

CARACTERISATION PARTIELLE DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES ISSUS DE GRAINES D'*Alhagi maurorum* BOISS

CHAKOU Fatma Zohra, BOUAL Zakaria, MEHELLOU Zineb, ADDOUN Noura et
OULD EL HADJ Mohamed Didi

Laboratoire Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-arides

Université de Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie

Emails: fatmazohra.chakou@gmail.com

Résumé.- *Alhagi maurorum Boiss (Fabaceae), est un arbuste à caractère médicinal, de la région d'Illizi (sud de Sahara algérien). L'obtention des polysaccharides hydrosolubles des graines de cette plante est débuté par l'élimination des pigments dans l'éthanol, suivie par une extraction dans l'eau distillée (80°C/2h), pour précipiter les polysaccharides dans l'isopropanol (99,5%). Après une lyophilisation de l'extrait brut polysaccharidique, le rendement massique de ce dernier est de 11,05%. Le dosage colorimétrique de l'extrait révèle une teneur de 15,75% de protéines, 58,63% d'oses totaux, 48,25% d'oses neutres et 4,6% d'oses acides. L'hydrolyse acide par l'acide trifluoroacétique (2 M) durant 4 heures et à 100°C, et l'analyse d'hydrolysate par la chromatographie sur couche mince (CCM) amène d'observer partiellement les oses constitutifs de l'extrait polysaccharidique, qu'il est constitué principalement de xylose, d'arabinose, d'acide galacturonique, d'acide glucuronique, de glucose, de galactose et de mannose.*

Mots clés: *Polysaccharides, hydrolyse, dosage colorimétrique, lyophilisation*

PARTIAL CHARACTERIZATION OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES FROM *Alhagi maurorum* BOISS

Abstract.- *Alhagi maurorum Boiss (Fabaceae), is a shrub with medicinal character, from the region of Illizi (South of Algeria Sahara). The obtaining of water-soluble polysaccharides from the seeds of this plant has been after the elimination of pigments in ethanol, followed by an extraction in the distilled water (80°C/2h), to precipitate the polysaccharides in the isopropanol (99,5%). After a freeze-drying of the polysaccharidic gross extract, the mass yield of the later is 11,05%. The colorimetric assay of the extract found a content of 15,75% protein, 58,63% carbohydrates, 48,25% neutrals monosaccharides and 4,6% acids monosaccharides. The acid hydrolysis by trifluoroacetic (2M) for 4 hours, and to 100°C, and the analysis of hydrolysate by thin layer chromatography (TLC) lead to observe partially the monosaccharides constituting the polysaccharide extract, that is mainly consist of xylose, arabinose, galacturonic acid, of glucuronic acid, glucose, galactose, and mannose.*

Key words: *Polysaccharides, hydrolysis, colorimetric assay, freeze-drying*

Introduction

Alhagi maurorum (Fabaceae) est un perpétuel arbuste, qu'il est profondément enraciné, et connue par le nom vernaculaire "chouk jmal"[1]. Depuis longtemps, la médecine populaire a connue des infusions aqueuses, des extraits de racines et de la partie

aérienne de l'espèce *A. maurorum*, comme des agents diurétiques, hémostatiques, sudorifiques, et antiulcéreux [2], pour le traitement de la migraine, les verrues, des rhumatismes et les hémorroïdes [3]. Cependant, les différentes parties d'*Alhagi maurorum*, sont utilisées par la médecine traditionnelle grâce à leurs bienfaits aux traitements des problèmes comme, les maladies du foie, l'infection des voies urinaires et de différents types de malaises gastro-intestinaux [4]. Auparavant, plusieurs travaux sont visés vers les plantes utilisées en phytothérapie du monde [5]. En particulier, les études sur les polysaccharides, de part leurs motifs structurels et les activités biologiques apportés [6]. Ces études ont touché quelques espèces de famille des *Fabaceae*, en citant de celles, la caractérisation du polysaccharide sulfaté et leur action antivirale à partir des graines de l'*Adenantha pavonina* [7], ainsi, que le galactomanane bioactif isolé de graines d'*Astragalus armatus* et leurs activités apportées, anti-complémentaire et antioxydante [8]. D'ailleurs, un grand nombre de travaux ont notés des effets très intéressants avec des extraits alcooliques pour les différentes parties d'*Alhagi maurorum*; un effet antimicrobien [9], antioxydant [10], diurétique [11] et antiulcéreux [12]. Tandis qu'*Alhagi maurorum* est connue comme un agent diurétique, laxatif et diaphorétique [13].

