UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques

Mémoire
en vue de l'obtention du Diplôme de
MAGISTER
en Biologie
Option: Biochimie et Analyse des Bioproduits
THÈME

Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien

Présenté par
MEHELLOU Zineb

Devant le jury composé de:

OULD EL HADJ KHELIL Aminata	Professeur	Univ. Ouargla	Présidente
SIBOUKEUR Oumelkheir	Professeur	Univ. Ouargla	Examinatrice
SALHI Nesrine	MCA	Univ. Ouargla	Examinatrice
OULD EL HADJ Mohamed Didi	Professeur	Univ. Ouargla	Promoteur
BOUAL Zakaria	MCB	Univ. Ouargla	Co–promoteur

Année universitaire: 2015/2016

Remerciements

Avant tout, je remercie ALLAH tout puissant de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à mon promoteur Monsieur OULD ELHADJ Mohamed Didi, professeur au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, pour m'avoir offrir l'opportunité de réaliser ce travail et de bien vouloir accepter de le diriger. Je vous remercie vivement pour votre esprit critique et votre rigueur en matière de rédaction. Je vous remercie aussi pour votre présence et vos conseils et de m'avoir soutenu en plusieurs occasions qui ne se sont pas limitées à l'aspect scientifique de mon travail. Je vous en suis infiniment reconnaissante.

Je tiens à adresser ma profonde reconnaissanceau Monsieur BOUAL Zakaria, maître de conférences B au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, pour vos efforts, votre guide, votre disponibilité et votre patience au cours de ce travail. Votre passion pour l'étude des polysaccharides a largement à faire contribuer ce projet.

J'exprime mes profondes reconnaissances à Madame OULD ELHADJ-KHELIL Aminata, professeur au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, vous qui me faites l'honneur de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent ensuite à Madame SIBOUKEUR Oum El Kheir, professeur au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla et à Melle SALHI Nesrine, maître de conférences A,

au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, pour avoir acceptées d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier le Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides, pour m'avoir fourni les moyens matériels nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation du présent travail.

Je m'adresse également mes remerciements au Laboratoire d'analyse médical «IBN ROCHD » à Ghardaia en particulier son Directeur Dr. AMMI SAÏD Mustapha de m'avoir accueillie au sein du laboratoire, et au laboratoire de l'hôpital de «BESSER MOARADJ»à El-Oued, ainsi qu'à tous les membres de ces équipes. Mes remerciements vont également aux tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, principalement au Monsieur ELAIECHE.

Dédicace

A mes chers parents

A ma belle famille

A tous mes amis

Liste des tableaux

1	Résumé des sources, structures, masses molaires et activités biologiques documentées sur les polysaccharides cités	120
2	Caractéristiques physicochimique et origine des produits chimiques utilisés	138
3	Caractéristiques physicochimique des solutions préparées	141
4	Origine et types des appareils utilisés au cours de l'expérimentation	146
5	Rendements d'extractions et composition des extraits bruts des polysaccharides d'*Astragalus gombo* et de *Cistanche violacea*	150
6	Facteurs de rétention des étalons et des fractions de polysaccharides hydrolysées d'*A. gombo* et de *C. violacea* pour le système 1 (YANG *et al*., 2010) et le système 2 (GHEBREGZABEIER *et al*., 1976)	151
7	Activités biologiques des extraits polysaccharidiques d'*A. gombo* et de *C. violacea*	152
8	Corrélations entre la composition des extraits bruts et les activités biologiques	153

Liste des photos

1	*Astragalus gombo* au plateau de Koudia à Djamaa (moyen Oued Righ) (KHERRAZE*etal*., 2010)	46
2	*Cistanche violacea* (Desf.) Beck. à Chott Melghir (El Oued, Algérie)	48
3	Processus de phagocytose des levures de *Candida albicans* par les leukocytes isolés du sang humain et activés par les extraits de polysaccharides bruts	90

Liste des figures

01	Structure du dextrane (PLESZCZYNSKA *et al*., 2015)	06
02	Structure de la gomme xanthane (GARCÕÂA-OCHOA *et al*., 2000)	07
03	Structure de pullulane (SINGH *et al*, 2015)	08
04	Structure de λ, ι et κ carraghénanes (PRAJAPATI *et al*., 2014)	09
05	Structure de fucoidane (WIJESINGHE et JEON, 2012)	10
06	Structure des principales unités disaccharidiques répétitives d'ulvane: A: [→ 4 -β-D-Glcp- (1 → 4) -α-LRhap3S- (1 →)] n; B: [(→ 4) -α-L-IdoP - (1 → 4) -α-L-Rhap3S- (1 →)] n (JIAO *et al*., 2011)	10
07	Structure de chitosane (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000)	11
08	Structure du kératane sulfate (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000)	12
09	Structure du glycogène (PAL *et al*., 2015)	12
10	Structure de l'amidon (LIU *et al*., 2009)	13
11	Structure d'un fructane isolé de *Wedelia prostrata* (ZHANG *et al*., 2013)	14
12	Structure de la gomme de caroube (MIRHOSSEINI et AMID, 2012)	14
13	Structure de la cellulose (UMMARTYOTIN et MANUSPIYA, 2015)	15
14	Structure de la pectine; (a) ZHANG *et al*. (2015), (b) KAMNEV *et al*. (2015)	16
15	Structure de la gomme du fenugrec (MIRHOSSEINI et AMID, 2012)	17
16	Structure de la gomme de tamarin (MIRHOSSEINI et AMID, 2012)	18
17	Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles	51
18	Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides alcali-solubles	53
19	Rendements lipidiques à partir des organes étudiés d'*A. gombo* et de *C. violacea*	71
20	Rendements des différentes extractions des polysaccharides bruts d'*A. gombo* et de *C. violacea*	72
21	Composition des extraits bruts des polysaccharides d'*A.gombo* et de *C. violacea*	74
22	Chromatogramme des étalons et des hydrolysats des polysaccharides d'*A. gombo*, système 1	76
23	Chromatogramme des étalons et des hydrolysats des polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea*, système 2	77
24	Pourcentages d'inhibition du radical DPPH parles fractions	81

	polysaccharidiques issus d'*A. gombo* et de *C. violacea*	
25	Pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les fractions polysaccharidiques issus d'*A. gombo* et de *C. violacea*	82
26	Puissance de l'activité de la réduction ferrique (FRAP)des fractions polysaccharidiques issus d'*A. gombo* et de *C. violacea*	83
27	Activité anticoagulante des fractions polysaccharidiques issus d'*A. gombo* et de *C. violacea*	86
28	Activité phagocytaire des fractions polysaccharidiques issus d'*A. gombo* et de *C. violacea*	88
29	Courbe d'étalonnage pour les protéines par la méthode de LOWRY (1951)	147
30	Courbe d'étalonnage pour les protéines par la méthode de BRADFORD (1976)	147
31	Courbe d'étalonnage pour les oses totaux par la méthode de DUBOIS (1956)	148
32	Courbe d'étalonnage des oses neutres par la méthode de MONSIGNY (1988)	148
33	Courbe d'étalonnage des acides uroniques par la méthode de BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN (1973)	148
34	Courbe d'étalonnage de l'activité de piégeage des radicaux DPPH d'acide ascorbique	149
35	Courbe d'étalonnage de l'activité de piégeage des radicaux $ABTS^{+}$ d'acide ascorbique	149
36	Courbe d'étalonnage de l'activité de la réduction ferrique d'acide ascorbique	149

Liste des annexes

01	Résumé des sources, structures, masses molaires et activités biologiques documentées sur les polysaccharides cités
02	Caractéristiques physicochimique et origine des produits chimiques utilisés
03	Caractéristiques physicochimique des solutions préparées
04	Origine et types des appareils utilisés au cours de l'expérimentation
05	Dosage des protéines
06	Dosage des oses
07	Dosage de l'activité antioxydante
08	Rendements d'extractions et composition des extraits bruts des polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea*
09	Facteurs de rétention des étalons et des fractions de polysaccharides hydrolysées d'*A. gombo* et de *C. violacea* pour le système 1 (YANG *et al*., 2010) et le système 2 (GHEBREGZABEIER *et al*., 1976)
10	Activités biologiques des extraits polysaccharidiques d'*A. gombo* et de *C. violacea*
11	Corrélations entre la composition des extraits bruts et les activités biologiques
12	Matériel utilisé au cours de l'expérimentation

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I- Aperçu sur les polysaccharides et études antérieures sur les espèces végétales investies	04
I.1.- Généralités sur les polysaccharides	05
I.1.1.- Polysaccharides bactériens et fongiques	06
I.1.1.1.- Dextrane	06
I.1.1.2.- Xanthane	07
I.1.1.3.- Pullulane	08
I.1.2.- Polysaccharides extraits d'algues	08
I.1.2.1.- Carraghénanes	09
I.1.2.2.- Fucoidane	09
I.1.2.3.- Ulvane	10
I.1.3.- Polysaccharides animaux	11
I.1.3.1.- Chitosane	11
I.1.3.2.- Kératane sulfate	11
I.1.3.3.- Glycogène	12
I.1.4.- Polysaccharides végétaux	12
I.1.4.1.- Polysaccharides de reserve	13
I.1.4.2.- Polysaccharides de structure	15
I.1.4.3.- Exsudats et mucilages	16
I.1.4.3.1.- Exsudats	16
I.1.4.3.2.- Mucilages	18
I.2.- Activités biologiques des polysaccharides	19
I.2.1.- Activité antioxydante	19
I.2.1.1.- Polysaccharides à activité antioxydante	20
I.2.2.- Activité anticoagulante des polysaccharides	22
I.2.2.1.- Polysaccharides à potentialité anticoagulant	23
I.2.3.- Activité immunomodulatrice des polysaccharides	25
I.2.3.1.- Polysaccharides immunomodulateurs	26
I.2.4.- Activités antitumorale et anticancéreuse	30
I.2.4.1.- Polysaccharides antitumoraux et anticancéreux	31
I.2.5.- Autres potentialités biologiques des polysaccharides	33

I.2.5.1.- Activité hypoglycémiante 33
I.2.5.2.- Activité hépatoprotectrice 35
I.2.5.3.- Activités antimicrobienne 35
I.2.5.4.- Activité radio-protectrice 39
I.2.5.5.- Activité protectrice contre les métaux lourds 39
I.3.- Etudes antérieures sur les plantes investies 40
I.3.1.- Etudes antérieures sur les espèces du genre Astragalus (Fabaceae) 40
I.3.2.- Etudes antérieures sur les espèces du genre Cistanche (Orobanchaceae) 42
Chapitre II.- Matériel et méthodes 43
II.1.- Principe d'étude 44
II.2.- Matériel d'étude 44
II.2.1.- Matériel biologique 45
II.2.1.1.- Choix des espèces végétales 45
II.2.1.1.1.- *Astragalus gombo* Coss. et Dur. 45
II.2.2.1.1.1.- Position botanique 46
II.2.1.1.1.2.- Répartition géographique 46
II.2.1.1.1.3.- Récolte et parties étudiées 47
II.2.1.1.2.-*Cistanche violacea* (Desf.) Beck. 47
II.2.1.1.2.1.- Position botanique 48
II.2.1.1.2.2. – Répartition géographique 48
II.2.1.1.2.3.- Récolte et parties étudiées 49
II.2.1.2.- Prélèvements sanguins 49
II.3.- Etude des polysaccharides 49
II.3.1.- Technique de séchage et de broyage 50
II.3.2.- Extraction des polysaccharides 50
II.3.2.1.- Extraction des polysaccharides hydrosolubles 50
II.3.2.2.- Extraction des polysaccharides alcali-solubles 52
II.3.2.3.- Calcul du rendement 52
II.3.3.- Composition des extraits bruts des polysaccharides 52
II.3.3.1.- Dosage des protéines 54
II.3.3.1.1.- Méthode de LOWRY (1951) 54
II.3.3.1.1.1.- Principe 54
II.3.3.1.1.2.- Mode opératoire 54
II.3.3.1.2.- Méthode de BRADFORD(1976) 54

II.3.3.1.2.1.- Principe 55
II.3.3.1.2.2.- Mode opératoire 55
II.3.3.2.- Dosage des oses 55
II.3.3.2.1.- Dosage des oses totaux 55
II.3.3.2.1. 1.- Principe 55
II.3.3.2.1. 2.- Mode opératoire 56
II.3.3.2.2.- Dosage des oses neutres et oses acides 56
II.3.3.2.2.1.- Principe 56
II.3.3.2.2.1.1.- Dosage des oses neutres 56
II.3.3.2.2.1.2.- Dosage des acides uroniques 57
II.3.4.- Caractérisation des polysaccharides 57
II.3.4.1.- Hydrolyse acide des extraits bruts 57
II.3.4.1.1.- Principe 57
II.3.4.1.2.- Mode opératoire 57
II.3.4.2.- Chromatographie sur couche mince (CCM) 58
II.3.4.2.1.- Principe 58
II.3.4.2.2.- Mode opératoire 58
II.3.5.- Activités biologiques des polysaccharides 59
II.3.5.1.- Activité antioxydante 59
II.3.5.1.1.- Réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) 59
II.3.5.1.1.1.- Principe 59
II.3.5.1.1.2.- Mode opératoire 60
II.3.5.1.2.- Réduction du radical 2,2'-Azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonate) ($ABTS^+$) 60
II.3.5.1.2.1.- Principe 60
II.3.5.1.2.2.- Mode opératoire 60
II.3.5.1.3.- Puissance de l'activité de la réduction ferrique (FRAP) 61
II.3.5.1.3.1.- Principe 61
II.3.5.1.3.2.- Mode opératoire 61
II.3.5.2.- Activité anticoagulante 62
II.3.5.2.1.- Temps de céphaline activé (TCA) 63
II.3.5.2.1.1.- Principe 63
II.3.5.2.1.2.- Mode opératoire 63
II.3.5.2.2.- Temps de Quick (TQ) 63
II.3.5.2.2.1.- Principe 63

II.3.5.2.2.2.- Mode opératoire 64
II.3.5.3.- Activité phagocytaire 64
II.3.5.3.1.- Principe 64
II.3.5.3.2.- Procédure 64
II.3.5.3.2.1.- Prélèvement de sang 64
II.3.5.3.2.2.- Préparation de *Candida albicans* 65
II.3.5.3.2.3.- Préparation de zymosan 65
II.3.5.3.2.4.- Exploration de phagocytose et récupération des cellules phagocytaires 65
II.3.5.3.2.5.- Préparation des frottis sur lame 66
II.3.5.3.2.6.- Coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG) 66
II.3.5.3.2.6.1.- Principe 67
II.3.5.3.2.6.2.- Processus de coloration 67
II.3.5.3.2.7.- Calcul de la capacité phagocytaire 67
II.3.5.3.2.8.- Calcul de l'activité phagocytaire 67
II.6.- Analyse statistique 68
Chapitre III.- Résultats et discussion 69
III.1.- Rendements d'extraction 70
III.2.- Composition des extraits bruts des polysaccharides 73
III.3.- Caractérisation qualitative des polysaccharides 75
III.3.1.- Caractérisation qualitative des polysaccharides d'*A. gombo* 75
III.3.2.- Caractérisation qualitative des polysaccharides de *C. violacea* 79
III.4.- Activités biologiques des extraits polysaccharidiques 80
III.4.1.- Activité antioxydante 80
III.4.2.- Activité anticoagulante 85
III.4.3.- Activité phagocytaire 87
Conclusion et perspectives 91
Références bibliographiques 94
Annexes
Résumés

Introduction

Les plantes ont formé la base de systèmes sophistiqués de la médecine traditionnelle. Elles existent depuis des milliers d'années et continuent d'apporter à l'humanité de nouveaux remèdes. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% des habitants de la planète continuent de s'appuyer principalement sur les systèmes de médecine traditionnelle pour leurs soins de santé. Les produits végétaux jouent également un rôle important dans les systèmes de soins de santé pour les 20% restants de la population. Sur les 119 composés chimiques purs extraits de plantes supérieures utilisées en médecine à travers le monde, 74% de ces composés ont la même utilisation que les plantes à partir desquelles sont dérivées (GURIB-FAKIM, 2006).

Tous les composés des systèmes biologiques, peuvent être divisés en deux grandes arènes. L'une est les métabolites primaires, qui sont des substances chimiques destinées à la croissance et au développement, tels que les glucides, les acides aminés, les protéines et les lipides. L'autre est les métabolites secondaires, qui sont un groupe de composés autres que métabolites primaires admis à aider les plantes d'augmenter leur capacité globale de survivre. Les composés bioactifs sont des métabolites secondaires végétaux provoquant des effets pharmacologiques ou toxicologiques chez les êtres humains et les animaux (AZMIR *et al*., 2013).

Les polysaccharides ainsi que les poly-nucléotides, les protéines et les lipides constituent les quatre bio-macromolécules les plus important en sciences de la vie (LUI *et al.*, 2015). Ils ont attiré beaucoup l'attention des chercheurs dans les domaines alimentaires et biomédicales, en raison de leurs activités biologiques et physiologiques diverses (XIE *et al*., 2015) comme la biodégradabilité, la non-toxicité, la bonne biocompatibilité, les activités hémostatique et antimicrobienne (IGNAT, 2012). Ils sont des structures polymériques d'hydrates de carbone, formées d'unités reliées entre elles par des liaisons glycosidiques répétées. Ils peuvent être produits à partir de nombreuses sources comme les plantes, les microorganismes et les algues (KURDE *et* SAMAVATI, 2015).

Les polysaccharides ainsi que les oligosaccharides, le groupe le plus abondant des polymères se sont révélés à participer à de nombreux processus biologiques, tels que la communication cellule-cellule, le développement embryonnaire, l'infection bactérienne et/ou virale et, l'immunité cellulaire et humorale (LUI *et al*., 2015).

Des membres académiques universitaires de la recherche et de l'industrie dans le réseau de polysaccharide européen d'excellence (EPNOE) sont convaincus que les polysaccharides

seront au point central du monde de demain pour les combustibles durables, la nourriture, les matériaux et la production de médicaments. Une telle vision, soutenue par la plupart des forces politiques, sociales et économiques, est à l'origine de la relance de la recherche dans ce domaine au cours des dernières décennies (PERSIN *et al*., 2011).

Le Sahara, qui occupe 10% de la surface du continent africain, est le plus grand désert chaud du monde. Cette écorégion comprend la partie septentrionale du Sahara où les précipitations se produisent pendant l'hiver, nourrissant ainsi une variété de plantes qui fleurissent avant l'été chaud et sec (CHENCHOUNI, 2012). L'état de la flore spontanée dans cette zone ainsi que les relations entre l'homme et les espèces végétales, méritent une attention particulière. Certaines espèces possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal. Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal, voire l'unique recours de la tradition orale pour soigner les pathologies, en même temps que la matière première pour la médecine moderne (OULD EL HADJ *et al*., 2003). Malgré l'intérêt porté sur la modélisation moléculaire, la chimie combinatoire et d'autres techniques de la chimie de synthèse, les produits naturels, et en particulier les plantes médicinales, restent une source importante de nouveaux médicaments, de nouvelles pistes de drogue et de nouvelles entités chimiques (BALUNAS et KINGHORN, 2005).

Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore d'environ 500 espèces de plantes supérieures, dont une partie reste de nos jours utilisée par les populations comme plantes médicinales (MAIZA *et al*., 1993).

Face à ce constat, la présente étude recherche des polysaccharides hydrosolubles de deux plantes spontanées aux caractères médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Sahara septentrional Est algérien. Il s'agit d'*Astragalus gombo* (Fabaceae) et *Cistanche violacea.* (Orobanchaceae). L'étude porte sur la caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles et leurs effets anticoagulant, antioxydant et immunomodulateur.

Le document est structuré en trois chapitres. Le premier chapitre porte sur un aperçu sur les polysaccharides et des études antérieures sur les espèces végétales investies. Dans le second chapitre, la méthodologie de travail est développée. Le troisième chapitre porte les différents résultats obtenus et la discussion. Une conclusion et des perspectives achèvent ce travail.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.- Aperçu sur les polysaccharides et études antérieures sur les espèces végétales investies

Le présent chapitre traite quelques généralités sur les polysaccharides et leurs activités biologiques; de même des études phytochimiques antérieures et l'utilisation traditionnelle des espèces végétales investies sont développées.

I.1.- Généralités sur les polysaccharides

Les polymères naturels peuvent être généralement divisés en différentes catégories, y compris les polysaccharides, les protéines et les acides nucléiques. Les polysaccharides sont définis comme des structures glucidiques polymériques composées d'unités mono-osidiques répétitifs reliées par des liaisons glycosidiques. En tant que biopolymères naturels, les polysaccharides sont stables, non toxiques, biodégradables et biocompatibles. Ils disposent de plusieurs ressources provenant des algues, des plantes, des micro-organismes et des animaux (YANG *et al*., 2015).

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure, leur composition chimique, leur solubilité, leurs sources et leurs applications. Pour la composition chimique, les polysaccharides sont classés en deux types, des homopolysaccharides ou des homoglycans, qui sont constitués d'un seul type de monosaccharide. Par exemple la cellulose et le glycogène sont constitués de glucose. Les hétéropolysaccharides ou hétéroglycanes, sont constitués de plus d'un type de monosaccharides, tel que l'héparine constitué d'acide α-L-idopyranosyluronique 2-sulfate et 2-désoxy-2-sulfoamino-α-D-glucopyranose 6-sulfate. Selon la nature des molécules liées au glycane, les polysaccharides peuvent également être classés comme des protéoglycanes, des glycoprotéines et des glycolipides. En se basant sur les origines, les polysaccharides bioactifs peuvent être d'origine végétale ou de lichens. Certains polysaccharides bioactifs sont issus d'animaux (LIU *et al*., 2015).

L'extraction fractionnée des polysaccharides non amylacés peut être contrôlée en modifiant le pH des solutions. La compréhension initiale des propriétés des fibres alimentaires a permis une simple division entre celles qui présentent principalement des effets sur l'absorption du glucose et des lipides de l'intestin grêle (solubles) et celles qui sont lentement et incomplètement fermentés et possèdent des effets plus prononcés sur les habitudes intestinales (insolubles) (CUMMINGS et STEPHEN, 2007).

Les polysaccharides natifs sont non toxiques, biocompatibles, biodégradables, hydrosolubles et, ont la capacité élevé de gonflement. Ceux-ci ont des propriétés qui les rendent extrêmement adaptées pour des applications biomédicales, pharmaceutiques et cosmétiques. Une large gamme de polysaccharides ont déjà trouvé des applications dans la santé humaine, à savoir le chitosane, la cellulose, les alginates, le dextrane, l'amidon, l'acide hyaluronique, l'héparine, le κ-carraghénane, les pectines et la gomme de guar (PERSIN *et al*., 2011).

I.1.1.- Polysaccharides bactériens et fongiques

Les micro-organismes produisent une grande variété d'exopolysaccharides ayant des caractéristiques physiques et chimiques uniques. Ces exopolysaccharides peuvent être des homopolysaccharides ou des hétéropolysaccharides (SINGH *et al*., 2015).

I.1.1.1.- Dextrane

Les dextranes sont des polymères de glucosede longues chaînes (ZOHRA *et al*., 2013). Ils sont composés de chaînes principales qui ne contiennent que des unités D-glucopyranose répétées avec des liens α (1→6). Ils peuvent avoir des branches de chaîne latérale qui impliquent d'autres liens différents α (1→2); α (1→3) ou α (1→4) (fig. 1). Ces polymères sont produits par des souches appartenant aux genres Lactobacillus, Leuconostoc, StreptococcusetWeisella (NACHER-VAZQUEZ *et al*., 2015).

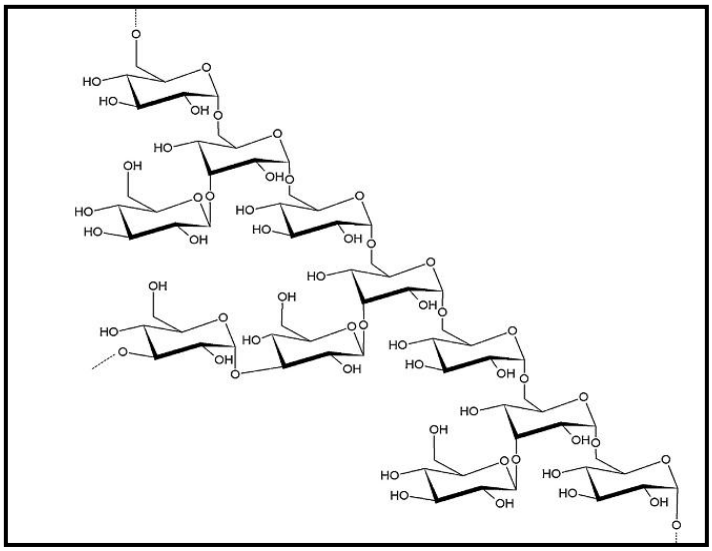


Figure 1.- Structure du dextrane (PLESZCZYNSKA *et al*., 2015)

Le dextrane élaboré par *Leuconostoc mesenteroides* (Leuconostocaceae) (KUMAR *et*

al.,2012), est constitué d'une chaine α (1→6) glucane avec des chaînes latéralesα (1→3), attachées à la troisième position d'unités squelettiques de glucose (DE BELDER, 2003). C'est le dextrane le plus largement rencontré dans l'industrie. Il contient à 95% des liaisons α1→6 et 5% des liaisons α1→3 (NACHER-VAZQUEZ *et al*., 2015).

I.1.1.2.- Xanthane

La gomme xanthane est un exo-polysaccharide hydrosoluble d'une espèce bactérienne GRAM négatif *Xanthomonas campestris* (Pseudomonaceae) produite industriellement par fermentation à partir d'une source de carbone (PALANIRAJ et JAYARAMAN, 2011). Cette gomme est un hétéropolysaccharide ayant une structure primaire constituée d'unités pentasaccharidiques répétées. La structure chimique (fig. 2) de la chaîne principale est identique à celle de la cellulose (β-D-(1→4)-glucopyrannose). Les chaînes latérales trisaccharidiques contiennent une unité d'acide α-D-glucuronique entre deux unités D-mannose liées à la position 3 de tous les résidus de glucose de la chaîne principale. Près de la moitié des résidus D-mannose terminal contient un résidu d'acide pyruvique lié aux positions 4 et 6, avec une distribution inconnue. Le D- mannose lié à la chaîne principale contient un groupe acétyle en position 6. La présence d'acides acétique et pyruvique, produit un type de polysaccharide anionique (GARCÕÂA-OCHOA *et al*., 2000). Environ 50% des résidus mannose terminaux sont liés au pyruvate et le résidu non-terminal porte habituellement un groupe acétyle en C-6 (PALANIRAJ et JAYARAMAN, 2011).

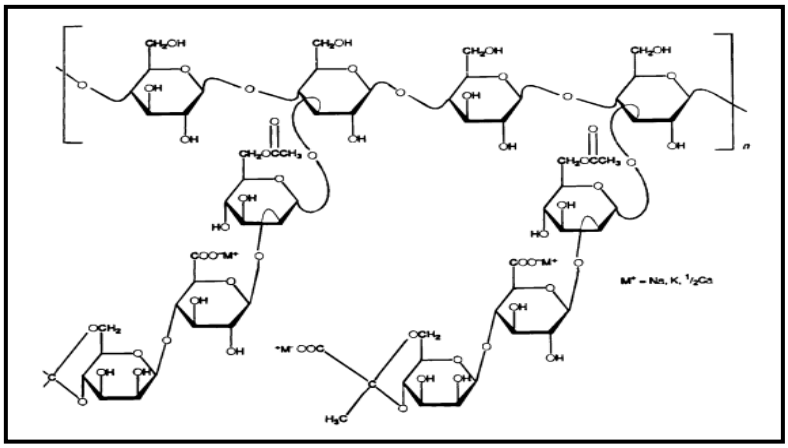


Figure 2.- Structure de la gomme xanthane (GARCÕÂA-OCHOA *et al.*, 2000)

I.1.1.3.- Pullulane

Le pullulane est un exopolysaccharide hydrosoluble produit par *Aureobasidium pullulans* (Dothideaceae) (LOTRAKUL *et al*., 2009). La structure du pullulane (fig. 3) a une caractéristique unique marquée par la coexistence des liens α (1→4) et α (1→6). Les segments dimères caractéristiques de pullulane sont [(x→)-α-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-D-glucopyranosyl-(1→)] et [→4)-α -D-glucopyranosyl-(1→6)-α-D-glucopyranosyl-(1→], où x peut être soit C-4 ou C-6 (SINGH *et al*, 2008). La coexistence de liaisons glucosidiques α (1→4) et α (1→6) dans la structure de pullulane peut être souvent considérée comme un intermédiaire entre les structures d'amylose et de dextrane (SINGH *et al*., 2015).

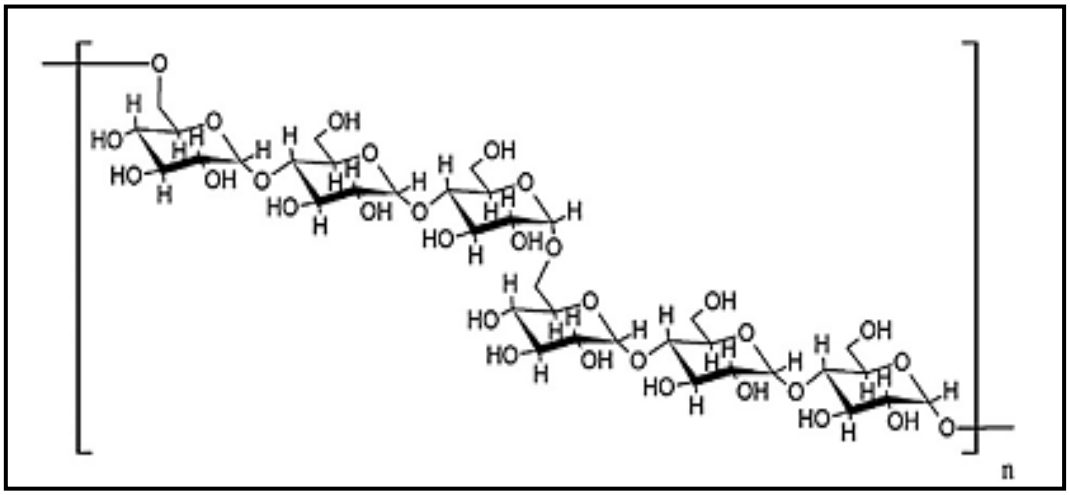


Figure 3.- Structure de pullulane (SINGH *et al*, 2015)

I.1.2.- Polysaccharides extraits d'algues

De nombreuses espèces d'algues sont utilisées comme nourriture et, elles ont également trouvé une utilisation dans la médecine traditionnelle en raison de leurs avantages perçus pour la santé. Les algues sont riches en polysaccharides sulfatés, dont certains sont devenus des additifs de valeur dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés rhéologiques comme agents gélifiants et épaississants. En outre, des polysaccharides sulfatés possèdent un certain nombre d'activités biologiques, dont des activités anticoagulantes, antivirales, et immuno-inflammatoires qui peuvent trouver un intérêt dans les aliments (nutritifs) et des applications cosmétiques et pharmaceutiques (JIAO *et al*., 2011).

I.1.2.1.- Carraghénanes

Les carraghénanes sont D-galactanes sulfatés de poids moléculaires élevés, composés d'unités disaccharidiques répétitives avec une alternance de 3-β-D-galactopyranose et 4-α-galactopyranose ou 3,6-anhydro-α-galactopyranose (JIAO *et al*., 2011). Selon la quantité et la position du groupe de SO_3^-, les carraghénanes sont classés en λ (Lambda), κ (Kappa), ι (Iota), ν (Nu), μ (Mu), θ (Thêta) et ξ (Ksi), tous contenant environ 22 à 35% des groupes sulfates (PRAJAPATI *et al*., 2014).

Les carraghénanes industriels les plus pertinents, sont de formes κ, ι et λ (fig. 4). La principale source de κ-carraghénane est l'algue rouge *Kappaphycus alvarezii* (*Solieriaceae) (LIM et al., 2014))*. Sa structure est signalée comme alternative entre les unités 3-β-D-galactose 4-sulfate et les unités 3,6-anhydro-α-galactopyranose liées en C-4. Les ι-carraghénanes ont un groupe sulfurique additionnel sur O-2 du résidu 3,6-anhydro-α-galactopyranose, résultant en deux sulfates par unité disaccharide. Une étude a suggéré que les ι-carraghénanes extraits d'*Eucheuma spinosum* (*Solieriaceae) (LIM et al., 2014),* sont plus homogènes et plus souples que les κ-carraghénanes. Les λ-carraghénanes ont trois groupes sulfatés par unité de disaccharide avec un troisième groupe sulfaté de λ à la position O-6 du résidu 4-lié, mais il n'y a pas de pont de 3,6-anhydride sur le résidu. Le λ-carraghénane 4-lié est obtenue à partir d'espèces des genres Chondrus et Gigartina (JIAO *et al*., 2011).

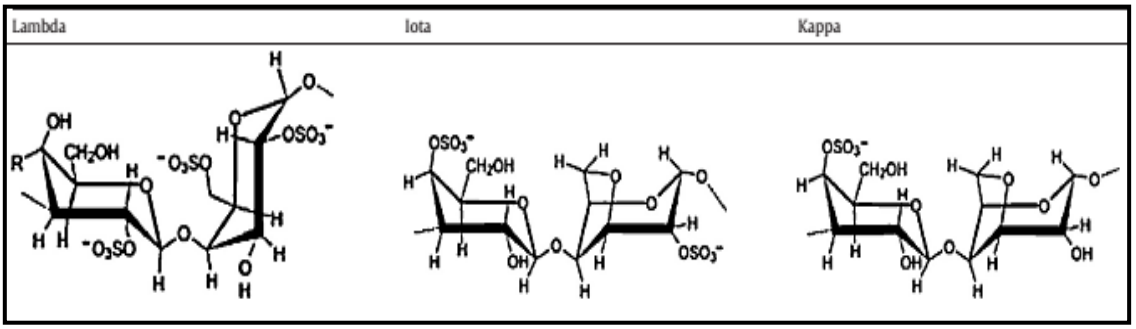


Figure 4.- Structure de λ, ι et κ carraghénanes (PRAJAPATI *et al*., 2014)

I.1.2.2.- Fucoidane

Le fucose est le désoxy galactose ($C_6H_{12}O_5$). C'est la sous-unité fondamentale de fucoïdane. Le fucoïdane est un type de polysaccharide sulfaté complexe, trouvé principalement dans la matrice de la paroi cellulaire de diverses espèces d'algues brunes. Il contient des

pourcentages importants de L-fucose et d'ester sulfate (WIJESINGHE et JEON, 2012). Sa structure montre qu'il contient principalement des résidus (1→2) fucopyranose 4-O-sulfate (fig. 5). Toutefois, les groupes 4-sulfate sont signalés présents sur certains résidus de fucose (JIAO *et al*., 2011).

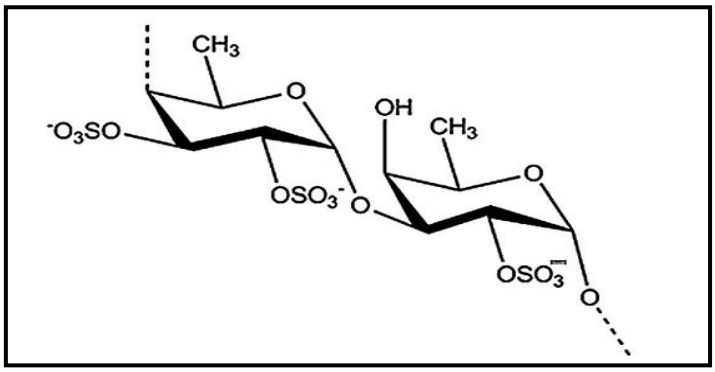


Figure 5.-Structure de fucoidane (WIJESINGHE et JEON, 2012)

I.1.2.3.- Ulvane

L'ulvane est le principal polysaccharide hydrosoluble qui se trouve dans les algues vertes de l'ordre des Ulvales. Il a le sulfate, le rhamnose, le xylose, les acides iduronique et glucuronique comme principaux constituants. Les principales unités disaccharidiques rapportées sont de type acide ulvanobiouronique 3-sulfate contenant soit l'acide glucuronique (fig. 6 A) ou iduronique (fig. 6 B) (JIAO *et al*., 2011).

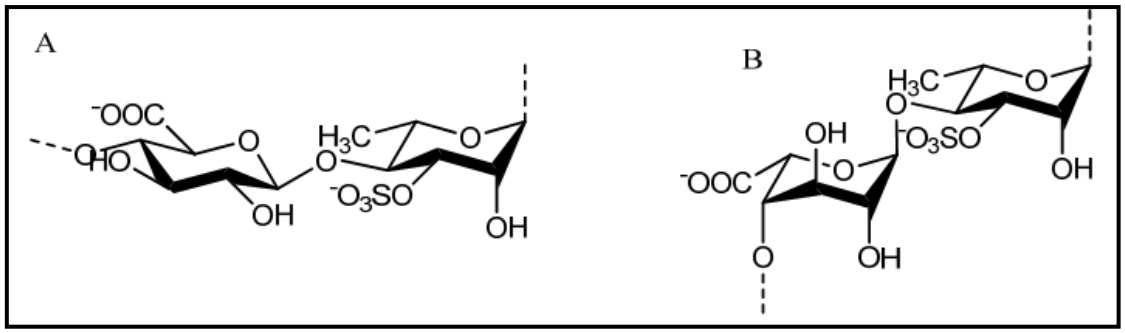


Figure 6.- Structure des principales unités disaccharidiques répétitives d'ulvane:
A: [→ 4 -β-D-Glcp- (1 → 4) -α-LRhap3S- (1 →.)] n; B: [(→ 4) -α-L-IdoP - (1 → 4) -α-L-Rhap3S- (1 →)] n (JIAO *et al*., 2011)

I.1.3.- Polysaccharides animaux

Les glycosaminoglycanes sulfatés GAGs représentent un autre groupe de polysaccharides bioactifs issus d'animaux (LIU *et al*., 2015). Ils constituent un groupe homogène de glycanes linéaires anioniques. Sauf dans le kératane sulfate, les GAGs sont composés de structures diosidiques répétitives formées par un ose aminé (N-acétylglucosamine ou N-acétylgalactosamine) et un acide uronique (D-glycuronate ou L-iduronate). À l'exception de l'hyaluronate, un des deux résidus (parfois les deux) présent (s) au moins un de ses groupes hydroxyles sulfatés (WEINMAN et MEHUL, 2004). Le chitosane est trouvé dans les exosquelettes des arthropodes (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000). Le glycogène est aussi d'origine animale. Il est le plus important biopolymère polyosidique qui permet la mise en réserve d'énergie chez les animaux (WEINMAN et MEHUL, 2004).

I.1.3.1.- Chitosane

Structurellement, le chitosane est un polysaccharide linéaire constitué de résidus β (1→4)-D-glucosamine avec un nombre variable de groupes N-acétyl-glucosamine distribués de manière aléatoire (fig. 7). Il partage donc certaines caractéristiques avec divers glycosaminoglycanes et l'acide hyaluronique présent dans le cartilage articulaire (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000).

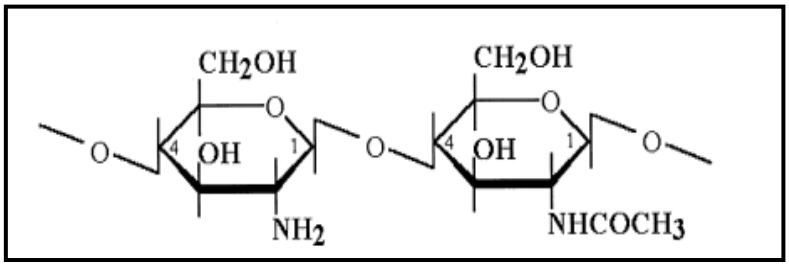


Figure 7.-Structure de chitosane (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000)

I.1.3.2.- Kératane sulfate

Le kératane sulfate est un glycosaminoglycane largement retrouvé dans les matrices extracellulaires de certains tissus, tels que la cornée, les cartilages et les os. Le kératane sulfate est composé d'une chaine principale sulfatée de poly-N-acétyl lactosamine (fig. 8). Sa structure est formée par une alternance d'unités β-galactose 3-liées et de 4-liées N-acétyl-β-glucosamine.

Bien que les deux unités puissent avoir un groupe sulfurique sur O-6, cette modification se produit plus souvent dans les unités N-acétyl-β-glucosamine. Le kératane sulfate est le seul type de glycosaminoglycanes qui ne porte pas un résidu acide tel que l'acide glucuronique ou de l'acide iduronique fréquemment observés dans le chondroïtine sulfate (POMIN, 2015).

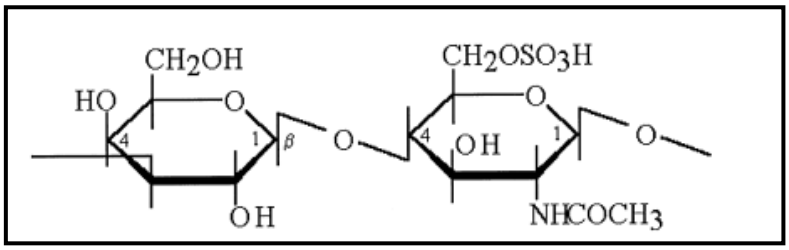


Figure 8.-Structure du kératane sulfate (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000)

I.1.3.3.- Glycogène

Le glycogène est particulièrement abondant dans les hépatocytes (10% environ du poids de l'organe) et les myocytes (1 à 2% de la masse musculaire). C'est un polymère de résidus D-glucose avec des liaisons α (1→4) et des liaisons α (1→6) à l'origine de ramifications (fig. 9). Il est plus ramifié que l'amylopectine dont une ramification tous les 8 à 12 résidus chez le glycogène et une ramification tous les 20 à 30 résidus chez l'amylopectine (WEINMAN et MEHUL, 2004).

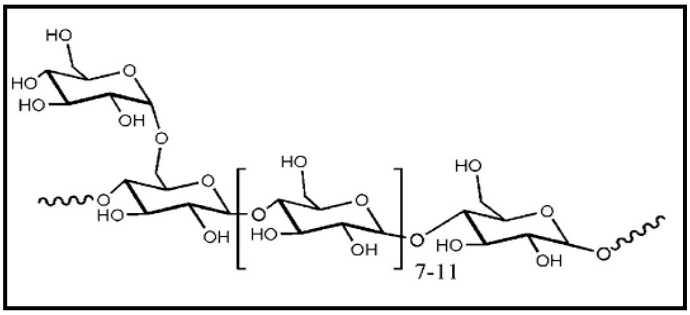


Figure 9.-Structure du glycogène (PAL *et al*., 2015)

I.1.4.- Polysaccharides végétaux

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. Ils se distinguent les polysaccharides de réserve (amidon, caroube), les polysaccharides de structures (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages (WARRAND, 2004).

I.1.4.1.- Polysaccharides de réserve

Pour les polysaccharides de réserve, il est décrit l'amidon, le fructane et la gomme de caroube au titre d'exemples.

I.1.4.1.1.- Amidon

L'amidon, le principal glucide dans la plupart des régimes, est le glucide de stockage de plantes telles que les céréales, les légumes racinaires et les légumineuses. Il se compose seulement de molécules de glucose (CUMMINGS et STEPHEN, 2007). L'amidon est stocké sous forme de granules de semi-cristallines discrètes chez les plantes supérieures, et se compose de deux éléments principaux à savoir l'amylose linéaire et l'amylopectine fortement ramifié (CAI *et al.*, 2015). L'amylose est essentiellement une structure linéaire d'unités de glucose liées par α-1,4 (fig. 10a). L'amylopectine est une structure hautement ramifiée de courtes chaînes α (1→4) reliées entre elles par des liaisons α (1→6) (fig. 10b) (LIU *et al*., 2009).

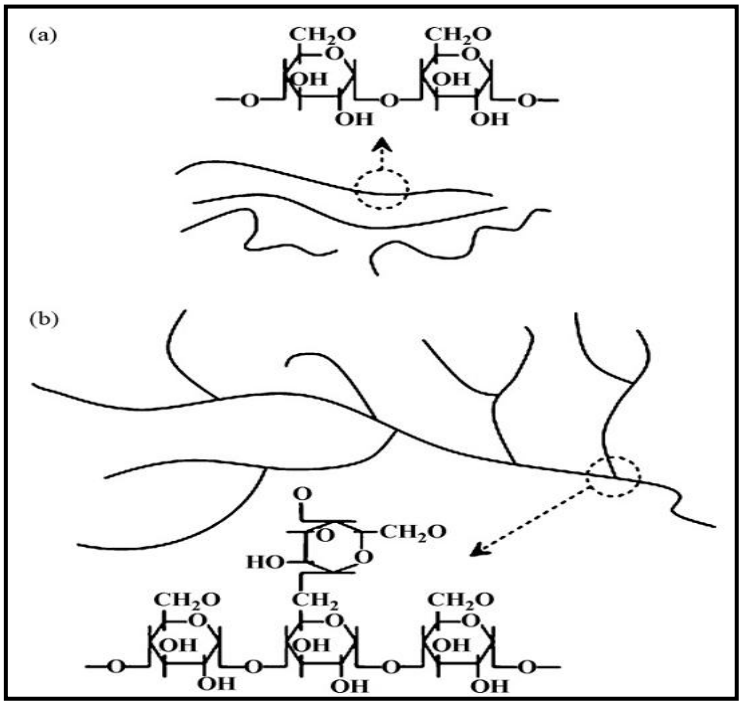


Figure 10.- Structure de l'amidon (LIU *et al*., 2009)

I.1.4.1.2.- Fructane

Les fructanes sont des glucides qui se composent principalement ou exclusivement de fructose. Ils contiennent une unité de glucose ou pas. Ils sont classés en fonction du type de liens

fructose-fructosyl [β (2→1) ou β (2→6)] et sur leur molécule centrale. Ces molécules de base sont synthétisées par l'addition de fructose au sucrose (VERSPREET *et al*., 2015). La figure 11 montre un fructane isolé de *Wedelia prostrata* (Compositae) une plante médicinale traditionnelle chinoise (ZHANG *et al*., 2013).

