méthyles réagissent avec phénol et acide sulfurique concentré pour donner un produit de coloration jaune-orangée stable pendant plusieurs heures, le maximum d'absorption se situe à 492nm pour les hexoses et à 480 nm pour les pentoses (Dubois *et al.*, 1956).

Préparation Réactifs

Préparation de la solution de réactif de phénol 5%

La solution de réactif de phénol 5% est préparée par l'ajout de 100ml d'eau distillée à 5g de phénol. La solution mère d'étalon est préparée par l'ajout de 0.1g de glucose dans 100 ml d'eau distillée.

I.3.2.1.2. Mode opératoire

Dans des tubes en verres placer un mélange de 200ul d'échantillon et 200ul de phénol 5%. Après homogénéisation, 1 ml d'acide sulfurique H₂SO₄ (96%), est rapidement introduit dans le milieu réactionnel. Les tubes sont ensuite incubés 100°C pendant 5 min, puis ils sont laissés 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 492 nm (Brudieux *et al.*, 2005; Genestie *et al.*, 2006).

I.3.2.2. Dosage des oses neutres

Pour la détermination de concentrations des oses neutres dans les extraits bruts, il est fait appel aux méthodes de (Monsigny *et al.*, 1988) (Annexe 03).

I.3.2.2.1. Principe

En milieu acide et à chaud, les oses neutres produisent des dérivés du furfural (dérivés aldéhydiques du furane) qui se condensent avec le résorcinol pour donner un complexe de couleur brun jaune (Dupois *et al.*, 1956).

- **Préparation des réactifs**
- **Préparation de la solution du résorcinol 0,6 %**

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

I.3.2.2.2. Mode opératoire

Deux cent (200ul) microlitres de solution à doser sont mis dans des tubes en verre; 200ul de solution résorcinol sont ajoutés, puis 1 ml d H₂SO₄ à 96% .est rapidement introduit dans le milieu réactionnel. Après agitation les tubes sont incubés à l'étuve à 90°C, pendant 30 mn jusqu'à l'apparition d'une couleur jaune brun. Après refroidissement dans un bain de glace pendant 30 mn et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 480 nm. (Monsigny *et al.*, 1988).

I.3.2.3. Dosages des protéines

La concentration en protéines dans le extrait des polysaccharides hydrosolubles est déterminée par la méthode de (Bradford *et al.*, 1976).

I.3.2.3.1.Principe

En milieu acide, le réactif de Coomassie se lie aux protéines provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue qui absorbe entre 465 et 595 nm. Sérum d'albumine bovine (SBA) est utilisé comme référence (Le roux, 2012).

I.3.2.3.2.Mode opératoire

Dans des tubes en verre, il est additionné un volume 400ul de solution à doser, puis 2ml de réactif de coomassie. Le mélange est homogénéisé pendant 30 secondes. L'absorbance est mesurée à 595 nm après 2mn. La coloration est stable pendant une heure (Bradford, 1976).

I.4.Activités anti-inflammatoires des extraits bruts polysaccharidiques *in vitro*

Pour mettre en évidence de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait polysaccharidique, nous avons réalisés le test *in vitro* de la méthode déstabilisation membranaire des globules rouges et l'inhibition de la dénaturation des protéines.

I.4.1.Préparation de tampon Phosphate Buffer Saline (PBS)

La solution contient (200ml) de mélange réactionnel constitué de 19ml NaH₂PO₄ (la solution est préparée avec 2.780g du mono sodium phosphate dans 100ml d'eau distillée), 81ml Na₂HPO₄ (2.8392g du di sodium phosphate dans 100ml d'eau distillée) dans 100ml l'eau distillée, ce dernier donne tampon PBS (PH 7.4).

I.4.1.1.La méthode de stabilisation membranaire des globules rouges (méthode 1)

I.4.1.1.1.Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des GR humaine, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir a libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique *et al.*, 1989 ;Oyedapo *et al.*, 2004). Le sang a été prélevé chez un donneur humain en bonne santé ne consommant aucun médicament stéroïdien depuis deux semaines. Le sang a été soumis à une centrifugation et le surnageant a été soigneusement pipeté à l'aide d'une pipette stérile. Les cellules emballées ont été remises en suspension avec un volume égal de sérum physiologique normal (pH 7,4) et centrifugés à nouveau. Le processus a été répété quatre fois jusqu'à ce que les surnageant seront clairs (Gadamsetty *et al.*, 2013).

I.4.1.1.2. Mode opératoire

La solution contient (4.5ml) de mélange réactionnel constitué de 2 ml de solution saline hypotonique (0,25%NaCl), 1 ml de tampon phosphate de sodium (pH:7,4) et 1 ml d'extrait ont été dissous dans du sérum physiologique normal. Ensuite, 0,5 ml de HRBC a également été ajouté. Le mélange a été incubé à 56 ° C pendant 30 minutes. Les tubes ont été refroidis sous courant de l'eau pendant 20 minutes et le mélange a été centrifugé à 3000 tr / min, les surnageant ont été séparés lus à 560 nm (Gadamsetty *et al.*, 2013). Le diclofénac sodique a été utilisé comme médicament de référence. Dans la solution de contrôle au lieu de hypo saline, 2ml de l'eau distillée a été ajoutée. Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, un contrôle incluant 0.4 ml de la suspension de globules rouges et 1.6 ml d'eau physiologique ou de l'eau distillé, à la place de l'extrait, a été préparé pour vérifier l'état des globules rouges ou le 100 % d'hémolyse, respectivement. Le pourcentage d'hémolyse et de stabilisation ou de protection de la membrane a été calculé en utilisant la formule suivante(Ukwuani-Kwaja ,2015).

$$\% \text{hémolyse} = (\text{densité optique de l'échantillon à tester} / \text{densité optique du contrôle}) \times 100$$

$$\% \text{protection} = 100 - (\text{densité optique de l'échantillon à tester} / \text{densité optique du contrôle})$$

I.4.1.2. La méthode d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes (méthode 2)

I.4.1.2.1. Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des GR humaine, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir a libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique et al., 1989 ;Oyedapo et al., 2004).

I.4.1.2.2. Mode opératoire

L'inhibition de l'hémolyse érythrocytaire a été a été évaluée selon la méthode précédemment rapportée (Yan *et al.*, 2011) avec une modification mineure. L'hémolyse des érythrocytes a été réalisée avec H₂O₂ comme initiateur de radicaux libre. En bref, 0,25 ml des échantillons (extrait polysaccharidique) (de différentes concentration 0, 1 à 1 mg/ml) et 1,0 ml de H₂O₂ (10mmol/L) ont été ajoutés successivement à 0,5 ml de suspension d'érythrocytes à 10 % (v/v). Le mélange a

été incubé à 37°C pendant 1 h tout en secouant doucement à l'obscurité. Ensuite, la solution réactionnelle a été diluée 10 fois avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS; pH 7,4) et centrifugé à 2000 × g pendant 10 min. L'absorbance du surnageant résultant a été mesurée à 540nm (Cheng *et al.*, 2013).

