

**Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des sciences biologiques**



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de**  
**MASTER ACADEMIQUE**

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par : **Maouche Haïfa** et **Berguiga Souad**

**Thème**

**Bio activité de l'extrait aqueux des polysaccharides issus**  
**de tige d'*Astragalus gombiformus* Pomel**

Soutenu publiquement le: 29/06/2021

Devant le jury:

Mr. CHOUANA T	MCB	Président	Univ.Ouargla
M.SAYAH Z	MCB	Examinatrice	Univ.Ouargla
Mr. OULD EL HADJ M.	Professeur	Encadreur	Univ.Ouargla
Melle BOUZIANE G	Doctorante	Co-encadreur	Univ.Ouargla

**Année universitaire : 2020/2021**

## **Remerciements**

*Nous remercions A Allah Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin Je vous dois ce que je suis devenu Louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde*

*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier notre **encadreur** Monsieur **ould el hadj 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 avoir accepté d'encadrer ce mémoire dans le cadre d'un axe de recherche et pour ses conseils et ses précieuses orientations qu'il n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail c'est avec grande plaisir.*

*Ma profonde reconnaissance est adressée au **Co-encadreur** Melle **Bouziane Ghania** ; doctorante au Département de Sciences Biologiques à la Faculté Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla, de m'avoir si bien aidé à mener à bien ce travail, vous n'avez jamais lésiné ni sur votre temps ni sur votre savoir tout le long de ce travail. Qu'il me soit permis, mademoiselle, de vous exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements. Merci pour votre sympathie, votre gentillesse et votre totale disponibilité.*

*Nous adressons nos remerciements à Monsieur **Chouana Toufik** Professeur au Département de Sciences Biologiques à la Faculté Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla, pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jour.*

*Nous remercions également Madame **Sayah Zineb** Maitre de conférences B au Département de Sciences Biologiques à la Faculté Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université KASDI MERBAH- Ouargla, de fait l'honneur d'accepter d'examiner notre mémoire.*

*A tous les enseignements de la biologie biochimie à l'université Ouargla  
Au personnel du laboratoire de (CRAPC) et de l'EPH MOUHAMED BOUDIAF Ouargla  
Pour votre accueil, aides, conseils et la mise à disposition de vos documents. A tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près dans la réalisation de ce travail*

**Merci pour tout.**

**Haïfa - Souad**



## Dédicace

*À mon mari HICHAM pour son appui moral, son aide et sa patience tout le long de ce travail.*

*À mes chers parents Vous m'avez appris à balbutier mes premières paroles, à faire mes premiers pas dans la vie, à sourire. Vous avez fait tant de sacrifices pour mon éducation et mes études. Vous m'avez comblé par votre soutien et votre générosité. Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour que je vous porte. Aujourd'hui, je dépose entre vos mains le fruit de votre patience et de vos innombrables sacrifices, soit-il l'exhaussement de vos vœux tant formulés et vos prières. Puisse dieu vous prêter longue vie, avec bonne santé, afin que je puisse vous combler À ma sœurs et mes frères : Isra, Anes, abdelmouez.*

*À mon adorable fils Yacine : Vous êtes un cadeau du ciel, depuis le jour où tu es né, tu es devenu une source de bonheur et de douceur, Je remercie le bon Dieu de ta présence et je le prie de te protéger, tu m'as rendu la maman la plus heureuse du monde.*

*Haïfa Maouche*

## **Dédicace**

*Je remercie avant tout le Grand Dieu Allah, le plus puissant, le miséricordieux, qui nous a donné le courage et la force pour mener ce travail jusqu'au bout.*

*A MON MARI Bilal*

*Merci pour ton soutien et tes encouragements. Je te dédie ce travail qui est aussi le tien, en implorant DIEU le tout puissant de nous accorder une longue vie de bonheur, incha ALLAH.*

*A mes enfants adorés Meriem, Mouad*

*pour l'espoir que vous gravez de jour en jour dans mon cœur Tu as partagé avec moi cette aventure avant même leur naissance et vous continues à la vivre avec moi chaque instant. A vous mes chéries je dédie ce modeste travail en implorant DIEU le tout puissant de vous.*

*A mes parents*

*Votre fidélité et votre attention à l'égard de vos enfants sont sans faille.*

*Que ce travail qui est aussi le vôtre, soit pour vous le gage de mon amour infini. J'espère ne pas vous avoir déçus. Merci.*

*A mes sœurs*

*Malgré la distance tu m'as soutenue moralement pendant les moments les plus difficiles de ma formation, reçois ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*A mes frères*

*Votre soutien et vos prières ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*Recevez ici mes sincères remerciements.*

*Toute ma famille et ma belle famille: Berguiga, Baba sidi*

*A l'Association des enseignants, Etudiants biochimie Appliquée.*

*Merci pour votre accueil et soutien. Préserved toujours ce climat d'entente Et cette chaleur qui nous lient pour les générations futures.*

*A Mes amies Haïfa, ghania pour les bons moments passés ensemble et leurs encouragements précieux lors de l'élaboration de cette thèse .*

*A tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin sans particulière.*

*Merci*

*Berguiga Souad*



### Liste des abréviations

<b>%</b>	Pourcentage
<b>AINS</b>	anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>Ara</b>	Arabinose
<b>AVC</b>	accidents vasculo-cérébraux
<b>AVK</b>	anti vitamines K
<b>C</b>	Concentration
<b>CCM</b>	chromatographie sur couche mince
<b>CPG</b>	Chromatographie sur phase gazeuse
<b>DM</b>	Diabète mellitus
<b>EPNOE</b>	European Polysaccharide Network of Excellence
<b>Fru</b>	Fructose
<b>FT</b>	facteur tissulaire
<b>FX</b>	Facteur X
<b>Gal</b>	Galactose
<b>Gal. A</b>	acide galacto uronique
<b>Glc</b>	Glucose
<b>Glc. A</b>	acide glucuronique
<b>HPAEC-PAD</b>	Hotte performance
<b>Man</b>	Mannose
<b>mHBP</b>	m-hydroxybiphenyl
<b>m-HDP</b>	méta-hydroxy diphenyl
<b>ml</b>	Millilitre
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PG</b>	prostaglandines
<b>PPP</b>	plasma pauvre en plaquettes
<b>PTAG</b>	polysaccharides hydrosoluble des tiges d' <i>Astragalus gombiformis</i>
<b>R</b>	rendement massique
<b>Rf</b>	rapport frontal
<b>Rpm</b>	Rotation par minute
<b>S</b>	Second
<b>TAG</b>	Tiges d' <i>Astragalus gombiformis</i>
<b>TCK</b>	Temps de céphaline Kaolin
<b>TP</b>	Temps de prothrombine
<b>µl</b>	Microlitre
<b>Xyl</b>	Xylose

### Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma simplifié de la structure chimique de l'amylose et de l'amylopectine .....	7
<b>Figure 2</b> : structure chimique de la cellulose .....	8
<b>Figure 3</b> : Représentation schématique de la structure primaire des pectines . .....	10
<b>Figure 4</b> : Cascade de la coagulation sanguine .....	18
<b>Figure 5</b> : - Schéma globale de différentes étapes expérimentales .....	23
<b>Figure 6</b> :Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides .....	26
<b>Figure 7</b> : TCK (sec) d'extraits de PTAG, pour différentes concentrations par rapport au control normal.....	41
<b>Figure 8</b> : TP (%) d'extraits de PTAG, pour différentes concentrations par rapport au control normal.....	42

## Liste des photos

<b>Photo 1:</b> Photographie d' <i>Astragalus gombiformis pomel</i> .....	19
<b>Photo 2:</b> Les tiges broyées d' <i>Astragalus gombiformis</i> .....	25
<b>Photo 3:</b> Carte géographique de Ouled Saïd commune de la wilaya de Timimoune.....	25
<b>Photo 4:</b> Extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de tige d' <i>Astragalus gombiformis</i> .	36
<b>Photo 5:</b> Chromatogramme du système (I) .....	39
<b>Photo 6 :</b> Chromatogramme du système (II).....	39

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Origine des principaux polysaccharides .....	6
<b>Tableau 2:</b> classification botanique de Astragalus gombiformis pomel .....	20
<b>Tableau 3:</b> Gamme étalon du glucose.....	28
<b>Tableau 4:</b> Caractéristiques de l'extrait de PTAG.....	37
<b>Tableau 5:</b> Composition biochimique de l'extrait de PTAG .....	38
<b>Tableau 6:</b> Rapports frontaux des spots issus de la séparation de l'extraits de (PTAG) ainsi que ceux des témoins utilisés.....	39

## Sommaire

Remerciements.....	
Dédicace.....	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des photos.....	
Liste des tableaux.....	
Sommaire.....	
Introduction.....	1

### **Chapitre I: Synthèse bibliographique**

I. Généralités sur les polysaccharides.....	4
I.1. Classification des polysaccharides selon leurs composition.....	5
I.1.1. Homopolysaccharides.....	5
I. 1.2. Hétéropolysaccharides.....	5
I.2. Classification des polysaccharides selon leurs sources.....	6
I. 2.1- Polysaccharides végétaux.....	7
I.2.1.1. Polysaccharides de réserves.....	7
I.2.1.1.2. Amidon.....	7
I. 2.1.2 Polysaccharides de structure.....	8
I. 2.1.2.1. Cellulose.....	8
I. 2.1.2.2. Pectine.....	9
I. 2.1.2.3. Hémicellulose.....	10
I. 2.1.3. Exsudats et mucilages.....	11
I. 3. Activités biologiques des polysaccharides.....	12
I. 3.1. activités antimicrobiennes.....	13

I. 3. 1.1. Principe.....	13
I.3.2.Activité anti-inflammatoire .....	14
I. 3.3. Activité Anti-diabétiques.....	14
I.3.4.Activité anticoagulante .....	15
I.3.4.1.Voie extrinsèque ou voie tissulaire.....	15
I.3.4.2. Voie intrinsèque ou voie cellulaire.....	16
I.3.4.3.Voie commune.....	16
I.4. Matériel végétal.....	18
I.4.1. Repartitions géographique de genre <i>Astragalus</i> .....	18
I.4.2.Description morphologique de l'espèce <i>Astragalus gombiformis</i> : .....	19
I.4.3.Description botanique.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I.4.3.1 Espèce <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	19
I.4.4.Intérêts médicinaux de genre <i>Astragalus</i> .....	20

## Chapitre II Matériel et méthodes

II.1. Principe d'étude .....	23
II.2.Matériel d'étude.....	24
II.2.1. Matériel biologique .....	24
II.2.1.1. Préparation du matériel végétal.....	24
II.3. Extraction des polysaccharides hydrosolubles issus des tiges d' <i>Astragalus gombiformis</i>	25
II.3.1.Calcul du rendement des polysaccharides.....	26
II.3.2.Composition des extraits des polysaccharides hydrosolubles.....	27
II.3.2.1. Dosage des oses totaux.....	27
II.3.2.1. 1.Principe .....	27
II.3.2.1.2. Préparation des réactifs et des solutions.....	27
II.3.2.1.2.- Mode opératoire.....	28

II.3.2.2. Dosages des oses neutres .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.2.1 Principe .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.2.2. Préparation des réactifs et solutions .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.2.3. Mode d'opérateur.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.3 Dosage des oses acides.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.3 .1. Principe .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.3.2 Préparation des réactifs et solutions .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.3.2.1 Préparations des solutions tétraborate de sodium .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.3.2.2 Préparations des solutions m-hydroxybiphenyl (mHBP)	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.3.2. 3. Mode d'opérateur .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.4. Dosage des protéines.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.2.4.1. Mode d'opérateur.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
II.3.3. Caractérisation des résidus glycosidiques .....	28
II.3.3.1. Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques .....	28
II.3.3.2. Mode opératoire ( <i>Athukorala et al., 2006</i> ).....	29
II.4. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) .....	29
II.4.1 Principe .....	29
II.4.2. Mode opératoire .....	30
II.4.2. 1. Préparation de révélateur.....	30
II.4.2.2. Préparation des phases mobiles.....	30
II.4.2.3. Phase stationnaire.....	31
II.4.2.4. Dépôt des hydrolysats et des étalons.....	31
II.4.2.5. Préparation des cuves chromatographiques .....	31
II.4.2.6. Calcul des facteurs de rétention (rapport frontal des spots).....	32
II.5. Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique .....	32

II.5.1 Activité anticoagulante.....	32
II.5.2. Mesure du temps de céphaline Kaolin (TCK).....	33
II.5.3. Mesure du temps de prothrombine (TP) .....	33

### **Chapitre III Résultats et discussion**

III.1. Rendement d'extraction des polysaccharides .....	35
III.2 .Composition de l'extrait brut des polysaccharides.....	36
III.3.Caractérisation par chromatographie sur couche mince des polysaccharides .....	37
III.4. Activité anticoagulante .....	40
Conclusion .....	44
Références bibliographiques.....	47

# **INTRODUCTION**

## **Introduction**

Depuis l'antiquité, les ressources naturelles constituent la source principale de remèdes (Kemassi *et al.*, 2014).

Selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se traiter de diverses maladies (Yaya *et al.*, 2014 ; Schlienger., 2014 ; Picking., 2017). Ceci s'explique par les faibles coûts de production, la disponibilité, l'accessibilité et la faible toxicité des végétaux (Yehya *et al.*, 2016 ; Eddouks *et al.*, 2017).