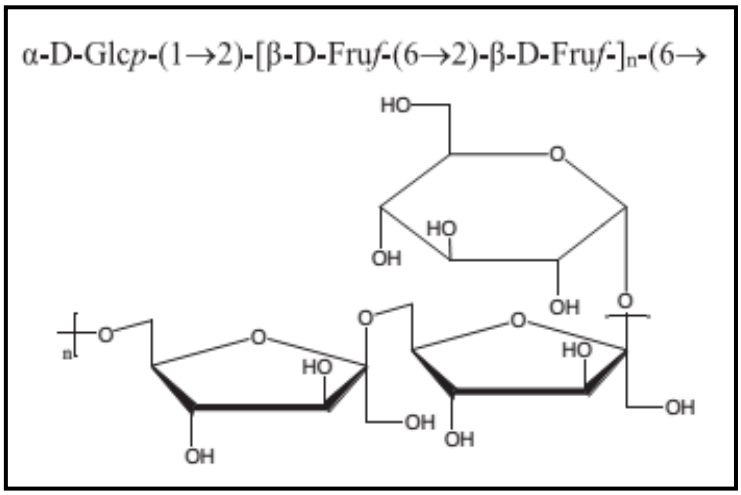


Figure 11.- Structure d'un fructane isolé de *Wedelia prostrata* (ZHANG *et al*., 2013)

I.1.4.1.3.- Gomme de la caroube

La gomme de caroube est un galactomannane hétéropolysaccharidique extrait en écrasant l'endosperme de graines de la gousse de fruit de l'arbre de caroube *Ceratonia siliqua* L. (légumineuses). La caroube est cultivée dans les régions méditerranéennes. La gomme de caroube est un polysaccharide linéaire comprenant le ß-(l→4)-mannane comme chaîne principale associée avec des résidus D-galactopyranosyle unique (comme chaîne latérale) par l'intermédiaire des liens α (l→6) (fig. 11) (MIRHOSSEINI et AMID, 2012).

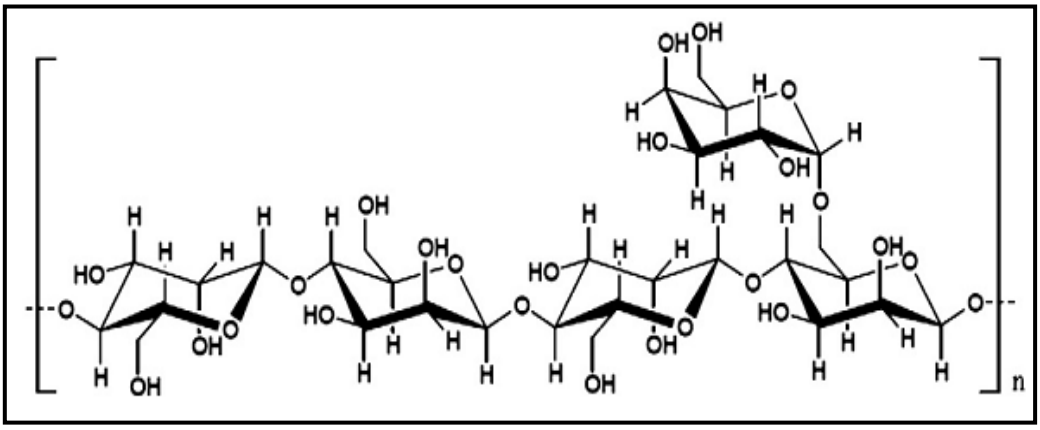


Figure 12.- Structure de la gomme de caroube (MIRHOSSEINI et AMID, 2012)

I.1.4.2.- Polysaccharides de structure

Les polysaccharides de structure sont nombreux parmi lesquelles la cellulose et la pectine.

I.1.4.2.1.- Cellulose

La cellulose, principale biopolymère de structure des végétaux, est l'un des composés organiques les plus abondants de la biosphère. C'est un polymère non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons β (1→4) (fig. 13), comme dans la cellobiose, deux molécules de D-glucopyranose unies par une liaison β (1→4) (β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-D-glucopyranose) (WEINMAN et MEHUL, 2004).

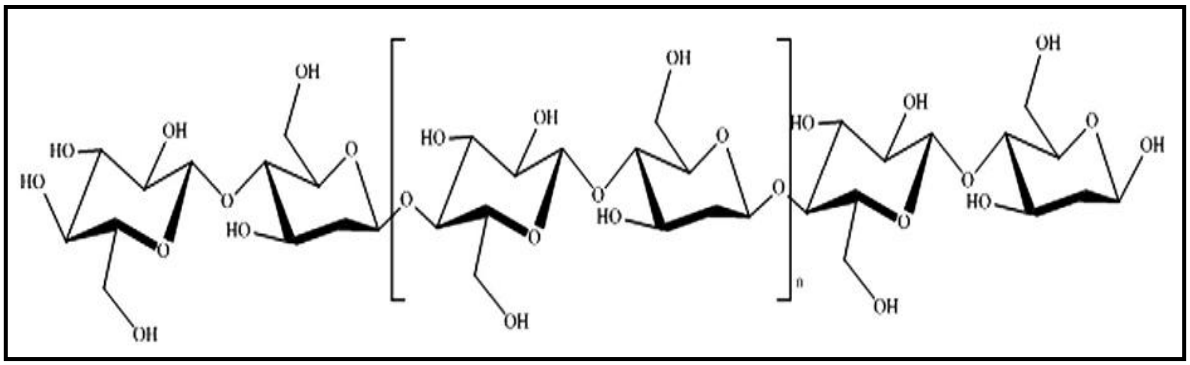


Figure 13.- Structure de la cellulose (UMMARTYOTIN et MANUSPIYA, 2015)

I.1.4.2.2.- Pectines

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. Elle est utilisée en tant que stabilisant, épaississant, agent gélifiant, émulsifiant, et comme véhicule de médicaments dans les industries alimentaires et pharmaceutiques. Les structures des pectines varient grandement en raison de ses diverses sources et méthodes d'extraction (fig. 14a), mais elles peuvent être classées en trois catégories en fonction de caractéristiques communes à savoir homogalacturonane, rhamnogalacturonane-I et galacturonanes substitués. L'homogalacturonane, le squelette de la pectine, est composé d'acides D-galacturonique reliés par des liaisons glycosidiques α (4→1) (fig. 14b). Le rhamnogalacturonane-I, la principale structure ramifiée de la pectine, est composé d'une

séquence répétée de bases [(→4)–α-D- galacturonopyrannose-(2→1)-α-L-rhamnopyrannose-(1→)] n. Les galacturonanes substitués ont généralement des chaînes latérales A et B liées à la chaine principale de l'homogalacturonane, dont chaque chaîne latérale a 9 ou 10 résidus monosaccharidiques (ZHANG *et al*., 2015).

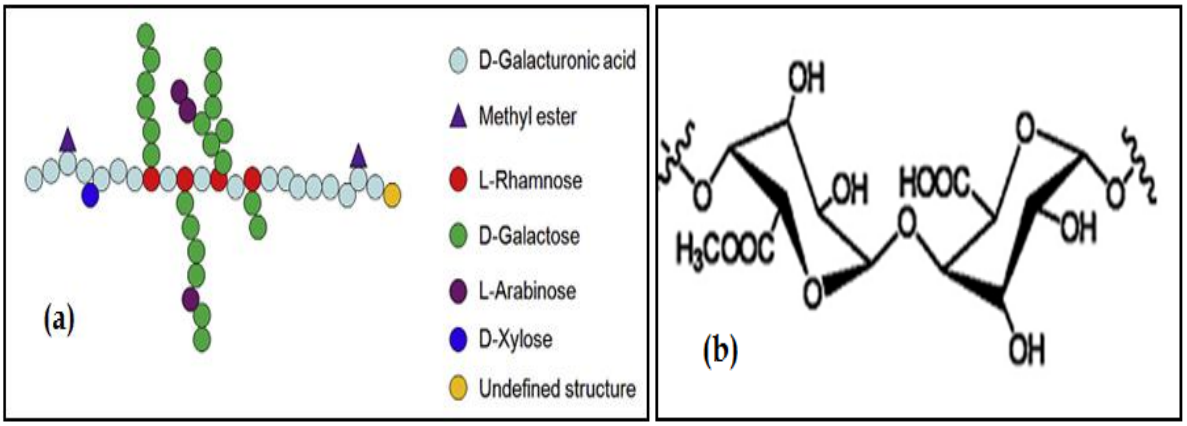


Figure 14.- Structure de la pectine; (a) ZHANG *et al*. (2015), (b) KAMNEV *et al*. (2015)

I.1.4.3.- Exsudats et mucilages

Les gommes et les mucilages ont certaines similitudes. Les deux sont des hydrocolloïdes végétaux. Ce sont des polymères d'un monosaccharide ou monosaccharide mixte et beaucoup d'entre eux sont combinés avec des acides uroniques (JANI *et al*., 2009).

I.1.4.3.1.- Exsudats

Les exsudats provenant des écorces, forment un groupe reconnaissable appelé gommes (BOUAL, 2009). Les gommes sont considérés comme des produits pathologiques formés suite à une blessure à la plante ou en raison de conditions défavorables, comme la sécheresse, par une ventilation des parois cellulaires (formation extracellulaire) (JANI *et al*., 2009). Le terme "gomme" est utilisé pour décrire un groupe de polysaccharides d'origine naturelle qui trouvent des applications industrielles généralisées en raison de leur capacité, soit pour former le gel, pour faire la solution visqueuse ou pour stabiliser les systèmes d'émulsion. Les gommes hydrosolubles aussi connues comme 'hydrocolloïdes', sont utilisés pour diverses applications tels que des fibres alimentaires, des modificateurs de la texture, des agents gélifiants, épaississants, stabilisants et émulsifiants (MIRHOSSEINI et AMID, 2012).

I.1.4.3.1.1.- Gomme du fenugrec

Le fenugrec *Trigonella foenum graecum* (Légumineuse) est une plante herbacée annuelle, largement cultivée en Inde, en Egypte et dans les pays du Moyen-Orient. La gomme du fenugrec est extraite de l'endosperme des graines. Le principal polysaccharide présent dans l'endosperme des graines, est un galactomannane. La gomme du fenugrec est composée d'une chaine principale α (1→4)-β-D-mannane attachée à des groupes α-D-galactopyranosyle uniques à la position O-6 des résidus D-mannopyranosyl (fig. 15) (MIRHOSSEINI et AMID, 2012).

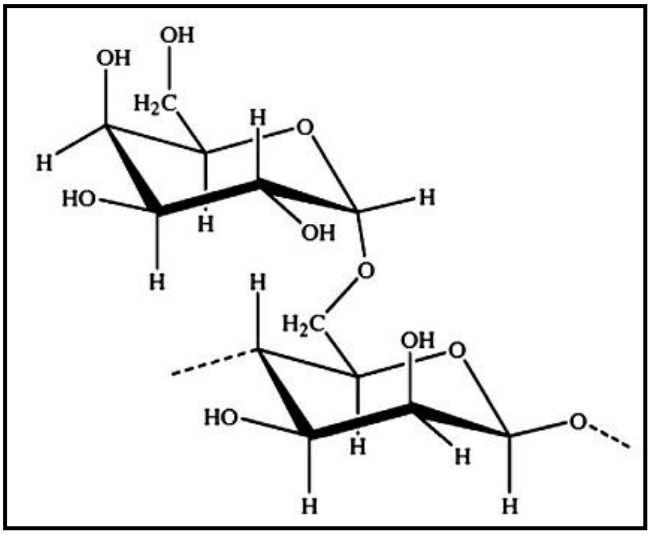


Figure 15.- Structure de la gomme du fenugrec (MIRHOSSEINI et AMID, 2012)

I.1.4.3.1.2.- Gomme du noyau de tamarin

Le tamarin *Tamarindusindica* (Fabacées) est un arbre cultivé en Asie du Sud-Est et largement indigène aux Indes, en Bangladesh, en Myanmar, au Sri Lanka, en Malaisie et en Thaïlande. Le noyau des graines du tamarin contient des protéines (12,7 à 15,4%), de l'huile (3 à 7,5%), des fibres brutes (7 à 8,4%), des polysaccharides (61 à 72,2%) et des cendres (2,45 à 3,3%). Le polysaccharide isolé à partir du noyau des graines de tamarin ou gomme des graines de tamarin, est un dérivé galactoxyloglucane. La gomme de tamarin a une chaîne principale d'unités β-D-1-glucopyrynosyl liée à une chaîne latérale de l'unité D-xylopyranosyl(fig. 16) (MIRHOSSEINI et AMID, 2012).

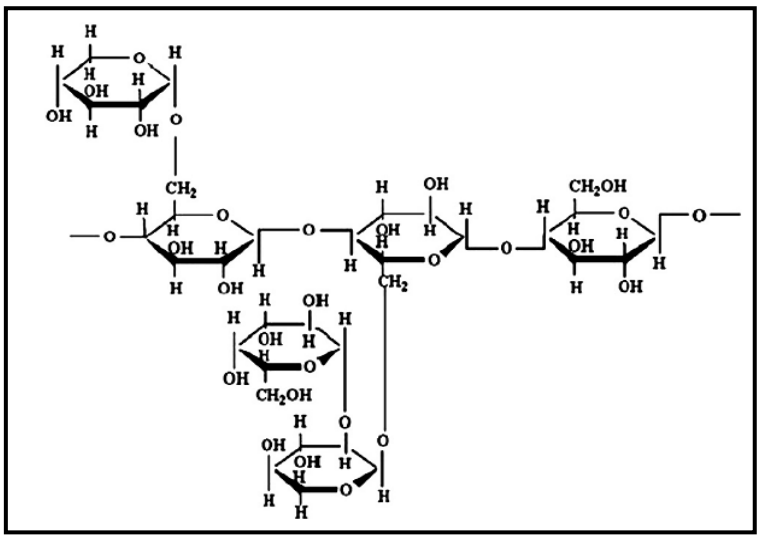


Figure 16.- Structure de la gomme de tamarin (MIRHOSSEINI et AMID, 2012)

I.1.4.3.2.- Mucilages

Les mucilages sont généralement des produits normaux du métabolisme, formées à l'intérieur de la cellule (formation intracellulaire) et / ou sont produits sans dommage pour la plante (JANI *et al*., 2009). Bien que le rôle biologique des mucilages dans les semences de plantes est encore incertain, il est pensé que c'est pour aider à la dispersion et/ou de la protection de la plantule émergents au cours de l'imbibition et de la germination. Il est noté que le composant majeur des mucilagesest les pectines, un polysaccharide acide qui forme des gels dans la matrice extracellulaire. Il est présent dans toutes les parois cellulaires (WU *et al*., 2009).

I.1.4.3.2.1.- Mucilage de lin

La graine de lin *Linumusitatissimum* (Linacées) (WARRAND, 2004), contient un ingrédient sous-utilisé, mais à fort potentiel connue comme mucilage, une fibre soluble, qui constitue 10% du poids de la graine et se trouve dans la couche la plus externe de l'enveloppe de la graine. Deux fractions de polysaccharides hétérogènes constituent le mucilage: une fraction d'arabinoxylane neutre (75%) et une fraction de rhamnogalacturanane (25%) (COMIN *et al*., 2015).

I.1.4.3.2.2.- Mucilage de moutarde

Une fraction de polysaccharide est isolée à partir de la moutarde jaune *Sinapis alba* L. (Brassicaceae). Il est obtenu par une hydrolyse (pectinase) et une précipitation par le sulfate

d'ammonium. L'analyse chimique a revélé que cette fraction est principalement composée de glucose (61.1%). Cependant, d'autres sucres sont également trouvés, y compris le galactose (13.8%), le rhamnose (4.5%), le mannose (13.1%) et le xylose (7.5%). Il contient aussi 6.9% d'acide uronique. L'analyse de méthylation a indiqué que cette fraction se compose principalement d'une chaine principale de glucose liée par β (1→4) (WU *et al*., 2009).

I.2.- Activités biologiques des polysaccharides

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

I.2.1.- Activité antioxydant

Le concept d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) a acquis une reconnaissance importante au cours des dernières années par diverses études dans des laboratoires à travers le monde. Les ERO sont des molécules chimiquement actives formées en tant que sous-produits naturels du métabolisme normal de l'oxygène (LIU *et al*., 2013).

En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les systèmes de défenses antioxydants. On parle de stress oxydatif lorsqu'il y a un déséquilibre profond entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de pro-oxydants conduisant à des perturbations cellulaires irréversibles (CAESAR, 2007).

Les ERO jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et l'homéostasie (LIU *et al*., 2013). Elles peuvent être également une source d'agression. Elles peuvent peroxyder les lipides membranaires, au niveau du poumon, du système nerveux central et de la rétine (CAESAR, 2007). Comme elles peuvent endommager les acides gras, les protéines, l'ADN et d'autres macromolécules dans le corps, ce qui se traduit par diverses maladies, dont les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives ou les troubles liés au vieillissement (GAO *et al*., 2015; ZHAO *et al*., 2013).

Il est largement admis que la supplémentation appropriée avec un antioxydant exogène peut aider à réduire les ERO des dommages oxydatifs induites (ZHANG *et al*., 2013). Des études récentes ont démontré que beaucoup de polysaccharides naturels jouent un rôle important dans la

prévention des dommages oxydatifs induits par le stress dans les piégeurs de radicaux libres chez les organismes vivants (GAO *et al*., 2015). Des études antérieures signalent que les activités antioxydantes peuvent être étroitement liées aux caractéristiques structurales des polysaccharides. Néanmoins, ce n'est pas tous les polysaccharides qui possèdent des activités anti-oxydantes. Il est rapporté que les capacités antioxydantes des polysaccharides dépendent généralement de l'unité d'ose, des liaisons glycosidiques, du degré de ramification et de conformation du polysaccharide (LI *et al*., 2013). Toutefois, en ce qui concerne les méthodes d'extraction, l'extraction hydrosoluble à chaud représente la méthode la plus efficace dans la préservation de l'activité antioxydante des polysaccharides (LIU *et al*., 2015).

I.2.1.1.- Polysaccharides à capacité antioxydant

Selon LIU *et al*. (2015), l'activité antioxydante la plus forte exprimée pour la protection du corps humain contre les dommages causés par les ERO, est notée pour le fucoïdane suivie d'alginate et de laminarane qui sont desβ(1→3)-D-glucanes neutresavecdesbranchements β (1→6) (BARAHONA *et al*.,2014).

WU *et al*. (2013) ont signalés chez l'algue brune *Hizikia fusiformis* (Sargassaceae) (ZOU, 2005), trois fractions polysaccharidiques ayant une activité antioxydante. La fraction au poids moléculaire le plus bas, a montré l'activité antioxydante la plus forte. Cette fraction est un hétéropolysaccharide où le galactose et le mannose sont les unités osidiques majeurs.

Un polysaccharide extrait à partir de *Sirulina* sp. (Oscillatoriaceae) (SHARMA *et al*., 2007), dont la partie majeure dans sa composition structurale est le rhamnose à 53%, présente une activité antioxydante (CHAIKLAHAN *et al*., 2013).

Un hétéropolysaccharide extrait de *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru, plante médicinale chinoise de la famille des Labiatae, constitué de glucose, de galactose, d'arabinose, de mannose et de rhamnose, améliore dose-dépendant l'activité antioxydante et présente un effet bénéfique sur l'activité immunostimulante (LI *et al*., 2013).

Les bulbes de *Lilium lancifolium* Thunb. (Liliaceae), renferment un polysaccharide nouveau, constitué de L-rhamnopyranose, D-arabinofuranose, D-glucopyranose et D-galactopyranose. L'étude *in vitro*, montre que ce polysaccharide possède une activité de piégeage des radicaux 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) et des radicaux hydroxyl, et également une puissance réductrice et une activité chélatrice forte sur l'ion ferreux (GAO *et al*., 2015).

Un hétéropolysaccharide de l'espèce végétale*Acanthopanax senticosus* (Araliaceae) (LEE *et al*., 2015)contenant du rhamnose, du xylose, du glucose, du mannose, d'arabinose, du galactose, et d'acide glucuronique,possède une activité antioxydante (LIU *et al*., 2015).

Deux polysaccharides sont isolés et purifiés à partir du mycélium de *Phellinus pini* (Hymenochaetaceae) (PPM) et de son milieu de culture (PPE). Les poids moléculaires moyens de PPM et PPE sont d'environ 22 et 38 kDa, respectivement. PPM et PPE représentent deux hétéro-polysaccharides neutres constitués de mannose, de galactose et de glucose avec des ratios moléculaires de 2.99/1.00/0.34 et 38.40/1.00/1.76, respectivement. Dans le test antioxydant *in vitro*, PPM et PPE peuvent piéger le radical DPPH, le radical hydroxyle, chélate l'ion ferreux et réduisent l'ion ferrique. Les activités antioxydantes de PPM, sont plus fortes que celles de PPE (JIANG *et al*., 2015).

Les pommes de petite taille, sont généralement jetées de l'arbre pour améliorer la taille, la couleur et la qualité des fruits dans la production des pommes, et pour la balance du rendement des pommes l'année qui suit. La fraction polysaccharidique de ces pommes de petite taille (thinned-young apple polysaccharide TYAP), est obtenue par l'extraction hydrosoluble à chaude. Après purification, trois fractions de type TYAP-1, TYAP-2 et TYAP-3, sont obtenues. L'analyse par HPLC révèle que les trois fractions sont principalement composées de galactose et d'arabinose avec des poids moléculaires moyens de 115 kDa, 479 kDa et 403 kDa, respectivement. Les activités antioxydantes *in vitro* des trois fractions, sont caractérisées par la réduction des radicaux $DPPH^{\bullet}$, hydroxyle, superoxyde et les systèmes de pouvoir réducteur des ions ferriques. Les résultats indiquent que TYAP-1, TYAP-2 et TYAP-3 possèdent des effets antioxydants significatifs dépendants de la concentration dans une gamme de concentrations testées (0.25 à 5 mg/ml). TYAP-3 a montré une activité anti-oxydante de façon significative et supérieure à celle de TYAP-1 et TYAP-2 (DOU *et al*., 2015).

Un polysaccharide hydrosoluble, est extrait et purifié à partir des racines du radix *Cyathulae officinalis* Kuan (Amaranthaceae), avec un poids moléculaire de 182 kDa. La majorité des composants monosaccharidiques du polysaccharide, est le glucose avec un rapport de masse de 48.8%, avec des niveaux inférieurs de mannose, de rhamnose, de galactose, de fructose, et d'arabinose, dont les masses relatives sont respectivement de 15.7, 14.3, 10.6, 6.1 et 4.5%. Des essais *in vitro* ont révélé que ce polysaccharide possède des activités réductrices puissantes contre les radicaux DPPH, hydroxyle et anions superoxydes. L'administration orale du polysaccharide purifié améliore de façon significative les activités antioxydantes, enzymatiques

et les capacités de balayage d'anions superoxydes et de radicaux hydroxyles. Elle réduit nettement, la peroxydation de lipides comme elle a significativement régulée positivement les expressions d'ARNm des enzymes antioxydantes dans un modèle de souris vieillissant induit par le D-galactose (HAN *et al*., 2015).

I.2.2.- Activité anticoagulante des polysaccharides

Les maladies cardiovasculaires sont graves, causant des millions de morts chaque année. La thrombose est l'une des principales causes des troubles thromboemboliques affectant des milliers de personnes dans le monde (MANSOOR HADI AL-SAADI, 2013). Elle cause aussi la maladie cardiaque ischémique, les accidents vasculo-cérébraux (AVC) et les lésions traumatiques (LANCE, 2015). La thrombose veineuse se produit dans le monde entier à une incidence annuelle de 1 par 1000 adultes. Le traitement de la thrombose utilise des agents thrombolytiques à activités anticoagulantes et antiplaquettaires (SOUZA *et al*., 2015).

Quatre classes distinctes de polysaccharides sulfatés (héparine, dermatane-sulfate, chondroïtine sulfate fucosylé et fucoidane des algues) ont toutes une activité anticoagulante, due à leur intéraction avec les enzymes et les inhibiteurs du système de la coagulation. Leurs effets anticoagulants dépendent d'un modèle exact de substitution sulfurique. Une petite modification dans la structure de dermatane-sulfate, du galactosamine-4-O-sulfate à un galactosamine-6-O-sulfate, conduit à une perte presque complète de l'activité anticoagulante, en dépit d'un niveau global élevé de sulfatation. Le chondroïtine-6-sulfate-3-fucose, isolé du concombre de mer possède une activité anticoagulant et antithrombotique en fonction de ses branches de fucose sulfatés. L'activité anticoagulante des fucanes d'algues, est comparée à celle des fucanes-sulfate réguliers et linéaires à partir des échinodermes marins. De même une forte activité semble être en corrélation avec la présence des branches sulfatés de fucose (MULLOY *et al*., 2000).

Des polysaccharides de plantes supérieures présentent également des structures chimiques hétérogènes mais leurs actions dans la coagulation et de la thrombose sont peu explorés (SOUZA *et al*., 2015). MANSOOR HADI AL-SAADI (2013) signale que la consommation d'anticoagulants ou composés phytochimiques alimentaires ayant de propriétés anticoagulantes, peut réduire ou éliminer les risques de maladies thromboemboliques. SOUZA *et al*. (2015), signalent une activité anticoagulante de polysaccharides de plantes, associée à la présence de résidus d'acide uronique.

I.2.2.1.- Polysaccharides à potentialité anticoagulant

L'héparine est un polysaccharide linéaire hautement sulfaté contenant principalement une unité disaccharidique répétée (α-D-glucosamine en alternance avec de l'acide α-L-iduronique). C'est le polysaccharide le plus largement utilisé cliniquement comme anticoagulant et antithrombotique. Toutefois, l'héparine présente des inconvénients importants, comme la diversité structurelle marquée en fonction du tissu d'origine, la contamination par des pathogènes, une faible biodisponibilité, l'ostéoporose et spécialement le risque élevé de thrombocytopénie et des saignements (SOUZA *et al*., 2015). L'héparine peut induire des maladies chez les mammifères, telles que la grippe aviaire et l'encéphalopathie spongiforme bovine (KARAKI *et al*., 2013).

Des polysaccharides sulfatés isolés à partir d'algues marines et les invertébrés constituent un groupe complexe de macromolécules qui sont largement étudiés comme anticoagulants et anti-thrombotiques (SOUZA *et al*., 2015).

Les polysaccharides sulfatés trouvés chez Rhodophyta(algues rouges), sont des galactanes constitués entièrement de galactose ou unités de galactose modifiées. Ils sont connus dans le commerce sous les noms d'agar et de carraghénane. L'agar est composé d'un squelette d'unités alternées de 3,6-anhydro-L-galactopyranosyl-α (1→4) et O-D-galactopyranosyl-β (1→3). Le carraghénane est composé d'unités de D-galactose β (1→3) -D-galactose et de α (1→4) -D-galactose (SHANMUGAM et MODY, 2000).

Un polysaccharide aux activités antioxydante et anticoagulante, est isolé à partir de l'algue rouge *Porphyra haitanensis* (Bangiophyceae) (GANTT *et al*., 2010). Il est structuré en une chaine principale formée par une alternance d'unités β (1→3)-D-galactose et α (1→4)-L-galactose, et une chaine latérale de (1→6) sulfate ou 3,6 anhydro-α-L-galactosyl dont le pourcentage d'ester sulfate, est de 17% (LIU *et al*., 2015).

Les principaux polysaccharides chez Chlorophyta(algue verte), sont des hétéro-polysaccharides poly-dispersées. Trois groupes principaux se forment dans les algues vertes, à savoir glucuronoxylorhamnanes, glucuronoxylorhamnogalactanes ou xyloarabinogalactanes. Ces molécules sont hautement ramifiées et ne semblent pas contenir un squelette ou d'unités répétitives simples. Certains polysaccharides sulfatés des algues vertes sont trouvés attachés de façon covalente aux protéines. C'est à dire qu'ils sont caractérisés comme protéoglycanes (SHANMUGAM et MODY, 2000).

Un galactane pyruvate sulfaté, est obtenu à partir de l'algue verte *Codium divaricatum* (Codiaceae). La chaine principale consiste en résidus (1→3)-D-galactopyranose avec un petit degré de ramification. Le pyruvate est formé d'un cétal cyclique à cinq chaînons avec O-3 et O-4 de résidus de galactose terminaux non réducteurs. Il a une activité anticoagulante élevée, et peut être une source potentielle de polysaccharide anticoagulant avec une structure nouvelle (LI *et al*., 2015).

Les polysaccharides sulfatés de Phaeophyta(algue brune), sont appelés fucanes. Cela inclut les composés fucoidine, fucoïdane, ascophyllane, sargassane et glucuronoxylofucane. Ces molécules comprennent les familles des hétéro-molécules poly-dispersés à base de L-fucose, de D-xylose, d'acide D-glucuronique, de D-mannose et de D-galactose. Toutes, les principales fractions de fucane contiennent une minorité significative de protéines qui ne peuvent être facilement éliminées, ce qui suggère qu'ils existent *in vivo* comme des protéoglycanes (SHANMUGAM et MODY, 2000).

L'algue brune *Padina gymnospora* (Dictyotaceae) contient différents fucanes. L'une des fractions, précipitée avec de l'acétone à 50% (v/v), contient un hétérofucane de 18 kDa. L'analyse structurale montre que ce fucane a un noyau central constitué principalement d'acide 3-ß -D-glucuronique 1→ ou 4-ß-D-glucuronique 1→, substitué en position C-2 avec α-L-fucose ou ß-D-xylose. Les groupes sulfates sont détectés uniquement en position C-3 des unités de 4-α-L-fucose 1→. L'activité anticoagulante de cette fraction (2,5 fois moindre que l'héparine de bas poids moléculaire), estimée par le temps de céphaline activée, est complètement supprimées dès la dé-sulfatation, ce qui indique que le 3-O-sulfate en C-3 des unités 4-α-L-fucose 1→, est responsable de l'activité anticoagulante du fucane (SILVA *et al*., 2005).

Les composants organiques de l'algue brune *Dictyopteris polypodioides* (Dictyotaceae) (ABBAS et SHAMEEL, 2012), constitués principalement d'alginates, de fucoidanes, de mannuronanes et d'autres glucides. Ces polysaccharides présentent une grande variété de propriétés physiques tels que des agents gélifiants et émulsifiants ainsi que des propriétés biologiques telles que des activités anti-oxydantes et anticoagulantes (KARAKI *et al*., 2013).

Les capacités antioxydants des polysaccharides sulfatés de l'algue brune *Turbinaria ornata* (Sargassaceae) (THANH *et al*., 2013), ont montré des sources potentielles riches d'antioxydants naturels et des anticoagulants. Ils ont montré des niveaux élevés d'oses (53.15%) et une faible teneur en sulfate (24,6%) (ARIVUSELVAN *et al*., 2011).

Les galactanes sulfatés (carraghénane) d'algues rouges et les fucoidans sulfatés des algues brunes, sont identifiés comme ayant une activité anticoagulante élevée. Les polysaccharides sulfatés à partir d'algues, sont signalés comme possédant une activité similaire ou même plus forte que celle de l'héparine (LIU *et al*., 2015).

Un polysaccharide de la plante *Porana volubilis* (Convolvulaceae) (STAPLES et JACQUEMOUD, 2005), montre une activité anticoagulante forte. Ce polysaccharide de cette espèce, a une masse moléculaire moyenne de ~ 10 kDa, contient principalement le galactose, l'acide galacturonique, et le mannose mais aucun esters sulfates. Son activité anticoagulante est méditée par l'amélioration de l'inhibition de la thrombine qui à son tour est méditée par l'héparine cofacteur II mais pas par l'antithrombine. Les résidus d'acide galacturonique, sont essentiels pour l'activité puisque, après la réduction de ses groupes carboxyles l'activité anticoagulante disparaît (YOON *et al*., 2002).

Les hétéropolysaccharides codés comme AP-I, AP-II et AP-III sont obtenus à partir de polysaccharides extracellulaires bruts de *Bacillus polymyxa* (Bacillaceae). AP-I, AP-II et AP-III sont constitués principalement de glucose, de mannose, de rhamnose et d'acide glucuronique dans le rapport de 3.00/2.10/1.40/1.00, 3.40/2.52/1.00/2.11 et 4.11/2.68/1.00/3.00 respectivement pour AP-I, AP-II et AP-III. Les activités antioxydantes de AP-I, AP-II et AP-III sont évaluées par piégeage des radicaux DPPH. L'efficacité de l'ordre des fractions de polysaccharide dans l'inhibition de radicaux libres est de AP-III> -II AP> AP-I. Les activités anticoagulantes les plus élevées sont notées pour l'AP-III natif et le polyalcool d'AP-III (ASKER *et al*., 2007).

I.2.3.- Activité immunomodulatrice des polysaccharides

Les composés qui sont capables d'interagir avec le système immunitaire pour réguler positivement ou réguler négativement les aspects spécifiques de la réponse de l'hôte peuvent être classés comme des immunomodulateurs ou des modificateurs de la réponse biologique (TZIANABOS, 2000).

Certains polysaccharides alimentaires ont montré des effets immunomodulateurs divers dans certains tissus animaux, y compris le sang, le tractus gastro-intestinal et la rate. Dans des essais contrôlés sur les êtres humains, l'apport de polysaccharides a stimulé le système immunitaire dans le sang d'adultes en bonne santé. Cet apport a atténué la réponse allergique à un agent inflammatoire des voies respiratoires. Il a amélioré la survie chez les patients cancéreux (RAMBERG *et al*., 2010).

Le mécanisme de base de l'immunostimulant, l'anti-tumoral, le bactéricide et d'autres effets thérapeutiques des polysaccharides végétaux, semble survenir via la stimulation des macrophages et la modulation du système du complément (SCHEPETKIN et QUINN, 2006).

Le traitement des macrophages par des polysaccharides végétaux, est également rapporté pour moduler l'expression de divers récepteurs de surface cellulaire, y compris ceux qui reconnaissent les polysaccharides végétaux. Par exemple, le polysaccharide isolé à partir de la racine de *Panax ginseng* (Araliaceae), a augmenté l'expression de CD14 dans les macrophages péritonéaux marins, tandis que l'expression de CR3 est réduite (SCHEPETKIN et QUINN, 2006).

Généralement, les polysaccharides sont considérés comme des antigènes cellulaires T-indépendantes classiques qui ne provoquent pas de réponses immunitaires à médiation cellulaire mais qui provoquent une immunité humorale. Cependant, certains polysaccharides d'origine microbienne, sont décrits comme immunomodulateurs puissants ayant une activité spécifique pour les cellules T et les cellules présentatrices d'antigènes telles que les monocytes et les macrophages (TZIANABOS, 2000).

Certains polysaccharides isolés de champignons, sont connus pour stimuler les cellules NK (Natural Killer), les cellules T, les cellules B et les réponses des macrophages-dépendantes du système immunitaire. L'action immunomodulatrice des polysaccharides de champignons, est particulièrement utile comme moyen de prophylaxie, d'une forme légère et non-invasive de traitement, de la prévention de tumeurs métastatiques et en tant que co-traitement avec une chimiothérapie (WASSER, 2002).

Les glycanes sulfatés tels que les glycosaminoglycanes sur les protéoglycanes participent à la mobilité des leucocytes sur la surface endothéliale de sites d'inflammation, la réglementation des chimiokines, la migration transendothéliale des leucocytes, et l'assemblement structurale de la membrane basale sous-endothéliale responsable du contrôle de l'entrée des cellules de tissu. En raison de ces fonctions et d'autres, les glycanes sulfatés exogènes de différentes structures et de différentes origines, peuvent être utilisés pour réguler négativement les processus d'inflammation (POMIN, 2015).

I.2.3.1.- Polysaccharides immunomodulateurs

Quatre fractions polysaccharidiques sont isolées par extractions hydrosolubles à différentes températures, chez *Umbilicaria esculenta* (Umbilicariaceae) (WEI et JIANG, 1989)

un lichen comestible et médicinal précieux. Les fractions désignées sous UEP1, UEP2, UEP3 et UEP4 sont des polysaccharides acides avec des teneurs en acides uroniques de 0.50%, 0.62%, 0.63% et 0.83%, respectivement. Elles sont principalement constituées de glucose, de galactose et de mannose avec des rapports molaires différents. Dans le dosage immunomodulateur *in vitro,* ces fractions polysaccharidiques associées, peuvent augmenter la production d'oxyde nitrique (NO) et l'activité phagocytaire d'une manière dose-dépendante (DU *et al*., 2015).

Des polysaccharides issus de cheonggukjang (un produit de fermentation coréenne traditionnelle préparée à partir de soja), présentent des activités immunostimulantes pour les macrophages et les splénocytes en culture primaire. L'un des polysaccharides, est capable de stimuler le système du complément (*in vitro*), et la production de NO et de cytokines immunostimulatrices (IL-6 et IL-12) dans des macrophages péritonéaux de souris cultivées. L'activité immunostimulante du polysaccharide est également mesurée dans des modèles de souris normales et immunodéprimés (*in vivo*). Dans le modèle de souris normales, le traitement par ce polysaccharide augmente le poids des organes immunitaires (rate et thymus), comme il améliore la prolifération phagocytaire en augmentant les taux de macrophages et de lymphocytes péritonéaux. De même, le polysaccharide a nettement diminué la prolifération restaurée des lymphocytes, l'activité des cellules NK, et le nombre de globules blancs du sang, induite par la cyclophosphamide dans le modèle de souris immunodéprimées (CHO *et al*., 2015).

Des polysaccharides de type rhamnogalacturonane, sont extraits à partir des feuilles de *Cola cordifolia* (Malvaceae). Des types complexes et poly-disperses de pectines, sont trouvés dans les fractions de 3 à 1300 kDa, ainsi que la présence d'oligosaccharides acides de bas poids moléculaire (3 kDa). Les fractions montrent une activité de fixation du complément modéré mais pas d'effets d'activations des macrophages après l'élimination de l'endotoxine d'*Escherichia coli* (AUSTARHEIM *et al*., 2014).

Deux polysaccharides acido- et alcali-solubles (DIP I et II), sont extraits de la fructification de *Dictyophora indusiata* (Phallaceae) (TAN, 2008). Le polysaccharide acido-soluble est constitué de glucose, de fructose et de mannose, alors que l'alcali-soluble est constitué de glucose et de fructose. Le glucose, le monosaccharide dominent dans les deux polysaccharides avec un pourcentage molaire relatif supérieur à 60%, construit la chaîne principale du polysaccharide. Le dosage immunologique rapporte que les deux polysaccharides ont augmenté le taux d'anticorps d'hémolyse dans le test de sérum hémolysine. Cependant, le polysaccharide acido-soluble peut améliorer le poids des organes de thymus et l'activité

phagocytaire des monocytes. Le polysaccharide alcali-soluble à haute dose peut rétablir la réaction d'hypersensibilité de type retardé au dinitrofluorobenzène, améliorer l'activité des cellules NK et la prolifération des splénocytes (HUA *et al*., 2012).

SHI et FU (2011) signalent trois polysaccharides hydrosolubles codés dont CTPS-1A, CTPS-2B et CTPS-3A, obtenus à partir des racines de *Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bur (Moraceae). La composition monosaccharidique de CTPS-1A ($2,2x10^4$ Da), est du glucose, du galactose, d'arabinose et de xylose dans un rapport de 11.7/ 3.4/ 2.5/ 1.0. CTPS-2B ($6.8x10^4$ Da) est formé de galactose, d'arabinose, de rhamnose, de glucose et de l'acide galacturonique dans un rapport de 1.2/3.5/1.4/1.0/1.3. Pour CTPS-3A ($1.0x10^5$ Da), on retrouve de l'arabinose, du rhamnose, du galactose et de l'acide galacturonique dans un rapport de 1.0/0.9/1.6/0.4. Des essais *in vitro* d'activités immunomodulateurs rapportent que les trois polysaccharides peuvent stimuler directement la prolifération des splénocytes de souris seul ou en les combinant avec la concanavaline A ou un lipopolysaccharide.

Afin d'explorer l'effet immunomodulateur de *Houttuynia cordata* Thunb. (Saururaceae) (RATHI *et al*., 2013), un polysaccharide à un poids moléculaire de 60.000 Da isolé de son extrait hydrosoluble, est étudié. Le polysaccharide est élucidé comme un polysaccharide pectique avec une chaîne linéaire de résidus d'acides α-D-galacturonique à liaison 1→4 dans laquelle une partie des groupes 6-carboxyle méthyle est estérifiée et l'autre partie des deux groupes hydroxyles, est acétylée. Des essais de bio-activité, ont montré que ce polysaccharide pectique isolé, peut augmenter les sécrétions de l'interleukine-1β, facteur de nécrose tumorale-α (TNF-α) inhibiteur de protéine-1α de macrophage et de protéine-1β de macrophage, dans des cellules humaines périphériques mononucléaires de sang qui jouent des rôles critiques dans le système immunitaire inné et la forme de l'immunité adaptative (CHENG *et al*., 2014).

Deux fractions polysaccharidiques MCP1 et MCP2 du fruit de *Momordica charantia* Linn. (Cucurbitaceae), sont isolées par extraction hydrosoluble à chaude. MCP1 avec un poids moléculaire de $8.55x10^4$ Da, est composée principalement de glucose et de galactose. MCP2 avec un poids moléculaire de 4.41×10^5Da, renferme du glucose, du mannose et du galactose. Ces deux fractions stimulent la prolifération *in vitro* des lymphocytes de la rate à l'état normale et les lymphocytes induits par la concanavaline A à différentes doses (DENG *et al*., 2014).

Un polysaccharide obtenu à partir d'*Adansonia digitata* (Malvaceae), est principalement composé de glucose et de fructose avec un rapport de 8/1, et un poids moléculaire d'environ

5.3×10^4Da. Il a une activité antioxydante potentielle dans une réponse de concentration-dépendante. Les activités anti-inflammatoires du polysaccharide à des concentrations différentes, sont évaluées par le test d'inhibition des cyclooxygénases de type-1 (COX-1) et 2 (COX-2), enzymes qui catalysent l'oxygénation des acides gras polyinsaturés pour former les prostanoides. Les prostanoides sont des molécules potencées dans la signalisation cellulaire, associées à l'initiation, la maintenance et la résolution des processus inflammatoires. Les deux enzymes sont inhibées par ce polysaccharide qui est plus efficace dans l'inhibition de la COX-2 que la COX-1 (IBRAHIM *et al*., 2014).

Un polysaccharide hydrosoluble de poids moléculaire moyen de $4.0x10^4$ Da, est isolé à partir des racines de *Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bur. (Moraceae). L'analyse de la composition monosaccharidique indique que le seul ose neutre présent dans ce polysaccharide, est le xylose (hétéroxylane). L'unité répétitive du polysaccharide est composée d'un résidu terminal non-réducteur d'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique sur les quatre résidus de xylose. Des essais d'activité immunomodulatrice *in vitro,* ont montré que ce polysaccharide peut induire la prolifération des splénocytes de souris (SHI *et al*., 2014).

Trois fractions polysaccharidiques hydrosolubles LLPS-1, LLPS-2 et LLPS-3, sont obtenues à partir de *Lilium lancifolium* Thunb (Liliaceae). LLPS-1, LLPS-2 et LLPS-3 ont des poids moléculaires 350.5, 403.3 et 146.2 kDa, respectivement. LLPS-1 et LLPS-2 sont constitués principalement de glucose et de mannose dans un rapport molaire d'environ 1/2 et 1/1, respectivement. En revanche, LLPS-3 est principalement composé d'arabinose, de galactose, de glucose et de mannose dans un rapport molaire d'environ 2/2/2/1. Ces fractions polysaccharidiques peuvent stimuler la prolifération des macrophages. Le dosage immunomodulateur *in vitro* laisse remarquer que le traitement avec ces fractions polysaccharidiques, peut augmenter l'activité phagocytaire et la production d'oxyde nitrique dans les macrophages de façon dose-dépendante (CHEN *et al*., 2014).

YU *et al*. (2014) ont purifié AEP-1 et AEP-2, deux fractions polysaccharidiques alcali-solubles du *Panax quinquefolium* L. (Araliaceae) (PENSKAR et HIGMAN, 1996). L'analyse a révélé que l'AEP-1 est composé de glucose, de galactose et d'acide galacturonique et, AEP-2 contient principalement de l'arabinose, du mannose, du galactose, du glucose et de l'acide galacturonique. Des essais ont montré que AEP-1 et AEP-2 présentent des activités anti-oxydantes importantes d'une manière dose-dépendante. AEP-2 présente en plus, une activité activatrice des macrophages par l'augmentation de NO, de TNF-α et d'IL-6.

I.2.4.- Activités antitumorale et anticancéreuse

Le cancer est un problème universel de santé à une forte morbidité et mortalité (BAO *et al*., 2013). C'est une maladie multifactorielle complexe typiquement caractérisé par une croissance incontrôlée de cellules transformées (WANG *et al*., 2014), qui tendent à envahir les tissus environnants et métastaser vers d'autres tissus et organes (ZONG *et al*., 2012). Selon le rapport statistique de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 12.7 millions de cas de cancer et 7.6 millions de décès par le cancer, ont été enregistrés dans le monde en 2008. En outre, il prédit environ près de 21.4 millions de nouveaux cas de cancer et plus de 13.2 millions de décès sont susceptibles de se produire d'ici 2030 (ZHAO *et al*., 2013). Le cancer demeure la principale cause de la mort, malgré l'évolution des outils de prévention, de diagnostic et de traitement (JOSEPH *et al.*, 2013). Il résulte d'une mutation dans l'ADN chromosomique d'une cellule normale, qui peut être déclenchée par des facteurs externes comme le tabac, l'alcool, les produits chimiques, les agents infectieux ou les rayonnements et des facteurs internes comme les hormones, les conditions immunitaires, les mutations héréditaires ou les mutations qui se produisent dans le métabolisme (ZONG *et al*., 2012).

Le cancer est décrit comme un ensemble hétérogène de cellules qui se développent dans des microenvironnements tumorales avec une écologie complexe. La progression rapide des cancers humains, est liée à l'évasion des mécanismes de surveillance immunitaire de l'organisme par les cellules tumorales par la sécrétion de facteurs immunosuppresseurs qui modifient la réponse immunitaire de l'hôte (JOSEPH *et al*., 2014).

Les traitements anticancéreux classiques, comme la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie, montrent des limites en raison de mauvais pronostic et les effets secondaires graves. De nos jours, une attention croissante est axée sur les produits naturels dans une tentative pour rechercher de nouveaux agents anticancéreux efficaces avec moins d'effets toxiques (BAO *et al*., 2013).

De nombreuses études ont suggéré que les polysaccharides peuvent inhiber la croissance tumorale par des mécanismes communs comme la prévention de l'oncogenèse par la consommation orale de préparations actives; une activité anticancéreuse directe, telle que l'induction de l'apoptose des cellules tumorales; l'activité immunopotentiation associée à une chimiothérapie et l'inhibition de la métastase tumorale (ZONG *et al*., 2012).

I.2.4.1.- Polysaccharides antitumoraux et anticancéreux

Les caractéristiques structurelles telles que les liaisons β (1→3) dans la chaîne principale avec les ramifications de (1→6) de β-glucane, sont indiqués comme des facteurs importants dans l'action anti-tumorale. Les β-glucanes contenant principalement des liaisons (1→6), présentent moins d'activité. C'est peut-être en raison de leur flexibilité inhérente d'avoir trop de conformations possibles. Toutefois, les polysaccharides antitumoraux peuvent avoir d'autres structures chimiques, tels que les hétéro-β-glucanes, hétéroglucane, β-glucane-protéine, α-manno-β-glucane, α-glucane-protéine et des complexes hétéroglycane-protéine (ZHANG *et al*., 2007). Un exopolysaccharide est produit par un champignon psychrophile de l'Antarctique *Thelebolus* sp. avec un squelette de β(1→3)-D-glucane et des branches β(1→6)-D-glucopyrannose. L'activité antiproliférative de cet exopolysaccharide, est démontrée dans les cellules B16-F0 (lignée cellulaire de carcinome de la peau chez les souries), avec une concentration inhibitrice à 50% (CI_{50}) de 275.42 ug/ml. L'action cytotoxique de l'exopolysaccharide est remarqué par une médiation de l'apoptose dans les cellules cancéreuses (MUKHOPADHYAY *et al*., 2014).