Les parties aériennes d'*Alhagi maurorum* connaissent des usages à la médecine populaire de la région d'Illizi aux traitements des blessures, troubles gastro-intestinaux et l'hyperglycémie. Cependant, aucune étude n'a été signalée sur les polysaccharides d'*Alhagi maurorum* Boiss, à cette fin il est choisi les graines de cette plante, pour caractériser les polysaccharides contenant, à travers la mesure des paramètres physicochimiques, la teneur en protéines, oses totaux, oses neutres, oses acides et à la caractérisation des oses constitutifs de l'extrait polysaccharidique par la chromatographie sur couche mince.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Matériel végétal

La plante d'*Alhagi maurorum* Boiss qui intéresse cette étude, elle prend une place dans la médecine traditionnelle de la région d'Illizi (sud de Sahara algérien). Les graines d'*Alhagi maurorum* Boiss (fig. 1), obtenues des gousses récoltées de la wilaya d'Illizi en Février 2017.

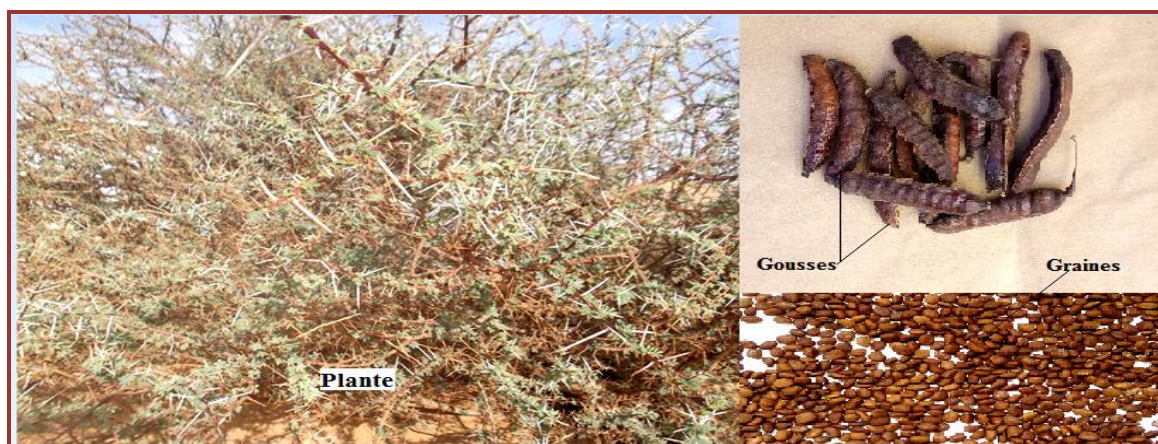


Figure 1.- *Alhagi maurorum* Boiss

1.2.- Etude des polysaccharides

1.2.1.- Extraction hydrosoluble des polysaccharides

Le broyat des graines est traité par l'éther de pétrole à 99,8% et met sous reflux de Soxhlet à 210°C pendant 3 heures [14], afin d'éliminer les composés colorés et les impuretés moléculaires [15]. Le marc obtenu après la filtration, est macéré dans 3 volumes d'eau distillée à 80°C durant 2 heures et sous agitation douce [16]. Pour précipiter les polysaccharides hydrosolubles, le filtrat est traité par 3 volumes d'isopropanol à 99,5% durant 24 heures et à 4°C [17]. Le culot récupéré après la centrifugation de 4000g pour 15 min [14,17] est lavé 5 fois par l'acétone [17] avant la lyophilisation [18]. Le lyophilisat est représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles.