I.4.1.3.Méthode de l'inhibition la dénaturation des protéines

I.4.1.3.1.Principe

Le principe de cette technique est basé sur la capacité d'extrait à empêcher la dénaturation thermique de protéine (Chandra *et al.*, 2012).

I.4.1.3.2.Extraction de l'ovalbumine

L'ovalbumine a été extraite à partir du blanc d'œuf de poule selon la méthode décrite par (Datta *et al.*, 2009). Un œuf frais a été cassé et le jaune est séparé du blanc, le blanc d'œuf a été récupéré dans un bécher mis dans un bain de glace et mélangé à 50ml du tampon phosphate (0,1M, PH=6,6) puis homogénéisé sous agitation magnétique pendant 5mn, ensuite l'homogénat obtenu a été centrifugé à 3000rpm (4°C) pendant 5 mn, le surnageant obtenu a été filtré à travers une bande de gaze pour éliminer le précipitant. Enfin le filtrat obtenu, a été partagé dans des aliquotes de volume de 2 à 2,5ml puis stockés à -20°C.

I.4.1.3.3.Mode opératoire

La solution d'essai (2,5 ml) est composée de 0,1 ml d'albumine (à partir des œufs frais de poule), 1,4 ml de tampon de phosphate saline ((PBS, pH 6,4) et 1 ml de concentrations variables de l'extrait ou de la solution standard (diclofénac de sodium). Ainsi, les concentrations finales deviennent 1000, 2700, 2900µg/ml. Les mêmes volumes sont pris pour le contrôle (eau distillé). Ensuite, les échantillons sont incubés à 37°C pendant 15 min au bain marin et puis à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, leur absorbance est mesurée à 660 nm par le spectrophotomètre UV/visible. Les résultats sont comparés avec le diclofénac de sodium (Chandra *et al.*, 2012). Le pourcentage d'inhibition de dénaturation a été calculée en utilisant la formule suivante: (Osman *et al.*, 2017).

$$\%d'inhibition = (Vt/ Vc -1) \times 100$$

Vt =absorbance moyenne de l'échantillon à tester.

Vc = absorbance moyenne de control.

I.4.1.4. La méthode de dénaturation de sérum albumine bovine(SAB)

I.4.1.4.1.Principe

Le principe de cette technique est basé sur la capacité à inhiber la dénaturation thermique de la BSA (chakou *et al.*, 2021).

I.4.1.4.2.Mode opératoire

La technique est menée selon la méthode décrite par (Kar *et al.*, 2012) 0.45 ml de BSA à 5% avec 0.05 ml de l'extrait polysaccharide (2.7, 2.97mg/ml) Les échantillons ont été incubés à 37 °C pendant 20 min puis chauffés à 57 °C pendant 3 min dans un bain marie. Après refroidissement, on ajoute 2.5 ml de tampon phosphate à pH 6,3. L'absorbance des échantillons a été mesuré par un spectrophotométrie à 255nm. Le contrôle représente 100% de la dénaturation des protéines. L'inhibition de la dénaturation de la protéine est déterminée en % par rapport au contrôle, en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ Inhibition de dénaturation} = \frac{[(\text{Abs de contrôle}/\text{Abs de l'extrait}) / \text{Abs de contrôle}] \times 100}{}$$

Chapitre 02:

Résultats et discussion

Au vu des résultats obtenus, des polysaccharides hydrosolubles ont été extraits du *Trigonella foenum-graceum* L. L'étude de l'activité anti-inflammatoire sont développés dans ce chapitre.

II.1. Etude des polysaccharides

II.1.1. Rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles

Les résultats relatifs portent sur l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles sont obtenues par macération à chaud dans l'eau distillée et précipitées par l'éthanol à 95% (jing *et al.*, 2017) et après lavage par l'acétone est séché et pesé pour déterminer le rendement. Ce rendement relatif est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction (wang *et al.*., 2018) (figure13) .

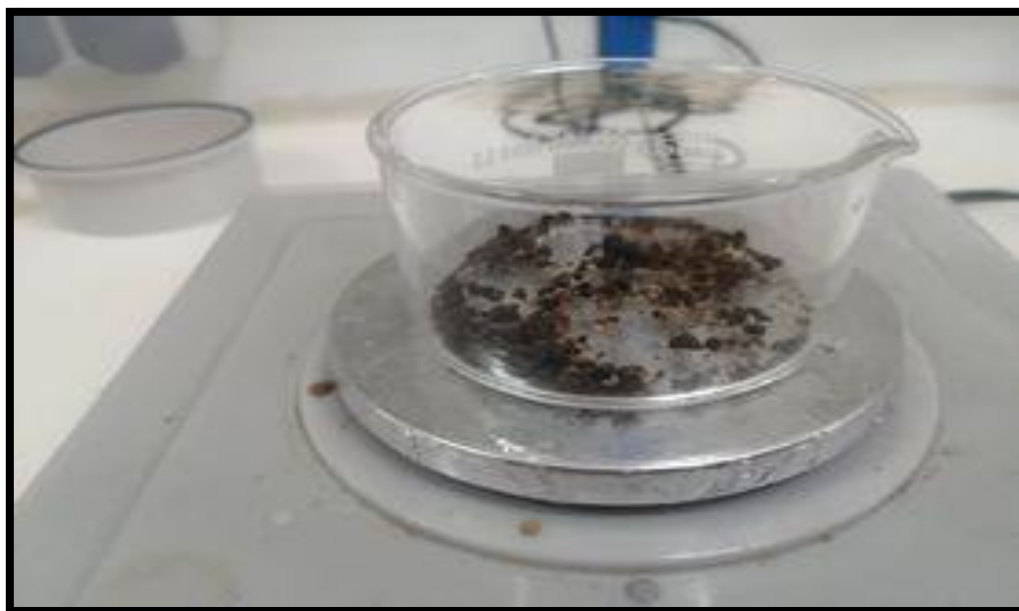


Figure13: Extrait des polysaccharides hydrosolubles de graines de *Trigonella foenum-graecum* L

Le rendement de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles issus des graines de *Trigonella foenum-graecum* L est obtenue par rapport à la matière végétale sèche est de 11.09% (tab.5). Ce rendement est plus élevé par rapport au rendement d'extraction des polysaccharides des graines de quelques espèces de la famille des Fabaceae comme pour l'*Astragalus armatus lam*, soit de 6.3 % et *Astragalus gombo* de 6.8% observé par (Boual *et al.*, 2017), pour *Astragalus mongholicus* de 10.73% (Zhang *et al.*, 2011). Tandis qu'il est proche des rendements massiques obtenus par (Mehellou., 2015) soit de 12.77% pour l'*Astragalus gombo* et inférieur de polysaccharides hydrosolubles extrait de la famille des Apiaceae étudié par (Youmbai *et al.*, 2021), dont ils rapportent un rendement pour *Ferula communis* L de 33.5% .