Un nouveau polysaccharide est isolé à partir d'extrait alcalin du mycélium *Phellinus linteus* (Hymenochaetaceae) (MEI *et al*., 2015). Le poids moléculaire moyen est estimé à 343.000 kDa. Le squelette du polysaccharide se compose de résidus deβ(1→4)- D-xylopyranosyl, α(1→2)-D-xylopyranosyl, α (1→4)-D-glucopyranosyl, β(1→5)-D-arabinofuranosyl et β(1→4)-D-xylopyranosyle à laquelle une ramification de O-2, et β (1→4)-D-galactopyranosyl qui est ramifié à O-6 avec α(1→)-D-arabinofuranosyl. Le dosage de l'activité antitumorale *in vitro* révèle que ce polysaccharide peut inhiber la croissance des cellules cancéreuses HepG2 (lignée des cellules de carcinome épidermoïde du larynx humain) dans une certaine mesure d'une manière dose-dépendante (PEI *et al*., 2015).

Deux nouveaux polysaccharides codés (PLPS-1 et PLPS-2) sont isolés et purifiés à partir d'une culture de mycélium de *Phellinus linteus* (Hymenochaetaceae) par extraction hydrosoluble à chaude. La chaine principale de PLPS-1 est constituée principalement d'unités répétitives β-D-Glc β(1→4)-D-Glc (1→6), tandis que celle de PLPS-2 se compose de β(1→3)-D-Glc et β (1→6)-D-Glc. Les branches latérales sont également différentes dans leurs composants glucidiques. Dans des essais antitumoraux *in vitro*, PLPS-1 affiche un fort effet antiprolifératif contre les cellules cancéreuses de sarcome S-180 signalé par un apoptose, alors que PLPS-2 n'a pas un tel effet (MEI *et al*., 2015).

Un polysaccharide ayant un poids moléculaire de 113.432 Da, est purifié à partir de *Boletus edulis* (Boletaceae) (CATCHESIDE et CATCHESIDE, 2012). Il a une chaine principale de α (1→6)-D-glucopyranosyl, α (1→2,6) -D- galactopyranosyl, α (1→6)- -D-galactopyranosyl et des résidus α(1→3)-D-rhamnopyranosyl, qui sont ramifiés à la position 2 de α(1→2,6)-D-galactopyrannosyle avec un seul résidu terminal α (1→)-L-arabinofuranosyl. Après l'administration du polysaccharide pendant 32 jours à des souris porteuses de tumeurs Renca(lignée cellulaire de cancer du rein chez les souris), la masse tumorale de Renca transplanté a été significativement réprimée. En outre, le polysaccharide peut augmenter considérablement les indices de la rate et du thymus, stimuler la prolifération des splénocytes, augmenter les activités des cellules NK et des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) dans la rate, et promouvoir la sécrétion des cytokines IL-2 et TNF-α dans les souris porteuses de tumeurs Renca. De même l'administration orale du polysaccharide (100 et 400 mg/kg) a restauré tous les paramètres biochimiques et hématologiques modifiés de souris porteuses de tumeurs à des niveaux normaux (WANG *et al*., 2014a).

Des polysaccharides hydrosolubles sont isolés de l'algue brune *Eisenia bicyclis* (Lessoniaceae). Le laminarane d'*E. bicyclis*est déterminé comme étant un glucane à chaine principale β-(1→3) et des chaînes latérales β-(1→6) avec relativement peu de points de branchement. Le rapport de liaisons β-(1→3) et β-(1→6), est estimé en tant que 2.6/1. Il est montré que le fucoïdane de *E. bicyclis* contient des résidus de 1,3-fucose liés en 1,3-, des résidus 1,6-, 1,2,6-, 1,4,6-galactose de galactose liés en 1,6-, 1,2,6-, 1,4,6- et des traces de résidus de mannose et de xylose. La quantité de sulfate dans le fucoïdane est de 13.2%. Ces polysaccharides sont non cytotoxiques à un mélanome humain SK-MEL-28 et les cellules cancéreuses du côlon DLD-1, mais ils inhibent la formation de colonies de ces cellules (ERMAKOVA *et al*., 2013).

Un polysaccharide hydrosoluble avec un poids moléculaire de 57 kDa, est isolé à partir de graines de longane *Dimocarpus longan* Lour. (Sapindaceae) (ZHENG *et al*., 2009). Le polysaccharide est composé principalement de rhamnose, de mannose, d'arabinose, de galactose et du glucose avec des rapports molaires de 2.4/1.5/2.3/5.6/6.5. Ce polysaccharide a un effet antiprolifératif dose-dépendante de la prolifération des cellules de cancer du poumon humain A549, qui est en accord avec la quantité libérée de lactate déshydrogénase. Les résultats des tests biologiques ont montré que le polysaccharide a la capacité de provoquer un arrêt du cycle cellulaire en phase Gap1, d'activer les caspases 3 et 9 et de cliver le poly [ADP (ribose)] polymérase dans les cellules A549. Ce polysaccharide peut supprimer la croissance de tumeurs A549 et peut induire l'apoptose (WANG *et al*., 2014b).

Une fraction majeure est obtenue par la purification des extraits polysaccharidiques bruts de *Lilii bulbus* (Liliaceae). La caractérisation chimique indique que la fraction n'est qu'un glucane, dont le poids moléculaire moyen est de 30.5 kDa. L'administration intrapéritonéale de la fraction à des doses de 50-200 mg/kg, inhibe significativement la croissance de carcinome Lewis du poumon. De même, il peut aussi augmenter l'activité phagocytaire des macrophages, la prolifération de splénocytes et la production de cytokines TNF-α, IL-2, IL-6 et IL-12 qui participent à la production des effets antitumoraux (SUN *et al*., 2014).

Le potentiel anti-tumoral d'un polysaccharide isolé à partir de *Boschniakia rossica* (Orobanchaceae) sur les cellules de carcinome squameux du larynx humain Hep2, est étudié. Ce polysaccharide homogène a un poids moléculaire de 22 kDa. Sa teneur totale en glucides, est déterminée comme étant de 96.9%, sans la présence de protéine et d'acide nucléique. Ce polysaccharide supprime la prolifération des cellules Hep2. L'analyse du cycle cellulaire a révélé que l'exposition à 200 µg/ml de ce polysaccharide a provoqué un arrêt du cycle cellulaire Gap0/Gap1 dans les cellules Hep2 (WANG *et al*., 2014c).

I.2.5.- Autres potentialités biologiques des polysaccharides

Les polysaccharides présentent un large spectre d'activités biologiques divers, y compris l'activité hypoglycémiante, l'activité hépatoprotective, l'activité antimicrobienne, l'activité radioprotective et l'activité protective contre les métaux lourds.

I.2.5.1.- Activité hypoglycémiante

L'incidence du diabète a considérablement augmenté, et devient la troisième maladie chronique grave après le cancer et les maladies cardiovasculaires (ZHU *et al*., 2014). Le diabète sucré est un trouble métabolique progressive et complexe qui se caractérise principalement par le taux de glucose dans le sang anormalement élevé dont le nom est l'hyperglycémie (XIONG *et al*., 2013). C'est l'une des maladies chroniques les plus coûteuses avec une prévalence mondiale estimée de 366 millions en 2011 (ZHOU *et al*., 2015). Dans le monde, environ 90% des 347 millions patients atteints sont des malades non insulinodépendants (diabète de type 2). Trois grands défauts métaboliques contribuent toujours à l'hyperglycémie chez les patients avec le diabète de type 2 dont la sécrétion insuffisante de l'insuline, une sortie de glucose hépatique élevé, et une résistance à l'insuline. Le diabète de type 2 peut réduire l'espérance de vie et représente un fardeau médical et économique significative (XIONG *et al*., 2013).

Bien que les médicaments hypoglycémiants classiques aient une bonne efficacité, leurs coûts élevés et un certain degré d'effets secondaires ont limité leurs applications cliniques. De plus en plus de nos jours, l'attention est concentrée sur l'extraction de polysaccharides provenant de sources végétales et animales naturelles pour le traitement du diabète (ZHU *et al*., 2014).

ZHOU *et al*. (2015) ont étudié l'activité hypoglycémique et les mécanismes potentiels d'un polysaccharide issu de *Misgurnus anguillicaudatus*, un poisson de la famille des Cobitidae (VAN KESSEL *et al*., 2013), chez des souris diabétiques induit par la streptozotocine. L'administration orale du polysaccharide diminue de manière significative les niveaux de glucose, les triglycérides, le cholestérol total, les lipoprotéines de basse densité-cholestérol (LDL-cholestérol) sanguins. Ce polysaccharide augmente aussi les niveaux des lipoprotéines de haute densité-cholestérol (HDL-cholestérol) et d'insuline chez les souris diabétiques, parallèlement à une augmentation du poids du corps et le contenu de l'insuline du pancréas. De plus, ce polysaccharide inverse les expressions accrus d'ARNm de la phosphoénolpyruvatecarboxy-kinase et le contenu de glycogène réduits dans le foie des souris diabétiques. Ce polysaccharide présente des activités anti-inflammatoires et anti-oxydantes puissantes, comme en témoignent la diminution de facteur de nécrose tumorale-α, (TNF-α), l'interleukine-6 (IL-6), la protéine chimioattractive monocytaire-1 (MCP-1), et également les activités élevées de superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase dans le sérum des souris diabétiques. Il améliore de façon significative les marqueurs sanguins de l'insuffisance hépatique et la fonction rénale chez les souris diabétiques.

L'enzyme α-glucosidase (EC 3.2.1.20), aussi connu comme α-D-glucoside hydrolase, est l'hydrolase du maltose, du saccharose, et d'autres oligosaccharides dans l'intestin. L'activité inhibitrice d'α-glucosidase peut ralentir la production et l'absorption de glucose et les niveaux de glucose sanguin. Des études rapportent que les inhibiteurs de l'α-glucosidase peuvent prévenir le diabète et l'obésité (ZHU *et al*., 2014).

Afin d'illustrer l'activité pharmaceutique de polysaccharides comme agents hypoglycémiques naturels, des polysaccharides isolés à partir du genre Astragalus (Fabaceae), du genre Pleurote champignon de la famille Pleurotaceae (KONG, 2004) et du Yacon *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae (BARONI *et al*., 2008), sont étudiés pour leurs effets inhibiteurs sur l'α-glucosidase. Les résultats exposent les effets inhibiteurs de α-glucosidase dans un ordre décroissant avec Astragalus> Pleurotes >Yacon. Le pourcentage de l'inhibition de l'α-glucosidase des polysaccharides d'Astragalus et de pleurotes sont plus de 40% à une

concentration de polysaccharide de 0.4 mg/ml. La CI_{50} des polysaccharides d'Astragalus et de Pleurotes sont 0.28 et 0.424 mg/ml, respectivement (ZHU *et al*., 2014).

I.2.5.2.- Activité hépatoprotectrice

QUAN *et al*. (2013) ont testé l'effet protecteur des polysaccharides de *Boschniakia rossica* (Orobanchaceae) contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone. Le tétrachlorure de carbone entraîne un taux élevé du facteur de nécrose tumorale-α du sérum et le niveau d'oxyde nitrique hépatique, et la régulation positive inductible des protéines de l'oxyde nitrique synthétase et cyclo-oxygénase-2 de tissu hépatique. Le prétraitement des souris avec des polysaccharides isolés de *B. rossica* inverse ses paramètres. Un effet hépatoprotectrice de polysaccharides de *B. rossica* est signalé par l'examen histopathologique des coupes de foie. Les résultats indiquent que les polysaccharides de *B. rossica* jouent un rôle protecteur dans l'atteinte hépatique aiguë induite par le tétrachlorure de carbone. Un effet hépatoprotecteur des polysaccharides de *B. rossica* peut être dû à des potentiels de défense antioxydante élevée, qui suppriment les réponses inflammatoires et l'apoptose des tissus du foie.

I.2.5.3.- Activités antimicrobienne

Les polysaccharides sont doués d'activités antimicrobiennes diverses comme l'activité antibactérienne, l'activité antiparasitaire et l'activité antivirale.

I.2.5.3.1.- Activité antibactérienne

Les maladies d'origine alimentaire sont devenues une préoccupation majeure dans le monde. Plusieurs micro-organismes pathogènes sont identifiés comme les agents causals de la détérioration des aliments et les maladies d'origine alimentaire. Des estimations récentes indiquent qu'environs un tiers de la production alimentaire dans le monde est jetée chaque année en raison de la détérioration microbienne (KRICHEN *et al*., 2015).

Les conservateurs alimentaires naturels sont efficaces, rentables et peuvent aider à maintenir la qualité et la sécurité tout au long de la durée de conservation des produits alimentaires (KRICHEN *et al*., 2015).

Des polysaccharides hydrosolubles issus de la citrouille *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae), sont isolés par la cellulase. Ce polysaccharide a une activité antibactérienne élevée contre *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* à concentration de 100 mg/ml (QIAN, 2014).

Des polysaccharides sulfatés sont extraits des peaux de poissons, baliste gris (*Balistes capriscus* (Balistidae) (AGGREY-FYNN, 2009) et d'émissole *Mustelus fasciatus* (Triakidae) (SOTO, 2001). Les activités antibactériennes des polysaccharides obtenus contre *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Salmonella enterica* et *Enterobacter* sp sont évaluées en déterminant les diamètres des zones d'inhibition de croissance et les valeurs de concentration inhibitrice minimale par des essais en milieux liquides. Deux fractions obtenues à partir des polysaccharides montrent des effets inhibiteurs importants contre ces espèces bactériennes testées (KRICHEN *et al*., 2015).

Un extrait de polysaccharides sulfatés de la peau de calmar *Loligo vulgaris* (Loliginidae) est constitué par 85.06% d'oses, 2.54% de protéines, 1.87% de cendres, 8.07% de sulfate et 1.72% de l'acide uronique. Le dosage des propriétés antioxydantes des polysaccharides sont évaluées par la capacité anti-radicalaire de DPPH qui note un IC_{50} = 19.42 mg/ml, par l'activité de balayage du peroxyde d'hydrogène qui signale un CI_{50} = 0.91 mg/ml et par l'inhibition de blanchiment de β-carotène qui indique un CI_{50} = 2.79 mg/ml. D'autres tests d'activité antimicrobienne indiquent que ce polysaccharide isolé montre des activités inhibitrices marquées contre les souches bactériennes dont *Salmonella enterica, Escherichia coli, Enterobacter* sp., *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* et contre des souches fongiques tels que *Fusarium solani, Botrytis cinerea* et *Alternaria solani* (ABDELMALEK *et al*., 2015).

In vitro, des fibres solubles (polysaccharides non amylacés) isolés à partir de la banane plantain *Musa* spp. (Musaceae) (NELSON *et al*., 2006) par PARSONS *et al*. (2014), peuvent prévenir divers agents pathogènes entériques de l'adhésion, ou de la translocation à travers l'épithélium intestinal humain. Il est rapporté que la fibre alimentaire de banane plantain empêche l'invasion de la muqueuse intestinale de poulet par Salmonella. La supplémentation alimentaire *in vivo* avec les polysaccharides du plantain à 50 mg/j réduits l'invasion par *Salmonella typhimurium* à 98.9%, comme en témoigne la numération des bactéries viables à partir de tissu de la rate. L'activité inhibitrice des polysaccharides de la banane plantain est principalement dans le composant riche présenté par l'homogalacturonane à caractère acide et à nature pectique.

Parmi les bactéries endogènes, les probiotiques sont essentiels à l'homéostasie et au bon fonctionnement des tractus gastro-intestinaux pour les êtres humains. Ils offrent divers avantages pour la santé en inhibant les pathogènes, améliore l'immunité et la prévient la diarrhée ce qui augmente l'absorption du calcium et la réduction du risque de cancer du côlon. Quatre souches bactériennes, à savoir *Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus acidophilus,* sont utilisées pour étudier l'effet des polysaccharides de colza sur la prolifération des probiotiques. Ce sont des polysaccharides homogènes liés à des protéines avec des poids moléculaires de 28.51 et 6.55 kDa. Les polysaccharides sont résistants à l'hydrolyse par le suc gastrique artificiel et l'α-amylase. Ils peuvent également stimuler de manière significative les probiotiques testés à proliférer et à produire des acides organiques (WANG *et al*., 2015).

I.2.5.3.2.- Activité antiparasitaire des polysaccharides

Selon l'organisation mondiale de la santé, environ 1.3 millions nouveaux cas de leishmaniose se produisent chaque année. *Leishmania* spp. est un parasite protozoaire obligatoire intra-macrophage. Après son internalisation dans les macrophages de l'hôte, il favorise un éventail de maladies, à savoir la leishmaniose sorcière manifeste sous différentes formes comme cutanée, cutano-muqueuse et viscérale, selon les espèces de Leishmania impliquée. Le traitement des maladies de la leishmaniose est modifié en raison de parasites intra-macrophage vivant chez l'hôte mammifère. L'immunostimulation est considéré comme une stratégie importante pour le traitement de la leishmaniose (AMARAL *et al*., 2015).

Les effets immunomodulateurs des polysaccharides testés ainsi que leurs complexes d'oxovanadium, sont évalués sur les macrophages péritonéaux. Tous les polymères étudiés augmentent la production d'interleukines -1β et -6, mais les complexes oxovanadium sont les activateurs les plus puissants de ces médiateurs. L'arabinogalactan-oxovanadium (10 mg/ml), le galactomannane-oxovanadium et le xyloglucane-oxovanadium tous deux à 25 mg/ml, conduisent à une augmentation de 562%, 1054% et 523% de l'IL-1β. Aux mêmes concentrations, les niveaux de l'IL-6 sont augmentés par 539% et 794% respectivement de l'arabinogalactane-oxovanadium et du galactomannane-oxovanadium. Les polysaccharides et leurs complexes d'oxovanadium réduits la croissance de forme promastigote de Leishmania par ~ 60%. La régulation positive de la libération d'IL-1β et d'IL-6 et la régulation négative de la production de NO par les macrophages et l'effet leishmanicide importante est essentiel pour affermir leur utilisation potentielle contre cette pathologie (AMARAL *et al*., 2015).

I.2.5.3.3.- Activité antivirale

Les polysaccharides sulfatés extraites d'algues ont des propriétés antivirales et sont beaucoup moins cytotoxiques que les médicaments conventionnels. Les agents antiviraux et la chimiothérapie combinés peuvent offrir plus d'avantages plus que la monothérapie, accroître l'efficacité, la puissance et le retard de l'émergence de virus résistants (AGUILAR-BRISEÑO *et al*., 2015).

Des polysaccharides sulfatés hydrosolubles isolées de deux algues rouges *Sphaerococcus coronopifolius* (ordre des Gigartinales) et *Boergeseniella thyoides* (ordre des Ceramiales) inhibent la réplication *in vitro* du virus de l'immunodéficience humaine à 12.5 pg/ml. Ces polysaccharides sont constitués de galactose, de 3,6-anhydrogalactose, d'acides uroniques et de sulfate dans des rapports de 33.1/11.0/24.0/7.7 et 25.4/16.0/3.2/7.6 (p/p), respectivement. Ils sont capables d'inhiber la réplication *in vitro* du virus de l'herpès simplex de type 1. L'étape d'adsorption du virus de l'herpès simplex de type 1 à la cellule hôte semble être la cible d'une action spécifique de ce polysaccharide. Alors que pour le virus de l'immunodéficience humaine, il y a un effet inhibiteur direct par réplication et contrôle de l'apparence de nouvelles générations de virus avec effet virucide potentiel (BOUHLAL *et al*., 2011).

La famille des Paramyxoviridae comprend des agents pathogènes causant la morbidité et la mortalité dans le monde chez les humains et les animaux, comme le virus de la maladie de Newcastle chez la volaille. Le mélange de l'ulvane et du fucoïdane, note un effet anti-propagative supérieure à l'effet des polysaccharides sulfatés séparés. Toutefois, l'ulvane antagonise l'effet de fucoïdane sur l'attachement et l'entrée virale. Les deux polysaccharides sulfatés peuvent être antiviraux prometteurs contre l'infection paramyxovirus mais leur mélange ne présente aucun avantage synergique clair (AGUILAR-BRISEÑO *et al*., 2015).

Adenanthera pavonina (Fabaceae) (OPOTA ONYA *et al*., 2013) est une plante traditionnellement utilisée au Brésil pour le traitement de plusieurs maladies. Une étude vise à évaluer l'activité d'un polysaccharide sulfaté des graines de l'*A. pavonina* contre le poliovirus de type 1. Le polysaccharide présente une concentration cytotoxique de 50% à 500 µg/ml. Il montre une activité antivirale significative, avec une concentration inhibitrice de 50% à 1.18 µg/ml. Le polysaccharide inhibe la croissance du poliovirus en plus d'une étape de la réplication, comme un mécanisme d'action antivirale (DE GODOÏ *et al*., 2014).

I.2.5.4.- Activité radio-protectrice des polysaccharides

Le rayonnement ionisant est une onde ou une particule électromagnétique, ce qui peut induire des blessures aiguës et chroniques à l'hématopoïèse, le système immunitaire et les systèmes vasculaires cérébraux dans le corps humain. Les lésions induites par les rayonnements comprennent l'aberration chromosomique, des micronoyaux dans la moelle osseuse et la dégradation de l'ADN, ce qui peut finalement conduire à l'apoptose cellulaire excessive, et manifester de nombreuses maladies génétiques dans l'organisme (LI *et al*., 2015).

LI *et al*. (2015) ont étudiésl'effet radio-protecteur d'un polysaccharide neutre de *Hohenbuehelia serotina* un champignon de la famille Pleurotaceae, contre les dommages induits par le rayonnement du cobalt (rayonnement-^{60}Co). Ils rapportent ce polysaccharide peut améliorer de manière significative l'activité de la glutathion peroxydase et augmenter le contenu de glutathion et la céruloplasmine dans le plasma. L'administration de ce polysaccharide peut effectivement augmenter la quantité d'ADN de la moelle osseuse et réduire les taux d'aberration chromosomique et de micronoyaux dans la moelle osseuse de souris. De plus, il inhibe les rejets de cytochrome C et les expressions de la caspase-3 activée, et bloquer la voie apoptotique mitochondriale de splénocytes induite chez la souris par radiation-^{60}Co.

I.2.5.5.- Activité protectrice contre les métaux lourds des polysaccharides

Les métaux lourds dans l'environnement sont difficiles à éliminer par des moyens chimiques ou biologiques. De nombreux métaux lourds constituent un danger pour l'environnement. Les métaux lourds en général peuvent être toxiques, cancérigènes ou mutagènes, même à l'état de traces. Il est établi que tous les métaux ou les éléments ayant des caractéristiques métalliques peuvent former des composés qui sont toxiques pour l'homme. Le cuivre (Cu), le plomb (Pb) et le chrome (Cr) sont appliqués dans certains processus industriels. Néanmoins, l'exposition aiguë à Cu^{2+}, Pb^{2+} et Cr^{6+} provoque des problèmes de santé tels que l'anémie, les maladies du foie et des reins, les lésions cérébrales et finalement la mort (SHUHONG *et al*., 2014).

Les comportements et les mécanismes de biosorption pour Cu^{2+}, Pb^{2+} et Cr^{6+} par un nouveau exopolysaccharide d'*Arthrobacter* ps-5 (Micrococcaceae) (SAXENA et SINGH, 2013), sont étudiés. Un polysaccharide constitué de glucose et de galactose ayant un rapport molaire du glucose sur galactose de 2.81, est isolé. Ce polysaccharide montre la capacité de biosorption

forte, jusqu'à 169.15 mg/g de Cu^{2+}, 216.09 mg/g de Pb^{2+} et 84.47 mg/g de Cr^{6+}. La concentration supplémentaire de Ca^{2+} et K^{+} augmente la capacité de biosorption sur Cu^{2+}, Pb^{2+} et Cr^{6+}qui diminue de manière significative et suivi l'ordre de $K^{+}<Ca^{2+}$. L'analyse par spectrométrie infrarouge met en évidence que les groupes d'O-H, C=O, C-O-C et C=O-C du polysaccharide impliqués dans le processus de biosorption des métaux, sont les principaux groupes fonctionnels pour la capture des ions métalliques (SHUHONG *et al*., 2014).

I.3.- Etudes antérieures sur les espèces végétales investies

De nombreux rapports sur les activités biologiques du genre Astragalus indiquent des effets protecteurs contre une lésion hépatique, un effet d'anti-peroxydation des lipides, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, la réduction des taux de lipides sériques, les effets anti-inflammatoires et l'amélioration immunitaire par le biais de l'immunité spécifique et non-spécifique (LI *et al*., 2009). Des études en pharmacologie, rapportent que les extraits des espèces végétales du genre Cistanche, possèdent un large spectre d'activités, tels que la guérison de l'insuffisance rénale et la constipation sénile, l'avancement de la capacité à apprendre et à mémoriser, traiter la maladie d'Alzheimer, l'amélioration de l'immunité, l'antivieillissement et l'antifatigue (JIANG et TU, 2009).

I.3.1.- Polysaccharides issus du genre Astragalus

Plusieurs espèces du genre Astragalus sont utilisées en médecine traditionnelle comme des anti-transpirants, des diurétiques, des toniques et pour le traitement de la néphrite, le diabète, la leucémie et le cancer de l'utérus (SUN *et al*., 2011). Ils trouvent aussi des applications en médecine traditionnelle et moderne. Les feuilles d'*Astragalus caprinus* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des hémorroïdes. *Astragalus mongholicus* Bunge et *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge sont utilisés comme remède pour plusieurs maladies (TEYEB *et al*., 2012).

La racine séchée d'*Astragalus membranaceus*, l'un des médicaments de promotion de la santé les plus populaires à base de plantes, est utilisé historiquement comme un agent immunomodulateur pour le traitement de rhume, de la diarrhée, de la fatigue et de l'anorexie depuis plus de 2000 ans. La phytochimie moderne et les expériences pharmacologiques ont démontré que les polysaccharides sont des principaux ingrédients actifs de la racine d'*A. membranaceus* avec diverses activités biologiques, tels que immunomodulation, antioxydation,

anti-tumorale, anti-diabète, antiviral, hépato-protection, anti-inflammation, anti-athérosclérose, hématopoïèse et la neuroprotection (JIN *et al*., 2014).

Les travaux de certains auteurs menés sur la présence de polysaccharides actifs dans *A. membranaceus,* notent des activités biologiques telles que des activités immunomadulatrices qui sont dues aux différents extraits polysaccharidiques dont le dextrane, l'α-D-glucane et divers hétéropolysaccharides (JIN *et al*., 2014), un effet exercé sur l'expression de gènes de la réponse immunitaire (YUAN *et al.,* 2008), un effet synérgique avec les probiotiques (*Lactobacillus* et *Bacillus cerus*) dans la modulation de l'immunité et de la microflore intestinal (LI *et al*., 2009a) et une activité immunomodulatrice dans le cas du cancer de l'estomac qui est due à un α-D-glucane (LI *et al*., 2009b). Sont également signalées une activité anti-tumorale (CHO *et* LEUNG, 2007a) présentée par un α-glucane (LI *et al*., 2010), une activité antiviral (LI *et al*., 2007b), un effet thérapeutique sur la néphropathie diabétique (ZHANG *et al*., 2007; LI *et al*., 2011), un effet de protection rénale (ZHANG *et al*., 2009) à partir d'un α-D-glucane (LI *et* ZHANG, 2009), un effet protecteur contre la glomérulonéphrite avec un D-glucane (LI *et al*., 2007a), une activité antioxydante par un α-glucane (LI *et al*., 2010; NIU *et al*., 2011), une activité hypoglycémiante (MAO *et al*., 2007; MAO *et al*., 2009) et l'amélioration de l'hémostasie du glucose de tout le corps qui est due au mélange entre un arabinogalactoglucane et deux α-dextranes (LIU *et al*., 2010). *A. membranaceus* présente aussi une activité antifongique due à la présence de chitinase (KOPPARAPU *et al*., 2011).

Une autre espèce du genre Astragalus présentant des polysaccharides bioactif, est l'*A. mongholicus.* Les activités biologiques présentées par ses polysaccharides sont une activité immunomodulatrice dans l'intestin présentée par un α-D-galactane (KIYOHARA *et al*., 2010), un effet hépato-protectrice (DANG *et al*., 2008) et une activité antioxydante par un polysaccharide dont les deux monosaccharides majeurs sont le mannose et le glucose respectivement (YAN *et al*., 2010). Une activité antioxydante pour les reins et la vessie avec une probable amélioration de la fonction urinaire, est montrée par un hétérosaccharide où le galactose, l'arabinose et le glucose sont les monosaccharides majeurs (ZHANG *et al*., 2011).

BOUAL *et al*. (2014) signalent un galactomanane bioactif dans les graines d'*A. armatus,* ayant une activité anti-complément et antioxydante.

I.3.2.- Etudes antérieures les polysaccharides issus du genre Cistanche (Orobanchaceae)

Certains polysaccharides isolés des espèces végétales du genre Cistanche, sont considérés comme des constituants actifs responsables d'activités immunostimulantes, antivieillissements et anticancéreux. Dans les années 90, les études sur des polysaccharides d'espèces du genreCistanche sont axées sur l'isolement, la purification et l'analyse de la composition en monosaccharides. Les structures exactes de polysaccharides provenant d'espèces du genre Cistanche ne sont pas clarifiées jusqu'en 1997. Les propriétés structurales des polysaccharides isolés à partir d'espèces végétales de ce genre sont énumérées (JIANG et TU, 2009).

Plusieurs études ont montré la présence de polysaccharides bioactifs dans *C. deserticola* responsable des activités immunomodulatrices dues à deux fractions pectiques dont un homogalacturonane et un rhamnogalacturonane en plus d'un polysaccharide neutre représenté par un α-arabinane (EBRINGEROVÁ *et al*., 1997), un arabinogalactane (WU *et al*., 2005) et une autre fraction d'α-glucane signalée par DONG *et al*. (2007).

L'extrait de *C. deserticola* a montré des activités anti-inflammatoire et anti-nociceptive (LIN *et al*., 2002). *C. tubulosa* présente aussi des dérives oligosaccharidiques ayant une activité vasodilatatrice (YOSHIKAWA *et al*., 2006).

Chapitre II

Matériel et méthodes

La méthodologie du travail porte sur le principe d'étude, le matériel d'étude, l'étude des polysaccarides à savoir l'extraction des polysaccharides bruts, la détermination de leur composition en protéines, en oses totaux, en oses neutres et en oses acides; leur caractérisation qualitative par la CCM et les tests biologiques dont l'activité antioxydante, l'activité anticoagulante et l'activité stimulatrice de la phagocytose.

II.1.- Principe d'étude

Le recours aux plantes à des fins thérapeutiques, est connu depuis l'antiquité (LEHMANN, 2013). Il existe dans la nature de nombreux types de polysaccharides répertoriés auxquels l'intérêt porté est proportionnel aux propriétés ou aux applications potentielles. Quelle que soit leur origine, les polysaccharides se caractérisent tous par des propriétés biologiques et rhéologiques spécifiques. Ils forment un groupe hétérogène de polymères de compositions multiples et variées, et de poids moléculaires différents (GARON-LARDIERE, 2004).

Comme une classe structurellement diverse de macromolécules, les polysaccharides jouent des rôles divers et importants dans de nombreux processus biologiques. En plus de servir comme réserves d'énergie (amidon et glycogène) et des composants structurels (la cellulose dans les plantes et la chitine chez les arthropodes), les polysaccharides et leurs dérivés participent à la reconnaissance de la signalisation et à la communication cellule-cellule. Ils ont également un rôle important dans le système immunitaire, la fertilité, la prévention de la pathogenèse et la coagulation du sang (ZONG *et al*., 2012).

La présente étude a porté surl'extraction, la caractérisation partiellement et l'évaluation des activités biologiques des polysaccharides issus de deux plantes spontanées de la pharmacopée traditionnelle du Sahara septentrional Est algérien. Le fractionnement des polysaccharides, se fait par extraction hydrosoluble et alcali-soluble. L'étude de la composition est effectuée par une série de dosages colorimétriques et par chromatographie sur couche mince. Les tests biologiques portent sur l'activité anticoagulante, l'activité antioxydante et l'activité stimulatrice de la phagocytose.

II.2.- Matériel d'étude

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

II.2.1.- Matériel biologique

Il se compose des espèces végétales choisies et du sang prélevé chez différents volontaires et de la levure (*Candida albicans*) obtenue auprès du laboratoire d'analyses médicales IBN ROCHD à Ghardaïa (Algérie).

II.2.1.1.- Choix des espèces végétales

De nombreux rapports sur les activités biologiques d'Astragalus indiquent des effets protecteurs contre une lésion hépatique, un effet d'anti-peroxydation des lipides, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, la réduction des taux de lipides sériques, des effets anti-inflammatoires et l'amélioration immunitaire par le biais de l'immunité spécifique et non-spécifique (LI *et al*., 2009).

De même, des recherches en pharmacologie ont signalé que des extraits de plantes du genre Cistanche possèdent un large spectre d'activités, telles que la guérison de l'insuffisance rénale, la constipation sénile, l'avancement de la capacité à apprendre et à mémoriser, le traitement de la maladie d'Alzheimer, l'amélioration de l'immunité, l'antivieillissement et l'antifatigue (JIANG et TU, 2009). Les habitats d'Oued Souf (Algérie) utilisent les troncs de Dhanoune (*Cistanche violacea* (Desf.) Beck.) comme légume. Après broyage et séchage, la plante est utilisée aussi dans la farine et la semoule pour en faire du pain et du couscous (HELIS, 2005).

Pour la présente étude le choix est porté sur plante spontanée à caractère médicinal du Sahara septentrional Est algérien. Il s'agit d'*Astragalus gombo* Coss. et Dur (Fabaceae) et *Cistanche violacea* (Desf.) Beck (Orobanchaceae).

II.2.1.1.1.- *Astragalus gombo* Coss. et Dur.

A. gombo(photo 1.) est une espèce végétale vigoureuse au port dressé de 10 à 50 cm de haut. Elle présente une tige bien développée et élevée et des fleurs jaunes, de 25 mm en grappes axillaires denses, sessiles ou presque. Les feuilles sont de grande taille, de couleur vert clair, à très nombreuses petites folioles et à pétioles robustes perdant leurs folioles, deviennent coriaces et piquant à l'extrémité. *A. gombo* a des gousses divisées complètement en deux loges par une cloison longitudinale, à parois épaisses, ligneuse, renflée, très dure, ornée de grosses nervures et terminée en bec robuste et long, couverte d'un duvet soyeux, dépassant 1 cm de diamètre (QUEZEL, 1962; OZENDA, 1977).

Des études pharmacologiques ont montré que les racines d'*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge présentent une activité thérapeutique comme immunostimulant, tonique (adaptogène), hépatoprotecteur, diurétique, antidiabétique, expectorant et sédatif (YAN *et al*., 2010).

Photo 1.- *Astragalus gombo* au plateau de Koudia à Djamaa (moyen Oued Righ) (KHERRAZE*etal*., 2010)

II.2.1.1.1.1.- Position botanique

La position systématique d'*A. gombo* selon QUEZEL (1962) et OZENDA (1977), est la suivante:

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyta
Sous embranchement	Embryophyta
Classe	Dicotyledoneae
Famille	Fabaceae
Genre	Astragalus
Espèce :	*Astragalus gombo* Coss. et Dur.

II.2.1.1.1.2.- Répartition géographique

Astragalus est considéré comme le plus grand genre en nombre de la famille des Fabaceae avec environ 2500 à 3000 espèces qui se retrouvent dans les régions arides et

continentales de l'Ouest de l'Amérique du Nord (400 espèces) et en Asie centrale (2000-2500 espèces). D'autres espèces se retrouvent également en Amérique du Sud tempérée et au Nord, à l'Est et au Sud de l'Afrique (LISTON et WHEELER, 1994).

II.2.1.1.1.3.- Récolte et parties étudiées

La région de la récolte d'*A. gombo* est la wilaya de Ouargla (Algérie) qui est présentée par une longitude de 31°54' à 32°1' Nord, une latitude: 5°15' à 5°27' Est et une altitude de134 m (HAMDI-AISSA *et al*., 2004) (photo.1).

Les gousses et les graines d'*A. gombo* saines et mûres recueillies dans le mois de mars en 2014, sont conservées dans des sachets en papier kraft. Elles sont transportées au laboratoire et conservées dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière, à la température ambiante (OMS, 2003). Il sera utilisé, pour le présent travail les gousses et les graines d'*A. gombo* pour l'extraction et l'étude des polysaccharides bruts.

II.2.1.1.2.-*Cistanche violacea* (Desf.) Beck.

Cistanche violacea (Desf.)Beck.(photo 2.) est une plante obligatoirement parasitaire, totalement dépourvue de chlorophylle, à feuilles réduites et à des écailles. Elle n'a pas de racines mais des tiges terminées à la base par un bulbe qui se fixe sur la racine de la plante hôte par un suçoir. Elle a une tige succulente de 1 à 3cm de diamètre et de grandes fleurs atteignant 5cm de long qui sont de couleur bleu violettes, comme l'ensemble de la plante. Le tube de la corolle s'évasant progressivement, de taille de 2 à 5dm. Elle parasite les Chenopodiaceae et les Limoniastrum(Plumbaginaceae) (QUEZEL, 1962; OZENDA, 1977).

Les investigations sur le genre Cistanche ont débuté les années 1980, et les composés majoritaires sont les huiles essentielles, les oligosaccharides et les polysaccharides. Parmi les espèces de Cistanche, seulement *C. deserticola* est reclassée dans la pharmacopée chinoise (édition 2000), et *C. tubulosa* est ajouté à la pharmacopée chinoise 2005 comme une alternative, pour ses constituants chimiques semblables, ses activités pharmacologiques, et ses ressources relativement riches par rapport à *C. deserticola* (JIANG et TU, 2009).

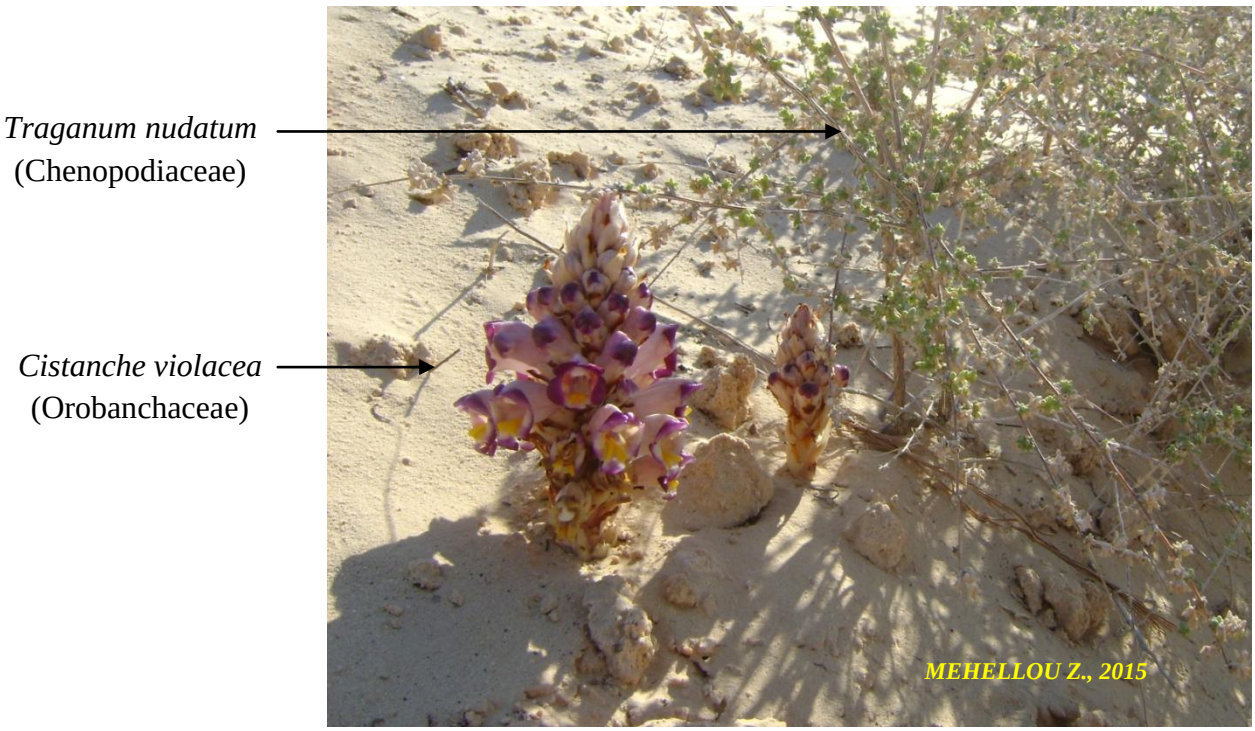


Photo 2.- *Cistanche violacea* (Desf.) Beck. à Chott Melghir (El Oued, Algérie)

II.2.1.1.2.1.- Position botanique

La position systématique de *Cistanche violacea* (Desf.) Beck. proposée par QUEZEL (1962) et OZENDA (1977), est la suivante :

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyta
Sous embranchement	Embryophyta
Classe	Dicotyledoneae
Famille	Orobanchaceae
Genre	Cistanche
Espèce	*Cistanche violacea* (Desf.)Beck.

II.2.1.1.2.2. – Répartition géographique

L'un des genres de la famille Orobanchaceae, avec 22 espèces dans le monde, le genre Cistanche est principalement distribué dans les zones arides et semi arides de l'hémisphère Nord, comme l'Afrique, l'Asie et la région méditerranéenne, y compris des parties de l'Europe du Sud. Ils forment un groupe attractif de parasites des racines phanérogamiques (JIANG et TU, 2009;

FAGEER et ASSUBAIE, 2006). Leur environnement de croissance est très sévère comme le climat extrême aride, la variation sévère de températures, le soleil intensif, moins de 250 mm de précipitations annuelles et les sols appauvris.

Les espèces du genre Cistanche sont des plantes parasites vivaces qui s'attachent souvent à des racines des plantes fixatrices de sable (JIANG et TU, 2009). *C. violacea* se trouve dans le Sahara septentrional principalement dans la région du M'Zab et celle de Biskra, et très rarement au Sahara central. Elle est endémique du Nord de l'Afrique (QUEZEL, 1962; OZENDA, 1977).

II.2.1.1.2.3.- Récolte et parties étudiées

Pour la présente étude l'espèce*Cistanche violacea* (Desf.) Beck. est récoltéedans le mois de mars en 2015 au niveau du Chott Melghir, Wilaya d'El Oued (Algérie), dont les coordonnées géographiques sont: longitude 34°00'00'' et 34°30'01'' Nord, latitude: 6°07'30'' et 6°30'02'' Est et une altitude: -24 m (DIRECTION GENERALE DES FORETS, 2003). *Cistanche violacea* est en association avec *Traganum nudatum* (Chenopodiaceae) (photo 2).

Dans le présent travail, les bulbes de *C. violacea*, sont retenus pour l'étude des polysaccharides. Elles sont transportées au laboratoire et conservées dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière, à la température ambiante (OMS, 2003).

II.2.1.2.- Prélèvements sanguins

Le sang périphérique humain est obtenue par une ponction veineuse aseptique réalisée sur des volontaires sains, âgé de 25 à 38 ans (KOKO *et al*., 2008), au laboratoire d'analyses médicales IBN ROCHD à Ghardaïa et au du laboratoire de l'hôpital de BESSER MOARADJ El – Oued. Les différents prélèvements sont effectués par des tubes citratés pour l'évaluation de l'activité anticoagulante et par des tubes héparinés pour l'estimation de l'activité stimulatrice de la phagocytose.

II.3.- Méthodes d'étude

Dans cette partie, les méthodes d'extractions, les différents dosages colorimétriques, la caractérisation et les tests biologiques des polysaccharides sont développés.

II.3.1.- Technique de séchage et de broyage

Les bulbes sont lavés à l'eau pour les débarrasser de toutes les impuretés qui y adhèrent. Pour accélérer le séchage, les bulbes sont hachés et étalées en couche mince sur des surfaces de séchage et sont retournés quotidiennement (DOASSEM, 2002).

Les graines, les gousses et les bulbes sont broyées (GAO *et al*., 2015) séparément avec un mixeur. Les différents broyats sont conservés dans des boites et à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse.

II.3.2.- Extraction des polysaccharides

Le processus d'extraction est la macération, une techniques classique d'extraction des composés bioactifs à partir d'espèces végétales (AZMIR *et al*., 2013). Pour la présente étude, nous avons effectué des extractions hydrosolubles et alcali-solubles.

II.3.2.1.- Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Le broyat séché de la matière végétale à étudier, est prétraité par l'éther de pétrole ou par l'acétate d'éthyle à la température ambiante (MANU *et al*., 2013; CHEN *et al*., 2014) pendant 5 heures (YU *et al*., 2014) à plusieurs reprise afin d'éliminer les constituants colorés et les petites impuretés moléculaires (CHENG *et al*., 2013). Après séchage, chaque broyat est macéré dans de l'eau distillée (WANG *et al*., 2014) à 80°C pendant deux heures (XIE *et al*., 2014; LIE *et al*., 2013). La macération est répétée trois fois (WANG *et al*., 2014) mais seulement deux fois pour les gousses vu leur rendement faible en polysaccharides hydrosolubles. Les extraits sont précipités par trois volumes d'isopropanol absolu (NWOKOCHA et WILLIAMS, 2014) dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24 heures (LIU *et al*., 2014). Les culots obtenus, après une centrifugation à 4500 rpm pendant 15 mn (WU *et al*., 2014), sont lavés avec l'acétone (ZHANG *et al*., 2013) trois fois (ADELI *et* SAMAVATI, 2015). Après l'évaporation de l'acétone, les culots sont lyophilisés à l'aide d'un lyophilisateur de type ALPH1-2 LD, CHRIST (VALEPYN *et al*., 2014). Les lyophilisats obtenus représentent les extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles (fig. 17).