1.2.2.- Composition de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles

La teneur de l'extrait brut polysaccharidique en protéines est déterminée selon la méthode de Bradford [19]. À propos le dosage des oses, est basé sur la réaction des composés furfuraux résultent de l'hydrolyse par un acide fort comme l'acide sulfurique et au chaud, avec le phénol pour donner des composés chromatiques [21], le résorcinol pour le dosage des oses neutres [22], et le méta-hydroxydiphényle pour le dosage des oses acides [23]. La concentration des oses neutres est déterminée par référence avec une gamme étalon de glucose et avec une gamme étalon d'acide glucuronique pour les oses acides [22].

1.2.3.- Caractérisation des polysaccharides

1.2.3.1.- Chromatographie sur couche mince des résidus glycosidiques

Afin de savoir les types d'oses qui peuvent constituer l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des graines *Alhagi maurorum*, une série des oses étalons est utilisée celle du galactose, d'arabinose, du glucose, du xylose, du mannose, du rhamnose, d'acide galacturonique et d'acide glucuronique[24]. Trois différents systèmes de séparation sont utilisés avec des plaques de type Silica-gel. Concernant les phases mobiles utilisées, sont comme le suivant: Acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique par les proportions (5-4-4-10-2) pour le système I [25]. Le système II: chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique, eau pour 4,5/12,5/5/1,5/1,5 [26] et le système III de: acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau avec les proportions 8,5/2/2/1,5 [27]. Le Nigrum, est le réactif utilisé comme révélateur des spots [28].

2.- Résultats et discussion

2.1.- Caractérisations de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des graines *Alhagi maurorum*

Le rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Alhagi maurorum* par rapport à la matière de départ est de 11,05%. Ce dernier est proche de celui a trouvé par ZHANG et al. (2011) [29] chez l'*Astragalus mongholicus*, soit

10,73% et supérieur de celui des graines d'*Astragalus armatus* soit 4,21% [9]. Cette variation est discutée par, les facteurs et les paramètres qui peuvent influencer sur le rendement d'extraction à savoir, la température d'extraction, la quantité du solvant utilisé par rapport à la matière première [30]. Aussi, le type de polysaccharide, le type et la quantité de solvant, la procédure d'extraction comme la décoction et la macération, ils agissent sur le rendement massique de polysaccharides [18]. L'analyse colorimétrique de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Alhagi maurorum*, montre des valeurs moyennes de $15,75 \pm 0,02\%$ de protéines totales et $58,63 \pm 0,17\%$ d'oses totaux. Parmi les oses, $48,25 \pm 0,05\%$ sont des oses neutres et $4,6 \pm 0,01\%$ des oses acides (tab. I). Pour les graines d'*Astragalus armatus* (Fabaceae), BOUAL (2014) [31] a révélé une teneur en oses totaux nettement supérieure soit $82,42 \pm 1,4\%$.

Tableau I.- Composition de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Alhagi maurorum* Boiss

Totaux	Oses %		Protéines %
	Neutres	Acides	
$58,63 \pm 0,17$	$48,25 \pm 0,05$	$4,6 \pm 0,01$	$15,75 \pm 0,02$

2.2.- Caractérisation des oses constitutifs de l'extrait brut polysaccharidique

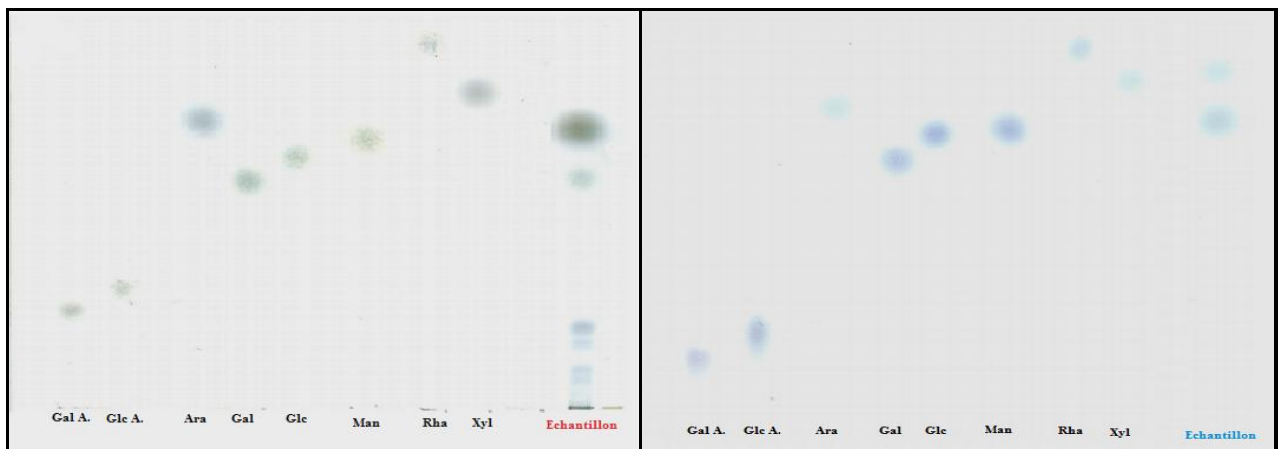
L'analyse par chromatographie sur couche mince est réalisée afin de caractériser l'hydrolysat de polysaccharides bruts isolés des graines *Alhagi maurorum*. Par comparaison des R_f des spots d'hydrolysat apparus avec ceux des étalons (tab. II), il permet de déterminer la nature des oses constitutifs de l'extrait polysaccharidique.