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, comme source d'énergie, la saison et la période de la récolte, ou par les différences des conditions expérimentales au laboratoire type d'extraction (décoction, infusion ou par macération,...), et le degré de pureté d'alcool utilisé dans la précipitation et le volume utilisé (Youmbai, 2015).

Tableau05: Caractéristiques des polysaccharides hydrosolubles de graines de *Trigonella foenum-graecum* L

Caractéristique	Aspect	Couleur	Rendement	Solubilité
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L	Solide	Brune	11.09%	Eau distillé

II.1.2. Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

L'analyse biochimique des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L, est effectuée par des dosages colorimétriques en oses totaux, en oses neutres et en protéines. La fraction de polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L renferme 96.83% d'oses totaux, 61.80% d'oses neutres et 1.56% de protéines (Figure14).

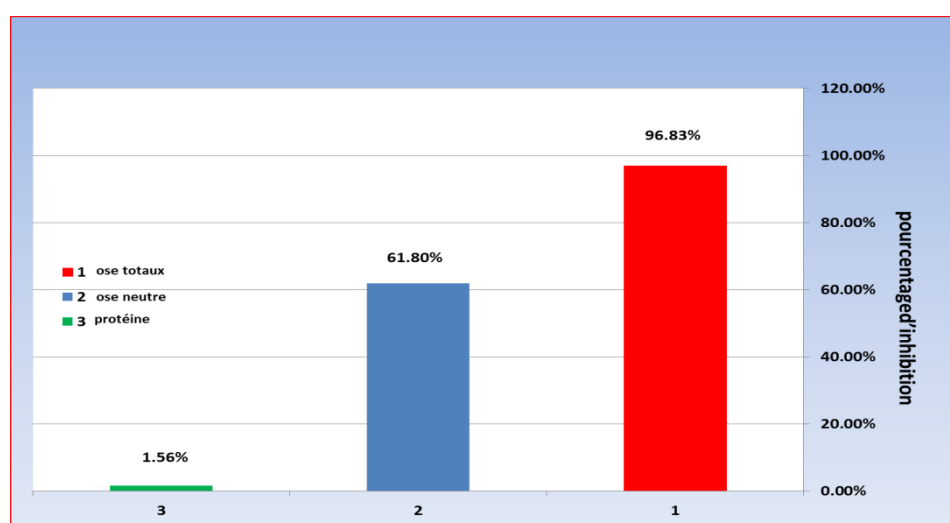


Figure14: Histogramme de la Composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des graines de *Trigonella foenum-graecum* L

Selon Boual *et al.*, (2014) les fractions polysaccharidiques extrait à partir les bulbes d'*Urginea noctiflora* (Fabaceae) dont les teneurs en oses totaux sont 85,44%. plus proche de teneur d'oses totaux des graines *Trigonella foenum graecum* L. Youmbai., (2015) rapporte une teneur de 72,60% en oses totaux des gommés résines de *Ferula communis* L un peu plus loin de teneur d'oses totaux des graines de *Trigonella foenum graecum* L. Il est remarqué que ce résultat obtenue est plus supérieur que celui trouvé chez la fraction isolé des tiges PS3 (Extraction à l'acide chlorhydrique pH= 1,3) d'*Astragalus gombo* 46,6% (Fabaceae) par chouana .,(2017) et supérieur de celui obtenu par Atkhamova *et al.*, (1997). rapportent une teneur de 52.2% pour les parties feuilles *M. mavritana* .

La teneur en oses neutres est inférieure de celle obtenue par Benaoun, (2017) dans les graines *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae) avec un taux de 78.0%, et en oses neutres est élevée de celle obtenu par Mehellou, (2015) à partir des graines d'*Astragalus gombo* est de 44.17%, des inflorescences d'*A.leucotrichus* est de 31.74% Youmbai, 2015.

Les teneurs en protéines obtenues par chouana .,(2017) de 1.8% que celui trouvé chez la tiges d'*Astragalus gombo* et de 1.43% pour feuilles des *malva parviflora* L boual *et al.*,(2013) sont plus proche à celles trouvées pour *Trigonella foenum graecum* L, Les teneurs en protéines est supérieur que de l'extrait polysaccharidique de graines de *Plantago notata* .obtenues par Benaoun (2017) égal à 0.64% .

Comme largement décrit dans la littérature la composition chimique des polysaccharides hydrosolubles varient suivant diverses conditions telles que l'environnement climatique la localisation, l'origine géographique et la période de récolte (Benjamin, 2016).

II.1.3. Activités anti-inflammatoire de l'extrait polysaccharidique *in vitro*

Les activités anti-inflammatoires testées *in vitro* de l'extrait polysaccharidique *Trigonella foenum-graecum* L. Sont présentées par deux méthodes d'inhibition de l'hémolyse des érythrocyte et par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines.

II.1.3.1. Effet des polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L sur la stabilisation de la membrane des érythrocytes (méthode 1)

L'activité anti-hémolytique de *Trigonella foenum-graecum* L. est évaluée en provoquant l'hémolyse par une solution hypotonique qui induit la désorganisation de la membrane et la libération d'hémoglobine.

Les résultats des pourcentages de stabilisation de la membrane des globules rouges sont représentés dans le (tableau6).

Tableau 06: Résultats des pourcentages de stabilisation de la membrane des globules rouge

Polysaccharides	Concentration (mg/ml)	%d'hémolyse	%Protection
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L	2.7	35.67	(64.33 ±0.514)
	2.97	25.54	(74.46 ±0.595)
Diclofénac	25	27.39	(72.61 ±0.342)

D'après le (tableau6) les pourcentages de stabilisation HRBC sont de 64.33% ±0.514; 74.46% ±0.595 pour des concentrations 2.7; 2.97 mg/ml respectivement. Cette stabilité augmente avec l'augmentation des concentrations, et de manière dose dépendante. Solen Boukemara (2017) montre un effet anti- inflammatoire significatif des polysaccharides extraits d'*Anvillea garcinii* et de *Zygophyllum gaetulum* avec le pourcentage de 61,21 ± 7,347 %, et 45 ± 8,461% à 300 mg/kg respectivement. Ce résultat est inférieur au pourcentage des extraits de *Trigonella foenum-graecum* L (64.33% 74.46%) à 2.7, 2.97mg/ml respectivement.

Nos résultats montrent que les polysaccharides hydrosolubles des graines de *Trigonella foenum-graecum* L possède une activité anti-inflammatoire en comparaison à l'élément référence le Diclofénac qui montre un pourcentage de stabilisation HRBC de 72.61% ±0.342 pour de concentration 25mg/ml.