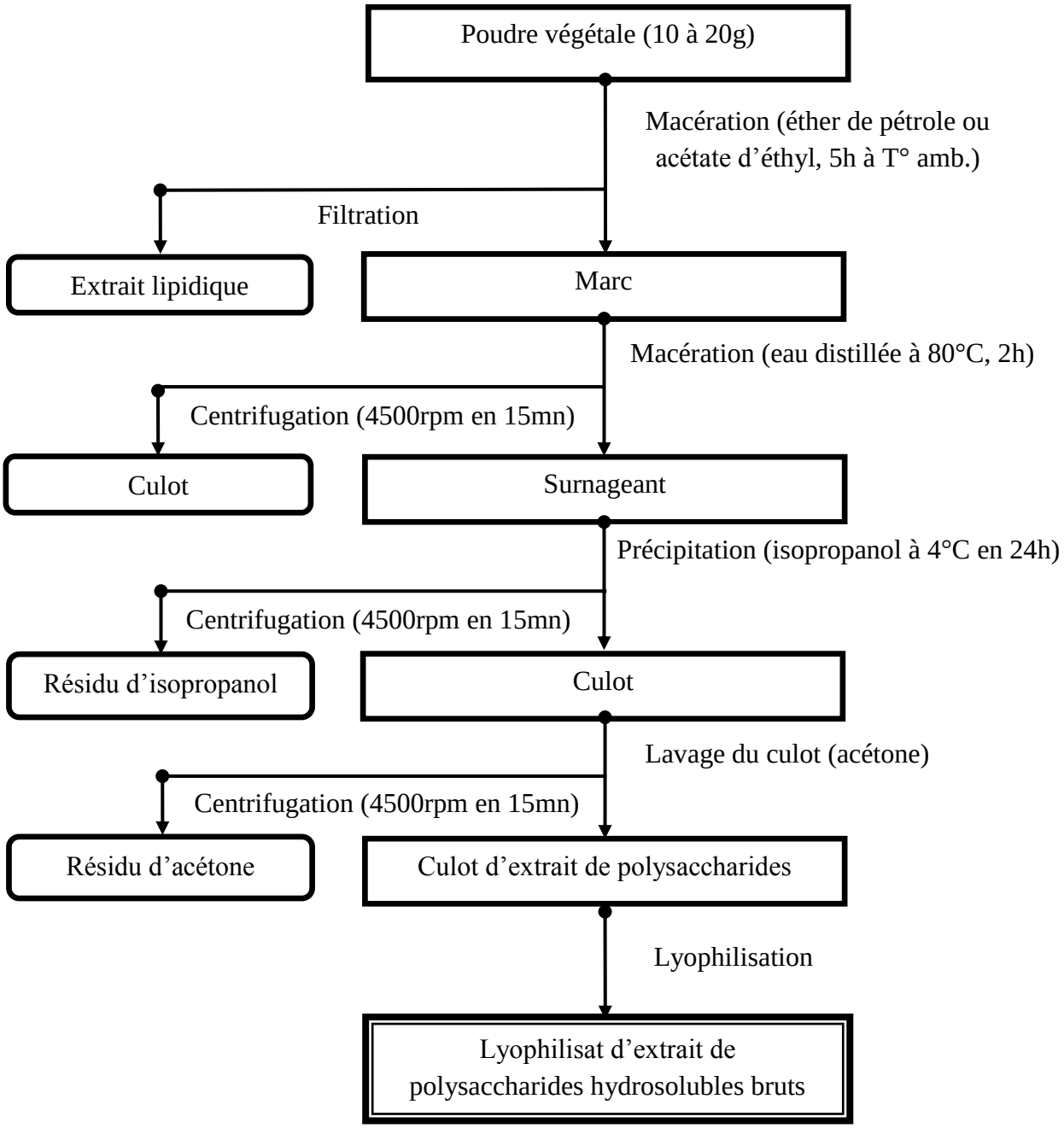


Figure 17.- Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles (MANU *et al*., 2013; CHEN *et al*., 2014; YU *et al*., 2014; WANG *et al*., 2014; XIE *et al*., 2014; NWOKOCHA et WILLIAMS, 2014; LIU *et al*., 2014; WU *et al*., 2014; ZHANG *et al*., 2013; ADELI et SAMAVATI, 2015; VALEPYN *et al*., 2014)

II.3.2.2.- Extraction des polysaccharides alcali-solubles

Le culot issu des extractions de polysaccharides hydrosolubles, est macéré dans une solution basique de 0,5 M KOH (PINTO *et al*., 2015) à 80°C pendant 2 heures (XIE *et al*., 2014; LIE *et al*., 2013). L'extraction est répétée pour une deuxième fois. L'extrait est neutralisé par une solution de 0,5 ou 2 M HCl (CHEN *et al*., 2014). Pour les gousses d'*A. gombo* un premier culot est obtenu après une centrifugation à 4500 rpm pendant 15 mn (WU *et al*., 2014). Les polysaccharides sont précipités avec trois volumes d'isopropanol (NWOKOCHA *et* WILLIAMS, 2014) conservé à 4°C pendent 24 heures (LIU *et al*., 2014). Après lavage à l'acétone (ZHANG *et al*., 2013) trois fois (ADELI *et* SAMAVATI, 2015), l'extrait est lyophilisé (VALEPYN *et al*., 2014).

Une deuxième extraction alcali-soluble à 4 M KOH est effectuée sur le marc issu de l'extrait de polysaccharides alcali-solubles à 0,5 M KOH (DING *et al*., 2014). Deux macérations successives avec une solution alcaline de 4 M KOH, sont faites à 80°C pendant 2 heures (XIE *et al*., 2014; LIE *et al*., 2013). Pour les gousses d'*A. gombo* une précipitation acide est effectuée (CHEN *et al*., 2014) et les deux extraits assemblés sont neutralisés par une solution de 2 ou 4M d'HCl (GUO *et al*., 2007). Le culot obtenu, après centrifugation à 4500 rpm (WU *et al*., 2014), est lavé à l'eau distillée 5 fois (CHEN *et al*., 2014) et à l'acétone (ZHANG *et al*., 2013) 3 fois (ADELI et SAMAVATI, 2015). Mais pour les bulbes de *C. violacea*, les polysaccharides sont précipités avec trois volumes d'isopropanol absolu (NWOKOCHA et WILLIAMS, 2014) et lavés 3 fois avec l'acétone. Après lyophilisation (VALEPYN *et al*., 2014), des extraits bruts de polysaccharides alcali-solubles à 4 M KOH sont obtenus (fig. 18).

II.3.2.3.- Calcul du rendement

Les rendements de l'extraction des polysaccharides bruts sont calculés selon LI *et al*. (2015) par la formule suivante:

$$\text{Rendement de l'extraction (\%)} = \frac{\text{Le contenu polysaccharidique de l'extraction (g)}}{\text{Le poids de la poudre sec de la plante (g)}} \times 100$$

II.3.3.- Composition des extraits bruts de polysaccharides

Les teneurs en oses totaux, oses neutres, oses acides et protéines sont déterminés par des méthodes colorimétriques.

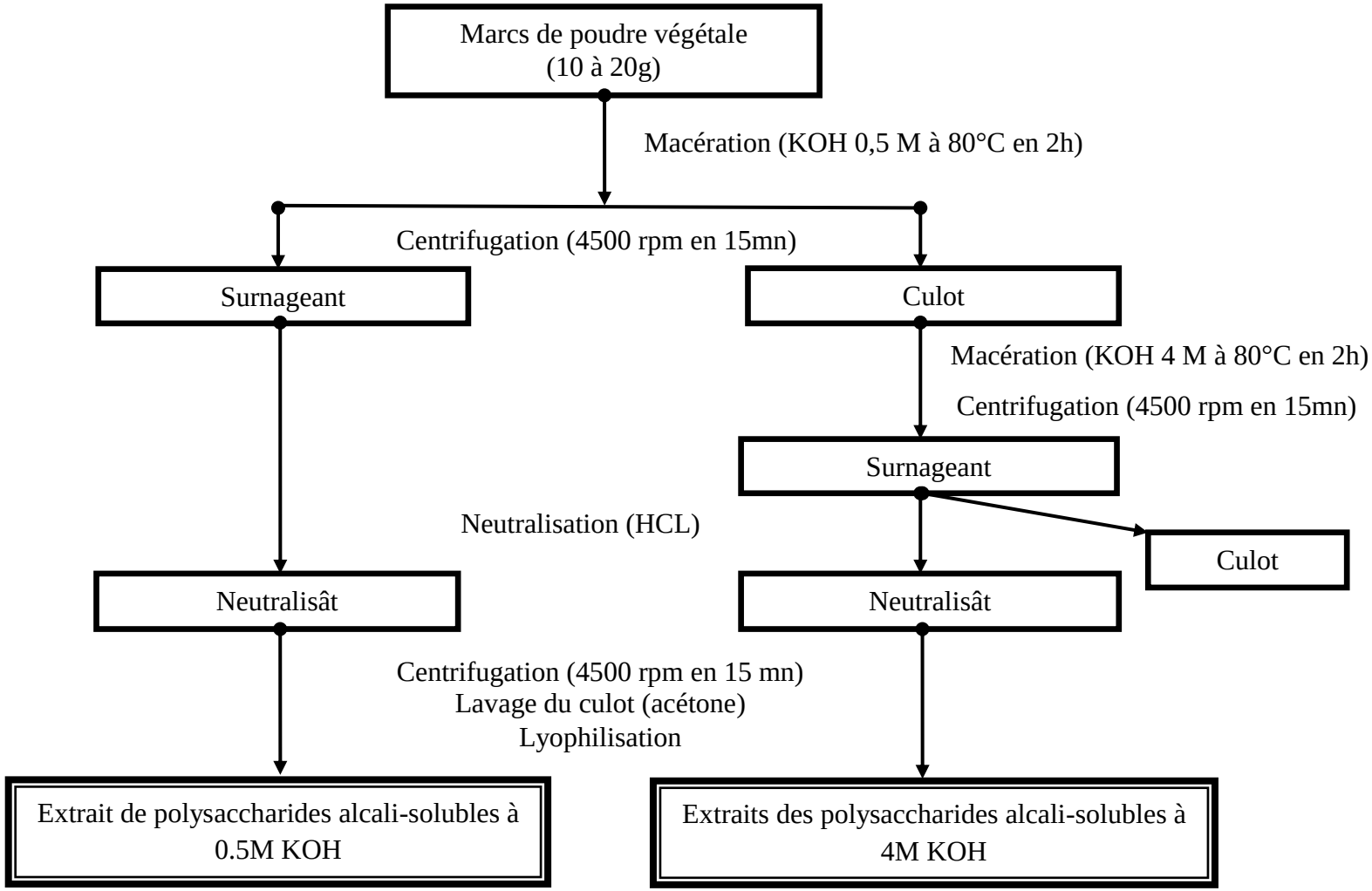


Figure.18.- Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides alcali-soluble **(**PINTO *et al*., 2015; CHEN *et al*., 2014; XIE *et al*., 2014; WU *et al*., 2014; NWOKOCHA et WILLIAMS, 2014; LIU *et al*., 2014; ZHANG *et al*., 2013; ADELI et SAMAVATI, 2015; VALEPYN *et al*., 2014; DING *et al*., 2014; GUO *et al*., 2007)

II.3.3.1.- Dosage des protéines

Le dosage des protéines se fait par la méthode de LOWRY (1951) et la méthode de BRADFORD (1976).

II.3.3.1.1.- Méthode de LOWRY (1951)

La méthode de LOWRY est une méthode sensible de dosage colorimétrique des protéines.

II.3.3.1.1.1.- Principe

Le cuivre est utilisé pour réagir avec les acides aminés. L'application d'un second réactif par la suite, celui du Folin-Cioccalteu permet de réduire les acides aminés aromatiques (tyrosine et tryptophane) en donnant un complexe bleu foncé (BRIAN-JAISSON, 2014).

II.3.3.1.1.2.- Mode opératoire

Dans des tubes en verres et à l'aide d'une micropipette, 400 µl de chaque échantillon sont mélangés à 2 ml de réactif C de LOWRY puis agités et laissés pendant 10 mn à la température ambiante. En suite, 200 µl de réactif de Folin dilué (v/v) sont ajoutés au mélange réactionnel avant de laisser les tubes incuber à l'obscurité pendant 30 mn à la température ambiante. L'Absorbance est mesurée à 750 nm (LOWRY*et al*., 1951) par un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU).

L'estimation de la concentration des protéines dans les différents extraits bruts des polysaccharides est effectuée à partir d'une gamme d'étalonnage comprit entre 0.1 - 1 g/l de sérum albumine bovine **(**SAB).

II.3.3.1.2.- Méthode de BRADFORD

La méthode de BRADFORD, est un dosage colorimétrique rapide et plus sensible que la méthode de LOWRY(BRADFORD, 1976).

II.3.3.1.2.1.- Principe

La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine (BRADFORD, 1976), après coloration au bleu de Coomassie par interactions non covalentes avec les résidus des acides aminés hydrophobes de la protéines (AUTRAN, 1991).

II.3.3.1.2.2.- Mode opératoire

Une quantité de 200 µl de l'étalon ou de l'échantillon, est placée dans un tube propre et sec en verre. Il est ajouté 2 ml de réactif de Coomassie et homogénéisé pendant 30 secondes. Après 2 mn de réaction et avant une heure, l'absorbance est mesurée à 595 nm par un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU). La courbe d'étalonnage est tracée en fonction de la concentration en sérum albumine bovine (BRADFORD, 1976).

La concentration en protéines dans les différents extraits bruts des polysaccharides, est effectuée à partir d'une gamme d'étalonnage comprit entre 0.01 – 0.1 g/l de sérum albumine bovine **(**SAB).

II.3.3.2.- Dosage des oses

Les concentrations des oses totaux, des oses neutres et des oses acides dans les différents extraits bruts des polysaccharides, sont effectuées à partir d'une gamme d'étalonnage comprise entre 0.01-0.1 g/l de glucose **(**Glc) et d'acide glucuronique (Glc A). La solution mère de glucose et d'acide glucuronique est à 0.01% que l'on va préparer à partir de 0.01 g de glucose ou d'acide glucuronique, additionné à 100 ml d'eau distillée pour chacun.

II.3.3.2.1.- Dosage des oses totaux

Le dosage des oses totaux est réalisé par la méthode de DUBOIS (1956) qui est un dosage colorimétrique.

II.3.3.2.1. 1.- Principe

Les oses simples, les oligosaccharides, les polysaccharides et leurs dérivés donnent une couleur jaune-orange lorsqu'ils sont traités avec du phénol et de l'acide sulfurique concentré. La réaction est sensible et de coloration stable (DUBOIS *et al*., 1956). Elle se base sur la formation des chromophores. L'acide sulfurique provoque l'hydrolyse des liaisons osidiques et une

tétradéshydratation suivie d'une cyclisation des monosaccharides libérés pour donner des dérivés furfuraliques et des dérivés d'acide 5 - formylfuroïque réagissant avec le phénol ce qui forme un complexe orange (BRIAN-JAISSON, 2014).

II.3.3.2.1. 2.- Mode opératoire

Il est mélangé dans des tubes 200 µl d'échantillon avec 200 µl de phénol et 1 ml d'acide sulfurique concentré. Les tubes sont incubés à 90°C pendant 5 min, puis ils sont laissés 30 min à température ambiante à l'abri de la lumière. L'Absorbance est mesurée à 492 nm (BRUDIEUX, 2007).

II.3.3.2.2.- Dosage des oses neutres et oses acides

Les oses neutres sont dosés par la méthode de MONSIGNY *et al*. (1988), tandis que le dosage des oses acides est réalisé selon la méthode de BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN (1973).

II.3.3.2.2.1.- Principe

Il repose sur la réaction d'un acide concentré comme l'acide sulfurique (H_2SO_4), par action à chaud, en formant des dérivés furfuraliques (DUBOIS *et al*., 1956). Ce dernier se condensent avec divers composés aromatiques, tel que le résorcinol (1,3- dihydroxybenzène) pour le dosage des oses neutres (MONSIGNY *et al*., 1988), et le méta-hydroxydiphényl (MHDP) pour le dosage des acides uroniques qui forment des composés de couleur rose-rouge absorbant à 540 nm (BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN, 1973).

II.3.3.2.2.1.1.- Dosage des oses neutres

Dans un tube à essai, 200 µl de résorcinol à 6 mg/ml et 1 ml d'acide sulfurique (98%), sont ajoutés à 200 µl de l'échantillon ou de l'étalon. Les tubes sont agités et mis pour chauffer à 90° C dans un bain Marie pendant 30 mn et ensuite placés dans un bain d'eau froide pendant 30 mn à l'obscurité. La densité optique de la solution est déterminée à 480 nm par un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU) (MONSIGNY *et al*., 1988).

II.3.3.2.2.1.2.- Dosage des acides uroniques (oses acides)

A 200 µl de l'échantillon ou de l'étalon, 1,2 ml de la solution de borax sont ajoutés. Les tubes sont réfrigérés dans de la glace pilée. Le mélange est agité et les tubes sont chauffés dans un bain marie à 100°C pendant 5 mn. Après refroidissement dans un bain d'eau-glace, 20 µl du réactif méta-hydroxydiphényl (MHDP) sont ajoutés. Après agitation pendant 5 mn, les mesures d'absorbance sont effectuées à 520 nm par un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU) (BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN, 1973).

II.3.4.- Caractérisation des polysaccharides

La caractérisation des polysaccharides est réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM)après hydrolyse acide des extraits bruts.

II.3.4.1.- Hydrolyse acide des extraits bruts

C'est une hydrolyse totale effectuée par l'acide trifluoroacétique (TFA). L'acide trifluoroacétique est utilisé à la place de l'acide sulfurique ou de l'acide chlorhydrique dans l'analyse des polysaccharides non cellulosiques. Il s'agit d'un acide de force similaire mais sa volatilité permet de l'éliminer par évaporation ou lyophilisation (MORRISON et STEWART, 1998).

II.3.4.1.1.- Principe

L'hydrolyse des polysaccharides par le TFA permet l'analyse de la composition en monosaccharides par CCM. Le TFA hydrolyse les liaisons glycosidiques sans causer des destructions massives des composants de monosaccharides résultants (MORRISON, 1988).

II.3.4.1.2.- Mode opératoire

Chacun des extraits polysaccharidiques obtenu (25 mg) est hydrolysé dans un tube de verre scellé avec 1ml d'une solution d'acide trifluoroacétique 2M (TFA) pendant 4h à 100°C (ATHUKORALA *et al*., 2006). Après l'obtention des hydrolysats, le TFA est co-évaporé avec du méthanol dans un dessiccateur sous vide jusqu'au séchage complet des hydrolysats dans des boites de Pétri. Après l'évaporation complète de TFA, les hydrolysats sont dissouts dans 1 ml d'eau distillée et conservés pour l'analyse par CCM (XU *et al*., 2008).

II.3.4.2.- Chromatographie sur couche mince (CCM)

C'est une technique chromatographique dont la phase mobile est un liquide. Elle est sensible et de faible cout (ROUESSAC et ROUESSAC, 2004).

II.3.4.2.1.- Principe

Elle se déroule en trois étapes essentielles qui sont le dépôt de l'échantillon, la migration sur la plaque et la mesure de la concentration. Son efficacité est due à la possibilité d'agir de manière précise sur la sélectivité entre les composés par le choix de la plaque et de la composition du système, c'est-à-dire en exploitant les interactions soluté/phase mobile/phase stationnaire (ROUESSAC et ROUESSAC, 2004).

II.3.4.2.2.- Mode opératoire

Les hydrolysats obtenus sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) sur des plaques de silice de type Silica gel 60 F 254 de 0.25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium. La gamme étalon utilisée est constituée d'arabinose, de galactose, de glucose, de mannose, de xylose et d'acide glucuronique. Il est dissout 20 mg de chaque étalon dans 20 ml d'eau distillée.

L'analyse chromatographique est réalisée avec deux phases mobiles représentées par deux systèmes différents. Le premier système est constitué de chloroforme, de n-butanol, de méthanol, d'eau et d'acide acétique dans un ratio de 4.5:12.5:5:1.5:1.5 (v/v) respectivement (YANG *et al*., 2010). Pour le deuxième système l'acétate d'éthyl, le méthanol, le n-butanol et l'eau sont mélangés dans un ratio de 16:3:3:1 (v/v) respectivement (GHEBREGZABEIER, *et al*., 1976).

La révélation des spots est réalisée par le réactif de Nigram qui est préparé en mélangeant deux solutions A et B. Pour la solution A, il est dissout 4 g de diphénylamine dans 100 ml d'acétone et pour la solution B, 96 ml d'acétone sont complétés jusqu'à 100 ml par l'aniline. Par la suite, 20 ml d'acide orthophosphorique sont ajoutés sur le mélange (PAULSEN *et al*., 2002). Le facteur de rétention de chaque spot (R_f) est calculé (GHEBREGZABEIER, *et al*., 1976).

II.3.5.- Activités biologiques des polysaccharides

Pour les activités biologiques des polysaccharides, sont testées l'activité antioxydante, l'activité anticoagulante et l'activité phagocytaire.

II.3.5.1.- Activité antioxydante

L'effet antioxydant d'une substance, présente en faible concentration comparée à celle d'un substrat oxydable, est de retarder ou de prévenir de manière significative l'oxydation de ce substrat (CAESAR, 2007). Les antioxydants peuvent réduire le stress oxydatif par la coupure de la réaction de la chaine oxydative (LIU *et al*., 2013).

La vitamine C ou l'acide ascorbique est probablement la plus effective et la moins toxique de tous les antioxydants solubles dans l'eau identifiée dans le système des mammifères (CAESAR, 2007). Pour mesurer l'activité antioxydante, trois tests sont réalisés en prenant l'acide ascorbique comme control positif (YUAN *et al*., 2015) à des concentrations variantes entre 0.01 - 0.1 g/l. Les échantillons (10 mg) sont dissous dans de l'eau distillée (10 ml) (WANG *et al*., 2014).

II.3.5.1.1.- Réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

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

II.3.5.1.1.1.- Principe

Le 1,1' diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517nm. En présence d'antioxydant, l'électron célibataire vient s'apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet (forme radicalaire DPPH·) au jaune (forme réduite DPPH-H). Cette décoloration représente donc la capacité d'échantillon à piéger ce radical (LEMAOUI, 2011).

II.3.5.1.1.2.- Mode opératoire

A chaque échantillon (0.1 ml) sont ajoutés 3.9 ml de solution DPPH (BIGLARI *et al*., 2008). Le mélange est agité et maintenu dans l'obscurité pendant 30 minutes et l'absorbance est mesurée à 517 nm par un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU) (HE *et al*., 2014). L'absorbance du control est de 1,107 nm. Le pourcentage de piégeage du radical est calculé suivant l'équation (LI *et al*., 2015; YUAN *et al*., 2015; KAN *et al*., 2015):

Le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH (%) = $\frac{A0 - A1}{A0} \times 100$

- A_0: absorbance du contrôle (vit c),
- A_1: absorbance de l'échantillon.

II.3.5.1.2.- Réduction du radical 2,2'-Azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonate) ($ABTS^+$)

C'est une méthode simple et pratique pour la détermination de la capacité antioxydante totale (SHAHIDI et ZHONG, 2015).

II.3.5.1.2.1.- Principe

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. Ce radical est utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron en donnant un composé incolore (NADAL, 2009).

II.3.5.1.2.2.- Mode opératoire

L'ABTS est dissout dans de l'eau distillée à une concentration finale de 7 mM et mélangé avec une solution de persulfate de potassium à une concentration finale de 2.45 mM. Le mélange réactionnel est laissé au repos à la température ambiante pendant 12-16 h dans l'obscurité avant utilisation. La solution d'$ABTS^+$vert-bleu est ensuite dilué avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0.700 ± 0.002 à 734 nm (SHI *et al*., 2013). A chaque échantillon (0.1 ml) sont

ajoutés 3.9 ml de solution $ABTS^+$ (BIGLARI *et al*., 2008). Le mélange est maintenu pendant 6 mn à la température ambiante, et l'absorbance est ensuite mesurée à 734 nm par un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU) (YUAN *et al*., 2015). L'absorbance du contrôle est de 0.706 nm (SHIMADZU).

Le pourcentage d'inhibition des radicaux $ABTS^+$ (%) $= \frac{A0 - A1}{A0} \times 100$(LI *et al*., 2015)

- A_0 : absorbance du contrôle (vit c),
- A_1 : absorbance de l'échantillon.

II.3.5.1.3.- Puissance de l'activité de la réduction ferrique (FRAP)

Le dosage du Ferric reducing antioxidant power (FRAP), est un procédé typique basé surle transfert d'électrons qui mesure la réduction du complexe de l'ion ferrique (Fe^{3+})–ligand en complexe de l'ion ferreux (Fe^{2+}) coloré en bleu intense par des antioxydants dans des milieux acides (SHAHIDI et ZHONG, 2015).

II.3.5.1.3.1.- Principe

La méthode de FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) à la couleur bleue-vert du fer ferreux (Fe^{2+}) (DJAHRA, 2014).

II.3.5.1.3.2.- Mode opératoire

Le réactif de FRAP frais est préparé avec l'acétate de sodium (300 mM/l, pH 3.6), le tripyridyltriazine (TPTZ) (10 mM/l à 40 mM/l HCl) et le $FeCl_3$ $6H_2O$ (20 mM/l) dans un ratio volumique de 10:1:1 (WANG *et al*., 2014). A chaque échantillon (0.15 ml), sont ajoutés 2.85 ml de solution FRAP (THAIPONG *et al*., 2006). L'absorbance est mesurée à 593 nm (JIANG *et al*., 2015).

L'activité antioxydante des fractions polysaccharidiques en équivalent de l'acide ascorbique est calculée selon TELLI (2009) par la formule suivante:

$$AA = \frac{A \times V \times F \times R}{\alpha \times P} \times 100$$

- AA: activité antioxydante en équivalent de l'acide ascorbique ;
- A: absorbance ;
- V: volume d'extraction;
- F: facteur de dilution;
- R: rendement d'extraction;
- α: pente de la courbe d'étalonnage;
- P: poids initial de la matière végétale.

II.3.5.2.- Activité anticoagulante

La coagulation correspond à une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la transformation par la thrombine du fibrinogène soluble en fibrine insoluble qui constitue l'armature du caillot. Ces réactions enzymatiques sont des protéolyses limitées qui convertissent des pro-enzymes en enzymes. Ce phénomène est localisé et régulé par un ensemble d'inhibiteurs physiologiques. Les dérèglements de ce système exposent à un risque de thrombose ou à un risque hémorragique (RICHARD, 2013).

Il existe deux voies d'activation de la coagulation, qui en pratique sont plus ou moins imbriquées:

- La voie endogène ou intrinsèque ne faisant intervenir que des facteurs plasmatiques, dont le premier est activé au contact du sous endothélium vasculaire,
- La voie exogène ou extrinsèque nécessitant le passage dans le sang d'un facteur tissulaire, libéré par la destruction des cellules endothéliales suite à une brèche (PONCELET, 2012).

L'activité anticoagulante des fractions est déterminée par le test TCA (temps de céphaline activé) et le test TQ (temps de Quick). Ils sont déterminés en utilisant du plasma humain normal citraté selon les spécifications du fabricant (BIOLABO SAS, France).

Les héparines constituent un véritable standard de l'arsenal antithrombotique. Ce sont les premiers anticoagulants naturels à avoir été découverts. Ils sont utilisés depuis plus de 70 ans (ELALAMY, 2010). Pour cette raison, le sodium héparine est utilisé comme contrôle positif.

II.3.5.2.1.- Temps de céphaline activé (TCA)

Le temps de céphaline activé (TCA), est un test global de la voie intrinsèque dont le nom anglais est activated partial thromboplastin time (aPTT). C'est le test de dépistage le plus utile pour détecter les déficiences en facteurs VIII, IX, XI et XII pour autant que le temps de prothrombine soit dans l'intervalle de référence (KITCHEN *et al*., 2011).

II.3.5.2.1.1.- Principe

Le test TCA permet la recalcification du plasma par le chlorure de calcium en présence d'une quantité de céphaline (substitut de plaquettes) et d'un activateur du facteur XII (kaolin). Le kaolin présent le double avantage à savoir une lecture aisée et un temps de lecture plus court (BIOLABO, 2012).

II.3.5.2.1.2.- Mode opératoire

Dans chaque tube, 90µl de plasma sont incubés avec 10 µl d'une solution de polysaccharides à 37°C pendant 2 min. Ensuite, 100 µl de réactif TCA sont ajoutés et incubés pendant 2 min à 37°C. Puis 100 µl de 0.25 M de $CaCl_2$ sont ajoutés aux mélanges (KARAKI *et al*., 2013).

II.3.5.2.2.- Temps de Quick (TQ)

Le temps de Quick (TQ) est un paramètre biologique explorant l'activité anticoagulante des facteurs I, II, V, VII et X (voie extrinsèque et voie finale commune) (RACHLINE, 2012).

II.3.5.2.2.1.- Principe

Le temps de Quick (TQ) correspond au temps mis par un plasma citraté pour coaguler en présence de thromboplastine calcique, réactif jouant un rôle d'activateur tissulaire de la coagulation (RACHLINE, 2012). Le temps de coagulation est déterminé à 37°C. Le temps de Quick ainsi mesuré pourra être converti en taux de prothrombine (TP) ou en International Normalized Ratio (INR) (BIOLABO, 2013).

II.3.5.2.2.2.- Mode opératoire

Pour le test TQ, 200µl de réactif de TP sont ajoutés au mélange incubé (90µl de plasma et 10 µl de solution polysaccharidique). Le temps de coagulation est enregistré en utilisant un coagulomètre du type Thrombotimer 1-channel. Les résultats des tests sont exprimées en temps (secondes) de coagulation à une concentration de 100µg de polysaccharide par 90µl de plasma (YOON *et al*., 2002).

II.3.5.3.- Activité stimulatrice de la phagocytose

La phagocytose est un processus biologique complexe induit par un certain nombre de mécanismes variables selon la nature du récepteur impliqué dans la signalisation (BEN M'BAREK, 2015). Elle se définit par l'internalisation de matériel extracellulaire dans des vésicules qui sont transférées dans le cytosol (MADORE, 2013). Le processus de phagocytose tel que définit aujourd'hui est caractérisé par trois étapes principales. Premièrement, la phase d'adhésion qui s'effectue grâce à des récepteurs des micro-organismes étrangers ou de cellules sénescentes présentes à la surface du macrophage, ou par l'intermédiaire des récepteurs aux opsonines. La deuxième phase c'est la phase d'internalisation ou ingestion qui aboutit à la formation du phagosome. Enfin, la phase de dégradation par divers enzymes qui s'accumulent dans le phagosome suite à sa fusion avec les lysosomes (BEN M'BAREK, 2015).

II.3.5.3.1.- Principe

Le test de phagocytose est basé sur l'activation des cellules phagocytaires par les polysaccharides. Cette expérience est utilisée pour déterminer l'augmentation des activités phagocytaires des leucocytes à ingérer les levures de *Candida albicans* après stimulation par les extraits polysaccharidiques (HARUN et *al*., 2015).

II.3.5.3.2.- Processus

Les différentes étapes de la réalisation des processus expérimentaux de l'activité stimulatrice de la phagocytose seront énumérées.

II.3.5.3.2.1.- Prélèvement de sang

Dans des conditions aseptiques, les échantillons de sangs veineux de volontaires sains, sont recueillis dans des tubes héparinés (MAQBOOL *et al*., 2011).

II.3.5.3.2.2.- Préparation de *Candida albicans*

C. albicans est inoculé dans un milieu liquide de Sabouraud à partir d'une culture mère maintenu sur la gélose inclinée (milieu de Sabouraud). Puis la culture est laissée pendent une nuit à 30°C. La culture est centrifugée à 400 g pendant 10 mn (GHONEUM et GOLLAPUDI, 2004) par une centrifugeuse de type TDZ4-WS.

Le culot est lavé deux fois avec le tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) stérile (TAVANTI *et al*., 2006) et centrifugé à 460 g à 4°C pendant 10 mn, puis incubé pendant 1 h à 90°C pour tuer les *C. albicans* (GHONEUM et GOLLAPUDI, 2004). Les levures mortes sont laver deux fois dans le PBS et centrifugé (RAGSDALE et GRASSO, 1989).

La concentration de cellules dans le PBS (Phosphate Buffered Saline) est estimée par mesure de la densité optique à 540 nm avec un spectrophotomètre de type UV mini -1240 (SHIMADZU). La densité optique est ajustée à 1 qui correspond approximativement à 1 x 10^7 blastoconidies de *C. albicans*/ml (TAVANTI *et al*., 2006; GHONEUM et GOLLAPUDI, 2004).

II.3.5.3.2.3.- Préparation de zymosan

Le zymosan est un dérivé de la membrane des cellules de *Saccharomyces cerevisiae*. Il s'agit d'un complexe de protéines et de glucides notamment du β-D glucane, un β-glucane constitué de résidus glucose liés par des liaisons glycosidiques β (1→3)- (SATO *et al*., 2003).

EDVARD *et al.* (1978) ont utilisés le zymosan comme control positif dans l'activité phagocytaire dont les concentrations varient de 50 à 200 µg/ml. Ils ont montré que l'effet stimulant maximal est obtenu à 50 µg/ml.

Dix (10) milligrammes de zymosan sont ajoutés aux 10 ml de solution de HANKS pour avoir une concentration de 0,1%.

II.3.5.3.2.4.- Exploration de phagocytose et récupération des cellules phagocytaires

Vingt (20) microlitres des extraits polysaccharidiques sont mélangés avec 100µl du sang hépariné et incubé dans un bain Marie type TEGIMENTA COBAS EIA fermé avec agitation (60 rpm) à 37°C pendant 30mn. Puis, les tubes sont mis dans de la glace pour arrêter la réaction

(HARUN *et al*., 2015). Les cellules stimulées sont lavées deux fois par le Phosphate Buffered Saline (PBS) (CHEN *et al.*, 2015) à 4°C et centrifugé (250g, 5mn, 4°C) (ROSSI *et al*., 2013) par un centrifugeuse de type TDZ4-WS.

Vingt (20) microlitres de solution de *C. albicans* sont ajoutés au mélange des échantillons à 0°C. Les échantillons sont incubés dans un bain Marie avec agitation à 37°C pendant 10min. Tandis que pour le contrôle négatif les échantillons sont placés de la glace.

Après incubation, la phagocytose est arrêté par l'addition de2 ml de PBS froide et les cellules sont ensuite lavées trois fois par le PBS froide (CHENA *et al*., 2014).

Après lavage, les érythrocytes sont lysées par 2ml de solution de lyse pour obtenir une population de granulocytes pures. La lyse des globules rouges est effectuée une fois pour pendant 20 secondes strictement contrôlés en utilisant un chronomètre. Le processus de lyse est arrêté en utilisant un tampon de Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) et centrifugé pendant 10mn à 400g (MAQBOOL *et al.*, 2011) par un centrifugeuse de type TDZ4-WS.

Les échantillons sont ensuite lavés deux fois par 3ml d'une solution de lavage (PBS) (HARUN *et al*., 2015). La suspension de cellules est étalée sur des lames de verre (CHO *et al.*, 2015).

II.3.5.3.2.5.- Préparation des frottis sur lame

La confection du frottis sanguin consiste à étaler une goutte de sang sur une lame de verre (DESCHENES DION *et al*., 2001). Dans le frottis, un prélèvement par une ponction veineuse est réalisé dans un tube contenant un anticoagulant, et une préparation de la lame d'examen (LAGNIKA, 2005). La fixation des cellules étalées est faite en versant quelques gouttes de méthanol sur la lame pour 2mn (NORUM *et al*., 2005). La coloration des frottis se fait au Giemsa qui teinte le cytoplasme en bleu et le noyau en rouge (DIALLO, 2004). Les lames (frottis) correspondantes à chaque dilution sont observées au microscope optique de type MC50LED (MICROS) avec un objectif à immersion x100 (LAGNIKA, 2005).

II.3.5.3.2.6.-Coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG)

Une coloration adéquate est garante d'une bonne différenciation des éléments cellulaires et de l'exactitude du résultat. La coloration de May-Grünwald-Giemsa est l'une des colorations hématologiques de base (DION *et al*., 2001).

II.3.5.3.2.6.1.- Principe

La coloration typique des noyaux principalement en rouge violet, repose sur l'interaction entre l'éosine G et un complexe ADN azur B. Les deux colorants forment un complexe. L'intensité de la coloration dépend de la teneur en azur B et du rapport azur B-éosine G. Le résultat de la coloration peut être influencé par divers facteurs comme le pH de la solution et de la solution tampon, les substances tampons, le temps de coloration et de fixation (MERCK, 2008).

II.3.5.3.2.6.2.- Processus de coloration

- Recouvrir le frottis avec 1ml de solution de May-Grünwald pendant 3min,
- Mélanger avec 1ml de solution tampon et colorer pendant 3 à 5min,
- Recouvrir avec la solution de Giemsa diluée, colorer pendant 15 à 20min,
- Rincer avec une solution tampon,
- Sécher le frottis (MERCK, 2008).

II.3.5.3.2.7.- Calcul de la capacité phagocytaire

Une centaine de cellules adhérentes sont comptés pour déterminer le pourcentage de la phagocytose à l'aide d'un microscope optique. Les valeurs de phagocytoses représentent le pourcentage de cellules qui contiennent des particules zymosan ou de levure intériorisés (POPOV *et al.,* 1999, NOSE *et al.,* 1997, ABID *et al.,* 2012).

La capacité phagocytaire est représentée comme suit:

$$\text{CP (\%)} = \frac{\text{Nombre de cellules ingérées}}{\text{Nombre totale}} \times 100$$

- CP: Capacité de phagocytose;
- Nombre de cellules ingérées: les macrophages phagocytaires de levures ou zymosan;
- Nombre total: les macrophages choisis pour le calcul.

II.3.5.3.2.8.- Calcul de l'activité phagocytaire

Après calcul du degré de phagocytose du contrôle positif, des polysaccharides et du contrôle normal. L'activité phagocytaire des polysaccharides et celle du contrôle positif (zymosan) est calculé selon STEVEN *et* al. (1984) comme suit:

$$PA\% = CP_{test}\% - CP_{blanc}\%$$

- PA%: activité phagocytaire catalysé par les polysaccharides et du contrôle positif,
- CP_{test} % : capacité de phagocytose en présence des polysaccharides ou bien le contrôle positif,
- CP_{blanc} % : capacité de phagocytose en absence des polysaccharides ou bien le contrôle positif.

II.4.- Analyse statistique

Le logiciel R est utilisé pour les différentes analyses statistiques (KAGIMURA *et al*., 2015). La normalité des données est confirmée par le test de SHAPIRO-WILK. Afin d'affirmer la signification des différences existants entre les données, le test paramétrique ANOVA suivi par le test de Tukey sont impliqués pour les données normales (KAGIMURA *et al*., 2015) tandis que le test non paramétrique KRUSKAL-WALLIS est appliqué pour les données anormales. Les corrélations qui peuvent se présenter entre les différentes concentrations et les activités biologiques, sont aussi évaluées par le logiciel R.

Chapitre III

Résultats et discussion

Au vu des résultats, huit fractions sont obtenues après extraction des polysaccharides des deux espèces végétales investies. Pour *Astragalus gombo*, il est noté cinq fractions dont deux fractions de polysaccharides hydrosolubles et trois fractions de polysaccharides alcali-solubles. Il s'agit d'une fraction hydrosoluble des graines (FHR), une fraction hydrosoluble des gousses (FHG), une première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH (FAD_1), une deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH (FAD_2) et une fraction alcali-soluble forte à 4M KOH (FAF). Seulement trois fraction sont obtenues chez *Cistanche violacea*, après extraction (une fraction hydrosoluble et deux fractions alcali-solubles). Ses fractions se répartissent en une fraction hydrosoluble des bulbes (FHB), une fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH (FAD*) et une fraction alcali-soluble forte à 4M KOH (FAF*).

III.1.- Rendements d'extraction

Pour les lipides après extraction à l'éther de pétrole des graines et des gousses d'*A. gombo*et par l'acétate d'éthyl des bulbes de *C. violacea*, il apparaît que le rendement de l'extrait lipidique obtenu pour les graines d'*A. gombo* (3,5%) est supérieur à ceux des bulbes de *C. violacea* (0.65%) et des gousses d'*A. gombo* (0.4%) (fig. 19). Les graines d'*A. gombo*renferment plus de lipides que les bulbes de *C. violacea* et les gousses d'*A. gombo*. BOUAL *et al*. (2014), rapportent un rendement de 1.29 ± 0.09% pour les graines d'*A. armatus*en utilisant un mélange (volume-volume) d'hexane (96%) et de méthanol (99%) comme solvant extracteur. De même, un rendement de 10g/kg (0.01%) de lipides totaux pour *C. phelypaea* est signalé par RAMADAN *et al*. (2010) avec l'éther de pétrole à 60-80°C, comme solvant.

Après extractions des polysaccharides bruts d'*A. gombo*, cinq fractions sont obtenues avec des rendements variant entre 0.32% et 12.77%. Ils sont par rapport à la matière sèche de 12.77% pour FHR, 2.05% pour 0.32% pour FAD_1, 1% pour FAD_2 et 3.6% pour FAF. Parallèlement, les rendements des trois fractions de *C. violacea* varient entre 8.4% et 14.1%. Il apparaît que les fractions FHB, FAD* et FAF* ont les rendements de 1.26%, 14.1% et 8.4% par rapport à la matière sèche (fig. 20). Les bulbes de *C. violacea* avec des rendements cumulés de 23.76% renferment plus de polysaccharides bruts qu'*A. gombo* pour les graines (12.77%) et les gousses (6.97%). Toutefois, il est noté une variété de polysaccharides bruts, plus remarqué pour les gousses d'*A. gombo* (4 fractions) que pour les bulbes *C. violacea* (3 fractions).

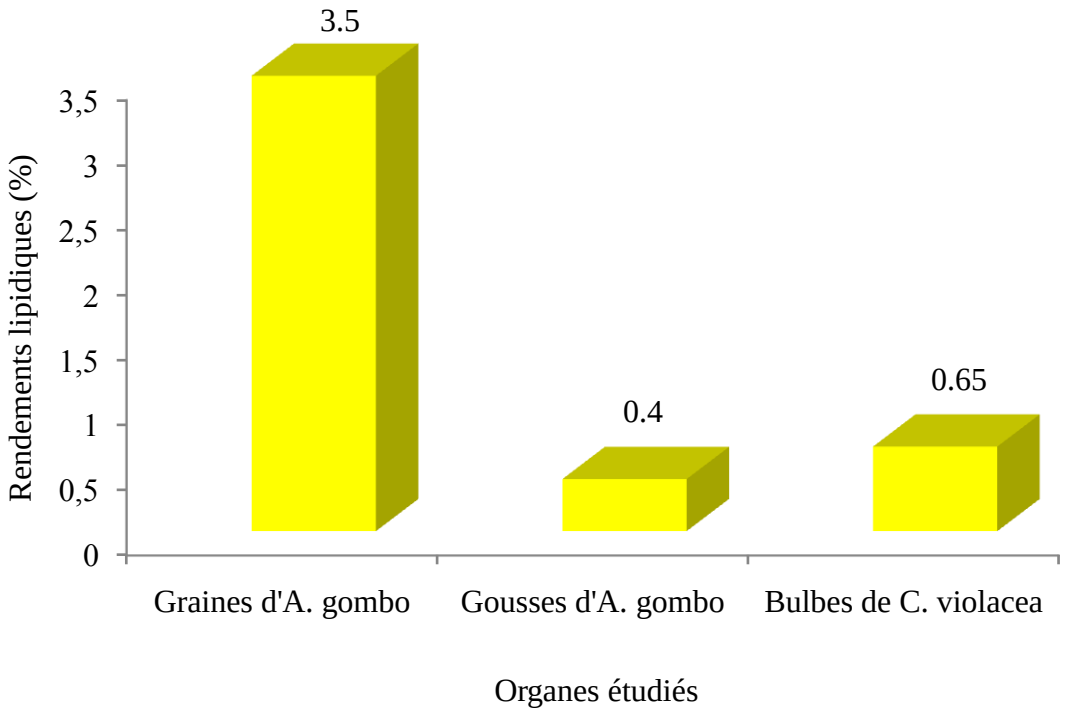


Figure 19.- Rendements lipidiques à partir des organes étudiés d'*A. gombo* et de *C. violacea*

Il est bien établi que les graines de diverses plantes, y compris les espèces du genre Astragalus, contiennent des classes spécifiques de polysaccharides qui jouent le rôle de réserves énergétiques (KODIRALIEVA et RAKHMANBERDYEVA, 2011). Les réserves serviront à la germination et à la croissance primaire de la plantule avant le déclenchement de la photosynthèse (BARIKISSOU, 2012).

ZHANG *et al.* (2011) signalent un rendement de 10.73% d'un extrait d'hétéro-polysaccharides à partir d'*A. mongholicus*.NUI *et al*. (2011) ont remarqué un rendement de 8.81±0.17% par rapport à la matière sèche à partir des racines d'*A. membranaceus*. LI *et al.* (2009) rapportent un rendement de 8.34% de polysaccharides hydrosolubles par rapport à la matière fraiche des racines chez d'*Astragalus sp.*tandis que KIYOHARA *et al*. (2010) notent un rendement de 1.78% d'un extrait de polysaccharides hydrosolubles de la partie aérienne d'*A. mongholicus.* Un rendement d'extrait de polysaccharides de 2% est obtenu pour les racines d'*A. membranaceus* (LIU *et al.*,2010). LI et ZHANG (2009) rapportent un rendement de 0.67% de polysaccharides hydrosolubles bruts par rapport à la matière fraiche des racines d'*A. membranaceus*. BOUAL *et al*. (2014) ont obtenu un rendement de polysaccharides hydrosolubles de 4.21% par rapport à la matière sèche des graines d'*A. armatus*.