Les plantes constituant une grande source de principes actifs qui peuvent être utilisés pour traiter de nombreuses maladies (Holaly *et al.*, 2014; Marisa *et al.*., 2015).

Parmi ces principes actifs, les polysaccharides qui sont capables d'assurer différentes fonctions et activités biologiques, telles que l'activité anti-tumorale, immuno-modulatrice, anti inflammatoire, anti oxydante, anticoagulante, antidiabétique, anti microbienne et hépato protectrice (Wijeskara *et al.*, 2011;Thakur *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2014).

D'autre part, les polysaccharides représentent une classe très intéressante de produits bioactifs chez les champignons, les algues, et les plantes (Yu *et al.*, 2017).

Les polysaccharides sont connus et exploités depuis de nombreuses années du fait de leur abondance, de leur caractère renouvelable, et de leur biodégradabilité. Ils présentent de multiples avantages dans les aliments, les médicaments et les biomatériaux en raison de leur biocompatibilité, leur non-toxicité et de leurs propriétés thérapeutiques (Jia *et al.*, 2018).

Ces macromolécules disposent de propriétés texturants exceptionnelles qui les rendent incontournables comme additifs alimentaires et auxiliaires technologiques. Ces biopolymères établissent en effet des interactions spécifiques avec l'eau et peuvent épaissir, stabiliser ou gélifier une solution, même à faible concentration (Chouana., 2017).

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 désert algérien qui est caractérisé par des conditions climatiques édaphiques très restrictives (précipitations très faibles et températures annuelles moyennes élevées) et une flore bien adaptée à ces conditions suscite actuellement beaucoup d'intérêt pour l'exploration et l'exploitation de ses espèces végétales endémiques (Chouana., 2017). On appelle endémique d'un territoire les êtres vivants animal et végétal dont l'aire de répartition est tout entière comprise à l'intérieur des limites de ce territoire (*UICN-Med*).

Ces plantes sont souvent riches en polysaccharides du fait de leur physiologie qui leur impose de conserver l'eau et des substrats carbonés sur des périodes longues (Chouana., 2017).

Notamment des espèces appartenant au genre *Astragalus* (Fabacée) est un ensemble de plus de 3 000 espèces (Scherson *et al.*, 2008) ; réparties dans des régions arides et continentales en Asie du sud, Amérique et Afrique (Zarre *et al.*, 2013). En effet, la flore algérienne comporte 40 espèces d'astragales (Quézel *et Santa.*,1962). L'une de ces 40 espèces, *Astragalus gombiformis Pomel*, récoltée au Sahara septentrional Sud Algérien a fait l'objet de ce travail

C'est dans ce cadre que s'inscrit le présent travail dans l'évaluation de l'activité anticoagulante, d'un extrait polysaccharidique des tiges d'*Astragalus gombiformis Pomel*.

Notre travail est structuré en trois chapitres ;

Le premier chapitre porte sur la synthèse bibliographique rappelant des généralités sur les polysaccharides et de genre *Astragalus* et leurs activités biologiques, et décrit le choix et la description botanique d'espèce végétale à étudier.

Le deuxième chapitre, aborde la partie expérimentale, en décrivant l'extraction de polysaccharides hydrosolubles à partir de tiges de la plante en question; en déterminant leur composition globale et en caractérisant les résidus glycosidiques par CCM. Une étude biologique de l'extrait polysaccharidique concernant l'activité anticoagulante.

Le troisième chapitre porte les différents résultats obtenus et la discussion. Une conclusion et perspectives achèvent ce travail.

# **CHAPITRE I**

## **Synthèse bibliographique**

Ce chapitre traite des généralités sur les polysaccharides, en particulier les polysaccharides végétaux et leur activité anticoagulante.

## **I. Généralités sur les polysaccharides**

Les polysaccharides, ainsi que des acides nucléiques et des protéines sont l'un des trois catégories de biopolymères qui existent partout dans la nature, et jouent de nombreux rôles essentiels dans la biologie des systèmes vivants, y compris le stockage de l'énergie, la transduction de signal cellulaire et le soutien structurel (Ruiqing *et al.*, 2017).

Ce sont des macromolécules glucidiques naturelles avec des unités répétitives de monosaccharide reliés par des liaisons glycosidiques (Farzad *et al.*, 2017).

Les polyholosides ou polyosides ou glucanes nommés polysaccharides dont le degré de polymérisation est supérieur à 10. Ils sont classés soit comme macromolécule de structure (cellulose, pectine, chitine ...) soit comme macromolécule de réserve (amidon, glycogène...) (Delattre., 2005).

Ces polymères peuvent être linéaires ou ramifiés, avec un poids moléculaire de dizaines de milliers voire de millions (Yue Yua *et al.*, 2018).

Ils sont présents chez tous les êtres vivants, dans les végétaux comme l'amidon, la cellulose et les pectines; dans les animaux comme le glycogène et l'acide hyaluronique (Chen *et Huang.*, 2018b). la chitine chez les insectes et les crustacés dans les microorganismes comme le xanthane chez bactéries (Salehizadeh *et al.*, 2018).

Les glucides ou saccharides sont les molécules biologiques les plus abondantes. Leur formule brute générale  $(CH_2O)_n$  qui donne le nom d'hydrates de carbone ou carbohydrates. Les unités de base des glucides sont appelées monosaccharides ou oses. Ce sont des polyhydroxyaldéhydes ou des polyhydroxycétones contenant entre 3 et 7 atomes de carbone. (Chouana., 2017).

Ils peuvent être classés en fonction de leur charge dont polysaccharide cationique (chitine, chitosan), polysaccharide anionique (héparine, acide hyaluronique, acide alginique et chondroïtine sulfate) et polysaccharide non ionique (dextrane, amidon et cellulose). (Salehizadeh *et al.*, 2018;Li *et al.*, 2018).

**I.1. Classification des polysaccharides selon leurs composition**

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur composition en monomères en deux types, c'est-à-dire les homo-polysaccharides ou les homoglycanes, qui sont composé d'un seul type de monosaccharide, comme la cellulose et le glycogène qui sont constitués de glucose (Naseri N., 2018); Les hétéro-polysaccharides ou les hétéroglycanes, qui compose en plus d'un type de monosaccharide, tel que arabinoxylanne (Rosickaka *et al.*, 2018).

**I.1.1. Homopolysaccharides**

On classe les Homopolysaccharides d'après la nature de l'unité osidique qui les compose. Les glucanes sont des polymères de D-glucoses ; les galactanes sont des polymères de D- galactose et les xylanes des polymères de D-xylose (Voet *et al.*, 2005). Les Homopolysaccharides peuvent être linéaires (amylose, cellulose, chitine) ou ramifiés (amylopectine, glycogène) (Moussrd., 2007).