Tableau II.- Rapports frontaux (R_f) des oses étalons pour les trois systèmes de CCM

Type d'ose	Système I	Echantillon	Système II	Echantillon	Système III	Echantillon
Acide D-galacturonique	0,176	0,174	0,131		0,054	0,057
Acide D-glucuronique	0,249		0,173		0,114	0,115
L-arabinose	0,522	0,521	0,521	0,520	0,582	0,582
D-galactose	0,410	0,410	0,440		0,474	
D-glucose	0,453		0,478		0,515	0,515
D-mannose	0,490		0,490		0,534	
L-rhamnose	0,660		0,610		0,702	
D-xylose	0,566		0,583	0,585	0,648	0,648

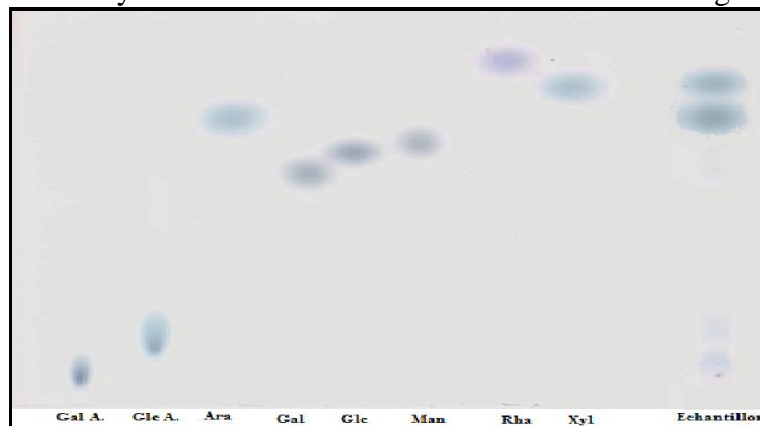
Le système I (fig. 2.A) montre trois spots d'ose de R_f : 0,174, 0,410, 0,521. Les R_f des taches se concordent avec ceux d'acide galacturonique (0,176), de galactose (0,410), de mannose (0,490) et d'arabinose (0,522). Néanmoins, le système II (Fig. 2.B) donne deux spots d'ose de R_f : 0,520 et 0,585. Ces derniers semblent correspondre à l'arabinose (0,521) et à la xylose (0,583). Contrairement, au système III (fig. 2.C) qui révèle cinq taches d'ose de R_f : 0,057, 0,115, 0,515, 0,582, 0,648, ces taches semblent homologues à

l'acide galacturonique (0,054), l'acide glucuronique (0,114), le glucose (0,515), l'arabinose (0,582) et le xylose (0,648).