II.3.1.2 Effet des polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L sur d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes (H₂O₂) (méthode 2)

L'activité anti-hemolytique des polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L est évaluée en empêcher l'hémolyse des GR humaine, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir a libération de l'hémoglobine par une solution H₂O₂.

Après avoir fait une expérience d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes (H₂O₂). Plusieurs fois, nous n'avons pas obtenu le résultat souhaité en raison du manque de temps et de l'épuisement de certains produits chimique.

II.3.1.3. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* d'extrait polysaccharidique des graines *Trigonella foenum-graecum* L, il est utilisé le test de l'inhibition de la dénaturation des protéines de blanc d'œuf de poule. Les taux d'inhibition obtenus sont représentés dans le tableau7 suivante:

Tableau 07: Résultats des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines (ovalbumine)

Polysaccharides	Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition %
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L	2.7	61.11 ± 0.023
	2.97	66.66 ± 0.029
Diclofénac	25	91.66 ± 0.046

Nos résultats montre que les polysaccharides hydrosolubles des graines *Trigonella foenum-graecum* L possède une activité anti-inflammatoire en comparaison à l'élément référence le Diclofénac qui montre un pourcentage de dénaturation des protéines 91.66% ± 0.046, pour les concentrations de 25, 2.7, 2.97mg/ml avec des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines de 61.11% ± 0.023; et de 66.66% ± 0.029 respectivement. Le pourcentage à une dose 2.7,2.97mg/ml est élevé à celui de diclofénac de sodium. Activité anti-inflammatoire de polysaccharide de graines *Trigonella foenum-graecum* L.

Selon Hanaia et Messaoudi (2019) le résultat de la dénaturation des protéines à un pourcentage par apport de feuilles d'*Oudneya africana* est de $88.22 \pm 0.8\%$, cette valeur est élevée le pourcentage de dénaturation des protéines de *Trigonella foenum-graecum* L., est de $66.66\% \pm 0.029$.

Selon Boussaha *et al.*, (2018) l'extrait hydro-éthanolique de propolis présente une inhibition maximale de la dénaturation des protéines à un pourcentage de $(15,65 \pm 0.0001)\%$ à 0,25mg/ml et plus inférieure que celui obtenue par l'extrait *Trigonella foenum-graecum* L.

Le test d'inhibition de la dénaturation des protéines est utilisée *in vitro* est un test d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire. La dénaturation d'une protéine provoque l'induction de la réaction inflammatoire par la production des auto-antigènes, facteurs important pour développer une inflammation chronique. Ce teste dans le but de mesure le pouvoir inhibiteur de la dénaturation thermique de protéine par l'extrait éthanoïque des graines de nigelle et l'albumine sérique humaine est la protéine utilisée comme model pour ce test. Mais à cause de l'indisponibilité de cette protéine, nous avons utilisé l'ovalbumine extrait du blanc d'œuf, représente la fraction majoritaire des protéines de l'œuf (54%), elle est une source essentiel des nutriments et une importance dans les études immunologiques (Karthik *et al.*, 2013).

II.3.1.4. Le pourcentage d'inhibition de dénaturation de sérum albumine bovine (SAB)

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation. La production d'antigènes dans les maladies inflammatoires peut-être due à la dénaturation des protéines. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatiques qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines (Belaid, 2017). Les taux d'inhibition obtenus sont représentés dans le tableau 8.

Tableau 08: Résultats des pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines(BSA)

Polysaccharides	Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition %
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L	2.7	97.68 ± 0.011
	2.97	93.06 ± 0.033

Diclofénac	25	90.12 ± 0.047
------------	----	---------------

D'après le tableau 8 les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de protéines (BSA) sont de 97.68% ± 0.011; 93.06% ± 0.033 pour des concentrations 2.7, 2.97mg/ml respectivement. Plus la concentration est élevée, plus le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est faible.

Nos résultats montrent que les polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L possèdent activité anti-inflammatoire en comparaison à l'élément référence le Diclofénac qui montre un pourcentage de dénaturation des protéines 90.12% ± 0.047, pour la concentration de 25mg/ml.

Selon Rashid et Shafi (2018) l'extrait de méthanolique de la fleur de la grenade a présente une inhibition maximale de la dénaturation des protéines à un pourcentage de (71.24%) à une concentration de 500µg/ml, cet effet est inférieure que celui obtenue par l'extrait des graines de *Trigonella foenum-graecum* L (97.68%).

Les protéines dénaturées présentant un mauvais repliement lors d'un dysfonctionnement de l'organisme, constitue l'une des causes d'induction de la réaction inflammatoire (Chatterjee *et al.*, 2012). Les rapports de la littérature suggèrent que l'activité anti-dénaturante des extraits peut être due à l'interaction de certains composants avec deux sites (présents au niveau de certaines protéines comme l'albumine) de liaisons riches en Tyrosine, Thréonine et Lysine. Ils ont également signalé que des molécules thérapeutiques peut réactiver le récepteur riche en motifs de Tyrosine, avec de la Thréonine, qui régulent les voies biologiques de la transduction du signal pour leur action biologique globale (Duganath *et al.*, 2010).

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspective

La présente étude est mise en évidence des propriétés anti-inflammatoires de polysaccharides des graines de la plante *Trigonella foenum-graecum* L. L'étude des polysaccharides hydrosolubles de cette plante, débute par une macération à chaud avec de l'eau distillée à 80°C, puis la précipitation des polysaccharides par l'éthanol. L'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L obtenus, présente un rendement massique soit de 11.09 %. L'analyse biochimique des polysaccharides hydrosolubles des extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L, est effectuée par des dosages colorimétriques en oses totaux, en oses neutres et en protéines. Nos résultats montrent que la fraction de polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L renferme 96.83% d'oses totaux, 61.80% d'oses neutres et 1,56 % de protéines.

Les activités anti-inflammatoires testées *in vitro* de l'extrait polysaccharidique de *Trigonella foenum-graecum* L. Sont présentées par la méthode d'inhibition de l'hémolyse des érythrocytes (deux méthode), Nos résultats montrent que les polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L possèdent une activité anti-inflammatoire remarquable en comparaison à l'élément référence le Diclofénac qui montre un pourcentage de stabilisation HRBC de 72.61% \pm 0.342 pour de concentration 25mg/ml. L'activité anti-inflammatoire évaluée par la méthode de dénaturation de protéines *in vitro* d'extrait polysaccharidique des graines *Trigonella foenum-graecum* L, Nous avons utilisé deux tests d'inhibition de la dénaturation des protéines de sérum albumine bovine(SAB) et d'ovalbumine de blanc d'œuf. Nos résultats montre que les polysaccharides hydrosolubles des graines de *Trigonella foenum-graecum* L possède une activité anti-inflammatoire en comparaison à l'élément référence le Diclofénac.

L'ensemble des résultats montrent que les polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L sont doués d'activités anti-inflammatoires. En effet, la stabilisation de la membrane des globules rouges et la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines suggère leur possible utilisation comme protecteur contre l'inflammation.