Les glucosanes (amidon, cellulose), ce sont des polysaccharides homogènes les plus importants, qui sont composés exclusivement d'enchaînement de molécules de glucose, et ils représentent les sucres de réserve et de structure, sont constitués aussi d'un seul type de monosaccharides (Hames *et al.*, 2006).

**I. 1.2. Hétéropolysaccharides**

Les hétéropolysaccharides comportent comme leur nom l'indique, plusieurs types d'oses et jouent un rôle important dans le tissu de soutien et la matrice extracellulaire de l'organisme. Ils constituent de longues chaines d'oses indépendantes ou liées à un noyau protéique, dans ce dernier cas, le volume de la chaine osidiques est bien plus important que celui de la partie protéique (Widmer *et al.*, 2000).

Les hétéropolysaccharides sont des molécules de haut poids moléculaire contenant au moins deux per de monosaccharides formant un motif de base polymérisé (Fabre., 1989)

On classe les hétéropolysaccharides d'après la nature des principales unités osidiques qui les composent. Les araboxylanes sont des polymères mixtes d'arabinose et de xylose. Le même principe s'applique pour classer les galactoarabanes, les galactomannanes etc.. .les

hétéropolysaccharides sont généralement formés que de quelques types de monosaccharides qui alternent selon une séquence répétitive (Voet et al., 2005).

## I.2. Classification des polysaccharides selon leurs sources

La diversité des structures et des emplois des polysaccharides nous conduit à adopter un classification fondée sur leur origine (Bruneton., 2009). (tableau 01 )

Il existe dans la nature de nombreuses variétés de polysaccharides. Ces derniers peuvent être d'origine végétale, Ils peuvent également être issus des algues, ou encore être d'origine animale ou microbienne (Robyt., 1998).

**Tableau 1: Origine des principaux polysaccharides (Sandrine., 2004).**

Origine des polysaccharides	Polysaccharides
<b>Végétal</b>	Agar, agarose Alginate Amidon Arabinogalactane Arabinoxylane $\beta$ -glucane Carraghénane Cellulose Galactomannane Glucomannane Pectine Ulvane Xylane (hémicellulose) Xyloglucane
<b>Bactérienne</b>	Curdlane Gellane Pullulane Xanthane
<b>Animal</b>	Chitine et chitosane Héparine Hyaluronane Sulfate de chondroïtine
<b>Fongique</b>	Krestine Lentinane Schizophyllane Scléroglycane

## I. 2.1- Polysaccharides végétaux

Les polysaccharides végétaux sont divisées en polysaccharides de réserve (amidon, caroube), on polysaccharides de structures (cellulose, hémicelluloses et pectines), on polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin on mucilages (Soukoulis *et al.*, 2018).

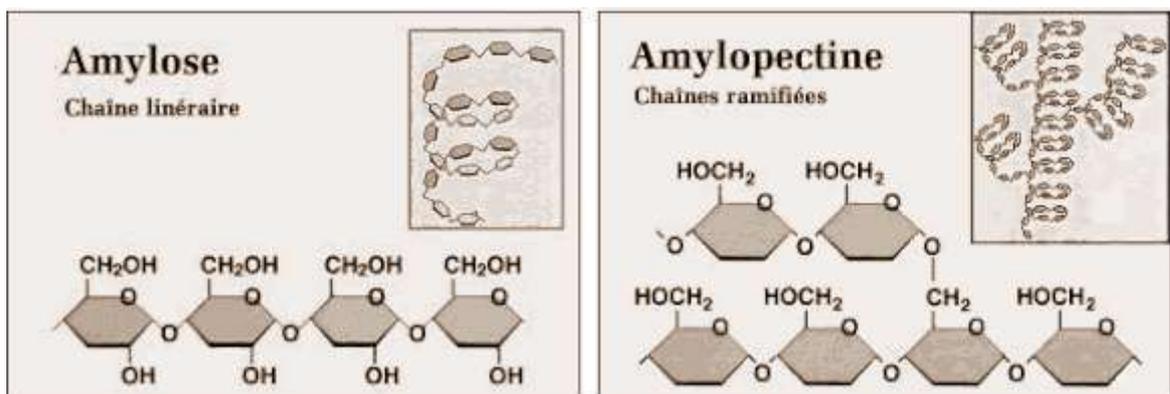
### I.2.1.1. Polysaccharides de réserves

Les polysaccharides de réserve sont des ressources caloriques. Le plus connu d'entre eux est l'amidon (aussi appelé dans certains cas féculé), qui n'est synthétisé que par les plantes (Yves .,2008).

#### I.2.1.1.2. Amidon

L'amidon est un homopolymère de D-glucose, linéaire provenant de plantes. Il est insoluble dans l'eau froide, l'alcool ou d'autres solvants, mais soluble dans l'eau chaude. L'amidon brut comprend un mélange d'amylose et d'amylopectine. Selon la source d'amidon, l'amylose et l'amylopectine sont présents à des niveaux allant jusqu'à 25% et 95% respectivement (Salehizadeh *et al.*, 2017).

L'amylose est essentiellement un polymère linéaire des unités de glucopyranose liées par  $\alpha$ -(1→4), L'amylopectine est une molécule fortement ramifiée de D-glucopyranosyl liés en  $\alpha$ -(1→4) ramifié selon la liaison  $\alpha$ -(1→6). L'amylopectine est l'une des plus grandes molécules présente dans la nature (Vanier *et al.*, 2017).(Figure 01).



**Figure 1 : Schéma simplifié de la structure chimique de l'amylose et de l'amylopectine (Ruiz., 2005)**

### I. 2.1.2 Polysaccharides de structure

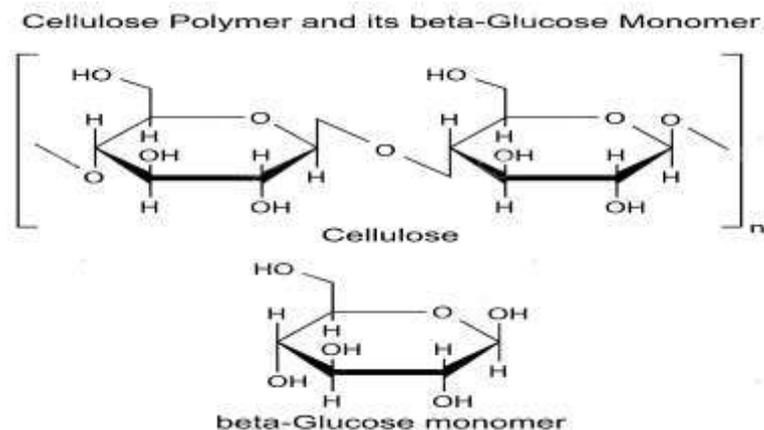
Les polysaccharides structuraux sont les composants des parois cellulaires des plantes, parmi lesquels les celluloses, les pectines et l'hémicellulose.