A: Chromatogramme du système I

B: Chromatogramme du système II



C: Chromatogramme du système III

Figure 2.- Chromatogrammes d'hydrolysats des polysaccharides hydrosolubles de graines *Alhagi maurorum* Boiss

La lecture des chromatogrammes des trois systèmes utilisés s'avère, la présence de la tache qui semble être à l'arabinose dans les trois systèmes. Tandis que, les tâches qui semblent correspondre au xylose et à l'acide galacturonique disparaissent, dans le système I et II respectivement, pour montrer dans le système I seulement deux taches semblent homologues à celles du mannose et du galactose, et aussi deux autres taches peuvent correspondre à l'acide glucuronique et au glucose dans le système III. Ces résultats laissent suggérer que l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des graines *Alhagi maurorum* renferme un hétéropolysaccharide (arabinoxylane), constitué majoritairement d'arabinose et de xylose.

Récemment, KODIRALIEVA et RAKHMANBERDYEVA (2011), ont signalé chez les graines d'*Alhagi pseudalhagi* (MB) Desv., la présence de rhamnose, xylose, arabinose, mannose et de galactose [32]. Cependant, pour les graines d'*Alhagi persarum*, Rakhimov et DZHUMAMURATOVA (1993) ont également trouvé les mêmes oses en plus de glucose [33].

Conclusion

L'étude partielle des polysaccharides hydrosolubles des graines *Alhagi maurorum* Boiss, débute par l'élimination des impuretés moléculaires dans l'éthanol, suivie d'une macération dans l'eau distillée avec des paramètres contrôlées. L'analyse physicochimique du lyophilisat polysaccharidique révèle que les oses neutres sont les constituants major de l'extrait polysaccharidique, pour se trouver les protéines en deuxième classe. Le résultat d'analyse qualitative à travers le CCM sur la nature des oses qui peuvent constituer l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des graines de l'espèce *Alhagi maurorum*, montre la dominance de l'arabinose et de xylose, ceux qui laissent suggérer la présence d'un arabinoxylane. Cette caractérisation nécessite des techniques plus avancées que celle de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN).

Références bibliographiques

- [1].-Suthar P., Kumkum M., Manoj G. et Sandeep K.Y. 2016- Traditional uses, Phytochemistry, pharmacological, propriétés of plant *Alhagi maurorum*. Pharmacy and pharmaceutical sciences, 5: 682-692.
- [2].-Muhammad G., Ajaz Hussain M., Anwar F., Ashraf M. et Gilani A.H. 2014- *Alhagi*: A Plant Genus Rich in Bioactives for Pharmaceuticals. Phytothérapie research, 29: 1-13.
- [3].-Brown D. 2004- Encyclopedia of Herbs and Their Uses, Dorling Indersley, London, 20.
- [4].-Atta A.H. et Abo El-Sooud K. 2004- The antinociceptive effect of some Egyptian medicinal plant extracts. Ethnopharmacol, 95: 235-238.
- [5].-Fouche G., Cragg G.M., Pillay P., Kolesnikova N., Maharaj V.J. et Senabe J. 2008- In vitro anticancer screening of South African plants. Ethnopharmacol, 119: 455-61.
- [6].-Angone S.A., Nguema-Ona E. et Driouich A. 2010- La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulants des polysaccharides de la paroi végétale. Phytothérapie, 8: 223-30.
- [7].-De Godoi A.M., Faccin-galhardi L.C., Lopes N., Rechenchoski D.Z., De Almeida R.R., Silva Ricardo N.M.P., Nozawa C. et Carvalho Linhares R.E. 2014- Antiviral Activity of Sulfate Polysaccharide of *Adenanthera pavonina* against Poliovirus in Hep-2 Cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014: 6.
- [8].-Boual Z., Pierre G., Delattre C., Benaoun F., Petit E., Gardarin C., Michaud P. et Ould El Hadj M.D. 2014- Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as source of bioactive galactomannan. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 5: 10-18.