Des études complémentaires approfondies sont envisagées pour mieux comprendre les extraits polysaccharidiques impliquées dans chacune de ces activités anti-inflammatoires, et les mécanismes par lesquels ces composés agissent. Ces investigations peuvent être résumées dans les points suivants :

- ✓ Tester d'autres méthodes d'extraction pour un extrait très pur et leur influence sur la composition chimique et leur capacité biologique.
- ✓ Compléter cette étude par d'autres tests afin d'envisager d'autres activités biologiques.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Ahmadiani A., Javan M., Semnianian S., Barat E., Kamalinejad M., 2020.- Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract in the rat. *Journal of Ethnopharmacology* 75 (2001) pp 283–28.
2. Ait Youssef M., 2006.- *Plantes médicinales de kabylie*, Ibis Press., Paris13: pp 234-238
3. Angone S.A ., Nguema-ona E., Driouich A.,2010.- La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale.*Phytothérapie*, , vol. 8, no 4, p. 223-230.
4. Angone, SA., Nguema-Ona, E., & Driouich A. (2010).- La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. *Phytothérapie*,8(4),223–230.
5. Atkhamova S. K., Rakhimov D. A., Kristallovieh E. L.,Karimdzhanov A. K., Et Ismailov A. I., 1997- Plant Polysaccharides.Vi. Polysaccharides Of Representatives Of The Malvaceae Family. *Chemistry Of Natural Compounds*, Vol. 33:590- 593.
6. Bahramzadeh S., Tabarsa M., You S., Li, C., & Bita S. (2019).- Purification, structural analysis and mechanism of murine macrophage cell activation by sulfated polysaccharides from *Cystoseira indica*. *Carbohydrate polymers*, 205, 261-270.
7. Belaid A., & Bellil H N. (2017).- Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des polyphénols de la rue fétide *Ruta graveolens*. P42.43.
8. Benaoun F., 2017.- Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (*Plantaginaceae*) et *Urginea noctiflora*. *Trab (Liliaceae)* P 123.
9. Benchekroun. N.,2010.- Héparines et héparinoïdes : données de littérature, pour l'obtention du doctorat en pharmacie
10. Benjamin P., 2016.- Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis* (Doctoral dissertation). 237P.
11. Benyagoub E., Boulanouar A., Souid ahmed M., Nebbou N& Bouloufa A., 2016.- Essai d'évaluation de l'activité antibactérienne de la gomme arabique d'*Acacia tortilis* (Forssk) contre quelques souches bactériennes pathogènes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. Vol : 85. P : 237 250.
12. Berrada S., 2009.- les glucides : structure, propriétés et applications technologiques

Références bibliographiques

13. Boual Z., Kemassi A., Hamid A., Michaud P., Ould EL Hadj M .,2013.- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malvaparviflora* L. (Malvaceae) : activité prébiotique. *Lebanese Science Journal.*, (14)., 41- 51 p.
14. 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): Activite biologique. Thèse de doctorat en biologie. Université KasdiMerbah Ouargla, 159p.
15. Boual Z., Kemassi A, Hamid Oudjana., A MichaudI., P et Ould El Hadj M-D., 2013.- Caractérisation physico-chimique et biochimique des bulbes d'*Urginea noctiflora* (Liliaceae) récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérie): Activités antioxydantes et antimicrobiennes. *PhytoChem & Bio Sub Journal*; Vol.7(2):1-13.
16. Boual Z., Pierre G., Delattre C., Benaoun F., Petit E., Gardarin C., Michaud P., Ould El hadj M D., 2015.-Mediterranean semi-arid plant *Astragalusarmatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive carbohydrate and Dietary Fibre*, vol.5:10-18.
17. Boukemara H.,2017.- Effet de deux plantes médicinales *Anvilleagarcinii* et *Zygophyllum gaetulum* sur le système immunitaire. Université 8 mai 1945 guelma. Thèse dedoctorat. 74 p.
18. 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.
19. Brudieux V., 2007.- Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. A lication de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 220p.
20. Cao P., Wu S., Wu, T., Deng Y., Zhang Q., Wang K., & Zhang Y.,2020.- The important role of polysaccharides from a traditional Chinese medicine-Lung Cleansing and Detoxifying Decoction against the COVID-19 pandemic. *Carbohydrate Polymers*, 116346.
21. Chakou F Z., Boual Z., Ould El Hadj M D., Hakim Belkhalifa,H., Khaldoun Bachari,K., El Alaoui-Talibi,Z ., Cherkaoui El Modafar,C., Hadjkacem,F., Imen Fendri,I., Abdelkafi,S .,Traïkia,M., Le Cerf,D., Dubessay,P., Delattre,C., Pierre,G., Michaud,P., 2021.- Etude comparative des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits éthanoliques des graines de deux plantes spontanées à caractère médicinales récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérie).
22. Chandra S., Chatterjee P., Dey, P., & Bhattacharya S., 2012.- Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S178-S180.

Références bibliographiques

23. Chen P. Kan H.P., Ji H.H., Sun N. X and Feng Y.Y., 2018.- 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.
24. Cheng H., Feng S., Jia X., Li Q., Zhou Y., Ding C., 2013.-Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Epimediumacuminatum*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 92: 63-68.
25. Chidouh A., Aouadi S., Heyraud A., 2014.- Extraction, fractionation and characterization of water-soluble polysaccharide fractions from myrtle (*Myrtuscommunis* L) fruit. *Food Hydrocolloids*, vol.35: 733 -739.
26. Chouana T .,(2017).-Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. Thèse de doctorat P 1-147.
27. Couic-Marinier F., Laurain-Mattar D., & Koziol N., 2018.- Huile essentielle de *Corymbia citriodora*. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(577), 55–56.
28. Datta D., Bhattacharjee S., Nath A., Das R., Bhattacharjee C., & Datta S., 2009.- Separation of ovalbumin from chicken egg white using two -stage ultrafiltration technique. *Separation and Purification Technology*, 66(2), 353-361.
29. Djelad A ., 2010.- préparation des matériaux composites chitosane - zeolithes. Application dans l'adsorption du cuivre
30. Duganath N., Kumar R. S., Kumana R., Jayaveera K.R., 2010. - Evaluation of antidenaturatio nproperty and anti - oxidant activity of traditionally used medicinal plants. *Int. J. Pharma Bio Sci., IJPBS*. Vol.1:1–7.
31. Dupois M., Gilles K. A., Hamilton J. D., Rebersp. A., Smith F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chern.*, vol. 28: 350-356.
32. Faller H.,2011.- Les Applications et la Toxicité des Algues Marines. Thèse de Doctorat.Université de Limoges p46-47.
33. Gadmsetty G., Maru S., Tyagia., Chakravarthulas., 2013.- antiinflammatory, cytotoxic and antioxidant effects of methanolic extracts of *drypetes sepiaria* (euphorbiaceae)., *afr j tradit complement altern med.*, 10(5).,274-282 P.
34. Garon-Lardiere S., 2004 .- Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales) p16-18.
35. Ghedira K., Goetz1 P., Le Jeune R., 2010.- Fenugrec: *Trigonella foenum-græcum* L.page 181.
36. Guilloton M., Quintard B ., Gallet P., 2013.- Biochimie. 3eme Ed: Dunod, Paris. P: 100-104.