#### I. 2.1.2.1. Cellulose

La cellulose est une chaîne linéaire d'unités  $\beta$  (1-4) -D-glucose qui se lient côte à côte de façon parallèle pour former des microfibrilles d'épaisseurs variables (**Figure 02**).

La cellulose est produite par de nombreux organismes, y compris les bactéries, les algues, les plantes et certains animaux marins (Tuo Wang *et al.*, 2017), mais sa principale source est les parois cellulaires des plantes. Elle est insoluble dans la plupart des solvants. L'ensemble de ces propriétés physico-chimiques et mécaniques, en plus de sa grande abondance et disponibilité, font de la cellulose l'un des polysaccharides le plus étudié (Chouana., 2017).

Nombreuses études constatent que la cellulose possède des propriétés uniques telles que la capacité hydrophile et la cristallinité. De plus, elle est non toxique et insoluble dans nombreux solvants dus aux liaisons hydrogène (Nursyazwani *et al.*, 2018).



**Figure 2:** structure chimique de la cellulose (Ruff., 2008)

### I. 2.1.2.2. Pectine

Les Pectines forme la classe la plus complexe de polysaccharide (Bayar *et al.*, 2017). et l'un des composants majeurs des parois cellulaires primaires et cellulaires moyennes des plantes supérieures (Chen *et al.*, 2019).

Ils peuvent également avoir d'autres résidus de sucre présents en tant que des chaînes latérale ou dans la chaînes principale. Ceux-ci peuvent inclure le rhamnose, le galactose et l'arabinose (Wang *et al.*, 2018).

Le degré d'estérification du résidus acides galacturonique ont une influence déterminante sur les propriétés physico-chimiques des pectines, principalement en termes de complexation et de formation de gel (Bayar *et al.*, 2017).

Trois classes principales de pectine sont reconnues (Wang *et al.*, 2018) (**Figure 03**) :

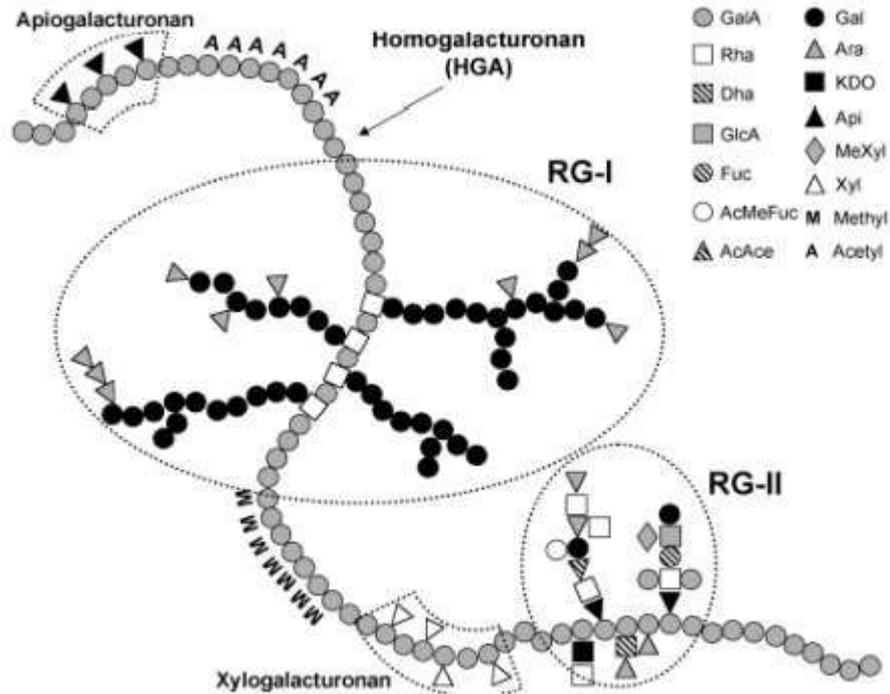
1- Homo galacturonane (HG), qui comprend un squelette de résidus d'acide

$\alpha$ -(1 → 4)-D galacturonosyluronique .

2- Rhamnogalacturonan I (RG-I), comprenant des résidus  $\alpha$ -D galacturonosyle entrecoupés et des résidus rhamnosyle, avec des chaînes latérales de résidus galactosyle et arabinosyle.

3- Rhamnogalacturonan II (RG-II), qui est moins abondante que les deux autres classes, mais a une composition complexe

Les pectines capables de piéger l'eau pour former des gels à faible concentration, de sorte qu'elles sont largement utilisée comme agent gélifiant, épaississant ou stabilisant dans les confitures, la boulangerie, les confiseries et les produits laitiers. En plus, elles peuvent être considérées comme des fibre diététique, prébiotiques et substituts de graisse, montrant des propriétés bioactives et fonctionnelles (Naqash *et al.*, 2017).



**Figure 3:** Représentation schématique de la structure primaire des pectines (Pérez *et al.*, 2003).

### I. 2.1.2.3. Hémicellulose

Le nom hémicellulose a été désigné tous les polysaccharides de la plante que l'on pouvait extraire par des solutions aqueuses alcalines. Elles diffèrent de la cellulose par l'hétérogénéité de leur composition mono saccharidique (Mongi., 2015).

Il est considéré comme la deuxième plus abondante composante de la biomasse ligno cellulosique qui représente 20% - 40% selon les espèces (Ragab *et al.*, 2018).

Contrairement à la cellulose, l'hémicellulose est constituée d'un polymère court et hautement ramifié d'unités polysaccharidiques à cinq et six atomes de carbone, comme les xylanes, le mannane, les  $\beta$ -glucanes et les xyloglucanes (Luo *et al.*, 2018).

Les hémicelluloses fonctionnent comme matériel de soutien dans les parois cellulaires. Ils sont facilement hydrolysés par les acides à leurs composants en monomères, composé de D-glucose, de D-mannose, de D-galactose, de D-xylose, L-arabinose et de petites quantités de L-rhamnose en plus de l'acide D glucuronique, de l'acide 4-O-méthyl-D-glucuronique et de

l'acide D.galacturonique. En raison de leurs structures amorphes, les hémicelluloses ont une réactivité plus élevée que celle de la cellulose (Zobiri *et al.*, 2019).

Certaines formes d'hémicellulose commencent à se dissoudre dans l'eau à une température de 150°C et sa solubilité augmente dans l'ordre du galactose, de l'arabinose, du glucose, du xylose et du mannose; ce sont des différents sucres qui sont soit des sucres pentoses, soit des sucres hexoses. Il y a trois sous-groupes principaux d'hémicelluloses qui présentent des fragments de résidus de  $\beta$ -(1→4)-D-pyranose (sucres hémiacétal) à savoir les mannanes, les xyloglucanes et les xylanes (Naidu *et al.*, 2018).