Un rendement de 1.8% est rapporté par WU et TU (2006) pour des polysaccharides alcali-solubles de *C. diserticola,* tandis qu'un rendement de 25.3% est signalé par

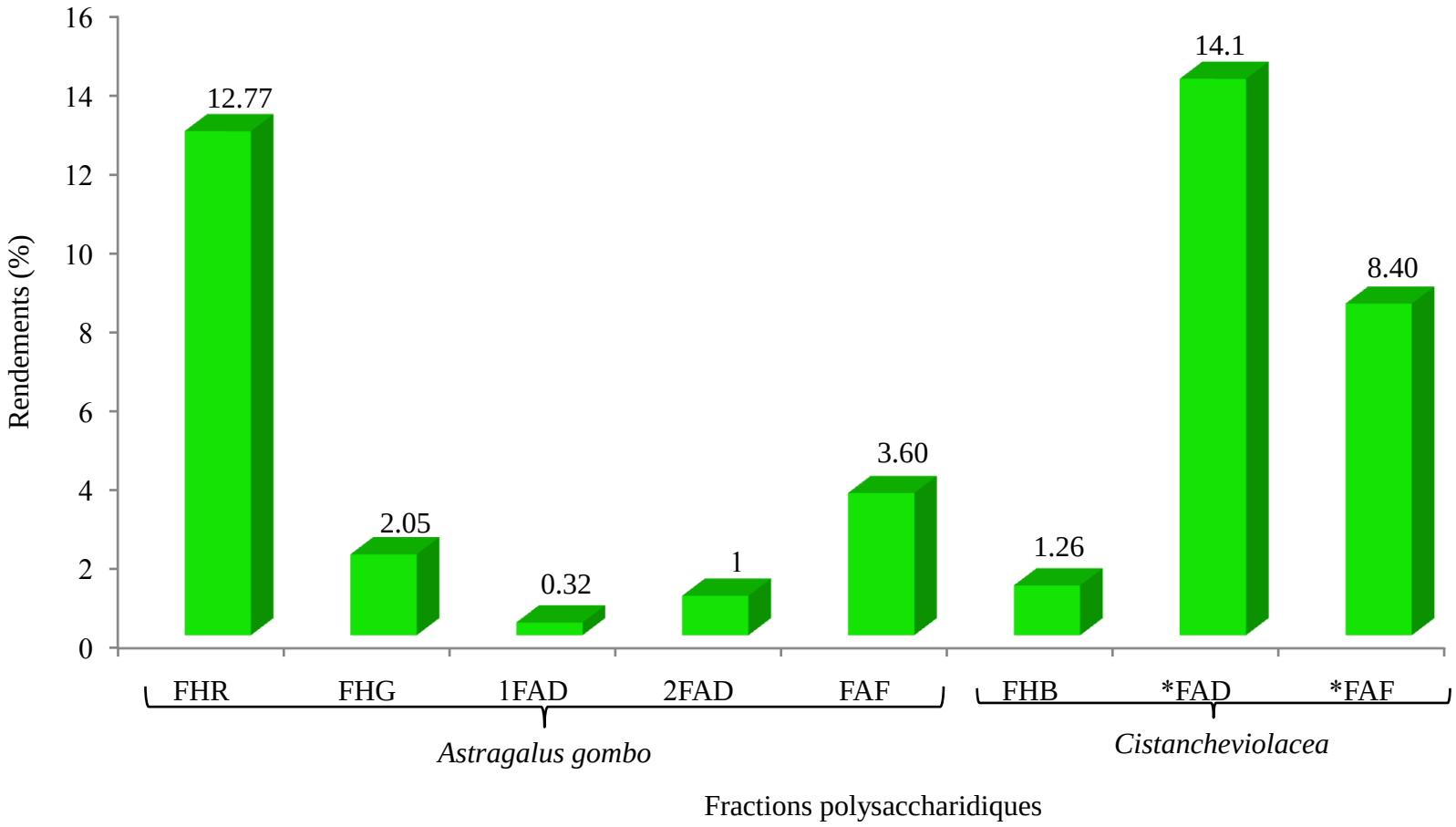


Figure 20.- Rendements des différents extraits de polysaccharides bruts d'*A. gombo* et de *C. violacea*

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses.FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses.FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

EBRINGEROVÁ *et al*. (1997) par rapport à la matière sèche pour l'extraction des polysaccharides hydrosolubles chez *C. diserticola.* DONG *et al*. (2007) notent un rendement de 1.63% par rapport à la matière sèche de polysaccharides hydrosolubles chez *C. diserticola*. Un rendement de 2.1% de polysaccharides hydrosolubles chez *C. diserticola,* est obtenu (WU *et al*., 2005).

III.2.- Composition des extraits bruts des polysaccharides

Après la série de dosages colorimétriques, les concentrations d'oses totaux, d'oses neutres, d'oses uroniques et des protéines sont évaluées (fig. 21).

Il est noté que les teneurs en protéines évaluées par la méthode de BRADFORD sont inférieures à celles obtenues par la méthode de LOWRY, ce qui confirme l'interférence des différentes molécules comme les ions potassium, magnésium, les glucides, etc. (BRADFORD, 1976).

La fraction de polysaccharides hydrosolubles des graines d'*A. gombo*(FHR) renferme 51.28% d'oses totaux, 44.17% d'oses neutres, 6.25% d'oses acides et 4.25% de protéines. Pour la fraction de polysaccharides hydrosolubles des gousses d'*A. gombo* (FHG), des taux de 63.57% d'oses totaux, 40.89% d'oses neutres, 20.96% d'oses acides et 4.98% de protéines sont obtenus. La première fraction polysaccharidique alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses d'*A. gombo*(FAD_1) se compose de 38.28% d'oses totaux, de 16% d'oses neutres, 21.37% d'oses acides et de 2.87% de protéines. Pour la deuxième fraction polysaccharidique alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses (FAD_2), il est noté 81.18% d'oses totaux, 42.83% d'oses neutres, 37.12% d'oses acides et 1.5% de protéines. La fraction polysaccharidique alcali-soluble fort à 4M KOH des gousses (FAF) renferme 74.14% d'oses totaux, 57.67% d'oses neutres, 13.62% d'oses acides et 8.6% de protéines. Il est remarqué que les fractions polysaccharidiques hydrosolubles et alcali-solubles des gousses présentent des pourcentages relativement élevés en oses acides, dont FHG (20.96%), FAD1 (21.37%), FAD2 (37.12%) et FAF (13.62%).

La fraction de polysaccharides hydrosolubles des bulbes de *C. violacea* (FHB) se compose de 69% d'oses totaux, de 63.92% d'oses neutres, de 7.67% d'oses acides et de 5.52% de protéines. Dans la fraction de polysaccharides alcali-solubles douce à 0.5M KOH des bulbes (FAD*), sont signalés des taux de 89.25% d'oses totaux, de 75.3% d'oses neutres, de 17.22% d'oses acides et de 6.92% de protéines. Pour la fraction de polysaccharides alcali-solubles forts à

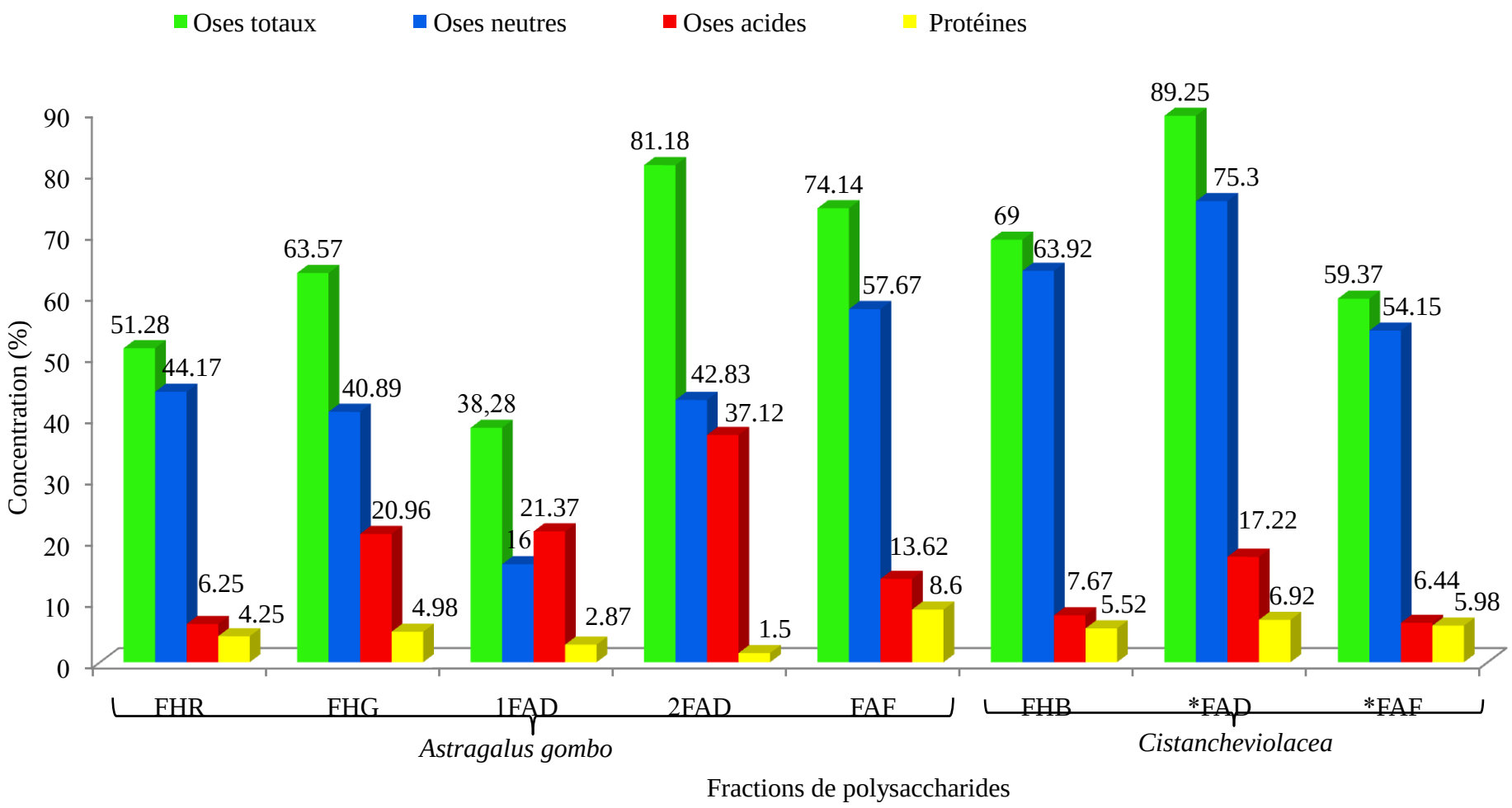


Figure 21.- Composition des extraits bruts de polysaccharides d'*A. gombo*et de *C. violacea*

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses.FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

4M KOH des bulbes (FAF*), les taux de 59.37% d'oses totaux, de 54.15% d'oses neutres, de 6.44% d'oses acides et de 5.98% de protéines sont obtenus.

Un taux de glucides de 95-96.6% est noté dans un extrait aqueux de racines d'*Astragalus membranaceus* avec un taux négligeable de protéines et d'acides nucléiques (ZHANG *et al*., 2007; LI et ZHANG, 2009; MAO *et al*., 2009). Un taux de protéines de 1.10 ± 0.11% est signalé par NUI *et al*. (2011) pour des polysaccharides de racines d'*A.membranaceus.* BOUAL *et al*. (2014) rapportent pour *A. armatus* un taux d'oses neutres de 83.42 ± 1.29 et un taux de protéines de 1.96 ± 0.78 mais un taux négligeable d'oses acides.

DONG *et al*. (2007) ont rapporté des taux de 49.6% d'oses neutres, de 6.3% d'oses acides et de 44% de protéines au niveau de polysaccharides hydrosolubles de racines de *C. deserticola.* Par contre, WU *et al.* (2005) ont constaté 96% d'oses totaux et 3.2% de protéines. EBRINGEROVÁ *et al*. (1997) en analysant trois fractions de polysaccharides pectiques, signalent des taux de protéines compris entre 5.6 et17.5% avec des taux en oses acides variant entre 32.3-79.2%.

III.3.- Caractérisation qualitative des polysaccharides

Les différentes fractions de polysaccarides bruts obtenues, sont caractérisées partiellement après hydrolyse acide avec le TFA suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Après la migration des fractions hydrolysées sur plaques de CCM en appliquant deux systèmes différents, plusieurs taches avec des rapports frontaux (R_f) différents, sont obtenues et identifiées par les monosaccharides étalons à savoir l'arabinose, le galactse, le glucose, le mannose, la xylose et l'acide glucuronique (fig. 22 et 23).

III.3.1.- Caractérisation qualitative des polysaccharides d'*A. gombo*

Après hydrolyse, la séparation de la fraction FHR par le système 1 a permis d'observer six taches avec des R_f allant de 0.03, 0.08, 0.19, 0.34, 0.50 à 0.52. Les taches semblent homologues à l'acide glucuronique (0.19), au glucose (0.50) et à l'arabinose ou le mannose (0.52), mais les trois autres taches de R_f 0.03, 0.08 et 0.34 ne sont pas identifiées. Pour le système 2, il est seulement noté quatre taches de R_f 0.02, 0.29, 0.38 et 0.43. Les taches semblent correspondre au mannose (0.43), au glucose (0.38), à l'acide glucuronique (0.02), mais la tache de R_f 0.19 reste indéterminée. Le système 1 présent plus de tache comparativement au système 2.

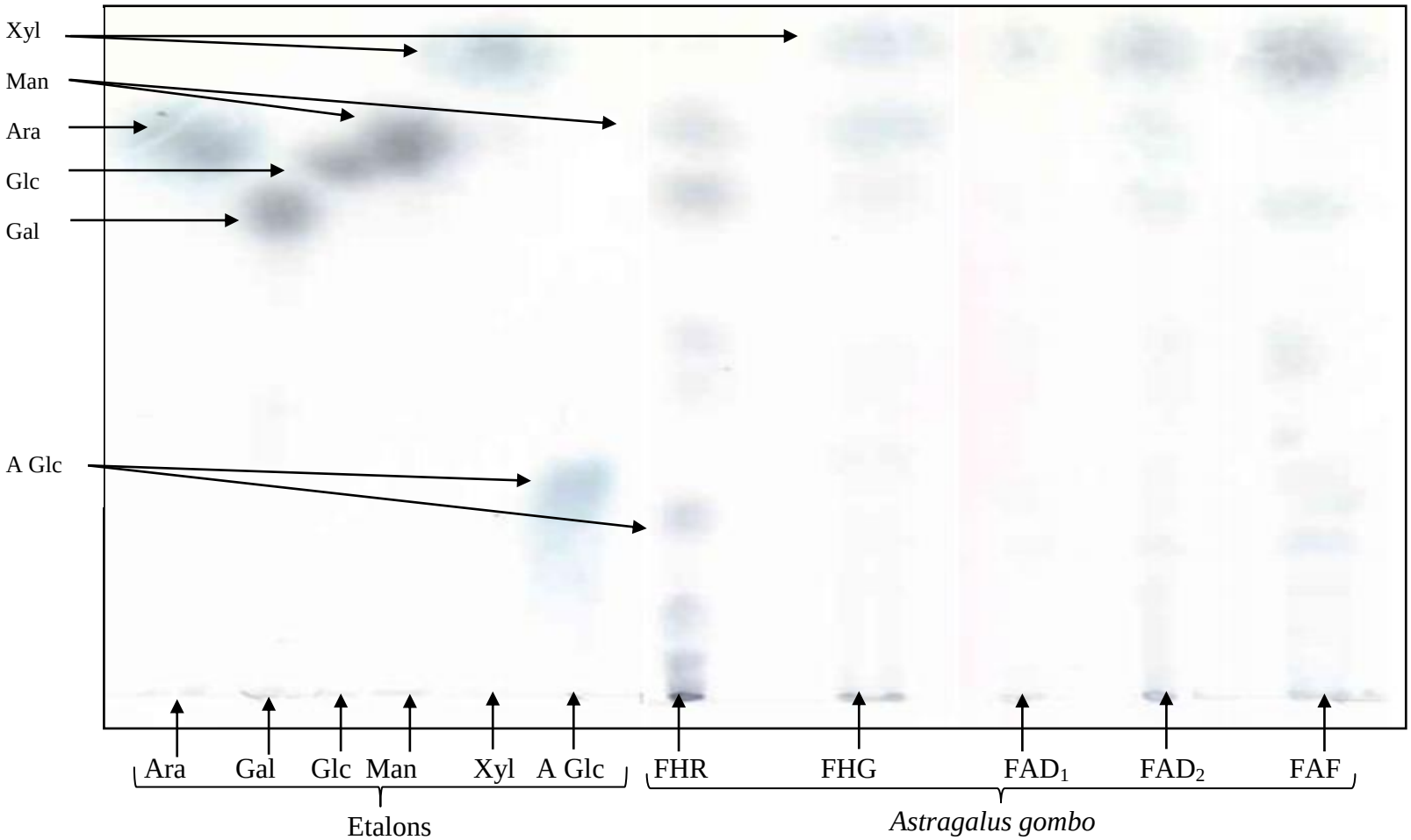


Figure22.-Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d'*A. gombo*[(système 1:chloroforme: n-butanol: méthanol: eau et d'acide acétique, 4.5/12.5/5/1.5/1.5 (v/v)]

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses.FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes. Ara: arabinose. Gal: galactose. Glc: glucose. Man: mannose. Xyl: xylose. A Glc: acide glucuronique.

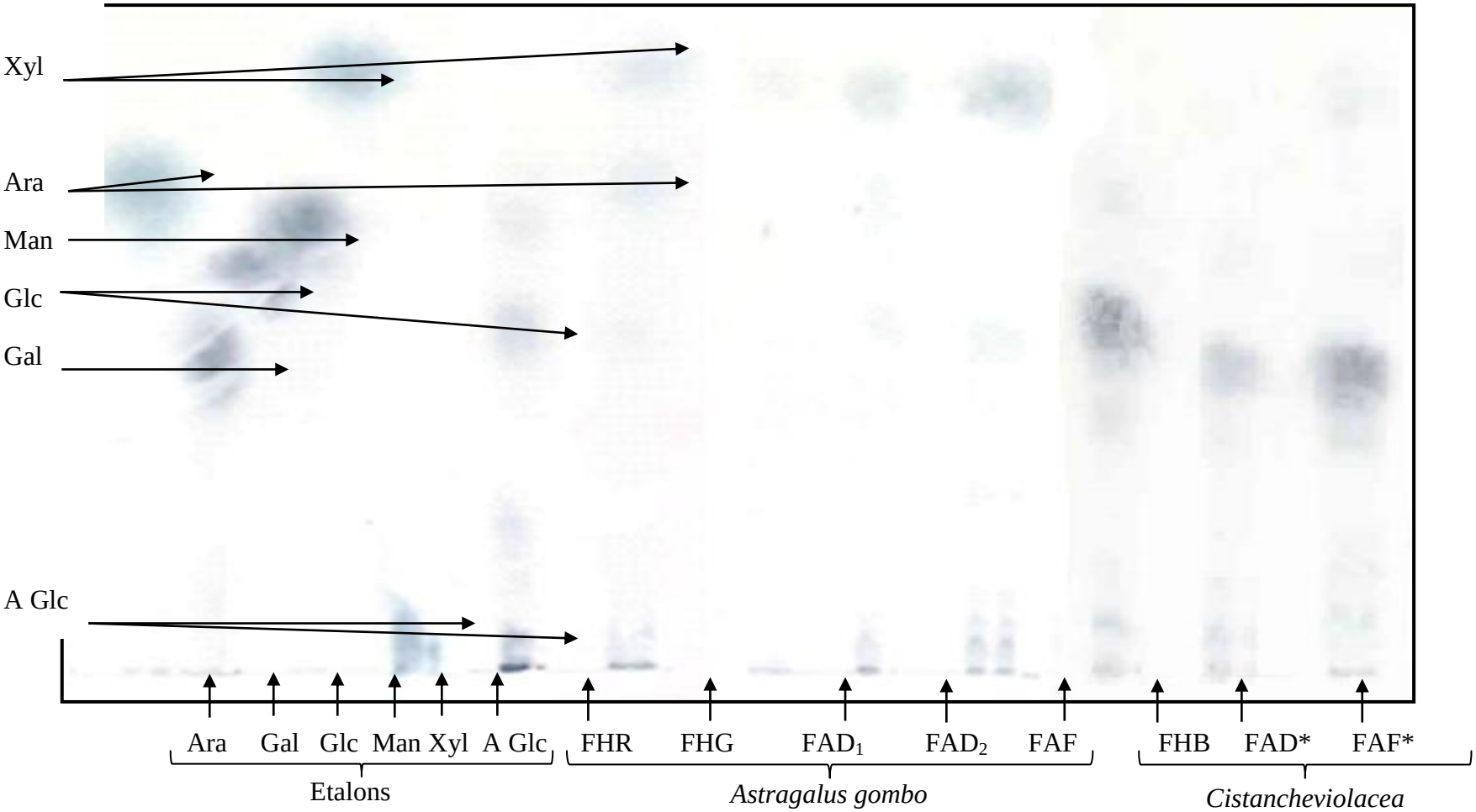


Figure 23.-Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea*
[(système 2:Acétate d'éthyl: méthanol: n-butanol: eau 16: 3: 3: 1 (v/v)]

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses.FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes. Ara: arabinose. Gal: galactose. Glc: glucose. Man: mannose. Xyl: xylose. A Glc: acide glucuronique.

Toutefois, avec le système 2, il y a l'avantage de distinguer les taches représentées par l'arabinose, le mannose. En conséquence, la fraction FHR des graines d'*A. gombo,* semble être constituée de l'acide glucuronique, du glucose et du mannose.

La fraction FHG des gousses d'*A. gombo*hydrolysée présente deux taches de R_f 0.50 et 0.52 correspondantes à l'arabinose ou le mannose (0.52) et au glucose (0.50) par le système 1. Par contre, le système 2 a permis de visualiser quatre taches de R_f 0.02, 0.38, 0.46, et 0.57 correspondantes à l'acide glucuronique (0.02), au glucose (0.38), à l'arabinose (0.46) et au xylose (0.57). Le système 2 a permis de déterminer plus de taches que le système 1. La fraction FHG des gousses d'*A. gombo* semble être composée d'acide glucuronique, de glucose, d'arabinose et de xylose.

Les deux systèmes n'ont montré d'une seule tache chacun pour la FAD_1des gousses d'*A. gombo*hydrolysée de R_f0.60 et 0.57. Les deux taches correspondent au xylose (0.60) pour le système 1 et pour le système 2 (0.57). La fraction FAD_1des gousses d'*A. gombo*est probablement formée de xylose.

FAD_2 hydrolysé a permis d'observer six taches par le système 1 de R_f0.15, 0.19, 0.34, 0.45, 0.52, et 0.60. Les quatre taches correspondent à l'acide glucuronique (0.19), au galactose (0.45), à l'arabinose ou au mannose (0.52) et au xylose (0.60). Les deux autres taches avec des R_f 0.15 et 0.34, ne sont pas identifiées. Le système 2 présente quatre taches de R_f 0.02, 0.30, 0.46 et 0.57 qui correspondent à l'acide glucuronique (0.02), au galactose (0.30), à l'arabinose (0.46) et au xylose (0.57). Le système 1 présent plus de tache que le système 2. Le système 2 présente l'avantage de distinguer la tache de l'arabinose de la tache du mannose. En conséquence, la fraction FAD_2 des gousses d'*A. gombo*semble être constituée de l'acide glucuronique, du galactose, de l'arabinose et du xylose.

Pour FAF des gousses d'*A. gombo,* cinq taches sont remarquées avec le système 1, de R_f0.15, 0.19, 0.34, 0.45, et 0.60. Les trois taches correspondent à l'acide glucuronique (0.19), le galactose (0.45) et le xylose (0.60) et deux taches (0.15 et 0.34) restent non identifiées. Le système 2 a présenté cinq taches de R_f 0.03, 0.02, 0.05, 0.30 et 0.57 dont trois correspondent à l'acide glucuronique (0.02), le galactose (0.30), le xylose (0.57) et deux taches non déterminées de R_f 0.03, 0.05. Pour cette fraction (FAF) les deux systèmes ont montré des résultats semblables. La fraction FAF des gousses d'*A. gombo*semble être composée de l'acide glucuronique, du galactose et du xylose.

YAN *et al*. (2010) ont constaté la présence d'arabinose, de mannose, de glucose et de galactose dans une fraction polysaccharidique extrait des racines d'*A. mongholicus*de même qu'un hétéropolysaccharide constitué principalement de galactose, d'arabinose et du glucose déterminé par ZHANG *et al*. (2011). Sur la même espèce végétale (*A. mongholicus*) KIYOHARA *et al*. (2010) ont isolé 13 polysaccharides dont un arabinogalactane et un rhamnogalacturonane.

Plusieurs études sont effectuées sur les polysaccharides des racines d'*A. membranaceus.* Un polysaccharide hydrosoluble est caractérisé comme un α-D-glucane (LI *et al*., 2007; LI et ZHANG, 2009; NUI *et al*., 2011). Quatre espèces polysaccharidiques sont identifiées chez *A. membranaceus* à savoir un α-glucane, un arabinogalactane, un rhamnogalacturonane et un arabinogalactane-protéine (YUAN *et al*., 2008; LUI *et al*., 2011). Trois sous-types de polysaccharides d'un extrait d'*A. membranaceus,* sont présentés par un polysaccharide formé de D-glucose, D-galactose et L-arabinose, avec deux autres polysaccharides identifiés comme dextranes (MAO *et al*., 2007; MAO *et al*., 2009; LUI *et al.*, 2010). SUN *et al.* (2008) ont présenté un polysaccharide hydrosoluble d'*A. membranaceus* constitué de glucose, de galactose, d'arabinose et de xylose. SHAO *et al*. (2004) ont trouvé du rhamnose, du xylose, du glucose, du galactose, du mannose et du fructose en temps que monosaccharides constitutifs d'un polysaccharide hydrosoluble d'*A. membranaceus*.

Radix Astragali est un remède de la médicine traditionnel chinoise largement utilisé comme traitement contre les maladies rénales différentes. C'est un mélange de racines sèches entre *Astrugalus membrunaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao et *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. Il présente deux polysaccharides dont l'arabinose et le glucose pour le premier, le rhamnose, l'arabinose et le glucose pour le deuxième sont les oses constitutifs (XU *et al*., 2008).

Astragalus armatus Lam. est une plante spontanée du Nord du Sahara algérien. Elle est utilisée traditionnellement dans le traitement contre plusieurs maladies dont les problèmes d'estomac, la douleur, la fièvre, la constipation et les blessures. Un galactomananne est obtenu à partir des graines d'*A. armatus* par BOUAL *et al*. (2014).

III.3.2.- Caractérisation qualitative des polysaccharides de *C. violacea*

Après hydrolyse de FHB des bulbes de *C. violavea*, six taches sont observées par le système 2, de R_f 0.005, 0.02, 0.06, 0.30, 0.38 et 0.46. Les quatre taches correspondent à l'acide

glucuronique (0.02), au galactose (0.30), au glucose (0.38), à l'arabinose (0.46), et deux taches inconnues de R_f 0.005 et 0.06. En conséquence, la fraction FHB semble être formée de l'acide glucuronique, du galactose, du glucose et l'arabinose.

FAD* des bulbes de *C. violavea* hydrolysé, présente six taches par le système 2 de R_f 0.005, 0.02, 0.06, 0.30, 0.38 et 0.43. Les quatre taches correspondent à l'acide glucuronique (0.02), au galactose (0.30), au glucose (0.38), au mannose (0.43), et deux taches inconnues de R_f 0.005et 0.06. La FAD* renferme de l'acide glucuronique, du galactose, du glucose et du mannose.

Pour l'analyse qualitative de la FAF* hydrolysée et fractionnée par le système 2, six taches de R_f 0.01, 0.08, 0.30, 0.38, 0.43 et 0.57 sont visualisées dont quatre taches correspondantes au galactose (0.30), au glucose (0.38), au mannose (0.43) et au xylose (0.57) avec deux autres taches non déterminées de R_f 0.01 et 0.08. La FAF* est probablement constituée de galactose, de glucose, de mannose et de xylose.

Les polysaccharides de *C. deserticola* représente les seuls étudiés dans le genre Cistanche (JIANG et TU, 2009). Le glucose, le galactose, le mannose, l'arabinose, le xylose, le rhamnose et l'acide galacturonique sont les constituants des trois fractions polysaccharidiques pectiques isolées par EBRINGEROVÁ *et al*. (1997) à partir de *C. deserticola*, de même WU et TU (2005) ont isolé un α-glucane. L'arabinose, le galactose, le glucose et une trace de rhamnose sont trouvés dans une fraction polysaccharidique par WU *et al*. (2005) chez la même espèce (*C. deserticola*). DONG *et al*. (2007) ont constaté à partir de *C. deserticola* la présence de plusieurs fractions polysaccharidiques composées de rhamnose, d'arabinose, de xylose, de galactose, et de glucose.

III.4.- Activités biologiques des extraits polysaccharidiques

Les potentialités biologiques des fractions des bulbes de *C. violavea*, des graines et des gousses d'*A. gombo* de polysaccharides bruts obtenues sont évaluées par l'activité antioxydante dont le test DPPH, ABTS et FRAP par l'activité anticoagulante avec le test TCA et le test TP et par l'activité stimulatrice de la phagocytose.

III.4.1.- Activité antioxydante

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH du contrôle représenté par l'acide ascorbique à une concentration molaire de 568µmol/l (0.1 g/l) est égal à 20.61%. En outre, le

pourcentage d'inhibition du radical DPPH est dans l'ordre de 33.1% pour FAD* des bulbes de *C. violavea*, 27.46% pour FHR des graines d'*A. gombo*puis 13.57% pour FHG des gousses d'*A. gombo*à des concentrations de 1 g/l. Par contre, les autres fractions (FAD_1, FAD_2, FAF, FHB et FAF*) présentent des pourcentages d'inhibition nuls (fig. 24). Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS de l'acide ascorbique à une concentration molaire de 568µmol/l (0.1g/l) est égal à 6.37%. Tandis que les fractions polysaccharidiques à des concentrations de 1 g/l présentent des pourcentages d'inhibition du radical ABTS de 28.89 (FHR), 28.04 (FHG), 14.3 (FAD^1), 22.1 (FAD^2), 12.89 (FAF), 14.87 (FHB), 23.09 (FAD*) et 29.18% (FAF*)(fig. 25). Les activités antioxydantes évaluées par la puissance de la réduction ferrique des fractions polysaccharidiques FHR, FHG, FAD^1, FAD^2, FAF, FHB, FAD* et FAF* à des concentrations de 1 g/l sont 17.29,5,0.97,1.94,14.54,2.02,5.45 et6.3 Mmol de Fe^{2+}/g de matière sèche en équivalent de l'acide ascorbique respectivement (fig. 26).

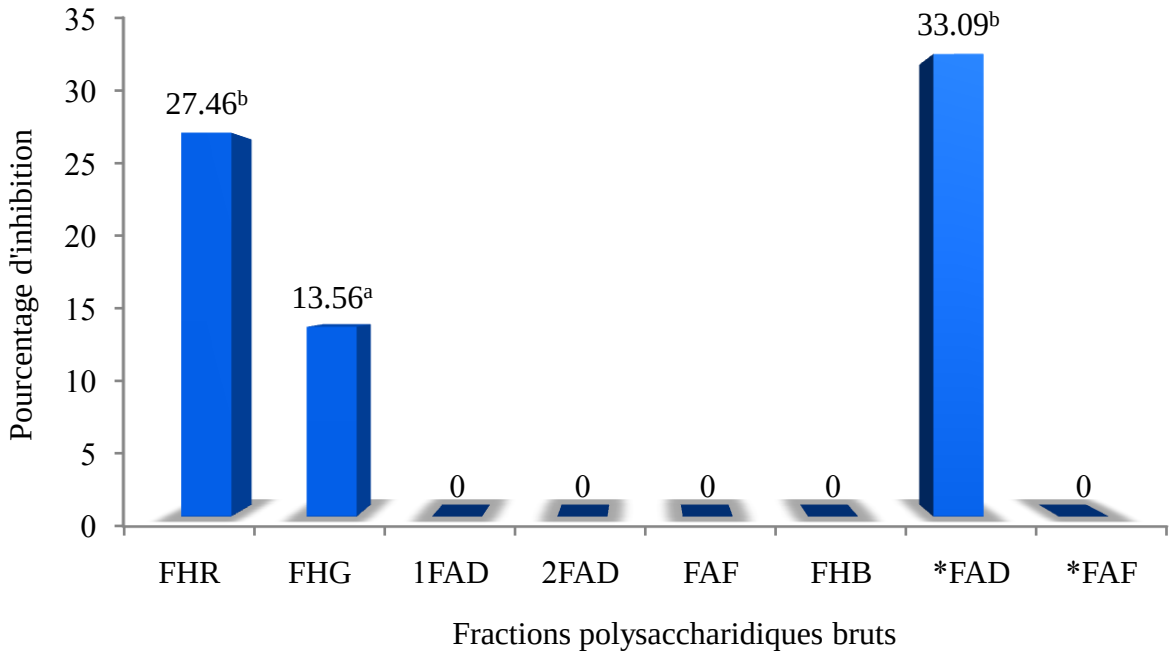


Figure 24.-Pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les fractions de polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea*, (a) et (b) représentent respectivement la valeur de p supérieur à 0.05 (Non Significative) ou inférieur à 0.001 (Très Hautement Significative***) par rapport au contrôle (vit C)

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses.FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

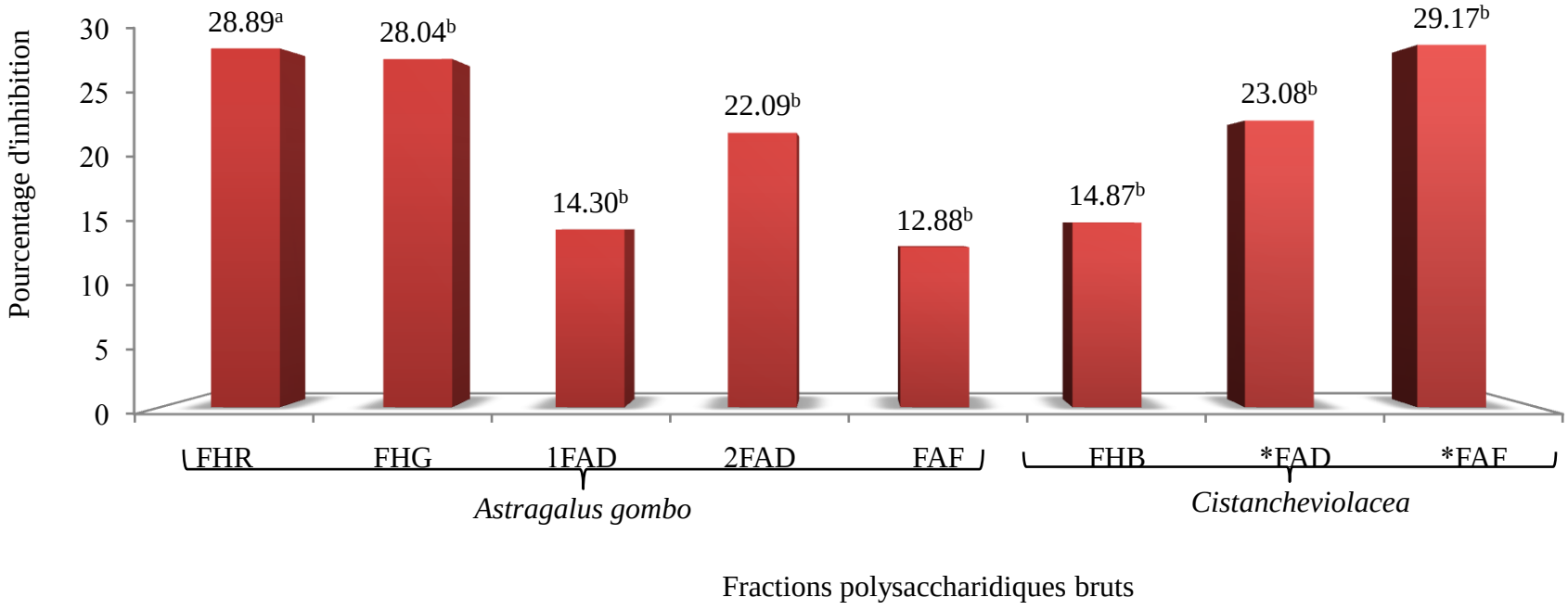


Figure 25.-Pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les fractions de polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea*, (a) et (b) représentent respectivement la valeur de p supérieur à 0.05 (Non Significative) ou inférieur à 0.001 (Très Hautement Significative***)par rapport au contrôle, vit C

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses.FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

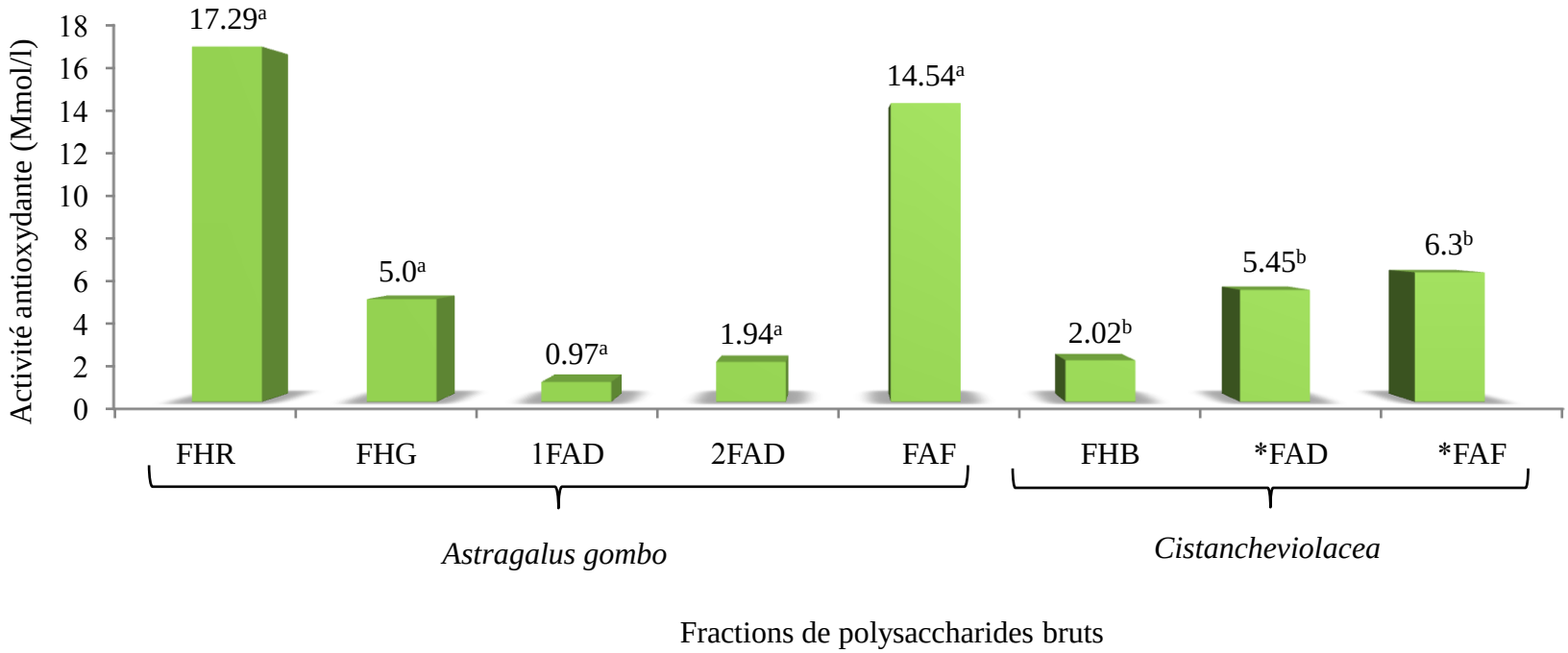


Figure 26.-Puissance de l'activité de la réduction ferrique (FRAP) des fractions de polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea***,** (a) et (b) représentent respectivement la valeur de p supérieur à 0.05 (Non Significative) ou inférieur à 0.001 (Très Hautement Significative***) par rapport au contrôle, vit C

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses. FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

L'activité de piégeage du radical DPPH et ABTS est faiblement corrélée avec les concentrations en oses totaux (22% pour le DPPH et -2% pour l'ABTS), oses neutres (34% pour le DPPH et 6% pour l'ABTS), oses acides (-18% pour le DPPH et -12% pour l'ABTS) ou en protéines (17% pour le DPPH et -15% pour l'ABTS). La puissance de l'activité de la réduction ferrique (FRAP) est moyennement et positivement corrélée avec la concentration en protéines (46%) mais moyennement et négativement corrélée avec la concentration en oses acides (-49%). Le FRAP est aussi faiblement corrélée avec les oses totaux (-6%) et les oses neutres (19%). Selon les techniques d'extraction (hydrosoluble et alcali-soluble) des fractions de polysaccharides et d'après les tests, il apparaît que les activités antioxydantes des fractions de polysaccharides par le test ABTS sont plus élevées que celles par les tests DPPH.

Quatre fractions polysaccharides isolées de *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), une plante nutritive à graines (soja), présentent des pourcentages d'inhibition du radical DPPH de 72.22%, 30.11%, 50.46% et 66.67% avec un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'acide ascorbique de 97.56% à des concentrations de 1 g/l (LUI *et al.*,2015). A partir des concentrations de 4 g/l de trois fractions de polysaccharides obtenues des feuilles de *Morus alba* L., les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont de 68.21%, 44.96%, 60.17% et 91.16% pour l'acide ascorbique (YUAN *et al.*,2015).

SHAO *et al.* (2015) ont signalé des pourcentages d'inhibition du radical ABTS à partir des concentrations de 1 g/l proche de 100% pour trois fractions polysaccharidiques isolées de l'algue brune *Sargassum horneri*. A partir des concentrations de 4 g/l de trois fractions polysaccharidiques obtenues des feuilles de *Morus alba* L. Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS sont 99.33%, 79.81%, 90.47% et 100% pour l'acide ascorbique (YUAN *et al.*,2015). En tant que polysaccharide raffiné, celui d'Astragalus est doué d'une activité antioxydante comprenant une activité de piégeage des radicaux hydroxyles, une activité de piégeage de peroxyde d'hydrogène, et l'effet chélateur sur les ions ferreux. Selon la réaction de type Fenton ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + {}^{\bullet}OH$), le polysaccharide peut sévèrement piéger les deux radicales hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène et, peut également et efficacement lier le fer ferreux *in vitro* (NUI *et al*., 2011).

Les activités antioxydantes des polysaccharides d'*Astragalus membranaceus* sont largement étudiées *in vitro*. Il est constaté que les polysaccharides possèdent des activités considérables de piégeage contre le radical hydroxyle, le radical DPPH, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène. Il a montré un effet chélateur définitive d'ions ferreux, d'une manière dépendante de la concentration (JIN *et al*., 2014). Des expériences pharmaceutiques ont montré

que l'administration des polysaccharides d'*Astragalus mongholicus* peuvent augmenter de manière significative les activités des enzymes antioxydantes du sérum et du foie chez la souris et réduire les taux de lipides peroxydatives (YAN *et al.*,2010).

MENG *et al*. (2015) ont signalé que les polysaccharides, ayant une faible teneur en oses neutre et à une teneur élevée en protéines, avaient une meilleure activité de piégeage des radicaux hydroxyles. Les fonctions antioxydantes de la protéine pourraient être attribuées à leurs acides aminés constitutifs qui sont capables de donner des protons aux radicaux déficients en électrons (MENG *et al*., 2015). Selon FLOEGEL *et al*. (2011), le test ABTS est plus approprié pour évaluer les antioxydants hydrophiles tandis que le test DPPH est applicable pour évaluer les antioxydants hydrophobes. Ceci peut expliquer la raison pour laquelle les résultats obtenus pour l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS, sont plus élevés que ceux évalués par le test DPPH.

En tant que radical libre stable, le DPPH peut être réduit en acceptant un électron ou un atome d'hydrogène, en présence d'un antioxydant. Il est largement utilisé pour évaluer l'activité de piégeage de radicaux libres d'antioxydants (LIU *et al.*, 2015). Le test ABTS est largement appliquée pour évaluer le pouvoir antioxydant total d'un composé unique et des mélanges complexes à partir de diverses plantes (LI *et al.*,2015). Le test FRAP est une méthode simple et pratique pour déterminer l'activité des antioxydants. Les ions ferreux à partir de réactif de FRAP est réduit par les antioxydants testés en présence de TPTZ et formaient un complexe bleu intense Fe^{2+} – TPTZ avec un maximum d'absorption à 593 nm (JIANG *et al*., 2015).

Il est rapporté que de nombreux facteurs influent l'activité antioxydante des polysaccharides, y compris la composition monosaccharidique, le poids moléculaire, le type de liaison glycosidique et la conformation de la chaîne (ZENG *et al*., 2015). Il est proposé que le mécanisme antioxydant possible des polysaccharides peut impliquer le don d'hydrogène afin de briser la chaîne des réactions et la capacité de piégeage des radicaux libres résultant de l'abstraction de l'hydrogène anomérique des unités monosaccharidiques internes de polysaccharides (HAN *et al*., 2015). De même, il peut être dû à l'existence de nombreux groupes hydroxyles dans la molécule de polysaccharide, ce qui pourrait être le donneur d'électrons et de transfert d'électrons à Fe^{3+} ou DPPH (LI *et al*., 2015).

III.4.2.- Activité anticoagulante

Après la réalisation des deux tests sur la coagulation, deux temps sont enregistrés (fig. 27) à savoir le temps de céphaline kaolin (TCK) et le temps de Quick (TQ).

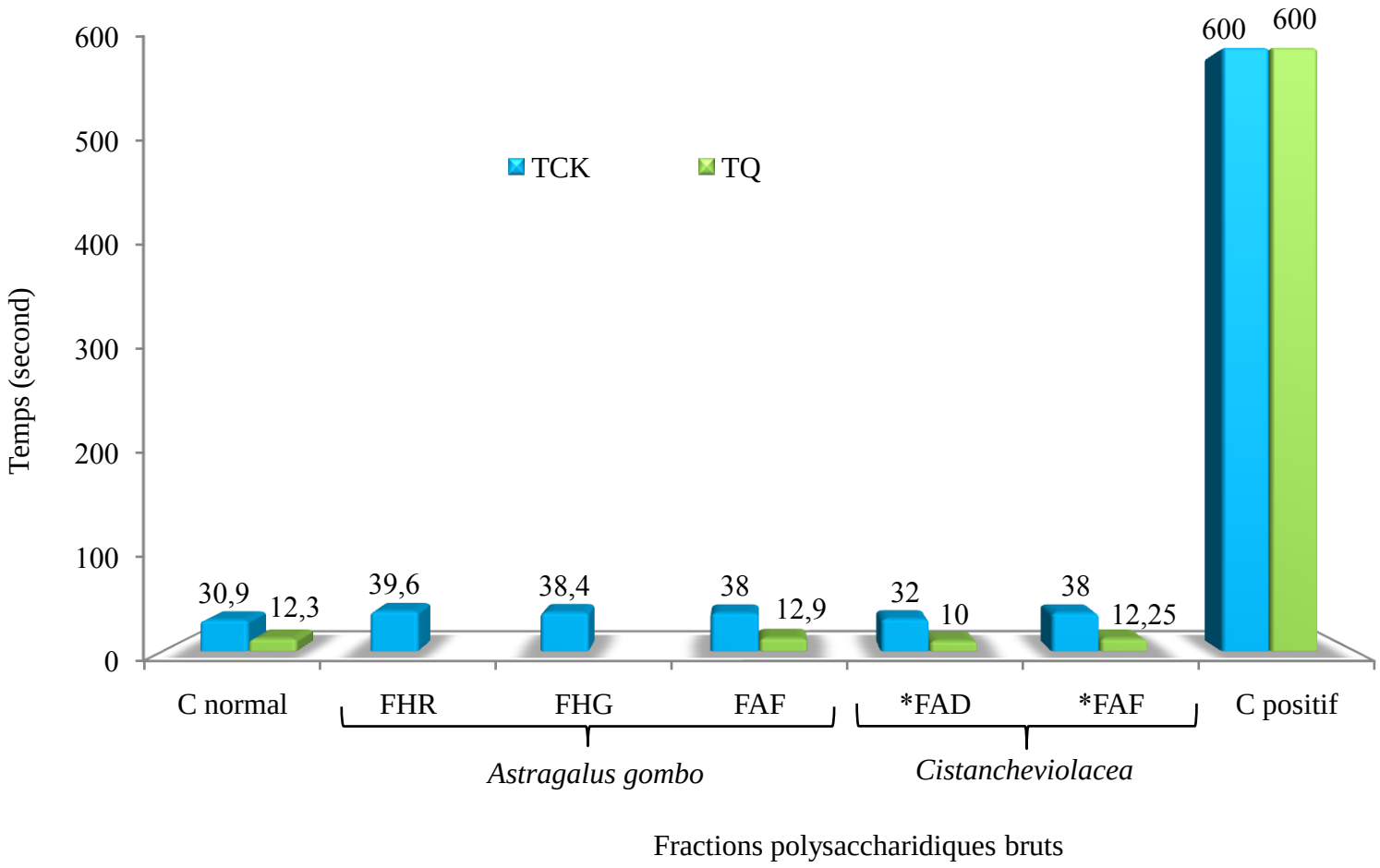


Figure 27.-Activité anticoagulante des fractions de polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. violacea*

(a) représente la valeur de p supérieur à 0.05 (Non Significative) par rapport au contrôle normal (le contrôle positif est l'héparine)

FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses. FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

Les temps de TCK notés pour les fractions testées sont de 39.6s (FHR), 38.4s (FHG), 38s (FAF), 32s (FAD*) et 38 s (FAF*), tandis que ceux de TQ des fractions testées sont 12.9 s (FAF), 10 s (FAD*) et 12.25 s (FAF*).