Références bibliographiques

37. Guo Y., Chen X., & Gong P., 2021.- Classification, structure and mechanism of antiviral polysaccharides derived from edible and medicinal fungus. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1753–1773.
38. Hanaia M ., Messaoudi CH., 2019.-Contribution à l'étude des activités biologiques des polysaccharides d' *Oudneya africana* R. Br. récoltée de la région d'El Oued.thèse de master université Hammalakhader El- Oued 62 P.
39. Harchane,H., Addas, H., Amsaguine, S., Amrani, N.Radallah, D., 2012.- Effets de l'extrait aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum graecum*) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. page 357- 362.
40. Hassan L., Haggag k ., El Kalyoubi M H ., El-Aziz M A., El-Sayed M M., Sayed A F., 2015.- Physico-chemical properties of yoghurt containing cress seed mucilage orguar gum. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(1), 21-28.
41. Jiao G., Yu G., Zhang J., Ewart HS., 2011.- Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae . *Marine Drugs* 9 (2): 196-223.
42. Jing C., Yuan Y., Tang Q., Zou P., Li Y., & Zhang C., 2017.- Extraction optimization, preliminary characterization and antioxidant activities of polysaccharides from Glycine soja. *International journal of biological macromolecules*, 103, 1207 -1216.
43. Kar B., Kumar R. S., Karmakar I., Dola N., Bala A., Mazumder U. K., &Hadar P. K., 2012. - Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusopselengi* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S976-S980.
44. Karp G ., 2010.- biologie cellulaire et moléculaire. 3 éd de Boeck université paris : 46-47.
45. Karthik K., Bharath R.P., Venu Priya R., Sunil Kumar K Ranjith Singh B., R Athore ., 2013.- Evaluation of anti - inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in - vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 2320 – 3471.
46. Kasdi Merbah d'Ouargla,Mathilde F.,2021.- Extraction et évaluation des propriétés biologiques des *ulvanes* et *oligo-ulvanes* de l'algue verte *Ulva sp.* : actions sur le métabolisme de cellules cutanées et sur le microbiote cutané.These de doctorat de l'universite bretagne sud. P: 203-252 .
47. Katsuraya K., Okuyama K., Hatanaka K., Oshima R., Sato T., Matsuzaki K., 2003.- Constitution of konjacglucomannan: chemical analysis and¹³C NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, vol. 53(2): 183–189.
48. Kaviarasan S., Naik G.H., Gangabthagirathi R., Anuradha C.V., Priyadarsini K.I., 2007.- In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds pp 31-37.

Références bibliographiques

49. Larouci S., 2017.-recherche de gène d'intérêt impliqués dans la caractérisations des exopolysaccharides produits par des microorganismes, Thèse de doctorat p 7
50. Laurienzo P., 2010.- Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: An Overview. *Marine Drugs*, 8(9), 2435–2465.
51. Le Roux K., 2012.-Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. Thème doctorat. Université de Nantes. 60p.
52. Li S., Liu, H., Wang W., Wang X., Zhang C., Zhang J., & Jia L., 2018.- Antioxidant and anti-aging effects of acidic-extractable polysaccharides by *Agaricus bisporus*. *International journal of biological macromolecules*, 106, 1297 -1306.
53. Lu W., Yang Z., Chen J., Wang D., & Zhang Y., 2021.- Recent advances in antiviral activities and potential mechanisms of sulfated polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 272, 118526.
54. Marouf A., Gérard T.R., 2009.- Abrégé de biochimie Appliqué .Edition EDP science 20 - 21.
55. Medzhitov R., 2010.-Inflammation : New Adventures of an Old Flame. *Cell*, 140(6) ,771-776.
56. Mehallou Z., & Ould E. 2015.-Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien (Doctoral dissertation).P170.
57. Mehrafarin A., Rezazadeh S., Naghdi Badi H., et al., 2011.- A Review on Biology, Cultivation and Biotechnology of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) as a Valuable Medicinal Plant and Multipurpose. 13: pp 234-238.
58. Mengome LE., Voxeur A., Akue JP., & Lerouge P.,2014.- Screening of antioxidant activities of polysaccharides extracts from endemic plants in Gabon. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(2), 77–88.
59. Milas M., 2002.- Les polysaccharides d'origine bactérienne p258-259.
60. 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.
61. Ndiaye M., Sy G., Dièye AM, Touré Mt., Faye B.,2006.- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'annona reticulata (annonaceae) sur l'oedème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol: 14. P. 179-186.*
62. Osman T. A. A., & Idrees A. S., 2017.- In vitro Anti-Inflammatory Activity of Methanol Extracts of *Balanites aegyptiaca* and *Tamarindus indica*. *Neelain J. Sci. Technol*, 1(1), 39-42.

Références bibliographiques

63. Oueslati H.A ., Ghédira K ., 2015.- Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum*. Page 234-238.
64. Ouis N., 2015.-Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre ,de fenouil,et de persil .thèse doctorat .Université Oran1 p110.
65. Parthasarathy VA., Chempakam B., Zachariah TJ., 2008.- Chemis-try of spices, Cabi international, Oxfordshire (UK) . 13: pp 234-238 .
66. Petropoulos GA., Fenugreek: Taylor & Francis., 2002.- The genus *Trigonella* ., New York13: pp 234-238 .
67. Pibiri M.C., 2006 .- Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles , Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences . Lausanne , Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) .
68. Rahmani M ., Toumi-Benali F ., Hamel L., Dif M.M., 2015.- Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* L. page 2.
69. Rahmani M., 2017.-Etude physiologique et valorisation des plantes fourragères et médicinales dans la wilaya de sidi Bel-Abbés, algérie occidentale: cas de Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L) vol p: 33.
70. Rashid M., &Shafi S.M., 2018.- Evaluation of Phytochemical Constituents and In vitro Anti-inflammatory Activity of Kashmiri Pomegranate (*Punica granatum* Linn .) FlowerExtract.
71. Ravikumar P., Anuradha C.V., 1999.- Effect of fenugreek seeds on blood lipid peroxidation and antioxidants in diabetic rats. pp 197-201.
72. Rioux L.,2010.-Caractérisation structurale et évaluation de l'activité biologique de polysaccharides extraits de *saccharina longicuris* Thèse de doctorat présentée à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval : 4-41.
73. Robyt J-F.,1998 .- Separation and detection of sugars and alditols on thin layer chromatograms. Carbohydrate Research. 135-137p.
74. Sadique J., Al-Rqobahs WA, Bughaith, Ar. EI-Gindi (1989). The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBS membrane system. *Fitoterapia*, 60: 525-532.
75. Sanchez M.P., 2006.- Polysaccharides ayant une activiteimmunomodulatrice chez leschampignons indigènes du québec. Thèse de doctorat à la Faculté des Études Supérieures del'Université Laval. P: 11-13.
76. Sebaaly C., Kassem S., Grishina E., Kanaan H., Sweidan A., Chmit MS., et Kanaan HS. (2014).- Anticoagulant and antibacterial activities of polysaccharides of red algae *Corallina* collected from Lebanese coast. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol: 4(4). P: 30-37.