L'hémicellulose est relativement facile à hydrolyser par rapport à la cellulose qui présente plus de cristallinité et un plus haut degré de polymérisation, il est décomposé et métabolisé avant d'autres composants structurels (Shrestha *et al.*, 2017).

Xylanes sont des composés hémicellulosiques trouver dans les parois cellulaires des plantes. Ce sont des hétéropolymères constitués des résidus D-xylosyle liés par  $\beta$ -(1 → 4). Certaines enzymes impliquées dans l'utilisation du xylane et du xylose comme les endoxylanases, nécessaires à la rupture du xylose lié au  $\beta$ -(1→4) et les  $\beta$ -xylosidases nécessaires à la dégradation de xylane ramifié (Dinesh *et al.*, 2016).

### I .2.1.3.Exsudats et mucilages

Les gommés et les mucilages ont certaines similitudes. 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 à former des gels et à stabiliser des émulsions. Ce sont des hydrocolloïdes végétaux généralement de nature hétéropolysaccharidiques partiellement anioniques pour la plupart (Jani *et al.*, 2009).

Les gommés sont des produits exsudés suite à une blessure de la plante ou en raison de conditions défavorables comme la sécheresse (formation extracellulaire) (Jani *et al.*, 2009).

Les polymères constitutifs des mucilages sont en général des xylanes ou des dérivés pectiques et renferment le plus souvent des oses neutres (xylose, arabinose, galactose, rhamnose,...) et des acides uroniques (acide galacturonique, acide glucuronique) (Delattre., 2005).

Ce sont des constituants normaux des plantes. Ils ont un rôle protecteur ; préviennent la déshydratation des graines et leur conservent leurs facultés germinatives (Vercaitere., 2011).

Notons que la différence entre gommes et mucilages reste aujourd'hui encore ambiguë puisque les premières sont plutôt collantes et proviennent de la surface des arbres alors que les seconds sont des hydrocolloïdes visqueux issus de graines ou de tissus souples (Voragen *et al.*, 1995).

Les polysaccharides constituant ces mucilages sont souvent polaires et très hydrophiles, de très hautes masses molaires, hautement ramifiés et composés de différents monosaccharides (Peters., 2016).

Le rôle physiologique du mucilage n'est pas négligeable puisqu'il permet à la plante d'absorber et stocker des quantités hydriques importantes. En cas de besoin, la libération progressive de l'eau vers d'autres tissus est possible en période de sécheresse. Inversement, en présence de quantités d'eau trop importantes, le gonflement du mucilage peut entraîner l'éclatement des tissus (Fabrice., 2008).

### **I. 3. Activités biologiques des polysaccharides**

La diversité structurale des polysaccharides quelle que soit leur origine (animale, végétale ou microbienne) confère à ces macromolécules de nombreuses activités biologiques (Collic-jouault *et al.*, 2004).

Ainsi grâce à leurs propriétés interactives et régulatrices, les polysaccharides participent au contrôle de l'activité cellulaire (prolifération, différenciation, adhésion et migration) mais également de l'activité de nombreuses enzymes. De telles molécules aux multiples fonctions spécifiques peuvent être exploitées en thérapeutique (Collic-Jouault *et al.*, 2004)

Les polysaccharides végétaux ont été largement étudiés pour leurs propriétés chimiques et leurs activités biologiques dans l'industrie alimentaire et médicale. Les activités biologiques d'un polysaccharide dépendent de sa structure moléculaire, y compris l'unité de sucre, la liaison glycosidique de la chaîne principale, le degré de polymérisation de la branche et la configuration de la chaîne (Li *et al.*, 2018).

En médecines traditionnelles, le recours à l'utilisation des plantes et/ou de leurs extraits est une approche biologique sans effets négatifs sur l'écologie (Soković et Van Griensven., 2006). Les essences semblent être suffisamment efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques (Buchbauer et Jirovetz ., 1994). Le pouvoir antimicrobien des plantes médicinales serait dû en totalité et/ou en partie aux essences qu'elles contiennent (Akgül et Kivanc, 1988).

### **I. 3.1. activités antimicrobiennes**

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (Cce .; 2001). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries. En général, bactérie GRAM - sont plus résistantes que les GRAM + grâce a la structure de leur membrane interne (Ouis .; 2015) .

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries (Jurgen *et al* ., 2009)

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (Huang *et al.* ; 2008).

#### **I. 3. 1.1. Principe**

La méthode de diffusion sur gélose est une méthode préliminaire permettant de repérer les produits qui sont actifs sur les souches indicatrices et d'évaluer la sensibilité de ces souches (Duval *et al.* ;1990).

Elle consiste à déposer, sur une culture de germes indicateurs préalablement ensemencés, des disques imbibés d'extrait. La diffusion de l'extrait sur le milieu peut inhiber la croissance des souches à tester. Pour les bactéries et les levures, une zone claire ou zone

d'inhibition est observée lorsque l'extrait est actif, la mesure du diamètre de la zone d'inhibition permet d'évaluer la sensibilité de ces germes qui peut varier en fonction de la souche testée (Duval *et al.*; 1990; Ferron. ;1994).

### **I.3.2. Activité anti-inflammatoire**

L'inflammation est un mécanisme de défense contre les agressions externes ou les lésions cellulaires (Espinoza *et al.*, 2019).

Le processus de l'inflammation implique un réseau complexe de cascades de signalisation cellulaires et moléculaires destinées à restaurer l'homéostasie des tissus ou des organes, à leur réparation et à leur régénération. Cependant une inflammation aiguë, grave et systémique peut entraîner une pathologie, une défaillance d'organe et la mort, comme cela se produit lors d'une septicémie. En outre, si l'inflammation persiste plus longtemps et devient chronique, elle peut provoquer des maladies inflammatoires chroniques, notamment le cancer et l'auto-immunité (Kumar., 2019). Les macrophages produisent des médiateurs inflammatoires tels que l'oxyde nitrique, les prostaglandines (PG) et les cytokines. Ainsi, l'inhibition des médiateurs inflammatoires est importante dans le traitement de l'inflammation (Sornsiri *et al.*, 2018).

En générale, le traitement d'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens (AINS). Ces molécules bien qu'étant efficaces, associées à des effets indésirables tels des dommages digestifs (ulcères gastro duodénaux, sténose, perforation) et des toxicités rénales (insuffisance rénale aiguë, rétention hydrosodée). (Youbare Z *et al.*, 2016).