Les activités anticoagulantes des fractions de polysaccharides testées ne montrent aucune différence significative ($p>0.05$) avec l'activité anticoagulante du contrôle normal (absence d'un anticoagulant). Les fractions de polysaccharides bruts ne sont pas douées d'activités anticoagulantes. Le TCK est fortement et positivement corrélée avec la concentration en protéines (62%) mais moyennement et négativement corrélée avec la concentration en oses acides (-47%). Le TCK est aussi faiblement corrélée avec les oses totaux (7%) et les oses neutres (32%). De même, le TQ est fortement et positivement corrélée avec la concentration en protéines (78%) mais moyennement et négativement corrélée avec la concentration en oses neutres (55%). Toutefois, le TQ reste faiblement corrélée avec les oses totaux (37%) et les oses acides (-33%).

Les polysaccharides sulfatés isolés à partir d'algues marines et des invertébrés constituent un groupe complexe de macromolécules. Les polysaccharides de plantes supérieures présentent également des structures chimiques hétérogènes. Des études ont démontré une activité anticoagulante de polysaccharides chez des plantes, une activité associée à la présence de résidus d'acide uronique (RACQUEL *et al*., 2015).

La masse moléculaire relativement faible des polysaccharides végétaux, ainsi que la composition chimique distinctive par rapport à des composés extraits des animaux, des invertébrés et les tissus d'algues marines suggèrent qu'ils méritent une analyse plus approfondie pour leur effet sur les mammifères. La relative faible activité anticoagulante des polysaccharides de végétaux supérieurs par rapport au poids sec en comparaison avec des composés similaires provenant d'animaux et d'algues marines peut être compensée par leur faible densité de charge, ce qui diminue leur interaction non spécifique avec des protéines de base et donc augmenter leur biodisponibilité (YOON *et al*., 2002).

III.4.3.- Activité phagocytaire

Les résultats de l'activité phagocytaire, la capacité et l'activité phagocytaires sont présentés sur la figure28.

La capacité phagocytaire des fractions de polysaccharides étudiées est comprise entre 17 – 35% à partir des concentrations de 1 g/l. Il remarqué que les fractions FHR, FHG, FAD_1,

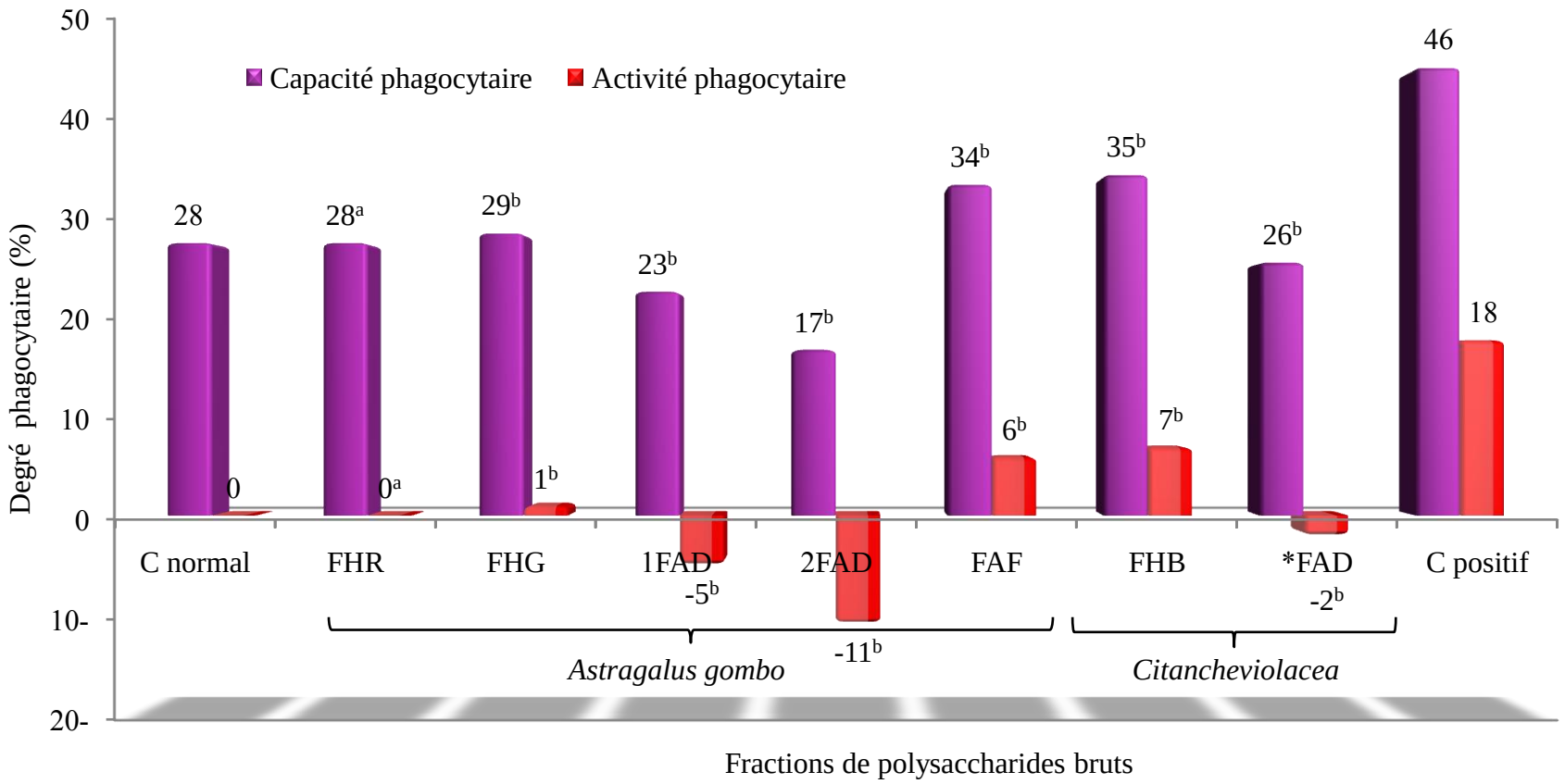


Figure 28.-Activité phagocytaire des fractions de polysaccharides d'*A. gombo* et de *C. Violacea*, (a) et (b) représentent respectivement la valeur de p supérieur à 0.05 (Non Significative) ou inférieur à 0.001 (Très Hautement Significative ***) par rapport au contrôle positif (zymosan)

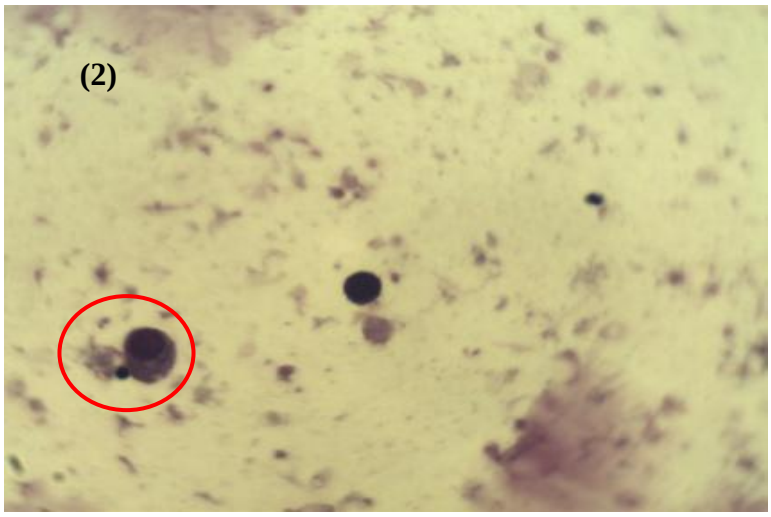
FHR: fraction hydrosoluble des graines. FHG: fraction hydrosoluble des gousses. FAD_1: première fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAD_2: deuxième fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des gousses. FAF: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des gousses. FHB: fraction hydrosoluble des bulbes. FAD*: fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH des bulbes. FAF*: fraction alcali-soluble forte à 4M KOH des bulbes.

FAD_2, FAF, FHB et FAD* des bulbes de *C. violavea*, des graines et des gousses d'*A. gombo*représentent respectivement les capacités phagocytaires de 28%, 29%, 23%, 17%, 34%, 35% et 26%; à l'exception de la fraction FHR des graines d'*A. gombo* qui ne présente pas une différence significative ($p>0.05$). Toutes les capacités phagocytaires des fractions polysaccharidiques montrent une différence positivement ou négativement significative ($p<0.05$) avec la capacité phagocytaire du contrôle positif représenté par le zymosan qui est égale à 28%. Ceci implique que les fractions FHR, FHG, FAF et FHB des bulbes de *C. violavea*, des graines et des gousses d'*A. gombo*sont douées d'une activité stimulatrice de la phagocytose (photo 3). Pour les fractions de polysaccharides alcali-solubles douces à 0.5M KOH (FAD_1, FAD_2 et FAD*), la capacité phagocytaire présente une différence négativement significative ($p<0.05$) d'où une activité inhibitrice de la phagocytose. La capacité phagocytaire est faiblement corrélée avec les concentrations en oses totaux (13%), oses neutres (13%), oses acides (-6%) ou en protéines (25%).

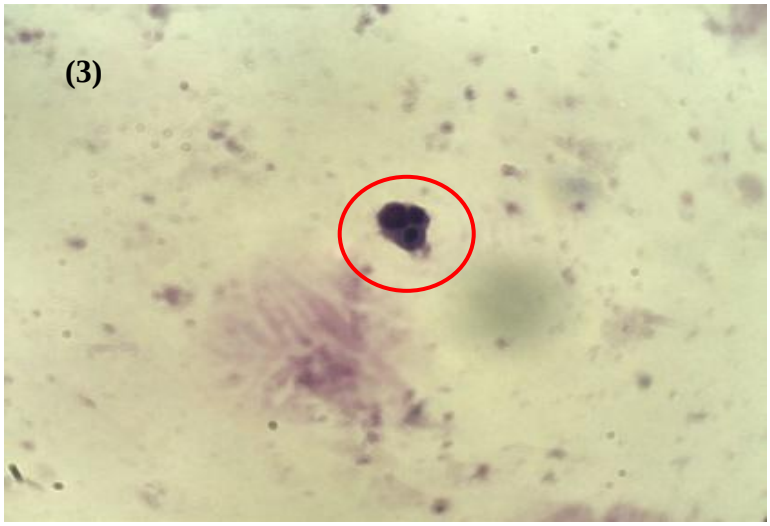
A une concentration de 40 µg/ml et une température de 25°C, une capacité phagocytaire est enregistrée de 15.32% pour un polysaccharide d'*Astragalus membranaceus.In vitro*, les effets du polysaccharide sur *Apostichopus japonicus* indiquent que l'activité phagocytaire diminue de 18 à 25°C. Le polysaccharide peut augmenter de manière dose-dépendante l'activité phagocytaire à différentes températures (SUN *et al.*,2008).

La phagocytose est un mécanisme contrôlé par différents facteurs tels que les récepteurs de surface et les cytokines (KOENIGSKNECHT-TALBOO et LANDRETH 2005). Elle est considérée comme l'une des principales mécanismes qu'utilisent les vertébrés pour combattre les infections microbiennes (HOFFMANN *et al.,* 2012). CHO *etal*. (2015) rapportent une stimulation du système du complément (*in vitro*) et la production de NO et des cytokines IL-6 et IL-12 dans des macrophages péritonéaux de sourie à partir de polysaccharides hydrosolubles issus de Cheonggukjang. Cependant, le manque d'appréciation et de compréhension des mécanismes d'activation de la phagocytose par les composés prétendument immunostimulants donne une explication exotique à savoir que ces molécules peuvent être toxique *in vivo* d'où l'augmentation de la phagocytose en tant qu'effet secondaire du dommage cellulaire (GERTSCH *etal*., 2011).

Candida albicans



Adhésion de la levure



Phagocytose

Photo 3.- Processus de phagocytose des levures de *Candida albicans* par les leukocytes isolés du sang humain et activés par les extraits de polysaccharides bruts

Conclusion et perspectives

L'étude des polysaccharides hydrosolubles et alcali-solubles à partir des graines, des gousseset des bulbes des plantes spontanées d'*Astragalus gombo* (Fabaceae) et de *Cistanche violacea* (Orobanchacea) débute par une macération à chaud avec de l'eau distillée, puis une macération à chaud avec une solution alcaline de KOH à deux concentrations.Nous avons obtenu huit fractions. Cinq fractions dont deux fractions de polysaccharides hydrosolubles et trois fractions de polysaccharides alcali-solubles, sont obtenues pour *A. gombo*. Elles se répartissent en une fraction hydrosoluble des graines (FHR), une fraction hydrosoluble des gousses (FHG), une fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH (FAD_1), une fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH (FAD_2) et une fraction alcali-soluble forte à 4M KOH (FAF). Chez *C. violacea*, seulement trois fractions sont extraites. Ses fractions se répartissent en une fraction hydrosoluble des bulbes (FHB), une fraction alcali-soluble douce à 0.5M KOH (FAD*) et une fraction alcali-soluble forte à 4M KOH (FAF*).

Le rendement de l'extrait lipidique obtenu des graines d'*A. gombo* est de 5.3%. Tandis que les gousses et les bulbes de *C. violacea*ont un rendement d'extrait lipidique de 0.4% et0.65% respectivement. Pour les extraits polysaccharidiques bruts, les graines ont donné un rendement de 12.77% par rapport à la matière sèche. Un rendement de 2.05% des polysaccharides hydrosolubles bruts est noté chez les gousses sèches.Pour les bulbes, un rendement de 22.5%, repartie entre 14.1% à 0.5 M KOH et de 8.4% à 4M KOH, est observé à partir des extraits alcali-solubles de polysaccharides de bulbes sèches de *C. violacea.*

Les fractions alcali-solubles douces des deux plantes (FAD_2 et FAD*) sont les plus concentrés en oses totaux (81.18 et 89.25% respectivement). Il est remarqué que les fractions polysaccharidiques hydrosolubles et alcalisolubles des goussesprésentent des taux relativement élevés d'oses acides dont FHG (20.96%), FAD1 (21.37%), FAD2 (37.12%) et FAF (13.62%).

Pour les gousses, toutes les fractions semblent être formées par le xylose comme ose constitutif commun entre elles. L'acide glucuronique semble être présent dans toutes les fractions isolées d'*A. gombo* à l'exception de la fraction FAD_1 qui semble être formée par le xylose seulement. Toutes les fractions isolées des bulbes de *C. violacea,* sont formées par le galactose et le glucose comme oses constitutifs.

Les tests de réduction DPPH, ABTS et FRAP, montrent que les fractions sont douées d'une activité antioxydante. Les fractions polysaccharidiques testées ne présentent pas d'activités anticoagulantes, mais elles montrent une activité stimulatrice de la phagocytose.

Perspectives

Une étude supplémentaire est nécessaire pour optimiser les conditions d'extraction (température, temps d'extraction, concentration de la solution alcaline,type et pourcentage d'alcool-eau) de chaque fraction polysaccharidique.

Pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante et phagocytaire des polysaccharides, il estsouhaitable de purifier, de fractionner et d'étudier le pouvoir d'inhibitionou de stimulation des fractions polysaccharidiques, afin de préciser les parties ayant une capacité d'inhibition des radicaux libres ou une capacité stimulatrice de la phagocytose appréciables. De même; pour connaitre la relation structure fonction, l'analysestructurale par spectrométrie de masse et par la résonance magnétique reste à suivre.

Il est aussi souhaitable, pour mieux connaitre les activités biologiques manifestées de refaire les tests avec des dilutions à fin d'identifier la cinétique et/ou la dose optimale pour un effet biologique précis.

Références bibliographiques

1. ABBAS A. and SHAMEEL M., 2012- Anatomical studies on *Dictyopteris polypodioides* (Phaeophycota) from the coast of Karachi, Pakistan. Pak. J. Bot., vol. 44: 1461-1465.
2. ABDELMALEK B. E., SILA A., KRICHEN F., KAROUD W., MARTINEZ-ALVAREZ O., ELLOUZ-CHAABOUNI S., AYADI M. A. and BOUGATEF A., 2015- Sulfated polysaccharides from *Loligo vulgaris* skin: Potential biological activities and partial purification. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 1143-1151.
3. ABID S., KHAJURIA A., PARVAIZ Q., SIDIQ T., BHATIA A., SINGH S., AHMAD S., RANDHAWA M. K., SATTI N. K. and DUTT P., 2012- Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. International Immunopharmacology, vol. 12, 626-634.
4. ADELI M. and SAMAVATI V., 2015- Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Ziziphus lotus* fruit. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 580-587.
5. AGGREY-FYNN J., 2009- Distribution and Growth of Grey Triggerfish, Balistes capriscus (Family: Balistidae), in Western Gulf of Guinea. West African Journal of Applied Ecology, vol. 15: 1-8.
6. AGUILAR-BRISEÑO J. A., CRUZ-SUAREZ L. E., SASSI J. F., RICQUE-MARIE D., ZAPATA-BENAVIDES P., MENDOZA-GAMBOA E., RODRÍGUEZ-PADILLA C. and TREJO-AVILA L. M., 2015- Sulphated Polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* Seaweeds both Inhibit Viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion, in NDV Infection. Marine Drugs, vol. 13: 697-712.
7. AMARAL A. E. D., PETKOWICZ C. L. O., MERCE A. L. R., IACOMINI M., MARTINEZ G. R., ROCHAA M. E. M., CADENA S. M. S. C. and NOLETO G. R., 2015- Leishmanicidal activity of polysaccharides and their oxovanadium(IV/V) complexes. European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 90: 732-741.
8. ARIVUSELVAN N., RADHIGA M. and ANANTHARAMAN P., 2011- *In vitro* antioxidant and anticoagulant activities of sulphated polysaccharides from brown seaweed (*Turbinaria ornata*) (Turner) J.Agardh. Asian Journal of Pharmaceutical and Biological Research, vol. 1: 232-239.
9. ASKER M. M. S., MAHMOUD M. G. and IBRAHIM G. S., 2007- Structural characterization and biological activity of acidic polysaccharide fractions Isolated from *Bacillus polymyxa* NRC-A. Journal of Applied Sciences Research, vol. 3:1170-1177.
10. ATHUKORALA Y., JUNG W. K., VASANTHAN T. and JEON Y. J., 2006- An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of *Ecklonia cava*. Carbohydrate Polymers, vol. 66: 184-191.

11. AUSTARHEIM I., CHRISTENSEN B. E., AAS H. T. N., THÖLE C., DIALLOA D. and PAULSEN B. S., 2014- Chemical characterization and complement fixation of pectins from *Cola cordifolia* leaves. Carbohydrate Polymers, vol. 102: 472-480.
12. AUTRAN J. C., 1991- Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc, Paris: 115-137.
13. AZMIR J., ZAIDUL I.S.M., RAHMAN M.M., SHARIF K.M., MOHAMED A., SAHENA F., JAHURUL M.H.A., GHAFOOR K., NORULAINI N.A.N. and OMAR A.K.M., 2013- Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering, vol. 117: 426-436.
14. BAO X., YUAN H., WANG C., LIU J. and LAN M., 2013- Antitumor and immunomodulatory activities of a polysaccharide from *Artemisia argyi*. Carbohydrate Polymers, vol. 98: 1236-1243.
15. BARAHONA T., ENCINAS M. V., IMARAI M., MANSILLA A.,MATSUHIRO B., TORRES R. and VALENZUELA B., 2014- Bioactive polysaccharides from marine algae. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol. 4:125-138.
16. BARIKISSOU E., 2012- Elaboration d'un protocole in vitro de contournement des barrières d'incompatibilité génétique entre *Phaseolus coccineus* L. et *P. vulgaris* L. Thèse de doctorat. Université de Liège Gembloux Agro. Bio. Tech. 164p.
17. BARONI S., SUZUKI-KEMMELMEIER F., CAPARROZ-ASSEF S. M., CUMAN R. K. N. and BERSANI-AMADO C. A., 2008- Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 44: 521-530.
18. BENZIE I. F. F. and STRAIN J. J., 1996- The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ''Antioxidant Power'': The FRAP Assay. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 239: 70-76.
19. BIGLARI F., ALKARKHI A. F. M. and EASA A. M., 2008- Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. Food Chemistry, vol. 107: 1636-1641.
20. BIOLABO, 2012- BIO-CK TCA Kaolin. Fiche technique. 2p.
21. BIOLABO, 2013- BIO-TP. Taux de prothrombine (TP). Fiche technique. 2p.
22. BLOIS M., 1958- Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, vol. 181: 1190-1200.
23. BLUMENKRANTZ N. and ASBOEHANSEN G., 1973- New Method for Quantitative Determination of Uranic Acid. Analytical biochemistry, vol. 54: 484-489.

24. BOUAL Z., 2009- Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). Thème magistère. Université de Ouargla. 106p.
25. BOUAL Z., 2014- Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien): Activité biologique. Thèse doctorat. Université de Ouargla. 219p.
26. BOUAL Z., PIERRE G., DELATTRE C., BENAOUN F., PETIT E., GARDARIN C., MICHAUD P. and OULD EL HADJ M. D., 2014- Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as source of bioactive galactomannan. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol. 5: 10-18.
27. BOUHLAL R., HASLIN C., CHERMANN J. C., COLLIEC-JOUAULT S., SINQUIN C., SIMON G., CERANTOLA S., RIADI H. and BOURGOUGNON N., 2011- Antiviral Activities of Sulfated Polysaccharides Isolated from Sphaerococcus coronopifolius (Rhodophytha, Gigartinales) and Boergeseniella thuyoides (Rhodophyta, Ceramiales). Marine Drugs, vol. 9 : 1187-1209.
28. BRADFORD M. M., 1976- A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical biochemistry, vol. 72: 248-254.
29. BRIAN-JAISSON F., 2014- Identification et caractérisation des exo-polymères de biofilms de bactéries marines. Thèse doctorat. Université de Toulon. 257p.
30. BRUDIEUX V., 2007- Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse doctorat. Université de Limoges. 220p.
31. BURNAT B., WALKOWIAK-PRZYBYŁO M., BŁASZCZYK T. and KLIMEK L., 2013- Corrosion behaviour of polished and sandblasted titanium alloys in PBS solution. vol. 15: 87-95.
32. CAESAR L. N., 2007- Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*) ET *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (Crassulaceae). Thèse de doctorat. Université de bamako, 179p.
33. CAI J., MANA J., HUANGA J., LIU Q., WEIC W. and WEI C., 2015- Relationship between structure and functional properties of normal rice starches with different amylose contents. Carbohydrate Polymers, vol. 125: 35-44.
34. CATCHESIDE P. S. and CATCHESIDE D. E. A., 2012- Boletus edulis(Boletaceae), a new record for Australia. J. Adelaide Bot. Gard., vol. 25: 5-10.

35. CHAIKLAHAN R., CHIRASUWAN N., TRIRATANA P., LOHA V., TIA S. and BUNNAG B., 2013- Polysaccharide extraction from *Spirulina sp*. and its antioxidant capacity. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 58: 73-78.
36. CHEN L., XU W., LIN S. and CHEUNG P. C. K., 2014- Cell wall structure of mushroom sclerotium (*Pleurotus tuber regium*): Part 1. Fractionation and characterization of soluble cell wall polysaccharides. Food Hydrocolloids, vol. 36: 189-195.
37. CHEN M. L., WU S., TSAI T. C., WANG L. K. and TSAI F. M., 2014- Regulation of neutrophil phagocytosis of *Escherichia coli* by antipsychotic drugs. International Immunopharmacology, vol. 23: 550-557.
38. CHEN R., LI H., LI S., JIN C. and LU J., 2015- Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 185-194.
39. CHEN Z. G., ZHANG D. N., ZHU Q., YANG Q. H. and HAN Y. B., 2014- Purification, preliminary characterization and *in vitro* immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide. Carbohydrate Polymers, vol. 106: 217-222.
40. CHENG B. H., CHAN J. Y. W., CHAN B. C. L., LIN H. Q., HANA X. Q., ZHOU X., WAN D. C. C., WANG Y. F., LEUNG P. C., FUNG K. P. and LAU C. B. S., 2014- Structural characterization and immunomodulatory effect of a polysaccharide HCP-2 from *Houttuynia cordata*. Carbohydrate Polymers, vol. 103: 244-249.
41. CHENG H., FENG S., JIA X., LI Q., ZHOU Y. and DING C., 2013- Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Epimedium acuminatum*. Carbohydrate Polymers, vol. 92: 63-68.
42. CHO C. W., HANB C. J., RHEE Y. K., LEE Y. C., SHIN K. S., SHIN J. S., LEE K. T. and HONG H. D., 2015- Cheonggukjang polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide-induced immunosuppression. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 519-525.
43. CHO W. C.S. and LEUNG K. N., 2007a- *In vitro* and *in vivo* anti-tumor effects of *Astragalusmembranaceus*. Cancer Letters, vol. 252: 43-54.
44. COLLIEC – JOUAULT S., ZANCHETTA P., HELLEY D., RATISKOL J., SINQUIN C., FISCHER A.M. and GUEZENNEC J., 2004- Les polysaccharides microbiens d'origine marine et leur potentiel en thérapeutique humaine. Pathologie Biologie. 4p.
45. COMIN L. M., TEMELLI F. and SALDAÑA M. D. A., 2015- Flax mucilage and barley beta-glucan aerogels obtained using supercritical carbon dioxide: Application as flax lignan carriers. Innovative Food Science and Emerging Technologies, vol. 28: 40-46.

46. CUMMINGS J. and STEPHEN A., 2007- Carbohydrate terminology and classification. European Journal of Clinical Nutrition, vol. 61, S5-S18.
47. DANG S. S., ZHANG X., JIA X. L., CHENG Y. A., SONG P., LIU E. Q., HE Q. and LI Z. F., 2008- Protective effects of emodin and Astragalus polysaccharides on chronic hepatic injury in rats. Chinese Medical Journal, vol. 121: 1010-1014.
48. DE BELDER A. N., 2003- Dextran. Edition AA. Handbook From Amersham Biosciences. 64p.
49. DE GODOI A. M., FACCIN-GALHARDI L. C., LOPES N., RECHENCHOSKI D. Z., DE ALMEIDA R. R., SILVA RICARDO N. M. P., NOZAWA C. and CARVALHO LINHARES R. E., 2014- Antiviral Activity of Sulfated Polysaccharide of *Adenanthera pavonina* against Poliovirus in HEp-2 Cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol. 2014: 6p.
50. DENG Y. Y., YI Y., ZHANG L. F., ZHANG R. F., ZHANG Y., WEI Z. C., TANG X. J. and ZHANG M. W., 2014- Immunomodulatory Activity and Partial Characterisation of Polysaccharides from *Momordica charantia.* Molecules, vol. 19: 13432-13447.
51. DESCHENES DION S., BERARD M., CALLAGHAN S., PROVENCHER M. D. and COUSINEAU D., 2001- HÉMATOLOGIE - Règles normatives. Ordre Professionnel Des Technologistes Médicaux Du Québec (OPTMQ). 80 p.
52. DIALLO A., 2004- Etude *in vivo* de l'activité antiplasmodique des extraits aqueux de la tisane composée SAYE (*cassia alata* Linn; *Cochlospermum planchonii* Hook; *Phyllantus amarus* Sehum et Thann) chez la souris *Nmri*. infestée par *plasmodiumberghei.*Thèse doctorat. Université de OUAGADOUGOU. 157 p.
53. DING H. H., CUI S. W., GOFF H. D., WANG Q., CHEN J. and HAN N. F., 2014- Soluble polysaccharides from flaxseed kernel as a new source of dietary fibres: Extraction and physicochemical characterization. Food Research International, vol. 56: 166-173.
54. DIRECTION GENERALE DES FORETS, 2003- Fiche descriptive sur les zones humides Ramsar. Chott Melghir (Wilaya d'El Oued, Algérie). 13p.
55. DJAHRA A. B., 2014- Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse doctorat. Université BADJI MOKHTAR – Annaba. 114p.
56. DONG Q., YAO J., FANG J. N. and DING K., 2007- Structural characterization and immunological activity of two cold-water extractable polysaccharides from *Cistanchedeserticola* Y. C. Ma. Carbohydrate Research, vol. 342: 1343-1349.

57. DOUA J., MENGA Y., LIU L., LI J., REN D. and GUO Y., 2015- Purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from thinned-young apple. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 31-40.
58. DU Y. Q., LIU Y. and WANG J. H., 2015- Polysaccharides from *Umbilicaria esculenta* cultivated in Huangshan Mountain and immunomodulatory activity. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 1272-1276.
59. DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., PEBERS P. A., and SMITH F., 1956- Colorimetric method for determination of sugar and relayed substances. Analytical Chemistry, vol. 28: 350-356.
60. EBRINGEROVÁ A., HROMÁDKOVÁ Z., MACHOVÁ E., NARAN R. and HRÍBALOVÁ V., 1997- Isolation and Characterization of Mitogenic Pectic Polysaccharides from *Cistanchedeserticola* Y.C. Ma. Chem. Papers, vol. 57: 289-294.
61. EDVARD SMITH C. I., HAMMARSTROM L. L. G., and PERSSON U. C. I., 1978- Macrophage-Dependence of Mitogen Responsiveness: Macrophages Exposed to Zymosan Enhance the Response to Polyanion. CELLULAR IMMUNOLOGY, vol. 41: 134-149.
62. ELALAMY I., 2010- Héparines: structure, propriétés pharmacologiques et activités. Hématologie. ELSEVIER MASSON SAS, 1-12.
63. ERMAKOVA S., MEN'SHOVA R., VISHCHUK O., KIM S. M., UM B. H., ISAKOV V. and ZVYAGINTSEVA T., 2013- Water-soluble polysaccharides from the brown alga *Eisenia bicyclis*: Structural characteristics and antitumor activity. Algal Research, vol. 2: 51-58.
64. FAGEER F. A. et ASSUBAIE F. N., 2006 – Ecological Studies on Tha-noun (Cistanche phelypaea L) Cout. (Orobanchaceae) in Al-Ahsa Oasis, Saudi Arabia. Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), vol. 7: 75 – 86.
65. FRANCIS SUH J. K. and MATTHEW H. W. T., 2000- Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. Biomaterials, vol. 21: 2589-2598.
66. GANTT E., BERG G. M., BHATTACHARYA D., BLOUIN N. A., BRODIE J. A., CHAN C. X., COLLÉN J., CUNNINGHAM F. X. JR, GROSS J., GROSSMAN A. R., KARPOWICZ S., KITADE Y., KLEIN A. S., LEVINE I. A., LIN S., LU S., LYNCH M., MINOCHA S. C., MÜLLER K., NEEFUS C. D., DE OLIVEIRA M. C., RYMARQUIS L., SMITH A., STILLER J. W., WU W. K., YARISH C., ZHUANG Y. and BRAWLEY S. H., 2010- Porphyra: complex life histories in a harsh environment: *P. umbilicalis*, an intertidal red alga for genomic analysis. 131-148.

67. GAO J., ZHANG T., JIN Z. Y., XU X. M., WANG J. H., ZHA X. Q. and CHEN H. Q., 2015- Structural characterization, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb. Food Chemistry, vol. 169: 430-438.
68. GARCÕÂA-OCHOA F., SANTOS V. E., CASAS J. A. and GOÂMEZ E., 2000- Xanthan gum: production, recovery, and properties. Biotechnology Advances, vol. 18: 549-579.
69. GARON-LARDIERE S., 2004- Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Thèse Doctorat. Université De Bretagne Occidentale. 332p.
70. GERTSCHA J., VIVEROS-PAREDES J. M. and TAYLOR P., 2011- Plant immunostimulants-Scientific paradigm or myth? Journal of Ethnopharmacology, vol. 136: 385-391.
71. GHEBREGZABEIER M., RUFINI S., MONALDI B. and LATO M., 1976- Thin-layer chromatography of carbohydrates. Journal of Chromatography, vol. 127: 133-162.
72. GHONEUM M. and GOLLAPUDI S., 2004- Phagocytosis of *Candida albicans* by metastatic and non metastatic human breast cancer cell lines in vitro. Cancer Detection and Prevention, vol. 28:17-26.
73. GUILLAUME V., 2009- Parasitologie sanguine. Ed. Boeck, p: 123- 124.
74. GUO Q., CUI S. W., WANG Q. and YOUNG J. C., 2008- Fractionation and physicochemical characterization of Psyllium gum. Carbohydrate Polymers, vol. 73: 35-43.
75. HAMDI-AISSA B., VALLES V., AVENTURIER A. and RIBOLZIO., 2004- Géochimie et minéralogie des sols et des saumures des sebkhas dans l'écosystème désertique. Exemple de la cuvette de Ouargla, Sahara algérien. Colloque International « TERRE et EAU » Annaba, 21, 22 et 23 Novembre 2004. 4p.
76. HAN X., SHEN S., LIU T., DUA X., CAO X., FENG H. and ZENG X., 2015- Characterization and antioxidant activities of the polysaccharides from *Radix Cyathulae officinalis* Kuan. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 544-552.
77. HANKS J. H., 1975- Hanks' Balanced Salt Solution And PH Control. Johns Hopkins School of Hygiene. 2p.
78. HARUN N. H., SEPTAMA A. W. and JANTAN I., 2015- Immunomodulatory effects of selected Malaysian plants on the CD18/11a expression and phagocytosis activities of leukocytes. Asian Pac. J. Trop. Biomed., vol. 5: 48-53.
79. HE R., YE J., ZHAO Y. and SU W., 2014- Partial characterization, antioxidant and antitumor activities of polysaccharides from Philomycusbilineatus. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 65: 573-580.

80. HOFFMANN J., BEUTLER B., BLAY J. Y., LONBERG N., VIVIER E. and KOURILSKY P., 2012- IMMUNITÉ INNÉE. De La Découverte Révolutionnaire A La Révolution Thérapeutique. Institut Océanographique De Paris. 31p.
81. HUA Y., GAO Q., WEN L., YANG B., TANG J., YOU L. and ZHAO M., 2012- Structural characterisation of acid- and alkali-soluble polysaccharides in the fruiting body of *Dictyophora indusiata* and their immunomodulatory activities. Food Chemistry, vol. 132: 739-743.
82. IBRAHIM A. Y., MAHMOUD M. G. and ASKER M. M. S., 2014- Anti-inflammatory and antioxidant activities of polysaccharide from *Adansonia digitata*: an *in vitro* Study. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, vol. 25: 174-182.
83. JANI G. K., SHAH D. S., PRAJAPATI V. D. and JAIN V. C., 2009- Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 4: 308-322.
84. JIANG P., YUAN L., CAI D., JIAO L. and ZHANG L., 2015- Characterization and antioxidant activities of the polysaccharides from mycelium of *Phellinus pini* and culture medium. Carbohydrate Polymers, vol. 117: 600-604.
85. JIANG Y. and TU P. F., 2009- Analysis of chemical constituents in Cistanche species. Journal of Chromatography A, vol. 1216: 1970-1979.
86. JIAO G., YU G., ZHANG J. and EWART H. S., 2011- Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. Marine Drugs, vol. 9: 196-223.
87. JIN M., ZHAO K., HUANG Q. and SHANG P., 2014- Structural features and biological activities of the polysaccharides from *Astragalus membranaceus*. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 64: 257-266.
88. JOSEPH M. M., ARAVIND S.R., GEORGE S. K., VARGHESE S. and SREELEKHA T.T., 2013- A galactomannan polysaccharide from *Punica granatum* imparts *in vitro* and *in vivo* anticancer activity. Carbohydrate Polymers, vol. 98: 1466-1475.
89. JOSEPHA M. M., ARAVIND S. R., GEORGE S. K., PILLAI K. R., MINI S. and SREELEKHA T.T., 2014- Antitumor activity of galactoxyloglucan-gold nanoparticles against murine ascites and solid carcinoma. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, vol. 116: 219-227.
90. KAMNEV A. A., CALCE E., TARANTILIS P. A., TUGAROVA A. V. and DE LUCA S., 2015- Pectin functionalised by fatty acids: Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) spectroscopic characterization. Journal of Molecular Structure, vol. 1079: 74-77.

91. KAN Y., CHEN T., WU Y., WU J. and WU J., 2015- Antioxidant activity of polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* using response surface methodology. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 151-157.
92. KARAKI N., SEBAALY C., CHAHINE N., FAOUR T., ZINCHENKO A., RACHID S. and KANAAN H., 2013- The antioxidant and anticoagulant activities of polysaccharides isolated from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* growing on the Lebanese coast. Journal of Applied Pharmaceutical Science, vol. 3: 043 – 051.
93. KHERRAZE M E., LAKHDARI K., KHERFI Y., BENZAOUI T., BERROUSSI S., BOUHANNA M. et SEBAA A., 2010- Atlas floristique de la vallee de l'oued righ par ecosysteme. Centre de Recherche Scientifiqueet Technique sur les Régions Arides Omar El Bernaoui Station Milieu Biophysique-Touggourt, vol: 175.
94. KITCHEN S., MCCRAW A. et ECHENAGUCIA M., 2011- Le diagnostic de l'hémophilie et des autres troubles de coagulation. Manuel De Laboratoire. Fédération mondiale de l'hémophilie Deuxième édition. 152p.
95. KIYOHARA H., UCHIDA T., TAKAKIWA M., MATSUZAKI T., HADA N., TAKEDA T., SHIBATA T. and YAMADA H., 2010- Different contributions of side-chains in β-D-(1→3,6)-galactans on intestinal Peyer's patch-immunomodulation by polysaccharides from *Astragalusmongholics* Bunge. Phytochemistry, vol. 71: 280-293.
96. KODIRALIEVA F. A. and RAKHMANBERDYEVA R. K., 2011- Polysaccharides from seeds of plants of the family Fabaceae. Chemistry of Natural Compounds, vol. 47: 268-269.
97. KOENIGSKNECHT-TALBOO J. and LANDRETH G. E., 2005- Microglial phagocytosis induced by fibrillar beta-amyloid and IgGs are differentially regulated by proinflammatory cytokines. J. Neurosci., vol. 25: 8240-8249.
98. KOKO W.S., MESAIK M. A., YOUSAF S., GALAL M. and CHOUDHARY M. I., 2008- In vitro immunomodulating properties of selected Sudanese medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, vol. 118: 26-34.
99. KONG W. S., 2004- Descriptions Of Commercially Important Pleurotus Species. Mushroom Growers' handbook1. Oyster Mushroom Cultivation. Part II. Oyster Mushrooms. Chapter 4 Spawn, 54-61.
100. KOPPARAPU N. K., LIU Z., FEI F., YAN Q. and JIANG Z., 2011- Purification and characterization of a chitinase (sAMC) with antifungal activity from seeds of *Astragalus membranaceus*. Process Biochemistry, vol. 46: 1370-1374.
101. KRICHEN F., KAROUD W., SILA A., ABDELMALEK B. E., GHORBEL R., ELLOUZ-CHAABOUNI S. and BOUGATEF A., 2015- Extraction, characterization and

antimicrobial activity of sulfated polysaccharides from fish skins. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 75: 283-289.

102. KUMAR A., AUGUSTINE D., MEHTA A., DINESH K. R., VISWAM D. and PHILIP R., 2012- *Leuconostoc garlicum*: An Unusual Pathogen in the Era of Vancomycin Therapy. The Indian Journal of Chest Diseases and Allied Sciences, vol. 54: 127-130.

103. LADINSKY J. L. et WESTRING D. W., 1967- The Effect of Anticoagulants on the Volume of Normal and Leukemic Leukocytes. *Cancer Research*, vol. 27: 1689-1695.

104. LAGNIKA L., 2005- Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes beninoises. Thèse doctorat. Université LOUIS PASTEUR STRASBOURG. 280 p.

105. LANCE M. D., 2015- A general review of major global coagulation assays: thrombelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. Thrombosis Journal, vol. 13: 12p.

106. LEE J. B., TANIKAWA T., HAYASHIA K., ASAGI M., KASAHARA Y. and HAYASHI T., 2015- Characterization and biological effects of two polysaccharides isolated from *Acanthopanax sciadophylloides*. Carbohydrate Polymers, vol. 116: 159-166.

107. LEE K. Y. and JEON Y. J., 2005- Macrophage activation by polysaccharide isolated from *Astragalus membranaceus.* International Immunopharmacology, vol. 5: 1225-1233.

108. LEHMANN H., 2013- Le Médicament A Base De Plantes En Europe. Statut, Enregistrement, Contrôles. Thèse doctorat. Université de Strasbourg. 341p.

109. LEMAOUI A., 2011- Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa*.L Algérienne. Thème magister. Université FERHAT ABBAS-SETIF. 100p.

110. LI B., DOBRUCHOWSKA J. M., GERWIG G. J., DIJKHUIZEN L. and KAMERLING J. P., 2013- Structural investigation of water-soluble polysaccharides extracted from the fruit bodies of *Coprinus comatus*. Carbohydrate Polymers, vol. 91: 314-321.

111. LI B., ZHANG X., WANG M. and JIAO L., 2015- Characterization and antioxidant activities of acidic polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Markino. Carbohydrate Polymers, vol. 127: 209-214.

112. LI H. Q., LLOYD R. J. and WANG J. D., 2007b- Effect of Astragalus polysaccharides on Erythrocyte Immune Adherence of Chickens Inoculated with Infectious Bursa1 Disease Virus. Agricultural Sciences in China, vol. 6: 1402-1408.

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

114. LI M., WANG W., XUE J., GU Y., and LIN S., 2011- Meta-analysis of the clinical value of *Astragalus membranaceus* in diabetic nephropathy. Journal of Ethnopharmacology, vol. 133: 412-419.

115. LI N., MAO W., YAN M., LIU X., XIA Z., WANG S., XIAO B., CHEN C., ZHANG L. and CAO S., 2015- Structural characterization and anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide from the green alga *Codium divaricatum*. Carbohydrate Polymers, vol. 121: 175-182.

116. LI R., CHEN W. C., WANG W. P., TIAN W. Y. and ZHANG X. G., 2009b- Extraction, characterization of Astragalus polysaccharides and its immunemodulating activities in rats with gastric cancer. Carbohydrate Polymers, vol. 78: 738-742.

117. LI R., CHEN W. C., WANG W. P., TIAN W. Y. and ZHANG X. G., 2010- Antioxidant activity of Astragalus polysaccharides and antitumour activity of the polysaccharides and siRNA. Carbohydrate Polymers, vol. 82: 240-244.

118. LI S. G. and ZHANG Y. Q., 2009- Characterization and renal protective effect of a polysaccharide from *Astragalus membranaceus*. Carbohydrate Polymers, vol. 78: 343-348.

119. LI S. P., ZHAO X. J. and WANG J. Y., 2009a- Synergy of Astragalus polysaccharides and probiotics (Lactobacillus and *Bacillus cereus*) on immunity and intestinal microbiota in chicks. Poultry Science, vol. 88: 519-525.

120. LI S., ZHANG Y. and ZHAO J., 2007- Preparation and suppressive effect of Astragalus polysaccharide in glomerulonephritis rats. International Immunopharmacology, vol. 7: 23-28.

121. LI X., WANG L. and WANG Z., 2015- Radioprotective activity of neutral polysaccharides isolated from the fruiting bodies of *Hohenbuehelia serotina*. Physica Medica., 1-8.

122. LI Y. J., LIN D. D., JIAO B., XU C. T., QIN J. K., YE G. J. and SU G. F., 2015- Purification, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharide from *Cissus pteroclada Hayata*. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 77: 307-313.

123. LIM P. E., TAN J., PHANG S. M., NIKMATULLAH A., HONG D. D., SUNARPI H. and HURTADO A. Q., 2014- Genetic diversity of *Kappaphycus* Doty and *Eucheuma* J. Agardh (Solieriaceae, Rhodophyta) in Southeast Asia. J. Appl. Phycol., 26: 1253-1272.

124. LIN L. W., HSIEH M. T., TSAI F. H., WANG W. H. and WU C. R., 2002- Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity caused by *Cistanche deserticola* in rodents. Journal of Ethnopharmacology, vol. 83: 177-182.

125. LISTON A. and WHEELER J. A., 1991- The phylogenetic position of the genus Astragalus (Fabaceae) evidence from the chloroplast gene rpoC1 and rpoC2. Biochemical Systematics and Ecology, vol. 22: 377-388.

126. LIU C., LIU Q., SUN J., JIANG B. and YAN J., 2014- Extraction of water-soluble polysaccharide and the antioxidant activity from *Semen cassia*. Journal of food and drug analysis. Article in press, 1-8.

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

128. LIU H., XIE F., YU L., CHEN L. and LI L., 2009- Thermal processing of starch-based polymers. Progress in Polymer Science, vol. 34: 1348-1368.

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

130. LIU M., WU K., MAO X., WU Y. and OUYANG J., 2010- Astragalus polysaccharide improves insulin sensitivity in KKAy mice: Regulation of PKB/GLUT4 signaling in skeletal muscle. Journal of Ethnopharmacology, vol. 127: 32-37.

131. LIU Q. Y., YAO Y. M., ZHANG S. W. and SHENG Z. Y., 2011- Astragalus polysaccharides regulate T cell-mediated immunity via $CD11c^{high}$ $CD45RB^{low}$ DCs in vitro. Journal of Ethnopharmacology, vol. 136: 457-464.

132. LOTRAKUL P., DEENARN P., PRASONGSUK S. and PUNNAPAYAK H., 2009- Isolation of *Aureobasidium pullulans* from bathroom surfaces and their antifungal activity against some Aspergilli. African Journal of Microbiology Research, Vol. 3: 253-257.

133. LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR L. and RANDALL R.J., 1951- Protein measurement with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem., vol. 193: 265-275.

134. MANSOOR HADI AL-SAADI N., 2013- In vitro study of the anticoagulant activity of some plant extracts. INDIAN JOURNAL OF APPLIED RESEARCH, vol. 3: 120-122.

135. MAO X. Q., WU Y., WU K., LIU M., ZHANG J. F., ZOU F. and OU-YANG J. P., 2007- Astragalus polysaccharide reduces hepatic endoplasmic reticulum stress and restores glucose homeostasis in a diabetic KKAy mouse model[1]. Acta Pharmacologica Sinica, vol. 28: 1947-1956.

136. MAO X. Q., YU F., WANG N., WU Y., ZOU F., WU K., LIU M. and OUYANG J. P., 2009- Hypoglycemic effect of polysaccharide enriched extract of *Astragalus membranaceus* in diet induced insulin resistant C57BL/6J mice and its potential mechanism. Phytomedicine, vol. 16: 416-425.