Références bibliographiques

77. Shi L., 2016 .- Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International journal of biological macromolecules* . 92, 37-487
78. Singh B., Kaur R., Singh K. 2008.- Characterization of Rhibosom strain isolated from the roots of *trigonella foenum-graecum* (Fenugreek). *African Journal of biotechnology*. Pp 3671-3676.
79. Singh R. M., Kaur N., Kennedy J. F., 2015.- Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. *Carbohydrate Polymers*, volume 123: 190-207.
80. Sousa S G., Oliveira L A., de Aguiar Magalhães D., de Brito T V., Batista, J. A., Pereira C M C., dos Reis Barbosa A L. (2018). -Chemical structure and anti-inflammatory effect of polysaccharide extracted from *Morinda citrifolia* Linn (*Noni*). *Carbohydrate Polymers*, 197, 515–523.
81. Stefano R., Giuseppe P, Filippo R ., 2019.- Polysaccharides fonctionnels pour applications biomédicales, Pages 189-212
82. Tinamri M ., Lagmi I .,2014.- Optimisation des conditions d'extraction des polysaccharides issus d'*Astragalus gombo bunge* (Fabaceae) récolté au Sahara septentrional Es algérien.
83. Tzianabos A .O., 2000.- Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents:structural aspects and biologic function. *Clinical microbiology reviews*, vol. 13, p. 523-533.
84. Ukwuani,A. N.,& Ahmad, H. B.2015.- Invitro Anti-Inflammatory Activity Of *Parkia Biglobosa* Fruit Bark Extract. P. 8-11. Unlimited applications. *Trends Biotechnol* 31(12):668–677. Van Delden, C., & Iglewski, B. H. 1998.- Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging infectious diseases* 4(4), 551.
85. Vishwakarma, J., & Vavilala S L. 2019.- Evaluating the antibacterial and antibiofilm potential of sulfated polysaccharides extracted from green algae *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Applied Microbiology*.
86. Wang X., Zhang Z., Yao Z., Zhao M., Qi H., (2013).- Sulfation, anticoagulant and antioxidant activities of polysaccharide from green algae *Enteromorpha linza*. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.58: 225 -230.
87. Wang H., Xu Z., Li X., Sun J., Yao D., Jiang H., ... & Wang W.,2017.- Extraction, preliminary characterization and antioxidant properties of polysaccharides from the testa of *Salicornia herbacea*. *Carbohydrate polymers*, 176, 99-106.
88. Wang K., Li M., Wen X., Chen X., He Z., & Ni Y., 2018.- Optimization of ultrasound-assisted extraction of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) polysaccharides based on response surface methodology and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 1056–1063.

Références bibliographiques

89. Wang, L., Zhang, B., Xiao, J., Huang, Q., Li, C., & Fu, X., 2018.- Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit. *Food chemistry*, 249,127-135.
90. Wichtl M ., Anton R ., 2003.-Plantes thérapeutiques. EMI/Tec et Doc, Lavoisier, Paris 13 :pp234-283.
91. Yadav R ., kaushik R., gupta D., Rameesh Institute of Voc & Tech Education., Greater Noida., UP,India., 2014.- The health benefits of *Trigonella foenum-graecum*: a review. *International Journal of Engineering Research and Applications (IJERA)*. pp.032-035.
92. Youmbai A .,Mehello Z ., BoyZ ., Garbarino C., Pierre G., Delattre C ., Michaud P., Ould El-Hadj MD.,2021.- Characterization and Biological Activities of a Polysaccharidic Extract from *Ferula communis* L. (*Apiaceae*) Harvested in Sahara
93. Youmbai A., Boual Z.,Gardarin C, Pierre G., Delattre C., Michaud P., Ould El-Hadj MD., 2021.-caractrisation et activités biologiques dun extrait polysaccharidique de *Ferula communis* L.(*Apiaceae*) récolté au sahara.
94. Youmbai A.,2015.- contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des apiaceae récoltées dans la région de ghardaïa (sahara septentrional algérien), Diplôme de MAGISTER ,p6-47.
95. Yu Y., Shen M., Song Q., & Xie J., 2018.- Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*, 183, 91–101.
96. Yves R., 2008.-biopolymères dynamiques :oligo et polysaccharides thèse de doctort. Université louis pasteur de stars bourg.
97. Zhang C., X., 2011.- Immunomodulatory activities on macrophage of a polysaccharide from *Sipunculus nudus* L. *Food and chemical Toxicology*, vol.9: 2961-2967.
98. 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 (4):953–960.
99. Zhang N., Wang Y., Kan J., Wu X., Zhang X., Tang S .,Jin C., 2019. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory effects of water-soluble polysaccharide from *Arctium lappa*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 717–724.
- 100.Zhang W., Xu P., Zhang H., 2015.- Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food. Science & Technology*. Article in press: 1-14.
- 101.Zlatanova H, Vladimirova S, Kostadinov I, Bijev A.T., 2018.- In vivo evaluation of anti-inflammatory activity of 2-[3-Acetyl-5-(4-chlorophenyl)-2-methyl-pyrrol-1-yl]- 4-methylsulfanyl-butyric acid. *Folia Med (Plovdiv)*;60(2): 270-4.

ANNEXES

Annexes

Annexes 01: Les produits chimiques et l'appareillage utilisé

Tableau 01 : origines et caractéristiques physico-chimiques des produits utilisés au cours d'expérimentation

Produit	Forme	Formule chimique	Caractéristiques Masse molaire (g/mol)	Densité (g/cm ³)	Pureté (%)
Acétones	Liquide	C_3H_6O	58.08		
Acide sulfurique	Liquide	H_2SO_4			
Glucose	Liquide	$C_6H_{12}O_6$			
Phénol	Liquide	C_6H_6O	94.11		
Résorcinol	Liquide				
Méthanol	Liquide	CH_3OH	32.04		
Ethanol	Liquide	C_2H_6O	46,07		
Ether de pétrole	Liquide	/	/		
Eau physiologique	Liquide	$NaCl$	58,443		
Sérumalbumine Bovine (BSA)	Solide	/	/	/	
Mono sodium phosphate	Solide	NaH_2PO_4			
Di sodium phosphate	Solide	Na_2HPO_4			