- [9].-Ghassan M.S. 2013- Antimicrobial and cytotoxic activities of methanol extract of *Alhagi maurorum*. African Journal of Microbiology Research, 7: 1548-1557.
- [10].-Laghari A.H., Ali Memon A., Memon S., Nelofar A., Khan K.M. et Yasmin A. 2012- Determination of free phenolic acids and antioxidant capacity of methanolic extracts obtained from leaves and flowers of camel thorn (*Alhagi maurorum*). Nat. Prod. Res., 26: 173-176.
- [11].-Atta A.H., Nasr S.M., Mounair S.M., Alwabel N.A. et Essawy S.S. 2012- Evaluation of the diuretic effect of *Conyza dioscorides* and *Alhagi maurorum*. Int. J. Pharmacy and Pharm Sci., 2: 162-165.
- [12].-Awaad A.S., Maitland D.J. et Soliman G.A. 2006- Antiulcerogenic Activity of *Alhagi maurorum*. Biology Pharmaceutical, 44: 292-296.
- [13].-Marashdah M.S. et Farraj A.I. 2010- Pharmacological activity of 2% aqueous acetic acid extract of *Alhagi maurorum* roots. Saudi Chemical Society, 14: 247-250.
- [14].-Wu Y., Cui S.W., Tang J., Wang Q. et Gu X. 2007- Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited *sterculia* seeds. Carbohydrate Polymers, 70: 437-443.
- [15].-Cheng H., Feng S., Jia X., Li Q., Zhou Y. et Ding C. 2013- Structural Characterization And Antioxidant Activities Of Polysaccharides Extracted From *Epimedium Acuminatum*. Carbohydrate Polymers, 92: 63-68.
- [16].-Zhu Y.Z., Luo Y., Dong G.L., Ren Y.Y., Chen L.J., Guo M.Z., Wang X.T., Yang X.Y. et Zhang Y. 2016- Effects of the ultra-high pressure on structure and glucosidase inhibition of polysaccharide from *Astragalus*. International Journal of Biological Macromolecules, 87: 570-576.
- [17].-Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traore A., Coulibaly K. et Maiga A. 2004- Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. Chimie, 7: 1073-1080.
- [18].-Ebringerova A., Kardosova A., Hromadkova Z. et Hribalova V. 2003- Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. Fitoterapia, 74: 52-61.
- [19].-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, 72: 248-254.
- [20].-Autran J.C.; 1991.- Techniques d'analyses et le contrôle dans les industries agroalimentaires. Tec et Doc, Paris, p.115-137.

- [21].-Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers P.A. et Smith F. 1956- Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- [22].-Monsigny M., Petit C. et Roche A.C. 1988- Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. *Analytical biochemistry*, 175: 525-530.
- [23].-Blumenkrantz N. et Asboe-Hansen G. 1973- New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical biochemistry*, 54: 484-489.
- [24].-Doat J. 1974- Application de la chromatographie sur couche mince à l'analyse des gommés et des bois tropicaux. *Revue bois et forêts tropiques*, 156: 63-74.
- [25].-Hoton-Dorge M. 1976- Séparation des aldoses et des polysaccharides par chromatographie sur couche mince de cellulose et nouveau réactif de pulvérisation permettant leur révélation sensible. *Chromatography*, 116: 417-423.
- [26].-Cheng Y., Jia G., Jiang-Sheng Z. et Shao-Ping L. 2010- Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. *Journal of Planar Chromatography*, 23: 46-49.
- [27].-Han N.S. et Robyt J.F. 1998- Separation and detection of sugars and alditols on thin layer chromatograms. *Carbohydrate Research*, 313: 135-137.
- [28].-Paulsen B.S., Olafsdottir E.S., et Ingolfssdottir K. 2002- Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. *Journal of chromatography*, 967: 163-171.
- [29].-Zhang X.J., Chen G.Z., Ke M., Han H., Lu Z.W., Wang T.J., Sun F.H. et Yu H.Y. 2011- A study on *Astragalus mongholicus* heterosaccharides affecting contractions of isolated bladder detrusor strips. *Carbohydrate Polymers*, 85: 312-317.
- [30].-You X., Xie C., Liu K. et Gu Z. 2010- Isolation of non-starch polysaccharides from bulb of tiger lily (*Lilium lancifolium* Thunb.) with fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydrate Polymers*, 81: 35-40.
- [31].- 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 de doctorat en biologie, Université de Ouargla (Alger), 219 p.
- [32].-Kodiralieva F.A. et Rakhmanberdyeva R.K. 2001- Polysaccharides from seeds of plants of the family Fabaceae. *Chemistry of Natural Compounds*, 47: 268-269.
- [33].-Rakhimov D.A. et Dzhumamuratova A. 1993- Polysaccharides of *Alhagi persarum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 29: 674-675.