137. MAQBOOL M., VIDYADARAN S., GEORGE E. and RAMASAMY R., 2011- Optimisation of laboratory procedures for isolating human peripheral blood derived neutrophils. Med. J. Malaysia, Vol. 66: 296-299.

138. MEI Y., ZHU H., HU Q., LIU Y., ZHAO S., PENG N. and LIANG Y., 2015- A novel polysaccharide from mycelia of cultured *Phellinus linteus* displays antitumor activity through apoptosis. Carbohydrate Polymers, vol. 124: 90-97.

139. MENG L., SUN S., LI R., SHEN Z., WANG P. and JIANG X., 2015- Antioxidant activity of polysaccharides produced by *Hirsutella sp*. and relation with their chemical characteristics. Carbohydrate Polymers, vol. 117: 452-457.

140. MERCK, 2008- May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène. Coloration de sanguins et de moelle osseuse et matériel clinico-cytologique. Dispositif médical de diagnostic *in vitro*. 2p.

141. MIRHOSSEINI H. and AMID B. T., 2012- A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. Food Research International, vol. 46: 387-398.

142. MONSIGNY M., PETIT C., and ROCHE A. C., 1988- Calorimetric Determination of Neutral Sugars by a Resorcinol Sulfuric Acid Micromethod. Analytical biochemistry, vol. 175: 525-530.

143. MORRISON I. M. and STEWART D., 1998- Plant Cell Wall Fragments Released On Solubilisation In Trifluoroacetic Acid. Phytochemistry, Vol. 49: 1555-1563.

144. MORRISON I. M., 1988- Hydrolysis of plant cell walls with trifluoroacetic acid. Phytochemistry, Vol. 27: 1097-1100.

145. MOUSSAOUI Y., FERHI F., ELALOUI E., BEN SALEM R. and BELGACEM M. N., 2011- utilisation of *Astragalus armatus* roots in papermaking. BioResources, vol. 6: 4969-4978.

146. MUKHOPADHYAY S. K., CHATTERJEE S., GAURI S. S., DAS S. S., MISHRA A., PATRA M., GHOSHA A. K., DASA A. K., SINGH S. M. and DEY S., 2014- Isolation and characterization of extracellular polysaccharide Thelebolan produced by a newly isolated psychrophilic Antarctic fungus *Thelebolus.* Carbohydrate Polymers, vol. 104: 204-212.

147. MULLOY B., MOURAO P.A.S. and GRAY E., 2000- Structure/function studies of anticoagulant sulphated polysaccharides using NMR. Journal of Biotechnology, vol. 77: 123-135.

148. NACHER-VAZQUEZ M., BALLESTEROS N., CANALES A., RODRIGUEZ SAINT-JEAN S., PEREZ-PRIETO S. I., PRIETO A., AZNAR R. and LOPEZ P., 2015- Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. Carbohydrate Polymers, vol. 124: 292-301.

149. NADAL B., 2009- Synthèse et évaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants. Thèse doctorat. Université Paris Sud. 277p.

150. NELSON S. C., PLOETZ R. C. and KEPLER A. K., 2006- Musa species (banana and plantain). ver. 2.2. In: Elevitch, C.R. (ed.). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry (www.traditionaltree.org). 33p.

151. NIU Y., WANG H., XIE Z., WHENT M., GAO X., ZHANG X., ZOU S., YAO W. and YU L., 2011- Structural analysis and bioactivity of a polysaccharide from the roots of *Astragalusmembranaceus* (Fisch) Bge. var. *mongolicus* (Bge.) Hsiao. Food Chemistry, vol. 128: 620-626.

152. NORUM M., BOGWALD J. and DALMO R. A., 2005- Isolation and characterization of spotted wolfish (Anarhichas minor Olafsen) macrophages. Fish & Shellfish Immunology, vol. 18: 381-391.

153. NOSE M., TERAWAKI K. and OGIHARA Y., 1997- The role of a crude polysaccharide fraction in the macrophage activation by "Shosaikoto". Phytomedicine, vol. 4: 23-26.

154. NWOKOCHA L. M. and WILLIAMS P. A., 2014- Isolation and characterization of a novel polysaccharide from seeds of *Peltophorum pterocarpum*. Food Hydrocolloids, vol. 41: 319-324.

155. OPOTA ONYA D., SENGA KITUMBE P., COVACI A. and CIMANGA KANYANGA R., 2013- Physico-chemical study of *Adenanthera pavonina* seed oil growing in Democratic Republic of Congo. International Journal of Pharm. Tech. Research, vol. 5: 1870-1881.

156. OZENDA P., 1977- Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 p.

157. PAL A., DAS D., KUMAR SARKAR A., GHORAI S., DAS R. and PAL S., 2015- Synthesis of glycogen and poly (acrylic acid)-based graft copolymers via ATRP and its application for selective removal of Pb^{2+} ions from aqueous solution. European Polymer Journal, vol. 66: 33-46.

158. PALANIRAJ A. and JAYARAMAN V., 2011- Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. Journal of Food Engineering, vol. 106: 1-12.

159. PARSONS B. N., WIGLEY P., SIMPSON H. L., WILLIAMS J. M., HUMPHREY S., SALISBURY A. M., WATSON A. J. M., FRY S. C., O'BRIEN D., ROBERTS C. L., O'KENNEDY N., KEITA A. V., SODERHOLM J. D., RHODES J. M. and CAMPBELL B. J., 2014- Dietary Supplementation with Soluble Plantain Non Starch Polysaccharides Inhibits Intestinal Invasion of *Salmonella Typhimurium* in the Chicken. PLOS ONE, vol. 9. 11p.

160. PAULSEN B. S., OLAFSDOTTIR E. S. and INGOLFSDOTTIR K., 2002- Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. Journal of chromatography a, vol. 967: 163-171.

161. PEI J. J., WANG Z. B., MA H. L. and YAN J. K., 2015- Structural features and antitumor activity of a novel polysaccharide from alkaline extract of *Phellinus linteus* mycelia. Carbohydrate Polymers, vol. 115: 472-477.

162. PENSKAR M.R. and HIGMAN P. J., 1996- Special plant abstract for *Panax quinquefolius* (ginseng). Michigan Natural Features Inventory, Lansing, MI. 3p.

163. PERSIN Z., STANA-KLEINSCHEK K., FOSTER T. J., VAN DAM J. E. G., BOERIU C. G. and NAVARD P., 2011- Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. Carbohydrate Polymers, vol. 84: 22-32.

164. PINTO M., COELHO E., NUNES A., BRANDÃO T. and COIMBRA M. A., 2015- Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. Carbohydrate Polymers, vol. 116: 215-222.

165. PLESZCZYNSKA M., WIATERA A., JANCZAREK M. and SZCZODRAK J., 2015- (1→3)-α-D-Glucan hydrolases in dental biofilm prevention and control: A review. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 79: 761-778.

166. POMIN V. H., 2015- Sulfated glycans in inflammation. European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 92: 353-369.

167. PONCELET J. L., 2012- Le Syndrome Hémorragique. Société Nationale Des Groupements Techniques Vétérinaires. Fiche n° 177, 1-8.

168. POPOV S. V., POPOVA G. Y., OVODOVA R. G., BUSHNEVA O. A. and OVODOV Y. S., 1999- Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. International Journal of Immunopharmacology, vol. 21: 617-624.

169. PRAJAPATI V. D., MAHERIYA P. M., JANI G. K. and SOLANKI H. K., 2014- Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. Carbohydrate Polymers, vol. 105: 97-112.

170. QIAN Z. G., 2014- Cellulase–assisted extraction of polysaccharides from *Cucurbita moschata* and their antibacterial activity. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 432-434.

171. QUAN J., JIN M., XU H., QIU D. and YIN X., 2014- BRP, a polysaccharide fraction isolated from *Boschniakia rossica*, protects against galactosamine and lipopolysaccharide induced hepatic failure in mice. J. Clin. Biochem. Nutr., vol. 54: 181-189.

172. QUAN J., LI T., ZHAO W., XU H., QIU D. and YIN X., 2013- Hepatoprotective effect of polysaccharides from *Boschniakia rossica* on carbon tetrachloride induced toxicity in mice. J. Clin. Biochem. Nutr., vol. 52: 244-252.

173. QUEZEL P. et SANTA S., 1962-1963- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS Paris. Vol. 1 et 2, 1170 p.

174. RACHLINE C., 2012- Utilisation des dispositifs de mesure de l'INR capillaire par les professionnels de santé en établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) pour la gestion des traitements antivitamine K par le médecin généraliste : une étude de faisabilité. Thèse doctorat. Université Paris Descartes. 99p.

175. RAGSDALE R. L. and GRASSO R. J., 1989- An improved spectrofluorometric assay for quantitating yeast phagocytosis in cultures of murine peritoneal macrophages. Journal of Immunological Methods, vol. 123: 259-267.

176. RAMADAN M. F., MANSOUR HEFNAWY H. T. and MOHAMED GOMAA A., 2011- Bioactive lipids and fatty acids profile of *Cistanche phelypaea*. Journal of Consumer Protection and Food Safety, vol. 6: 333-338.

177. RAMBERG J. E., NELSON E. D. and SINNOTT R. A., 2010- Immunomodulatory dietary polysaccharides: a systematic review of the literature. Nutrition Journal, 22p.

178. RATHI R. S., ROY S., MISRA A. K. and SINGH S. K., 2013- Ethnobotanical notes on *Houttuynia cordata* Thunb. in North-eastern region of India. Indian journal of natural products and resources, vol. 4: 432-435.

179. RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M. and RICE-EVANS C., 1999- Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology et Medicine, Vol. 26: 1231-1237.

180. RICHARD B., 2013- Physiologie de la coagulation. Inserm U698. 66p.

181. ROSSI G., CAPITANI L., CECILIANI F., RESTELLI L. and PALTRINIERI S., 2013- Hyposialylated α1-acid glycoprotein inhibits phagocytosis of feline neutrophils. Research in Veterinary Science, vol. 95: 465-471.

182. ROUESSAC F. et ROUESSAC A., 2004- ANALYSE CHIMIQUE. Méthodes et techniques instrumentales modernes. 6ème édition. Ed DUNOD. 481p.

183. SATO M., SANO H., IWAKI D., KUDO K., KONISHI M., TAKAHASHI H., TAKAHASHI T., IMAIZUMI H., ASAI Y. and KUROKI Y., 2003- Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NF-kappa B activation and TNF-alpha secretion are down-regulated by lung collectin surfactant protein A.The Journal of Immunology, vol.171: 417–425.

184. SAXENA N. and SINGH K., 2013- Study Of Genetic Relatedness Among Arthrobacter Strains By Phlylogenetic Analyses Of RAPD-PCR Fingerprint Patterns. International Journal of Advanced Biotechnology and Research, vol. 4: 29-33.

185. SCHEPETKIN I. A. and QUINN M. T., 2006- Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential. International Immunopharmacology, vol. 6: 317-333.

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

187. SHANMUGAM M. and MODY K. H., 2000- Heparinoid-active sulphated polysaccharides from marine algae as potential blood anticoagulant agents. CURRENT SCIENCE, vol. 79: 1672-1683.

188. SHAO B. M., XU W., DAI H., TU P., LI Z. and GAO X. M., 2004- A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb. Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 320: 1103-1111.

189. SHAO P., LIU J., CHEN X., FANG Z. and SUN P., 2015- Structural features and antitumor activity of a purified polysaccharide extracted from *Sargassum horneri*. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 73: 124-130.

190. SHARMA M. K., SHARMA A., KUMAR A. and KUMAR M., 2007- *Spirulinafusiformis* provides protection against mercuric chloride induced oxidative stress in Swiss albino mice. Food and Chemical Toxicology, vol. 45: 2412-2419.

191. SHI L. and FU Y., 2011- Isolation, purification, and immunomodulatory activity *in vitro* of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata.* Acta Biochim Biophys Sin, vol. 43: 418-424.

192. SHI L., DONG Q. and DING K., 2014- Structure elucidation and immunomodulatory activity *invitro* of a xylan from roots of *Cudrania tricuspidata.* Food Chemistry, vol. 152: 291-296.

193. SHI M., ZHANG Z. and YANG Y., 2013- Antioxidant and immunoregulatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP). Carbohydrate Polymers, vol. 95: 200-206.

194. SHUHONG Y., MEIPING Z., HONG Y., HAN W., SHAN X., YAN L. and JIHUI W., 2014- Biosorption of Cu^{2+}, Pb^{2+} and Cr^{6+} by a novel exopolysaccharide from *Arthrobacter* ps-5. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 50-56.

195. SILVA T.M.A., ALVES L.G., DE QUEIROZ K.C.S., SANTOS M.G.L., MARQUES C.T., CHAVANTE S.F., ROCHA H.A.O. and LEITE E.L., 2005- Partial characterization and anticoagulant activity of a heterofucan from the brown seaweed *Padina gymnospora*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, vol. 38: 523-533.

196. SINGH R. M., KAUR N. and KENNEDY J. F., 2015- Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. Carbohydrate Polymers, vol. 123: 190-207.

197. SINGH R. S., SAINI G. K. and KENNEDY J. F., 2008- Pullulan: microbial sources, production and applications. Carb. Poly., vol. 73: 515-531.

198. SOTO J. M. R., 2001- Distribution and reproductive biology of the striped smooth-hound *Mustelus fasciatus* (Garman, 1913) (Carcharhiniformes, Triakidae). Mare Magnum, vol. 1: 129-134.

199. SOUZA, R. O. S., MADEIRA, J. C., CHAGAS, F. D. S., PARREIRAS, L. A., SANTOS, G. R. C., ASSREUY, A. M. S., MOUR˜ AO, P. A. S. and PEREIRA, M. G., 2015- Purified polysaccharides of *Geoffroea spinosa* barks have anticoagulant and antithrombotic activities devoid of hemorrhagic risks. Carbohydrate Polymers, vol. 124: 208-215.

200. STAPLES G. W. and JACQUEMOUD F., 2005- Typification and nomenclature of the Convolvulaceae in N. L. Burman's Flora Indica, with an introduction to the Burman collection at Geneva. Candollea, vol. 60: 445-467.

201. STEVEN M M., LENNIE S E., STURROCK R D. and GEMMELL C G., 1984- Enhanced bacterial phagocytosis by peripheral blood monocytes in rheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases, vol. 43: 435-439.

202. SUN L. M., WANG X. L., DENG W. L., DING L. S. and PENG S. L., 2011- Chemical constituents from *Astragalus ernestii.*Chinese Journal of Natural Medicines, vol. 9: 0038-0041.

203. SUN X., GAO R. L., XIONG Y. K., HUANG Q. C. and XU M., 2014- Antitumor and immunomodulatory effects of a water-soluble polysaccharide from *Lilii Bulbus* in mice. Carbohydrate Polymers, vol. 102: 543-549.

204. SUN Y., JIN L., WANG T., XUE J., LIU G., LI X., YOU J., LI S. and XU Y., 2008- Polysaccharides from *Astragalus membranaceus* promote phagocytosis and superoxide anion (O_2^-) production by coelomocytes from sea cucumber *Apostichopus japonicus* in vitro. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, vol. 147: 293-298.

205. TAN H. H., 2008- A Sighting Of A Stinkhorn Fungus, Dictyophora Species. Nature In Singapore, vol. 1: 165-169.

206. TAVANTI A., CAMPA D., BERTOZZI A., PARDINI G., NAGLIK J. R., BARALE R. and SENESI S., 2006- *Candida albicans* isolates with different genomic backgrounds display a differential response to macrophage infection. Microbes and Infection, vol. 8: 791-800.

207. TELLI A., 2009- Extraction, identification et activités biologiques des polyphénoles des dattes au cours des différents stades phénologiques (variété Ghars). Thème magister. Université Kasdi-Merbah Ouargla. 77p.

208. THAIPONG K., BOONPRAKOB U., CROSBY K., CISNEROS-ZEVALLOS L. and HAWKINS BYRNE D., 2006- Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis, vol. 19: 669-675.

209. THANH T. T. T., TRAN V. T. T., YUGUCHI Y., BUI L. M. and NGUYEN T. T., 2013- Structure of Fucoidan from Brown Seaweed Turbinaria ornata as Studied by Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESIMS) and Small Angle X-ray Scattering (SAXS) Techniques. Marine drugs, vol. 11: 2431-2443.

210. TZIANABOS A. O., 2000- Polysaccharide Immunomodulators as Therapeutic Agents: Structural Aspects and Biologic Function. Clinical Microbiology Reviews, vol. 13: 523-533.

211. UMMARTYOTIN S. and MANUSPIYA H., 2015- A critical review on cellulose: From fundamental to an approach on sensor technology. Renewable and Sustainable Energy Reviews, vol. 41: 402-412.

212. VALEPYN E., CABRERA J. C., RICHEL A. and PAQUOT M., 2014- Water soluble exo-polysaccharide from *Syncephalastrum racemosum*, a strong inducer of plant defence reactions. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 941-946.

213. VAN KESSEL N., DORENBOSCH M., CROMBAGHS B., NIEMEIJER B. and BINNENDIJK E., 2013- First record of Asian weather loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor, 1842) in the River Meuse basin. BioInvasions Records, vol. 2: 167-171.

214. VERSPREET J., DORNEZ E., VAN DEN ENDE W., DELCOUR J. A. and COURTIN C. M., 2015- Cereal grain fructans: Structure, variability and potential health effects. Trends in Food Science & Technology, vol. 43: 32-42.

215. WANG D., SUN S. Q., WU W. Z., YANG S. L. and TAN J. M., 2014a- Characterization of a water-soluble polysaccharide from *Boletus edulis* and its antitumor and immunomodulatory activities on renal cancer in mice. Carbohydrate Polymers, vol. 105: 127-134.

216. WANG H., ZHANG X., LI Y., CHEN R., OUYANG S., SUN P., PAN L., REN H. and YANG B., 2014b- Antitumor activity of a polysaccharide from longan seed on lung cancer cell line A549 *in vitro* and *in vivo.* Tumor Biol. vol. 35: 7259-7266.

217. WANG X., HUANG M., YANG F., SUN H., ZHOU X., GUO Y., WANG X. and ZHANG M., 2015- Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics *in vitro*. Carbohydrate Polymers. Accepted Manuscript 34p.

218. WANG Z., LU C., WU C., XU M., KOU X., KONG D. and JING G., 2014- Polysaccharide of *Boschniakia rossica* induces apoptosis on laryngeal carcinoma Hep2 cells. Gene, vol. 536: 203-206.

219. WARRAND J., 2004- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Thèse doctorat. Université de PICARDIE JULES VERNE. 238p.

220. WASSER S. P., 2002- Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl Microbiol Biotechnol, vol. 60: 258-274.

221. WEI J. C. and JIANG Y. M., 1989- The status of the genus Llanoa dodge and the delimitation of the genera in the Umbilicariaceae (Ascomycotina). Mycosystema, vol. 2: 135-150.

222. WEINMAN S. et MEHUL P., 2004- TOUTE LA BIOCHIMIE. Ed. DUNOD. 466p.

223. WIJESINGHEA W.A.J.P. and JEON Y. J., 2012- Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. Carbohydrate Polymers, vol. 88: 13-20.

224. WU M., WU Y., QU M., LI W. and YAN X., 2013- Evaluation of antioxidant activities of water-soluble polysaccharides from brown alga *Hizikia fusiformis*. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 56: 28-33.

225. WU X. M. and TU P. F., 2006- Isolation and characterization of α-(1→6)-glucans from *Cistanchedeserticola*. Journal of Asian Natural Products Research, vol. 7: 823-828.

226. WU X. M., GAO X. M., TSIM K. W. K. and TU P. F., 2005- An arabinogalactan isolated from the stems of *Cistanche deserticola* induces the proliferation of cultured lymphocytes. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 37: 278-282.

227. XIE J. H., SHEN M. Y., NIE S. P., ZHAO Q., LI C. and XIE M. Y., 2014- Separation of water-soluble polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* by ultrafiltration process. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 479-483.

228. XIONG W. T., GU L., WANG C., SUN H. X. and LIUN X., 2013- Anti-hyperglycemic and hypolipidemic effects of *Cistanche tubulosa* in type 2 diabetic db/db mice. Journal of Ethnopharmacology, vol. 150: 935-945.

229. XU D. J., XIA Q., WANG J. J. and WANG P. P., 2008- Molecular Weight and Monosaccharide Composition of Astragalus Polysaccharides. Molecules, vol. 13: 2408-2415.

230. XU X., XU J., ZHANG Y. and ZHANG L., 2008- Rheology of triple helical Lentinan in solution: Steady shear viscosity and dynamic oscillatory behavior. Food hydrocolloids, vol. 22: 735-741.

231. YAN H., XIE Y., SUN S., SUN X., REN F., SHI Q., WANG S., ZHANG W., LI X. and ZHANG J., 2010- Chemical analysis of *Astragalus mongholicus* polysaccharides and antioxidant activity of the polysaccharides. Carbohydrate Polymers, vol. 82: 636-640.

232. YANG C., GOU Y., CHEN J., AN J., CHEN W. and HU F., 2013- Structural characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula.* Carbohydrate Polymers, vol. 98: 886-895.

233. YANG C., GUAN J., ZHANG J. S. and LI S. P., 2010- Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. Journal of Planar Chromatography, vol. 23: 46-49.

234. YANG J., HAN S., ZHENG H., DONG H. and LIU J., 2015- Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. Carbohydrate Polymers, vol. 123: 53-66.

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

236. YOSHIKAWA M., MATSUDA H., MORIKAWA T., XIE H., NAKAMURA S. and MURAOKA O., 2006- Phenylethanoid oligoglycosides and acylated oligosugars with vasorelaxant activity from *Cistanche tubulosa*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 14: 7468-7475.

237. YU X., YANG X., CUI B., WANG L. and REN G., 2014- Antioxidant and immunoregulatory activity of alkali-extractable polysaccharides from North American ginseng. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 65: 357-361.

238. YUAN C., PAN X., GONG Y., XIA A., WU G., TANG J. and HAN X., 2008- Effects of Astragalus polysaccharides (APS) on the expression of immune response genes in head kidney, gill and spleen of the common carp, Cyprinus carpio L. International Immunopharmacology, vol. 8: 51-58.

239. YUAN Q., XIE Y., WANG W, YAN Y., YE H., JABBAR S. and ZENG X., 2015- Extraction optimization, characterization and antioxidant activity in vitro of polysaccharides from mulberry (*Morus alba* L.) leaves. Carbohydrate Polymers, vol. 128: 52-62.

240. ZHANG A. Q., ZHANG Y., YANG J., JIANG J., HUANG F. F. and SUN P. L., 2013- Structural elucidation of a novel water-soluble fructan isolated from *Wedelia prostrate*. Carbohydrate Research, vol. 376: 24-28.

241. ZHANG J., XIE X., LI C., and FU P., 2009- Systematic review of the renal protective effect of Astragalus membranaceus (root) on diabetic nephropathy in animal models. Journal of Ethnopharmacology, vol. 126: 189-196.

242. ZHANG M., CUI S.W., CHEUNG P.C.K. and WANG Q., 2007- Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. Trends in Food Science & Technology, vol. 18: 4-19.

243. ZHANG W., XU P. and ZHANG H., 2015- Pectin in cancer therapy: A review. Trends in Food Science & Technology. Article in press, 1-14.

244. ZHANG X. J., CHEN G. Z., KE M., HAN H., LU Z. W., WANG T. J., SUN F. H. and YU H. Y., 2011- A study on *Astragalus mongholicus* heterosaccharides affecting contractions of isolated bladder detrusor strips. Carbohydrate Polymers, vol. 85: 312-317.

245. ZHANG Y. W., WU C. Y. and CHENG J. T., 2007- Merit of Astragalus polysaccharide in the improvement of early diabetic nephropathy with an effect on mRNA expressions of NF-κB and IκB in renal cortex of streptozotoxin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, vol. 114: 387-392.

246. ZHANG Z., LV G., HE W., SHI L., PAN H. and FAN L., 2013- Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes*. Carbohydrate Polymers, vol. 98: 1524-1531.

247. ZHAO B., ZHANG J., GUO X. and WANG J., 2013- Microwave-assisted extraction, chemical characterization of polysaccharides from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb and its antioxidant activities evaluation. Food Hydrocolloids, vol. 31: 346-356.

248. ZHAO T., MAO G., MAO R., ZOU Y., ZHENG D., FENG W., REN Y., WANGD W., ZHENG W., SONG J., CHEN Y., YANG L. and WU X., 2013- Antitumor and immunomodulatory activity of a water-soluble low molecular weight polysaccharide from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Food and Chemical Toxicology, vol. 55: 609-616.

249. ZHENG G., XU L., WU P., XIE H., JIANG Y., CHEN F. and WEI X., 2009- Polyphenols from longan seeds and their radical-scavenging activity. Food Chemistry, vol. 116: 433-436.

250. ZHOU J., YAN J., BAI Z., LI K. and HUANG K., 2015- Hypoglycemic activity and potential mechanism of a polysaccharide from the loach in streptozotocin-induced diabetic mice. Carbohydrate Polymers, vol. 121: 199-206.

251. ZHU Z. Y., ZHANG J. Y., CHEN L. J., LIU X. C., LIU Y., WANG W. X. and ZHANG Y. M., 2014- Comparative evaluation of polysaccharides isolated from Astragalus, oyster mushroom, and yacon as inhibitors of α-glucosidase. Chinese Journal of Natural Medicines, vol. 12: 0290-0293.

252. ZOHRA R. R., AMAN A., ZOHRA R.R., ANSARI A., GHANI M. and UL QADER S. A., 2013- Dextranase: Hyper production of dextran degrading enzyme from newly isolated strain of *Bacillus licheniformis*. Carbohydrate Polymers, vol. 92: 2149-2153.

253. ZONG A., CAO H. and WANG F., 2012- Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. Carbohydrate Polymers, vol. 90: 1395-1410.

254. ZOU D., 2005- Effects of elevated atmospheric CO2on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta). Aquaculture, vol. 250: 726-735.

255. حليس يوسف, 2007- الموسوعة النباتية لمنطقة سوف. مطبعة الوليد. 252ص.

Annexes

Annexe 1

Le tableau 1 indique la relation entre la source, la composition chimique, la structure, l'activité biologique et les propriétés fonctionnelles des polysaccharides de la présente étude.

Tableau 1. – Résumé des sources, des structures, des masses molaires et des activités biologiques recueillis sur les polysaccharides

Espèce	Fractions	Oses constitutifs et ratios	Poids moléculaire	Activités biologiques	Références
Hizikia fusiformis	Hétéro-polysaccharide	Galactose, mannose et autres	/	Antioxydante	WU *et al*., 2013
Sirulina sp		Rhamnose à 53%	/	Anyioxydante	CHAIKLAHAN *et al*., 2013
Mosla chinensis Maxim. cv. Jiangxiangru	Hétéro-polysaccharide	Glucose, galactose, arabinose, mannose et rhamnose	/	Amélioration dose-dépendant de l'activité antioxydante ; Effet bénéfique sur l'activité immunostimulante	LI *et al*., 2013
Lilium lancifolium Thunb.	/	L-rhamnopyranose, D-arabinofuranose, D-glucopyranose et D-galactopyranose.	/	Activité de piégeage des radicaux DPPH et hydroxyle, et la puissance réductrice et activité chélateur fort sur l'ion ferreux	GAO *et al*., 2015
Acanthopanax senticosu	Hétéro-polysaccharide	Rhamnose, xylose, glucose, mannose, arabinose,	/	Antioxydante	LIU *et al*., 2015

		galactose, et acide glucuronique			
Phellinus pini	Hétéro-polysaccharides PPM PPE	mannose, galactose et de glucose avec des ratios de 2,99:1,00:0,34 (PPM) et 38,40:1,00:1,76 (PPE)	22 kDa (PPM) 38 kDa (PPE)	Ils peuvent piéger le radical DPPH, le radical hydroxyle, chélates l'ion ferreux et réduises l'ion ferrique. PPM est plus forte que PPE.	JIANG *et al*., 2015
Pommes	TYAP-1 ; TYAP-2 ; TYAP-3.	Galactose, arabinose et autres (structuralement TYAP-2 et TYAP-3 sont plus compliqués que TYAP-1)	115 kDa (1); 479 kDa (2) ; 403 kDa (3).	TYAP-3 a montré une activité anti-oxydante de façon significative et supérieure à celle de TYAP-1 et TYAP-2	DOU *et al*., 2015
Radix Cyathulae officinalis Kuan.	Hydrosoluble	Glucose 48,8%, mannose15,7%, rhamnose14,3%, galactose10,6%, fructose 6,1% et arabinose 4,5%,	182 kDa.	*In vitro* : Activités éliminatrices puissantes contre les radicaux DPPH, hydroxyle et anions superoxyde. *In vivo* : amélioration des activités antioxydantes enzymatiques et les capacités de balayage d'anion superoxyde et des radicaux hydroxyles ; réduction de la peroxydation de lipide et régulation positive des expressions d'ARNm	HAN *et al*., 2015

				des enzymes antioxydantes.	
Hirsutella sp.	Fractionnement éthanolique (à 50%, 65% et 80%).	glucose, galactose et mannose.	10-20 kDa	Activité de piégeage radicalaire influencé par la composition en monosaccharides.	MENG *et al.*, 2015
Porplyra haitanesis	/	une chaine principale de l'alternance des unités β-(1→3)-D-galacosyle et α-(1→4)-L-galactosyle, avec (1→6) sulfate ou 3,6 anhydro-α-L-galactosyl. l'ester sulfate est de 17%	/	Antioxydante et anticoagulante	LIU *et al*., 2015
Codium divaricatum	/	Galactane pyruvate sulfaté à une chaine principale de (1→3)-D-galactopyranose. Le pyruvate un cétal cyclique à cinq chaînons avec O-3 et O-4 galactoses terminaux non réducteurs.	/	Activité anticoagulante élevée	LI et al., 2015
Padina gymnospora	hétérofucane précipité avec de l'acétone à	d'acide 3-ß -D-glucuronique 1→ ou 4-ß-D-glucuronique 1→, substitué en position C-	18 kDa	Activité anticoagulante 2,5 fois moindre que l'héparine de bas poids moléculaire.	SILVA *et al*., 2005

	50%	2 avec α-L-fucose ou ß-D-xylose. 3-O-sulfation en C-3 desunités 4-α-L-fucose 1→.			
Dictyopteris polypodioides	/	Alginates, fucoidanes, mannuronanes et autres glucides.	/	Propriétés physiques : gélifiants et des agents émulsifiants. Propriétés biologiques: activités anti-oxydantes et anticoagulants	KARAKI *et al*., 2013
Turbinaria ornata	/	Oses à 53,15% et 24,6% de sulfate.	/	Sources potentielles riches d'antioxydants naturels et des anticoagulants.	ARIVUSELVAN *et al*., 2011
Porana volubilis	/	Principalement le galactose, l'acide galacturonique, et le mannose.	~ 10 kDa	Amélioration de l'inhibition de la thrombine qui à son tour est méditée par l'héparine cofacteur II mais pas par l'antithrombine.	YOON *et al*., 2002
Bacillus polymyxa	Hétéro-polysaccharides AP-I, AP-II et AP-III	Glucose, mannose, rhamnose et acide glucuronique dans le rapport de (3,00: 2,10: 1,40: 1,00 pour AP-I), (3,40: 2,52: 1,00: 2,11 pour AP-II) et (4,11: 2,68: 1,00: 3,00 pour AP-III).	/	Inhibition de radicaux DPPH dans un ordre d'efficacité de AP-III> -II AP> AP-I. Activité anticoagulante la plus élevée est exposée par l'AP-III natif et le polyalcool d'AP-III	ASKER *et al*., 2007
Umbilicaria	Polysaccharides	Glucose, galactose et	/	*In vitro* : augmentation de la	DU *et al*., 2015

esculenta	hydrosolubles acides : UEP1, UEP2, UEP3 et UEP4.	mannose avec un rapport molaire différent. Les teneurs des acides uroniques sont de 0,50% pour UEP1, 0,62% pour UEP2, 0,63% pour UEP3 et 0,83% pour UEP4.		production d'oxyde nitrique (NO) et de l'activité phagocytaire d'une manière dose-dépendante.	
Ficus carica L.	2 Hétéro-polysaccharides homogènes (extraction enzymatique)	Rhamnose, arabinose, xylose, mannose, glucose et galactose.	$1,52\times10^{6}$ et $4,75\times10^{5}$ Da.	Amélioration de manière plus significative la prolifération des lymphocytes de la rate, de la phagocytose et de la production de NO des macrophages.	CHEN *et al*., 2015
cheonggukjang	/	/	/	*In vitro :* stimulation du système du complément, et la production de NO et de cytokines immunostimulatrices (IL-6 et IL-12) dans des macrophages péritonéaux de souris cultivées. *In vivo* (souris immunodéprimées par le cyclophosphamide): augmentation de poids des organes immunitaires (la rate et le thymus), amélioration de la prolifération phagocytaire en	CHO *et al*., 2015

				augmentant les taux de macrophages et de lymphocytes péritonéaux et la diminution de la prolifération restaurée des lymphocytes, l'activité des cellules NK, et le nombre de globules blancs du sang.	
Cola cordifolia	polysaccharides de type rhamno-galacturonane	/	3 à 1300 kDa	Activité de fixation du complément modérée.	AUSTARHEIM *et al*., 2014
Dictyophora indusiata	polysaccharides acido- DIP I et alcali-solubles DIP II	Glucose, fructose et mannose pour DIP I. Glucose et de fructose pour DIP II. pourcentage molaire relatif supérieurs de 60% dans les 2 fractions.	/	les deux polysaccharides ont augmentés le taux d'anticorps d'hémolyse dans le test de sérum hémolysine. DIP I : amélioration de poids des organes de thymus et la phagocytose des monocytes. DIP II : rétablir la réaction d'hypersensibilité à dinitrofluorobenzène de type retardé, l'amélioration de l'activité des cellules NK et la prolifération des splénocytes à haute dose.	HUA *et al*., 2012
Cudrania	Polysaccharides	Glucose, galactose, arabinose	CTPS-1A	stimulation directe de la prolifération	SHI et FU, 2011

tricuspidata (Carr.) Bur.	hydrosolubles CTPS-1A, CTPS-2B et CTPS-3A.	et xylose dans un rapport de 11,7: 3,4: 2,5: 1,0 pour CTPS-1A. Galactose, arabinose, rhamnose, glucose et l'acide galacturonique dans un rapport de 1,2:3,5:1,4:1,0:1,3 pour CTPS-2B Arabinose, rhamnose, galactose et l'acide galacturonique dans un rapport de 1,0:0,9:1,6:0,4 pour CTPS-3A.	($2,2x10^4$ Da), CTPS-2B ($6,8x10^4$ Da) et CTPS-3A ($1,0x10^5$ Da)	des splénocytes de souris seul ou à combinaison avec la concanavaline A ou un lipopolysaccharide.	
Houttuynia cordata Thunb.	Polysaccharide hydrosoluble pectique	chaîne linéaire d'acides α-D-galacturonique à liaison 1→4 avec une partie des groupes 6-carboxyle méthyle est estérifiée et une partie de deux groupes hydroxyle est acétylé.	60 000 Da.	Augmentation des sécrétions de l'interleukine-1β, facteur de nécrose tumorale-α (TNF-α), l'inhibiteur de protéine-1α et1β de macrophage, dans des cellules humaines périphériques mononucléaires de sang.	CHENG *et al*., 2014
Momordica charantia	Polysaccharides hydrosolubles	Glucose et galactose pour MCP1. Glucose, mannose et	MCP1 $8,55x10^4$Da.	Stimulation de la prolifération *in vitro* des lymphocytes de la rate	DENG *et al*., 2014

	MCP1 et MCP2	galactose pour MCP2.	MCP2 $4,41\times10^5$Da.	normale et des lymphocytes induit par la concanavaline A à différentes doses.	
Adansonia digitata	/	Glucose et de fructose avec un rapport de 8:1	$5,3\times10^4$Da	Activité antioxydante potentielle dans une réponse de concentration-dépendante. Inhibition efficace de la cyclo-oxygénase COX-2 que la COX-1 à toutes les concentrations.	IBRAHIM *et al*., 2014
Cudrania tricuspidata (Carr.) Bur.	Polysaccharide hydrosoluble	Résidu terminal non-réducteur d'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique sur tous les quatre résidus xylose	Moyenne de $4,0x10^4$ Da.	Induction de la prolifération des splénocytes de souris.	SHI *et al*., 2014
Lilium lancifolium Thunb.	Polysaccharides hydrosolubles LLPS-1, LLPS-2 et LLPS-3.	LLPS-1 et LLPS-2 : glucose et mannose 1:2 et 1:1, respectivement. LLPS-3 : arabinose, galactose, glucose et mannose 2:2:2:1 respectivement.	350,5, 403,3 et 146,2 kDa respective-ment	Stimulation de la prolifération des macrophages. Augmentation de l'activité phagocytaire et de la production d'oxyde nitrique dans les macrophages de façon dose-dépendante.	CHEN *et al*., 2014
Panax quinquefolium L.	Polysaccharides alcali-extractibles	AEP-1 : glucose, galactose et l'acide galacturonique. l'AEP-2 : l'arabinose, le	/	Activités anti-oxydantes importantes d'une manière dose-dépendante pour les fractions. AEP-2 : activité	YU *et al*., 2014

	AEP-1 et AEP-2.	mannose, le galactose, le glucose et l'acide galacturonique.		activatrice des macrophages par l'augmentation de NO, TNF-α et d'IL-6.	
Thelebolus sp.	/	(1→3)-β-D-glucane avec des branches (1→6)-β-D-glucopyrannosyle.	/	Activité antiproliférative dans les cellules B16-F0 et induction de l'apoptose.	MUKHOPADHYAY *et al*., 2014
Phellinus linteus	Polysaccharide alcali-soluble	(1→4)-β-D-xylopyranosyl, (1→2)-α-D-xylopyranosyl, (1→4)-α-D-glucopyranosyl, (1→5)-β-D-arabinofuranosyl et (1 → 4)-β-D-xylopyranosyle à laquelle une ramification de O-2, et (1→4)-β-D-galactopyranosyl qui est ramifié à O-6 avec (1→)-α-D-arabinofuranosyl.	343 000 kDa.	Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses HepG2 dans une certaine mesure d'une manière dose-dépendante.	PEI *et al*., 2015
Phellinus linteus	Polysaccharides hydrosolubles PLPS-1 et PLPS-2	PLPS-1 : unités β-D-Glc(1→4)-β-D-Glc(1→6). PLPS-2 : β-(1→3)-D-Glc et β-(1→6)-D-Glc.	/	*In vitro* : PLPS-1 affiche un fort effet antiprolifératif contre les cellules cancéreuses de sarcome S-180 par apoptose.	MEI *et al*., 2015
Boletus edulis		Une chaine principale de (1→6) α-D-glucopyranosyl,	113 432 Da.	Augmentation des indices de la rate et du thymus, stimulation de la	WANG *et al*., 2014a

		(1→2,6) α-D-galactopyranosyl, (1→6)-α-D-galactopyranosyl et des résidus (1→3)-α-D-rhamnopyranosyl, qui sont ramifiés à la position 2-O de (1→2,6)-α-D-galactopyrannosyle avec un seul résidu terminal (1→)-α-L-arabinofuranosyl.		prolifération des splénocytes, augmentation des activités des cellules NK et des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) dans la rate, et promouvoir la sécrétion des cytokines IL-2 et TNF-α dans les souris porteuses de tumeurs *Renca*.	
Eisenia bicyclis	Polysaccharides hydrosolubles : laminarane et fucoïdane.	Laminarane : chaine principale de β-(1→3) et des chaînes latérales β-(1→6) à un rapport de β-(1→3) et β-(1→6) de 2,6:1. Fucoïdane : résidus de 1,3-fucose, résidus 1,6-, 1,2,6-, 1,4,6-galactose et traces de résidus de mannose et de xylose avec une quantité de sulfate de 13.2%.	/	Inhibition de la formation de colonies à un mélanome humain SK-MEL-28 et les cellules cancéreuses du côlon DLD-1.	ERMAKOVA *et al*. 2013
Sargassum	Polysaccharide	Un glucane à des chaînes	moyenne de	Inhibition de la croissance de cellules	SHAO *et al*., 2015

horneri	hydrosoluble.	latérales -(1→6) liées à une chaine principale de β-(1→3).	$5,78\times10^{5}$Da	DLD du cancer du côlon humain de façon dose-dépendante par l'induction de l'apoptose de ces cellules.	
Dimocarpus longane Lour.	Polysaccharide hydrosoluble	Rhamnose, mannose, arabinose, galactose et glucose avec des rapports molaires de 2,4:1,5:2,3:5,6:6,5.	57 kDa	Effet antiprolifératif dose-dépendante de la prolifération de cellules de cancer du poumon humain A549, qui est en accord avec la quantité de libération du lactate déshydrogénase ; et la capacité de provoquer un arrêt du cycle cellulaire en phase Gap1, d'activer les caspases 3 et 9, et de cliver le poly [ADP (ribose)] polymérase dans les cellules A549. I*n vivo* : supprimer la croissance de tumeurs d'A549 et induction de l'apoptose.	WANG *et al*., 2014b
Lilii bulbus.	Fraction majeure.	Glucane	Moyenne de 30,5 kDa	Inhibition significative de la croissance de carcinome Lewis du poumon. Et augmentation de la phagocytose des macrophages, la prolifération de splénocytes et de	SUN *et al*., 2014

				cytokines TNF-α, IL-2, IL-6 et IL-12 qui participe à la production des effets antitumoraux.	
Codonopsis pilosula	Polysaccharide pectique	Rhamnose, arabinose, galactose et d'acide galacturonique 0,25:0,12:0,13:2,51 respectivement. 46,7 ± 0,4% de groupes carboxyliques dans l'acide galacturonique existent comme ester de méthyle.	Moyenne de $1,45x10^5$ Da.	Cytotoxicité évident pour les cellules adénocarcinome de poumon humain A549 de façon dépendante du temps et de la dose.	YANG *et al*., 2013
Boschniakia rossica	Polysaccharide homogène		22 kDa	Supprime la prolifération des cellules de carcinome squameux du larynx humain Hep2 d'une manière en temps et dose-dépendante. arrêt du cycle cellulaire Gap0/Gap1 dans les cellules Hep2.	WANG *et al*., 2014c
Artemisia argyi	Polysaccharide hydrosoluble	N-acétyl-D-glucosamine, glucose, mannose, galactose, rhamnose, arabinose, xylose et ribose.	5169 Da	inhibition de manière significative la croissance des tumeurs transplantées du sarcome 180 et prolonge le temps de survie des souris porteuses de	BAO *et al*., 2013

				tumeurs. Accroissement des indices de thymus et de la rate, les niveaux de l'interleukine sérique-2, l'interleukine-6, l'interleukine-12 et le facteur de nécrose tumorale-α, et l'expression de CD4+ et CD8+ des lymphocytes T spléniques qui sont supprimés par la tumeur transplantée dans les souris.	
Misgurnus anguillicaudatus	/	/	/	Diminution de manière significative les niveaux de glucose, les triglycérides, le cholestérol total, les LDL-cholestérol sanguins. Augmentation des niveaux des HDL-cholestérol et d'insuline chez les souris diabétiques, parallèlement à une augmentation du poids du corps et le contenu de l'insuline du pancréas. Inversement des expressions accrus d'ARNm de la phosphoénolpyruvatecarboxy-kinase et le contenu de glycogène réduites	ZHOU *et al*., 2015

				dans le foie des souris diabétiques. Activités anti-inflammatoires et anti-oxydantes puissantes et amélioration de façon significative les marqueurs sanguins de l'insuffisance hépatique et la fonction rénale chez les souris diabétiques.	
Astragalus, pleurotes et Yacon.	/	/	/	Effets inhibiteurs sur α-glucosidase dans un ordre décroissant, l'*Astragalus*> pleurotes >Yacon.	ZHU *et al*., 2014
Boschniakia rossica	/	/	/	Effet hépatoprotecteur dans l'atteinte hépatique aiguë induite par le tétrachlorure de carbone.	QUAN *et al*., 2013
Boschniakia rossica	/	/	/	Atténuation de la lésion hépatique induit par galactosamine et lipopolysaccharide en renforçant le système de défense antioxydant, la suppression des réponses inflammatoires et la réduction de la signalisation apoptotique.	QUAN *et al*., 2014
Cucurbita moschata	Polysaccharide hydrosoluble	La teneur en oses du produit est de 68,3%.	/	Activité antibactérienne élevée contre *Bacillus subtilis*,	QIAN, 2014

				Staphylococcus aureus et *Escherichia coli*.	
baliste gris et hound lisses	/	/	/	Effets inhibiteurs importants contre *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* et *Enterobacter sp*	KRICHEN *et al*., 2015
Loligo vulgaris	/	85,06% d'oses, 2,54% de protéines, 1,87% de cendres, 8,07% de sulfate et 1,72% de l'acide uronique.	/	Capacité anti-radicalaire de DPPH, activité de balayage du peroxyde d'hydrogène et l'inhibition de blanchiment de β-carotène. Activité inhibitrice marquée contre des souches bactériennes : *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* et contre des souches fongiques : *solani Fusarium*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria solani*.	ABDELMALEK *et al*., 2015
Musa spp.	Caractère acide	Homogalacturonane	/	*In vivo* : réduction de l'invasion par	PARSONS *et*

	et nature pectique			*Salmonella Typhimurium* par 98,9% à partir de tissu de la rate.	*al*.,2014
Colza	Polysaccharides homogènes liés aux protéines	/	28,51 et 6,55 kDa.	Résistance à l'hydrolyse par le suc gastrique artificiel et l'α-amylase. Stimulation de manière significative *Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium Infantis, Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus acidophilus* à proliférer et à produire des acides organiques.	WANG *et al*., 2015
Anadenanthera colubrinatrunks	Arabino-galactane	chaîne principale (1→3)-β-D-Gal*p* et plusieurs chaînes latérales différentes contenant du β-D-Gal*p*-(1→6), α-Ara*f*, α-Rha*p*, et β-GlcA*p*.	/	Les polysaccharides et leurs complexes d'oxovanadium réduits la croissance de forme promastigote de *Leishmania* par ~ 60%. Régulation positive de la libération d'IL-1β et IL-6 et régulation négative de la production de NO par les macrophages et un effet	
Hymenaea courbaril.	Xyloglucan	Glc:Xyl:Gal rapport de 3,7:2,5:1,0. Squelette de cellulose qui est partiellement substitué en O-6 par des unités α-D-Xyl*p*.	/		AMARAL *et al*., 2015

		Certains résidus xylosyle sont encore substitués en O-2 par β-D-Gal*p*.		leishmanicide importante	
Ramalina celastri	Galactomannane	Chaîne principale de (1→6)-α-D-Man*p* qui est ~ 44% est monosubstitué en 4-O par β-D-Gal*p* et ~ 33% est disubstitué en O-4 et O-2 par β-D-Gal.	/		
Sphaerococcus coronopifolius et *Boergeseniella thyoides*	Polysaccharides sulfatés hydrosolubles	Galactose, 3,6-anhydrogalactose, acides uroniques et sulfate dans des rapports de 33,1:11,0:24,0:7,7% (p/p) et 25,4:16,0:3,2:7,6% (p/p), respectivement.	/	Inhibition de la réplication *in vitro* du virus de l'immunodéficience humaine et du virus de l'herpès simplex de type 1	BOUHLAL *et al*., 2011
Ulva clathrata et *Mozuku*	Polysaccharides sulfatés	Ulvane et fucoïdane	/	*In vitro* : antiviraux prometteurs contre l'infection paramyxovirus (virus de la maladie de Newcastle).	AGUILAR-BRISEÑO *et al*., 2015
Adenanthera pavonina	/	/	/	Activité antivirale significative contre le poliovirus de type 1.	DE GODOÏ *et al*., 2014

Hohenbuehelia serotina	Polysaccharides neuters			améliorer de manière significative l'activité de la glutathion peroxydase et d'augmenter le contenu de glutathion et la céruloplasmine dans le plasma. Augmentation de la quantité d'ADN de la moelle osseuse et réduire les taux d'aberration chromosomique et de micronoyaux dans la moelle osseuse de souris. Inhibition des rejets de cytochrome C et les expressions de la caspase-3 activée, et donc bloquer la voie apoptotique mitochondriale de splénocytes induite chez la souris par radiation-^{60}Co.	LI *et al*., 2015
Arthrobacter ps-5	/	Rapport molaire du glucose au galactose est de 2,81.	/	Capacité de biosorption forte, de Cu^{2+}, de Pb^{2+} et de Cr^{6+}.	SHUHONG *et al*., 2014

Annexe 2

Le tableau 2 décrit les différents produits chimiques utilisés, leurs caractéristiques physicochimiques et leurs origines.