En raison de ces problèmes, des études et no botaniques menées en Afrique et plusieurs manuels publiés qui tentent de donner un aperçu des médicaments à base de plantes (Pompermaier *et al.*, 2018). L'utilisation de médicaments à base de plantes est largement lié aux effets antioxydants et anti-inflammatoires des composés phytochimiques présents dans les fruits, les légumes et les épices (Zahn *et al.*, 2019)

### **I. 3.3. Activité Antidiabétiques**

Le diabète sucré ou diabètes mellitus (DM) est un trouble métabolique chronique qui se manifeste par des taux de glucose plasmatique anormalement élevés qui sont soit

supérieurs à 7.0 mmol/L (126 mg/dL) à jeun ou 11.1 mmol/L (200 mg/dL) deux heures après la prise de glucose ( Zimm *et al.*, 2001).

Le diabète associé à des complications, telles que des défaillances organiques multiples (Wang *et al.*, 2019c). Les défis du système de prestation de soins de santé publique avec les ressources humaines et financières inadéquates aussi les antidiabétiques coûteux associés à une disponibilité limitées, toutes ces conditions ont ouvert de nouvelles perspectives aux diabétiques de rechercher des médicaments complémentaires et alternatifs (Chinsembu., 2018). Ainsi, les polysaccharides de sources naturelles ont un grand potentiel dans la prévention de l'apparition et du développement du diabète (Li *et al.*, 2019b).

### **I.3.4.Activité anticoagulante**

La coagulation est le processus qui aboutit à la formation de fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Il s'agit d'une séquence de réactions enzymatiques permettant l'activation de facteurs plasmatiques inactifs en protéases actives (Plaziat *et al.*, 2009).

Elle est divisée en deux voies, la voie extrinsèque et la voie intrinsèque, suivie d'une voie commune après l'activation du Facteur X (FX) (De-Caterina *et al.*, 2012., Pierce *et al.*, 1999).( Figure 04).

Elle nécessite l'intervention de nombreux facteurs plasmatiques, nommés de I à XIII. Ces facteurs sont présents sous forme de précurseurs inactifs dans le sang. Lorsqu'ils sont activés par protéolyse, on leur adjoint la lettre « a ». Ces facteurs sont synthétisés par le foie (Penche, 2015).

#### **I.3.4.1.Voie extrinsèque ou voie tissulaire**

Elle utilise les facteurs tissulaires libérés lors de la lésion vasculaire. En présence de calcium et du facteur tissulaire lié aux phospholipides des membranes cellulaires, le facteur VII s'active en devenant la convertine (VIIa). Le VIIa lié au facteur tissulaire permet d'activer le facteur X lorsque le facteur tissulaire est en excès. Mais, en présence de peu de facteur tissulaire, le facteur VIIa pourra activer le facteur IX (Pench., 2015).

**I.3.4.2. Voie intrinsèque ou voie cellulaire**

Elle est ainsi dénommée voie cellulaire car toutes les protéines nécessaires à cette voie se trouvent dans le plasma (Harif., 2007).

Cette voie nécessite l'intervention du système contact. Il comprend quatre facteurs (XII, XI, prékalluikréine et kininogène de haut poids moléculaire). L'activation du système contact peut être déclenchée par le contact du facteur XII avec une surface chargée négativement mouillable ou certains composés biochimiques. Le facteur IX activé en présence du facteur VIII activé permet l'activation du facteur X.

La distinction de ces deux voies reste utile pour le diagnostic des pathologies de la coagulation et de leur exploration. Toutefois les travaux récents ont montré que la voie tissulaire est prépondérante *in vivo*. La voie intrinsèque venant renforcer ou suppléer cette voie dans certains cas (Pench., 2015).

**I.3.4.3. Voie commune**

Cette voie correspond aux réactions enzymatiques conduisant à la formation de fibrine à partir du fibrinogène. Dans un premier temps il y a une activation de la prothrombine en thrombine par le complexe formé par le facteur Xa, le facteur Va, le Calcium et les phospholipides plaquettaires. La thrombine convertira le fibrinogène en monomères de fibrines qui vont former le caillot de fibrine par des liaisons électrostatiques. Ce caillot reste soluble. Le facteur XIII activé par la thrombine va agir sur le caillot pour le rendre insoluble par la transformation des liaisons entre les monomères de fibrine en liaisons covalentes (Harif., 2007).

L'effet anticoagulant est défini comme l'inhibition de la formation de thrombine active dans le plasma, alors que l'effet anti thrombotique est défini comme l'inhibition de la formation de la thrombose et /ou de sa croissance (Colliec *et al.*, 1990).

La thrombose est une maladie vasculaire les plus fréquentes qui résultent d'une interaction complexe entre les protéines circulantes de la coagulation, les plaquettes et la paroi vasculaire. Elle est l'une des principales causes des troubles thromboemboliques affectant des milliers de personnes dans le monde (Mansoor., 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).

Les plus utilisés sont jusqu'à présent l'héparine et ses dérivés et les anti vitamines K (AVK). De nombreuses études cliniques ont démontré leur action dans la prévention et le traitement de complications thromboemboliques (Kortchinsky *et al.*, 2013).

L'héparine est un polysaccharide linéaire hautement sulfaté contenant principalement une unité disaccharidique répétée ( $\alpha$ -D-glucosamine en alternance avec de l'acide  $\alpha$ -L-iduronique). C'est le polysaccharide le plus largement utilisé cliniquement comme anticoagulant et antithrombotique (Souza *et al.*, 2015).

La consommation d'anticoagulants ou composés phytochimiques alimentaires ayant de propriétés anticoagulantes, peut réduire ou éliminer les risques de maladies thromboemboliques (Mansour., 2013).