Tableau 02: Origines et types d'appareils utilisés au cours de l'expérimentation

Appareil type	Type	Lieu de fabrication
Autoclave	TIMO	/
Bain marie	/	/
Balance	RADWAG	
Centrifugeuse	SIGMA	Allemagne
Etuve MEMMERT	MEMMERT	Allemagne
Micropipette	/	/
plaqué chauffe	/	/
Spectrophotomètre	JENWAY	France
Spectrophotomètre	SECOMAM PRIM	France

Annexe 02: la composition chimique des polysaccharides hydrosolubles de *Trigonella foenum-graecum* L

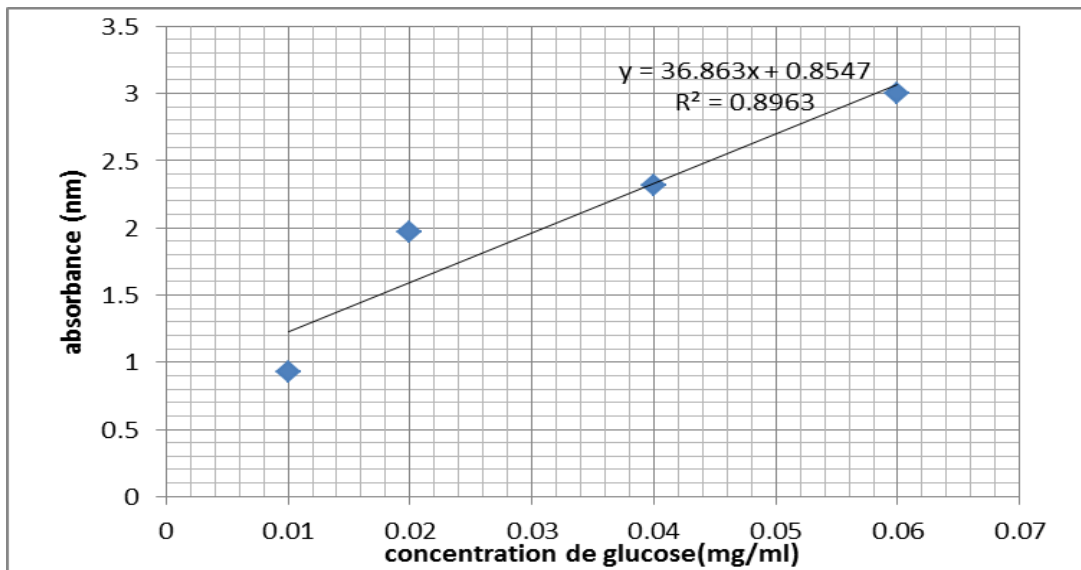


Figure01: Courbe d'étalonnage des oses totaux

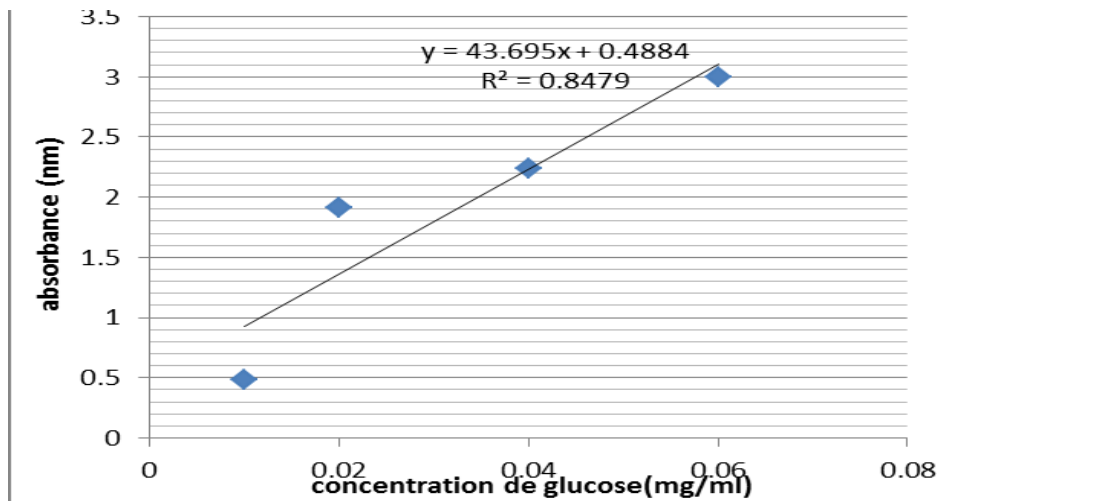


Figure02: Courbe d'étalonnage des oses neutres

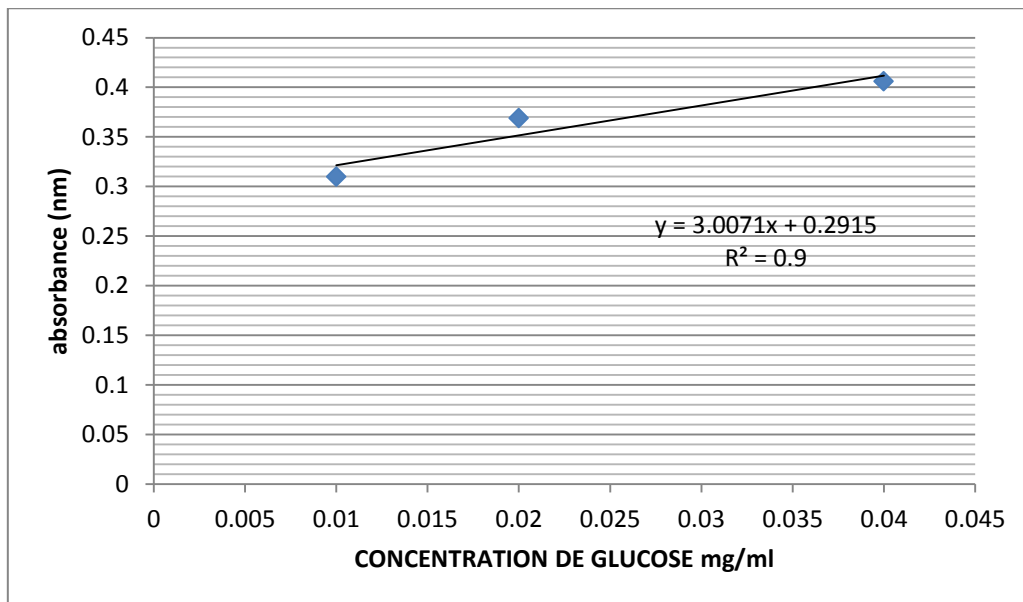


Figure03: Courbe d'étalonnage de protéine

Annexes03: Composition de l'extrait polysaccharidiques hydrosoluble de *Trigonella foenum-graecum* L de l'activité anti-inflammatoire.



Figure1 : Dosages des oses neutres



Figure2 : Dosages des oses totaux