Tableau 2. – Caractéristiques physicochimiques et origines des produits chimiques utilisés

Produit	**Fournisseur**	**Forme**	**Formule**	**Masse molaire (g/mol)**	**Densité**	**Pureté %**
1-butanol	PROLABO	Liquide	$C_4H_{10}O$	74.12	0.807-0.812	99.5
ABTS	SIGMA-ALDRICH	Poudre	$C_{18}H_{24}N_6\ O_6\ S_4$	548,0	/	98
Acétated'éthyle	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	$C_4H_8O_2$	88.11	/	
Acétone	SIGMA-ALDRICH	Liquide	$C_3H_6O_2$	58.08	0.790-0.792	> 99
Acétone	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C_3H_6O	58.08	/	99.5
Acideacétique	EDEN LABO	Liquide	CH_3COOH	60,05	/	99.5
Acideorthophosphorique	SIGMA-ALDRICH	Liquide	H_3PO_4		/	85-88
Acidesulfurique	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	H_2SO_4	98,07	/	98
Acidetrifluoroacétique	Alfa Aesar	Liquide	CF_3COOH	114,02	1,49	99
Aniline	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C_8H_7N	93.13	/	99
Bicarbonate de sodium	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$NaCHO_3$	84,01	/	99,5

Bleue de Coomassie	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$			
Carbonate de sodium anhydre	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	Na_2CO_3	105.99	/	99.9
Chloroforme	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	CHCl3	119.38	/	99
Chlorure de calcium dehydrate	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$CaCl_2.2H_2O$	147,02	/	96
Chlorure de potassium	EDEN LABO	Solide	KCl		/	99
Chlorure de sodium	VWR	Solide	NaCl	58,44	/	100
Copper (2) sulfate pentahydrate	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$CuSO_4$, $5H_2O$	249.68	/	
Diphénylamine	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$C_{12}H_{11}N$	169.23		99
Disodium hydrogène phosphate dehydrate	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	Na_2HPO_4. $2H_2O$	177,99	/	99,5
DPPH	SIGMA-ALDRICH	Poudre	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	394,0	/	/
Ethanol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C_2H_6O	46.07		96
Ether de pétrole	SIGMA-ALDRICH	Liquide	/	/	/	95
Glucose	VWR	Solide	$C_6H_{12}O_6$	180,16	/	
Hemolysis & wash solution – (L)	TOSOH EUROPE N. V.	Liquide	/	33	/	/
Hydroxyde de potassium	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	KOH	56,11	/	85

Hydroxyde de sodium	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	NaOH	40	/	97
Isopropanol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C_4H_8O	60.10	0.803-0.805	99.5
Méthanol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	CH_4O	32.04	/	99
Phénol	FLUKA CHEMIK	Liquide	C_6H_6O	94.11		90
Phénol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	C_6H_6O	94,11	/	99,5
Potassium dihydrogen phosphate anhydre	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	KH_2PO_4	136,09	/	99,5-100,5
Potassium sodium tartrate tetrahydrate	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$KNaC_4H_4O_6$, $4H_2O$	282.22	/	98
Pyridine	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Liquide	C_5H_5N	79.10	/	99.5
Résorcinol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$C_6H_6O_2$	110,11	/	99,5
Rouge de phenol	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$C_{19}H_{14}O_5S$	354,38	/	98-101
Serum albuminebovin	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide				98
Sulfate de magnésiumheptahydraté	BIOCHEM CHEMOPHARMA	Solide	$MgSO_4$. $7H_2O$	246,47	/	99,5-103
TPTZ	SIGMA-ALDRICH	Poudre	$C_{19}H_{12}N_6$	312,33	/	99

Annexe 3

Les différentes solutions utilisées, les concentrations, la nature, le rôle et la méthode de préparation de chacune, sont illustrés dans le tableau 3.

Tableau 3. – Méthodes des préparations des différentes solutions utilisées

Manipulation	Solution	Concentra-tion	Nature	Rôles	Méthode de préparation
Extraction	KOH	0,5M	Base	Solution d'extraction	Dissoudre 28,055 g de KOH dans 1000 ml d'eau distillée.
		4M	Base	Solution d'extraction	Dissoudre 224,22 g de KOH dans 1000 ml d'eau distillée.
	HCl	2M	Acide	Ajustement du PH	Compléter 164,46 ml d'HCl aux 1000 ml avec l'eau distillée.
		4M	Acide	Ajustement du PH	Compléter 328,925 ml d'HCl aux 1000 ml avec l'eau distillée.
Dosages des oses	Résorcinol	6 mg/ml	/	Réactif de dosage	Dissoudre 3 g de résorcinol dans 500 ml d'eau distillée.
	Borax	120 mM	Acide	Réactif de dosage	Dissoudre 11,44 g de tétraborate de sodium dans 250 ml d'H_2SO_4 96%.

	NaOH	0,5%	Base	Réactif de dosage	Dissoudre 0,5 g de NaOH dans 100 ml d'eau distillée.
	Méthahydro-xydiphényl (MHDP)	0,15%	Base	Réactif de dosage	Dissoudre 0,15 g de MHDP dans 100 ml de NaOH 0,5%.
Dosages des proteins	NaOH	0,1N	Base	Réactif de dosage	Dissoudre 2 g de NaOH dans 500 ml d'eau distillée.
	LOWRY A	2%	Base	Réactif de dosage	Dissoudre 2 g de Na_2CO_3 dans 500 ml de NaOH 2N.
	Na_2 tartrate	1%	/	Réactif de dosage	Dissoudre 5 g de Na_2 tartrate dans 500 ml d'eau distillée.
	LOWRY B	0,5%	/	Réactif de dosage	Dissoudre 0,5 g de $CuSO_4$. $5H_2O$ dans 10 ml de Na2 tartrate 1%.
	LOWRY C	/	/	Réactif de dosage	Mélanger 500 ml de LOWRY A avec 10 ml de LOWRY B.
	Bleu de Coomassie	/	/	Réactif de dosage	Mettre 25 ml d'éthanol 95% avec 50 mg du blue de Coomassie. Agiter pendant 2h. Filtrer avec un papier Whatman N°1. Mélanger avec 50 ml d'acide phosphorique de 85%. Diluer avec l'eau distillée jusqu'à 500 ml.
Solutions mères	Glc, A Glc, BSA, A ascorbique ou échantillons	0.1% ou 0.01%	/	Etalons ou échantillons	Dissoudre 0.1 g (pour 0.1%) ou 0.01 g (pour 0.01%) dans 100 ml d'eau distillée. En cas d'activité phagocytaire les échantillons sont dissouts dans la solution de HANKS.

Hydrolyse	TFA	2M	Acide	Réactifd'hydrolyse	Compléter 7 ml de TFA 99% aux 46 ml avec l'eau distillée.
CCM	Système 1 (YANG et al., 2010)	/	/	Phase mobile pour le CCM	Mélanger le chloroforme, le n-butanol, le méthanol, l'eau et l'acide acétique dans un ratio de 4.5:12.5:5:1.5:1.5 (v/v) respectivement, jusqu'à l'homogénéisation complète.
	Système 2 (GHEBRE-GZABEIER, et al., 1976)	/	/	Phase mobile pour le CCM	Mélanger l'acétate d'éthyl, le méthanol, le n-butanol et l'eau dans un ratio de 16 :3 :3 :1 (v/v) respectivement, jusqu'à l'homogénéisation complète.
	NIGRUM (PAULSEN *et al*., 2002)	/	/	Révélation des spotes	Pour la solution A, dissoudre 4 gde diphénylamine dans 100 ml d'acétone. Pour la solution B, 96 ml d'acétone sont complétés jusqu'à 100 ml par l'aniline. Mélanger les deux solutions A et B, et ajouter 20 ml d'acide orthophosphorique à 85%.
Activité antioxydante	DPPH	/	Radical	Réactif de dosage	Préparation fraîche : Dissoudre 25 mg du DPPH dans 80 ml du méthanol et 20 ml d'eau distillée puis agiter. Diluer le DPPH avec le méthanol jusqu'à l'obtention d'un absorbance de 1,1-1,2 à 515 nm.
	ABTS	7 mM	Radical	Réactif de dosage	Dissoudre 0,383 g d'ABTS dans 100 ml d'eau distillée.
	$K_2S_2O_8$	2,45 mM	/	Réactif de dosage	Dissoudre 0.0662 g de K2S2O8 dans 100 ml d'eau distillée.

	ABTS+ (SHI et al., 2013)	/	Radical	Réactif de dosage	Mélanger un volume d'ABTS avec un volume de K2S2O8 puis laisser à 18°C ou mains / 16h. avant le dosage, faire la dilution par l'ajout d'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,700∓0,01 à 734 nm.
	Acétate de sodium	/	/	Réactif de dosage	Dissoudre 2,46 g d'acétate de sodium dans 3,6 ml de CH3COOH puis compléter jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée. Le PH doit être 3,6 (si non ajuster avec le CH3COOH.
	HCl	40 mM	Acide	Réactif de dosage	Compléter 330 µl d'HCl aux 100 ml avec l'eau distillée.
	TPTZ	/	Radical	Réactif de dosage	Dissoudre 0,312 g de TPTZdans 100 ml d'HCl 40 mM.
	$FeCl_3$	/	/	Réactif de dosage	Dissoudre 0,54 g de $FeCl_3$ dans 100 ml d'eau distillée.
	FRAP (WANG et al., 2014)	/	Radical	Réactif de dosage	Mélanger 10 volumes d'acétate de sodium, un volume de TPTZ et un volume de $FeCl_3$. Avant utilisation, chauffer à 30°C / 15nm dans un bain marie.
Activité phagocytaire	PBS (BURNAT et al., 2013)	/	Saline	Solution de lavage	Solution à pH 7,4, dans 1 000 ml d'eau distillée, on mélange 8 g de NaCl, 0,2 g de KH_2PO4, 2,9 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ et de 0,2 g de KCl. Puis on fait un autoclavage.
	$CaCl_2$ (HANKS, 1975)	/	Saline	Solution tampon	Dissoudre1,4 g de $CaC1_2$ dans 200 ml d'eau distillée.
	Solution	/	Saline	Solution tampon	A 800 ml d'eau distillée ajouter et remuer jusqu'à

	mélange qui fait partie de la solution de HBSS (HANKS, 1975)				dissolution le glucose 10 g, NaC1 80 g, KC1 4 g, $MgSO_4$, $7H_20$ 2 g, KH_2 PO_4 0.6 g, $Na_2HPO_4.2H_20$ 0.6 g et le phénol rouge 0.2% 100 ml préparé par dissolution de 0,4 g de rouge de phénol dans 200 ml de l'eau distillée.
	BSS (HANKS, 1975)	/	Saline	Solution tampon	Mélanger les deux solutions. Ajouter de l'eau pour rendre le volume total de 1100 ml. Puis on fait un autoclavage.
	$NaHCO_3$ (HANKS, 1975)	1,4%	Isotonique	Ajustement de pH.	dissolution de 3,5 g de $NaHCO_3$ dans 250 ml d'eau distillée. Puis on fait un autoclavage.
	Eosine-bleu de méthylène	/	Colorant	Coloration	Dissoudre 0,25 g d'éosine-bleu de méthylène de May – Grünwald dans 100 ml de méthanol en chauffant légèrement dans un bain-marie à 60 °C, agiter pendant 1 h, laisser reposer 24 h et filtrer.
	May – Grünwald	/	Colorant	Coloration	Diluer 30 ml de solution éosine-bleu de méthylène de May – Grünwald avec150 ml d'eau distillée et ajouter 20 ml de solution tampon.
	Giemsa	/	Colorant	Coloration	Diluer 10 ml de solution azur-éosine-bleu de méthylène de Giemsa avec 190 ml de solution tampon, bien

mélanger, laisser reposer 10 min et filtrer si nécessaire.

Annexe 4

Le tableau 4 note les différents appareils utilisés, les fournisseurs, les lieux de les types et fabrication.

Appareil	Fournisseur	Type	Lieu de fabrication
Agitateur magnétique	VELP SCIENTIFICA	F20520162	EUROPE
Autoclave	Pbinternational	01781073707G3	EUROPE
Bain marie	MEMMERT	GMBH.WB7.NENNTEMP;100°c	GERMANY
Balance	OHAUS	DISOVERY DV 215 CD OHAUS	USA

Tableau 4. – Origines et types des appareils utilisés

Centrifugeuse	SIGMA	6_ 15	GERMANY
Centrifugeuse	/	TDZ4 – WS	CHINA
Coagulomètre	Behnk Elektronik	Thrombotimer 1 – channel	GERMANY
Etuve	KARL KOLB	D-6072	GERMANY
Hotte	STERIL-POLARIS	POLARIS 48	EUROPE
Incubateur	TEGIMENTA CORAS EIA	N° série 27- 4135	SWISS
Lyophilisateur	CHRIST	ALPH1-2 LD	GERMANY
Microscope optique	MICROS	MC50LED N° série 2401986	AUSTRALIE
PH mètre	WTW	WTW D-82362PH1970	GERMANY
Spectrophotomètre	SHIMADZU	UV mini -1240	EUROPE

Annexe 5

Le dosage des protéines est effectué par deux méthodes. La première méthode est la méthode de LOWRY (1951) qui a pour objet d'estimer la quantité de protéines dans les extraits bruts à partir de gamme d'étalons (0.1 - 1 g/l) de sérum albumine bovine **(**SAB) et celle de BRADFORD (1976) (0.01 – 0.1 g/l de SAB).

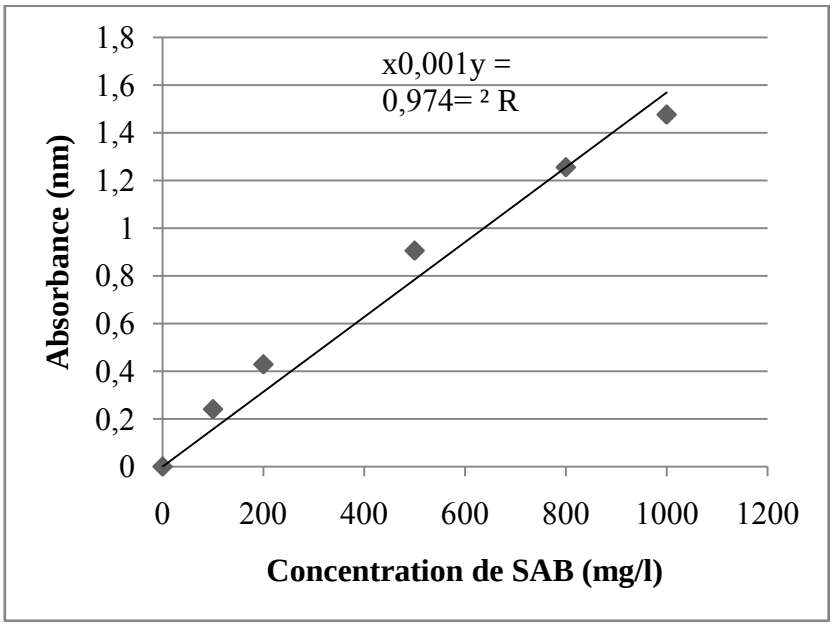


Figure 29.- Courbe d'étalonnage pour les protéines (LOWRY, 1951)

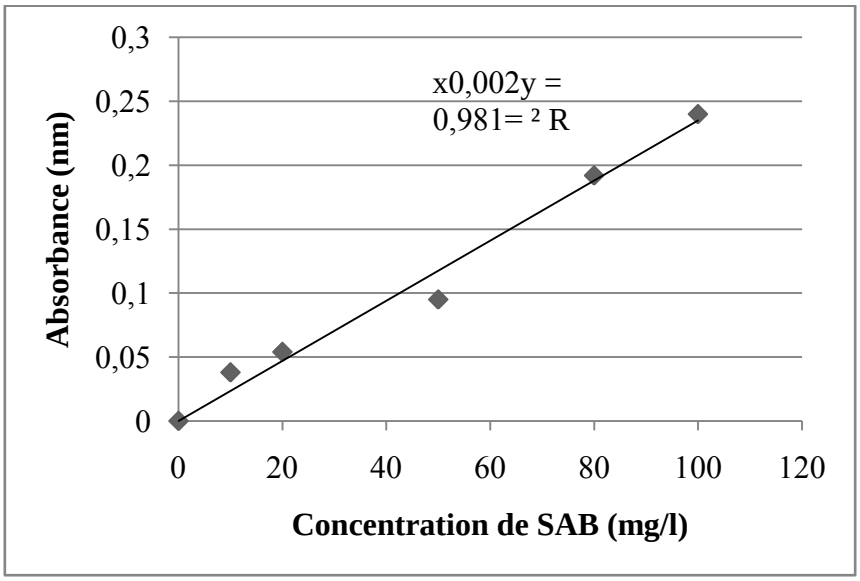


Figure 30.- Courbe d'étalonnage pour les protéines (BRADFORD, 1976)

Annexe 6

Le dosage des oses est réalisé par trois méthodes. Les oses totaux sont dosés par la méthode de DUBOIS (1956). La méthode de MONSIGNY (1988) a permis de doser les oses neutres tandis que la méthode de BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN (1973) a donné les concentrations des oses uroniques à partir de différentes concentrations deglucose **(**Glc) et d'acide glucuronique (Glc A) (0.01-0.1 g/l).

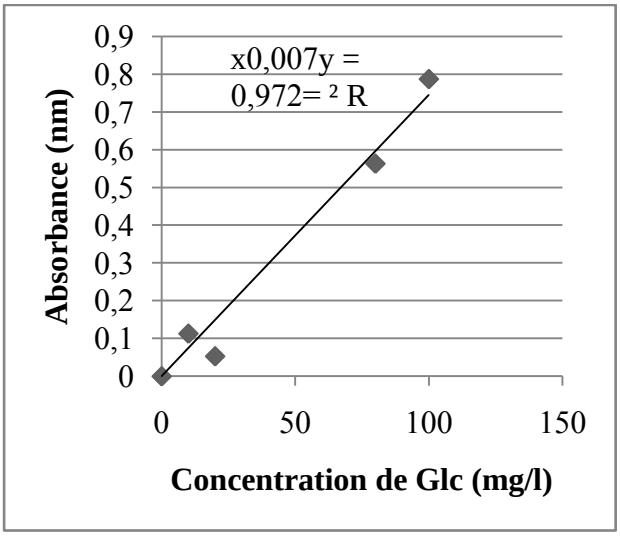


Figure 31.- Courbe d'étalonnage pour les oses totaux (DUBOIS, 1956)

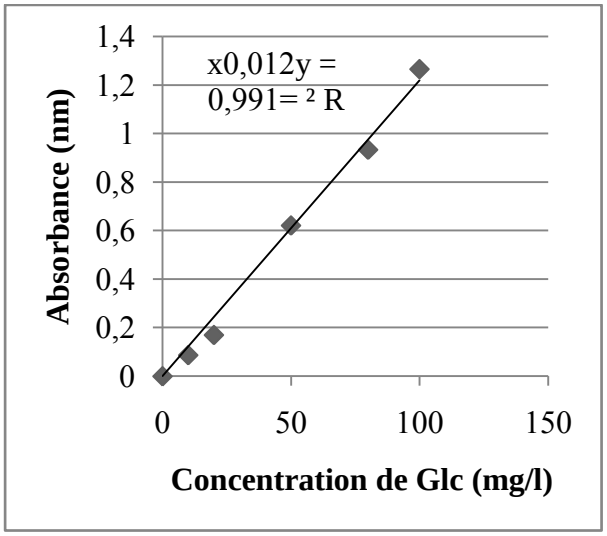


Figure 32.- Courbe d'étalonnage des oses neutres (MONSIGNY, 1988)

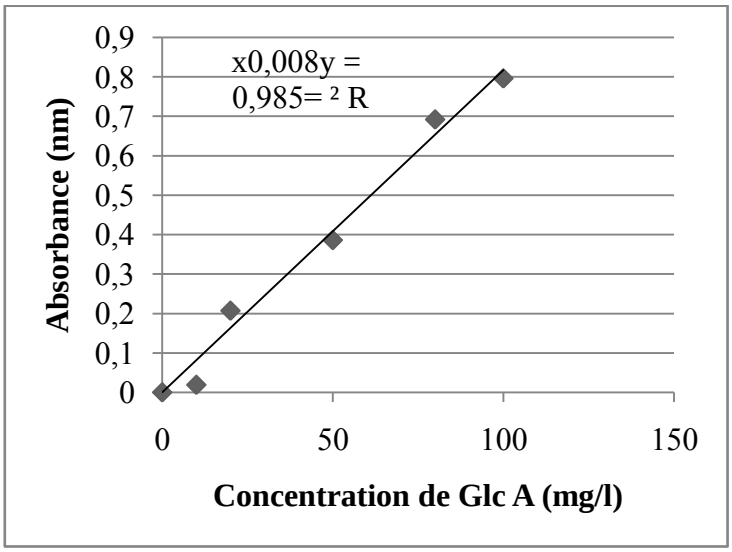


Figure 33.- Courbe d'étalonnage des acides uroniques (BLUMENKRANTZ et ASBOEHANSEN, 1973)

Annexe 7

Le dosage de l'activité antioxydante est réalisé par trois tests. La réduction du radical DPPH (BLOIS, 1958), la réduction du radical ABTS (RE *et al.*, 1999) *et* la puissance de l'activité de la réduction ferrique (FRAP) (BENZIE et STRAIN, 1996) sont effectués à partir d'une gamme d'étalons à différentes concentrations d'acide ascorbique **(**Vit C) (0.01 – 0.1 g/l).

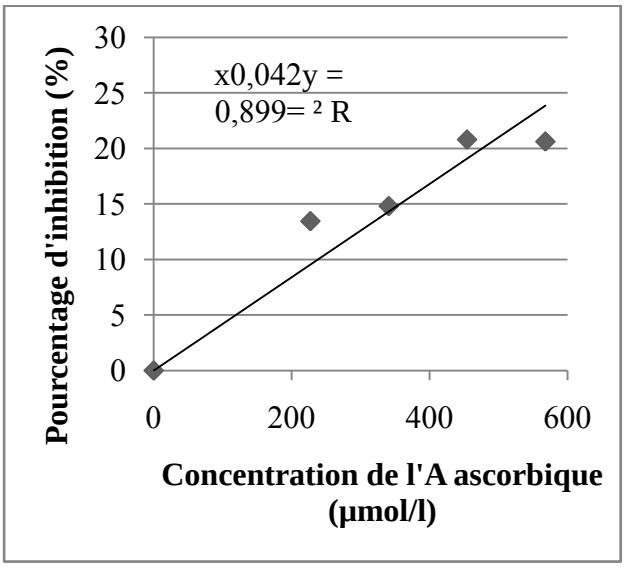


Figure 34.- Courbe d'étalonnage de l'activité de piégeage des radicaux DPPH d'acide ascorbique

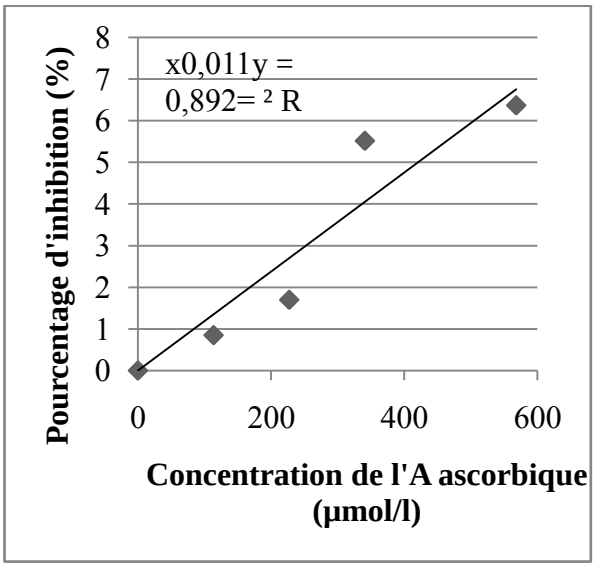


Figure 35. – Courbe d'étalonnage de l'activité de piégeage des radicaux ABTS d'acide ascorbique

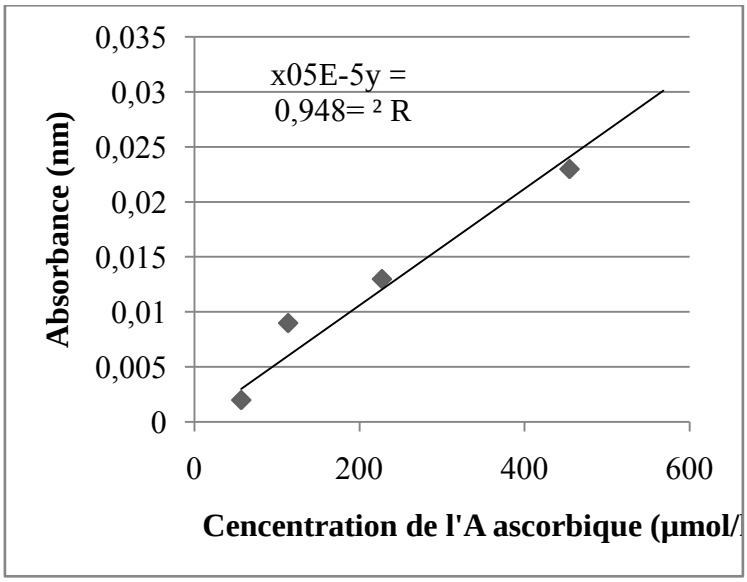


Figure 36. – Courbe d'étalonnage de l'activité de la réduction ferrique d'acide ascorbique

Annexe 8

Le tableau 5 représente les différentes valeurs des rendements des extraits lipidiques, des extraits hydrosolubles et alcali-solubles des polysaccharides bruts, des concentrations des oses et des concentrations des protéines.

Tableau 5.- Rendements d'extractions et composition des extraits bruts de polysaccharides d'*A. gombo*et de *C. violacea*

Fraction	Rendement lipidique (%)	Rendement d'extraction (%)	Oses (%)			Protéines (%) (LOWRY)	Protéines (%) (BRADFORD)
			Totaux	Neutres	Acides		
FHR	5.3	12.77	51.28	44.17	6.25	3.65	4.25
FHG	0.4	2.05	63.57	40.89	20.96	4.16	4.98
FAD_1		0.32	38.28	16	21.37	9.5	2.87
FAD_2		1	81.18	42.83	37.12	7.3	1.5
FAF		3.6	74.14	57.67	13.62	7	8.6
FHB	0.65	1.26	69	63.92	7.67	9.33	5.52
FAD*		14.1	89.25	75.3	17.22	13.57	6.92
FAF*		8.4	59.37	54.15	6.44	8.87	5.98

Annexe 9

Les différentes valeurs des facteurs de rétention obtenus des étalons et des fractions des polysaccharides hydrolysées sont indiquées dans le tableau 6 avec les deux systèmes utilisés.

Tableau 6.- Facteurs de rétention (R_f) des étalons et des fractions polysaccharidiques hydrolysées d'*A. gombo* et de *C. violacea* pour le système 1 (YANG *et al*., 2010) et le système 2 (GHEBREGZABEIER, *et al*., 1976)

Fractions	**Système 1** (Chloroforme : n-butanol : méthanol : eau : acide acétique dans un ratio de 4.5:12.5:5:1.5:1.5 v/v)						**Système 2** (Acétate d'éthyl : méthanol : n-butanol : eau dans un ratio de 16 : 3 : 3 : 1 v/v)						
	Ara ou Man	**Gal**	**Glc**	**Xyl**	**A Glc**	**Autres taches**	**Ara**	**Man**	**Gal**	**Glc**	**Xyl**	**A Glc**	**Autres taches**
FHR	0.52	/	0.50	/	0.19	0.03. 0.08 et 0.34	/	0.43	/	0.38	/	0.02	0.19
FHG	0.52	/	0.50	/	/	/	0.46		/	0.38	0.57	0.02	/
FAD1	/	/	/	0.60	/	/	/	/	/	/	0.57	/	/
FAD2	0.52	0.45	/	0.60	0.19	0.15 et 0.34	0.46	/	0.30	/	0.57	0.02	/
FAF	/	0.45		0.60	0.19	0.15 et 0.34	/	/	0.30	/	0.57	0.02	0.03 et 0.05
FHB	/	/	/	/	/	/	0.46	/	0.30	0.38	/	0.02	0.005 et 0.06
FAD*	/	/	/	/	/	/	/	0.43	0.30	0.38	/	0.02	0.005 et 0.06
FAF*	/	/	/	/	/	/	/	0.43	0.30	0.38	0.57	/	0.01 et 0.08

Annexe 10

Les valeurs numériques des tests biologiques sont indiquées dans le tableau 7, (a) et (b) représentent respectivement la valeur de p supérieur à 0.05 ou inférieur à 0.001 (Très Hautement Significative ***)

Tableau 7.- Activités biologiques des extraits polysaccharidiques d'*A. gombo* et de *C. violacea*

Fractions	A. Antioxydante			A. Anticoagulante (sec)		A. phagocytaire (%)	
	AA_{DPPH}(%)	AA_{ABTS}(%)	AA_{FRAP} (Mmol/l)	TCK	TQ	CP	AP
Cn	/	/	/	30.9	12.3	28	0
Cp	/	/	/	>600	>600	46	18
FHR	27.46^{b}	28.89^{a}	17.29^{a}	39.6^{a}	/	28^{a}	0^{a}
FHG	13.57^{a}	28.04^{b}	5^{a}	38.4^{a}	/	29^{b}	1^{b}
FAD_1	0	14.3^{b}	0.97^{a}	/	/	23^{b}	-5^{b}
FAD_2	0	22.1^{b}	1.94^{a}	/	/	17^{b}	-11^{b}
FAF	0	12.89^{b}	14.54^{a}	38^{a}	12.9^{a}	34^{b}	6^{b}
FHB	0	14.87^{b}	2.02^{b}	/	/	35^{b}	7^{b}
FAD*	33.1^{b}	23.09^{b}	5.45^{b}	32^{a}	10^{a}	26^{b}	-2^{b}
FAF*	0	29.18^{b}	6.3^{b}	38^{a}	12.25^{a}	/	/

Annexe 11

Dans le tableau 8, il est noté les différentes valeurs de corrélations existantes entre la composition des extraits bruts et les activités biologiques enregistrées.

Tableau 8. – Corrélations entre la composition des extraits bruts et les activités biologiques

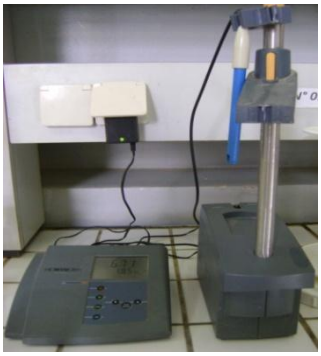
	R	OT	ON	OA	P	DPPH	ABTS	FRAP	TCK	TQ	CP
R	1.000	0.203	0.509	-0.464	0.364	0.820	0.549	0.541	0.637	0.417	-0.158
OT	0.203	1.000	0.784	0.293	0.335	0.220	-0.025	-0.060	0.076	0.377	0.132
ON	0.509	0.784	1.000	-0.356	0.678	0.347	0.061	0.191	0.329	0.556	0.139
OA	-0.464	0.293	-0.356	1.000	-0.600	-0.182	-0.124	-0.499	-0.475	-0.330	-0.062
P	0.364	0.335	0.678	-0.600	1.000	0.170	-0.153	0.464	0.627	0.780	0.257
DPPH	0.820	0.220	0.347	-0.182	0.170	1.000	0.498	0.387	0.502	0.009	0.223
ABTS	0.549	-0.025	0.061	-0.124	-0.153	0.498	1.000	0.221	0.567	-0.024	-0.508
FRAP	0.541	-0.060	0.191	-0.499	0.464	0.387	0.221	1.000	0.730	0.325	0.224
TCK	0.637	0.076	0.329	-0.475	0.627	0.502	0.567	0.730	1.000	0.552	-0.077
TQ	0.417	0.377	0.556	-0.330	0.780	0.009	-0.024	0.325	0.552	1.000	-0.300
CP	-0.158	0.132	0.139	-0.062	0.257	0.223	-0.508	0.224	-0.077	-0.300	1.000

Annexe 12

Les photos du matériel utilisé au cours de l'expérimentation sont présentées,ainsi des photos sur la levure *C. albicans*utilisée pour les tests biologiques.

Centrifugeuse

Lyophilisateur



PH mètre

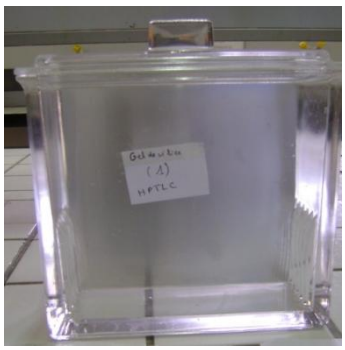
Balance de précision

Coagulomètre

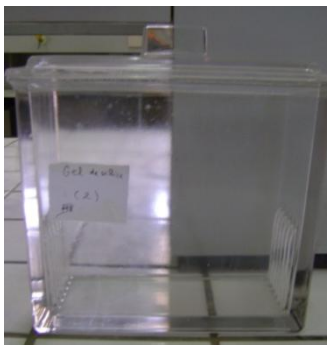
Bain marie

Dessiccateur sous vide

Agitateur magnétique

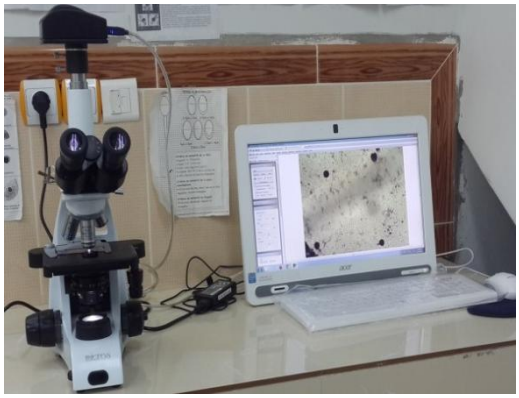


Cuve chromatographique (système1)

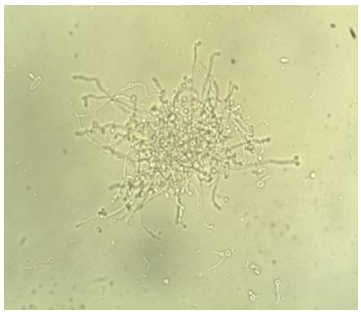


Cuve chromatographique (système2)

Incubateur

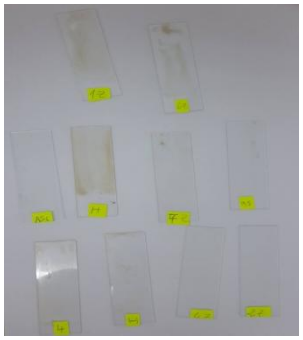


Microscope optique

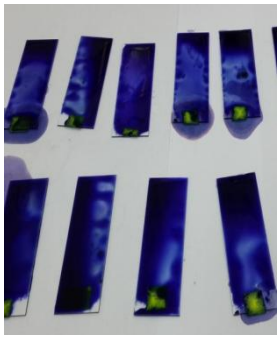


Levures de *Candida albicans* identifiées par le test de blastèse

Culture mère de *Candida albicans*sur la gélose inclinée (milieu de Sabouraud)



Frottis sanguins étalis sur des lames en verre



Coloration des frottis au May-Grünwald-Giemsa (MGG)

Résumés

Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de quelques plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional est algérien

Résumé

L'étude des polysaccharides hydrosolubles et alcali-solubles d'*Astragalus gombo* et de *Cistanche violacea*après macération, a permis s'isoler huit fractions. Pour *A. gombo,* il est noté cinq fractions dont deux fractions de polysaccharides hydrosolubles (FHR et FHG) et trois fractions de polysaccharides alcali-solubles (FAD_1,FAD_2 et FAF). Trois fraction sont obtenues chez *C. violacea* dont une fraction hydrosoluble (FHB) et deux fractions alcali-solubles (FAD* et FAF*). Les fractions alcali-solubles douces des deux plantes (FAD_2 et FAD*) renferment plus d'oses totaux (81.18 et 89.25% respectivement). Il est remarqué que les fractions polysaccharidiques hydrosolubles et alcali-solubles des gousses ont des taux relativement élevés en oses acides avec pour FHG 20.96%, FAD_1 21.37%, FAD_2 37.12% et FAF 13.62%. Toutefois, pour les gousses toutes les fractions ont le xylose comme ose constitutif commun. L'acide glucuronique est présent dans les fractions isolées d'*A. gombo* à l'exception de la fraction FAD_1 contenant du xylose uniquement. Toutes les fractions isolées des bulbes de *C. violacea* renferment le galactose et le glucose comme oses constitutifs.

Les tests de réduction DPPH, ABTS et FRAP, montre que les fractions sont douées d'activités antioxydantes. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'acide ascorbique à une concentration molaire de 568µmol/l (0.1 g/l) est égal à 20.61%. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH donne 33.1% pour FAD*, 27.46% pour FHR et 13.57% pour FHG à des concentrations de 1 g/l. Les autres fractions ont des pourcentages d'inhibition nuls. Les fractions polysaccharidiques FHR, FHG, FAD_1, FAD_2, FAF, FHB, FAD* et FAF* à des concentrations de 1 g/l, présentent des pourcentages d'inhibition du radical ABTS de 28.89, 28.04, 14.3, 22.1, 12.89, 14.87, 23.09 et 29.18% respectivement.Les activités antioxydantes évaluées par la puissance de la réduction ferrique des fractions polysaccharidiques FHR, FHG, FAD^1, FAD^2, FAF, FHB, FAD* et FAF* à des concentrations de 1 g/l sont 17.29,5,0.97,1.94,14.54,2.02,5.45 et6.3 Mmol de Fe^{2+}/g de matière sèche en équivalent de l'acide ascorbique respectivement. Les temps de TCK notés des fractions testées, sont de 39.6s (FHR), 38.4s (FHG), 38s (FAF), 32s (FAD*) et 38s (FAF*), tandis que ceux de TQ des fractions testées restent 12.9s (FAF), 10s (FAD*) et 12.25s (FAF*). La capacité phagocytaire des fractions polysaccharidiques étudiées est comprise entre 17 – 35% pour des concentrations de 1 g/l, sauf la fraction FHR qui ne montre pas une différence significative ($p>0.05$) pour une capacité phagocytaire de 28%. Les fractions FHR, FHG, FAF et FHB sont douées d'activités stimulatrices de la phagocytose.

Mots clés: Polysaccharides, hydrolyse, activités biologiques, plantes spontanées, Sahara.

Partial characterization and biological activities of water-soluble polysaccharides from some spontaneous plants harvested in Algerian northern Sahara

Summary

The study of water-soluble and alkali-soluble polysaccharides by maceration of *Astragalus gomb* and *Cistanche violacea*, allowed the isolation of eight fractions. For *A. gombo*, it is noted five fractions with two fractions of water-soluble polysaccharides (FHR and FHG) and three fractions of alkali-soluble polysaccharides (FAD_1, FAD_2 and FAF). Three fraction were obtained from *C. violacea* including a water-soluble fraction (FHB) and two alkali-soluble fractions (FAD* and FAF*). The mild alkali-soluble fractions of the two plants (FAD_2 and FAD*) contain more total monosaccharides (81.18 and 89.25% respectively). It is noticed that the water-soluble and alkali-soluble polysaccharide fractions of legumes have relatively high levels of acid saccharides with the FHG 20.96%, FAD_1 21.37%, FAD_2 37.12% and FAF 13.62%. However, for all the legumes fractions have the xylose as joint sugar constituent. Glucuronic acid is present in the isolated fractions of *A. gombo* except the FAD_1 fraction that contains only xylose. All fractions isolated from the bulbs of *C. violacea* contain galactose and glucose as constituent sugars.

The reduction tests DPPH, ABTS and FRAP, shows that the fractions are endowed with antioxidant activity. The inhibition percentage of the DPPH radical of ascorbic acid at a molar concentration of 568µmol / l (0.1 g/l) is equal to 20.61%. The percentage inhibition of the DPPH radical gives 33.1% for FAD*, 27.46% for FHR and 13.57% for FHG at a concentration of 1 g/l. the other fractions have a zero inhibition percentage. The polysaccharide fractions FHR, FHG, FAD_1, FAD_2, FAF, FHB, FAD* and FAF* at a concentration of 1 g/l, have inhibition percentages of the radical ABTS of 28.89, 28.04, 14.3, 22.1, 12.89, 14.87, 23.09 and 29.18% respectively. The antioxidant activity evaluated by the ferric reducing antioxidant power (FRAP) of polysaccharide fractions FHR, FHG, FAD_1, FAD_2, FAF, FHB, FAD* and FAF* at a concentration of 1 g/l are 17.29, 5, 0.97, 1.94, 14.54, 2.02, 5.45 and 6.3 mmol Fe^{2+}/g of dry matter equivalent of ascorbic acid respectively. The noted times TCK of the tested fractions are 39.6s (FHR) 38.4s (FHG), 38s (FAF), 32s (FAD*) and 38s (FAF*), while the times of TQ of the tested fractions are 12.9s (FAF), 10s (FAD*) and 12.25s (FAF*). The phagocytic ability of the polysaccharide fractions studied is between 17 - 35% in the concentration of 1 g/l, except the FHR fraction that does not show a significant difference ($p > 0.05$) for a phagocytic capacity of 28%. The fractions FHR, FHG, FAF and FHB are endowed with stimulatory activity of phagocytosis.

Key words: Polysaccharides, hydrolysis, biological activities, spontaneous plants, Sahara.

توصيف جزئي وأنشطة بيولوجية للسكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء من بعض النباتات البرية التي تحصد في شمال شرق صحراء الجزائر

ملخص

سمحت دراسة السكريات القابلة للذوبان في الماء و القابلة للذوبان في وسط قاعدي عن طريق تنقيع *Astragalus gombo* و *Cistanche violacea*، بعزل ثمانية أجزاء. بالنسبة ل *A. gombo*، فقد لوحظت خمسة أجزاء من بينهم جزأين من السكريات القابلة للذوبان في الماء (FHR & FHG)و ثلاثة أجزاء من السكريات القابلة للذوبان في وسط قاعدي FAD2 (FAD1, & FAF). تم الحصول على ثلاثة أجزاء من *C. violacea* بما في ذلك جزء قابل للذوبان في الماء (FHB) وجزأين من السكريات القابلة للذوبان في وسط قاعدي (FAD* & FAF*).الأجزاء القابلة للذوبان في وسط قاعدي مخفف (FAD2 & FAD*) تحتوي على نسبة عالية من السكريات الأحادية الإجمالية (81.18 و89.25٪ على التوالي). ويلاحظ أن الأجزاء القابلة للذوبان في الماء و القابلة للذوبان في وسط قاعدي للفصوص لديهم مستويات عالية نسبيا من السكريات الحمضية مع FHG 20.96٪، FAD121.37 ٪، FAD2 37.12٪ و FAF 13.62٪. بالنسبة للفصوص، جميع الأجزاء تتمتلك الزيلوز كمكون مشترك. حمض الغلوكورونيك موجود في الأجزاء المعزولة من *A. gombo* باستثناء جزء FAD1 الذي يحتوي على الزيلوز فقط. جميع الأجزاء المعزولة من بصلات *C. violacea* تحتوي على الجلاكتوز والجلوكوز كسكريات تأسيسية.

اختبارات الإرجاع DPPH، ABTS وFRAP، تدل على أن الأجزاء قد أظهروا أنشطة مضادة للأكسدة. نسبة تثبيط جذر DPPH من طرف حامض الاسكوربيك في التركيز المولي 568 µmol/لتر (0.1 غرام/لتر) يساوي 20.61٪. نسبة تثبيط جذر DPPH تعطي 33.1٪ بالنسبة ل *FAD، 27.46٪ بالنسبة ل FHR و 13.57٪ بالنسبة ل FHG بتركيز 1 جم/لتر. الأجزاء الأخرى تمتلك نسب تثبيط معدومة. الأجزاء السكرية FHR، FHG، FAD1، FAD2، FAF، FHB، * FAD و* FAF بتركيز 1 غرام/لتر، لديها نسب تثبيط جذر ABTS28.89، 28.04، 14.3، 22.1، 12.89، 14.87، 23.09 و 29.18٪ على التوالي. النشاط المضادة للأكسدة المقيم باختبار للأجزاء السكرية FHR، FHG، FAD1، FAD2، FAF، FHB، * FAD و* FAF بتركيز 1 جم/لتر 17.29، 5، 0.97، 1.94، 14.54، 2.02، 5.45 و 6.3 مليمول Fe^{2+}/غرام من المادة الجافة المعادلة لحمض الاسكوربيك على التوالي. الوقت TCK المسجل للأجزاء المدروسة يساوي 38s (FAF*), 39.6s (FHR), 38.4s (FHG), 38s (FAF), 32s (FAD*)، في حين أن الوقت TQ المسجل 12.9s (FAF), 10s (FAD*)12.25s (FAF*). قدرة تنشيط البلعمة للأجزاء السكرية المدروسة محصورة بين 17-35٪ بتركيز 1 جم/لتر، باستثناء جزء FHR الذي لا يظهر فروق معنوية (P> 0.05) لقدرة تنشيط البلعمة بقيمة 28٪. الأجزاء السكرية FHR، FHG، FAF وFHB أظهروا نشاط تنشيطي للبلعمة.

الكلمات الدلالية: السكريات المتعددة، الحلمأة، الأنشطة البيولوجية، النباتات البرية، الصحراء.