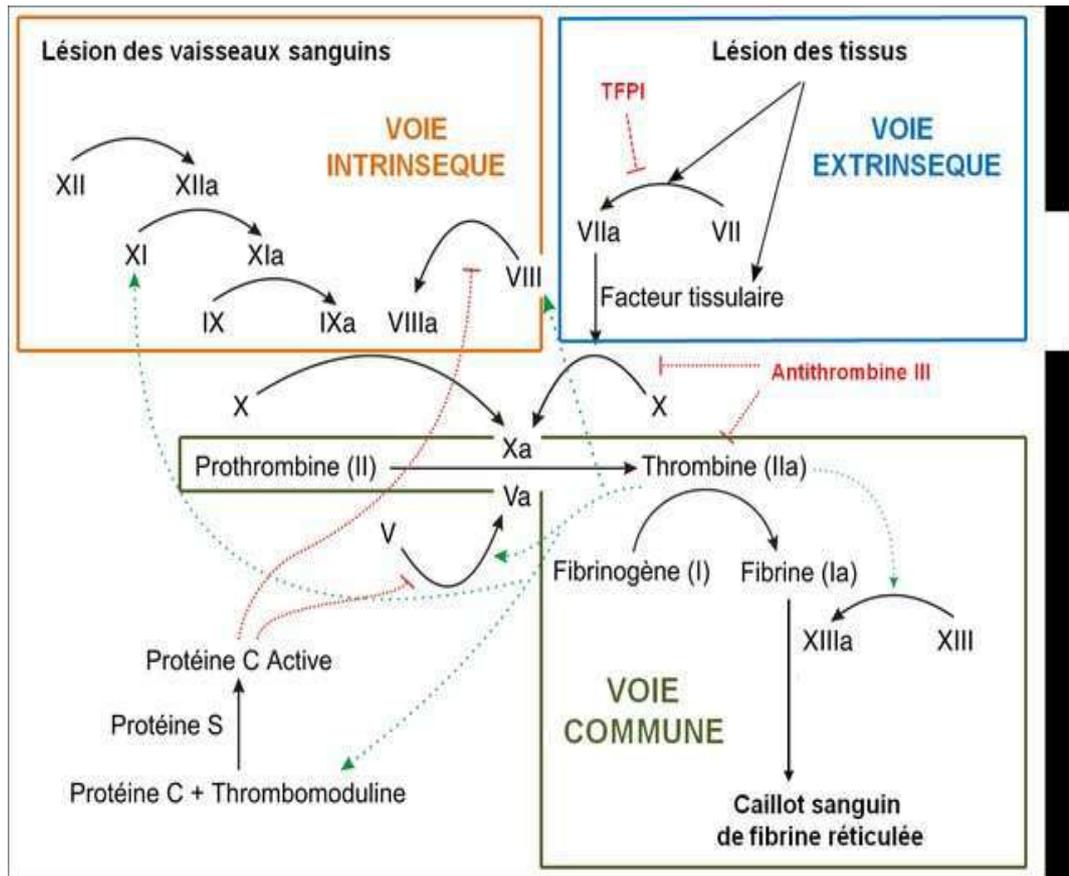


Figure 4: Cascade de la coagulation sanguine (Cesarman M *et al.*, 2005)

**I.4. Matériel végétal**

Les espèces végétales d'intérêt médicinales sont impliquées dans différents secteurs à l'état brut ou sous formes d'huiles, extraits, solutions aqueuses ou organiques (Attiy *et al.*, 1995). Leurs préparation à base végétales contiennent un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques (Farnsworth *et al.*, 1986).

**I.4.1. Répartitions géographique de genre *Astragalus***

L'*Astragalus* (*Fabacée*), est un genre largement distribué dans toutes les régions tempérées du monde, localisées principalement en Europe, l'Asie et Amérique du Nord. Environ 2000 des espèces avec plus de 250 sections taxonomiques dans le monde (Maassoumi, 1998 ; Wojciechowski *et al.*, 2004), Avec une prédominance dans la région de l'Asie du sud (1500 espèces), en Europe (500 espèces), en Amérique du Nord (500 espèces) et en Amérique latine (Zarre *et al.*, 2013).

Les espèces d'*Astragalus* grandissant en Afrique du Nord (Quézel *et al.*, 1963, Ozenda, 1991). En Algérie le genre *Astragalus* est distribué dans la zone pré-saharienne et associée à la désertification dans les zones arides en raison du surpâturage (Hirche., 2010). Dans les régions du bassin Méditerranéen, près de cinq cents espèces du genre *Astragalus* (Bel kassaoui H., 2007).

#### I.4.2. Description morphologique de l'espèce *Astragalus gombiformis*:

Le genre *Astragalus*, est le plus important de la famille des légumineuses. la classification botanique donner par (Quézel *et al.*, 1962 ; Boumlik., 1995 ; Chehma ., 2006).

Plante vigoureuse au port dressé de 10 à 50 cm de haut. **Tiges** bien développées. **Feuilles** de grande taille de couleur vert clair, avec de très nombreuses petites folioles (Ozenda p. ; 1977). Les pétioles robustes perdant leurs folioles deviennent coriaces et piquant à l'extrémité. **Fleurs** jaunes, en grappe axillaires denses. Gousse couverte d'un duvet soyeux. Elle est très résistante à la sécheresse (Chehma A .; 2006).



**Photo 1:** Photographie d'*Astragalus gombiformis* Pomel (prise à la région de oulede Saïd de Timimoune en février 2021) (Haïfa *et* Souad., 2021)

#### I.4.3.1 L'espèce *Astragalus gombiformis* Pomel.

*Astragalus gombiformis* Pomel est une espèce de plante psammophyte du désert sauvage appartenant à la famille des Fabacées. Il s'agit d'une plante herbacée pérenne, d'un sous-arbuste ou d'un arbuste qui contribue grandement à l'alimentation des dromadaires et des chèvres élevées par les agriculteurs de la région aride du Maroc oriental, de l'Algérie et de la

Tunisie, où la production animale repose presque exclusivement sur le pâturage de plantes indigènes (Guerrouj *et al.*, 2013).

Cette légumineuse fourragère est bien adaptée aux conditions arides, notamment aux sols sablonneux, et est considérée comme ayant une plus grande valeur nutritive que de nombreuses espèces de fougères et de buissons. *Astragalus gombiformis* est également utilisé traditionnellement contre les morsures de serpents et de scorpions (Guerrouj *et al.*, 2013).

**Tableau 2:** classification botanique de *Astragalus gombiformis* Pomel (Quézel *et al.*, 1962. ; Boumlik., 1995 ; Chehma ., 2006).

Règne	Plantes (Végétal)
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Fables
Famille	Fabaceae
Sous famille	Papilionaceae
Genre	<i>Astragalus</i>
Noms vernaculaire	Djelban el hamir, Foul el hamir, Gelga

#### I.4.4. Intérêts médicinaux de genre *Astragalus*

Les plantes appartenant au genre *Astragalus* sont traditionnellement utilisées pour leurs vertus thérapeutiques. (Duke *et al.*, 2008).

En médecine traditionnelle, l'*Astragalus* sont utilisées depuis des millénaires par les Hindous et les Chinois (Chaudhary *et al.*, 2008).

L'*Astragalus* contient de nombreux éléments actifs, tels que des flavonoïdes, des polysaccharides.

Comme agent thérapeutique, elle est recommandée dans les cas de faiblesse, engourdissements, asthme, nervosité, tendance aux infections, transpirations nocturnes,

rhumes et gripes, douleurs arthritiques, déficience du système immunitaire et insuffisance de production d'urine (Saoudo M., 2007).

Les feuilles d'*Astragalus* sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des hémorroïdes (Hassen T *et al.*, 2012). *L'Astragalus* peut provoquer une dilatation (expansion) des vaisseaux sanguins. La prudence est donc de mise chez les personnes ayant déjà un sang clair ou qui utilisent des anticoagulants. (Lori Lyons *et al.*, 2005).

Les espèces du genre *Astragalus* sont utilisées dans la médecine traditionnelle dans le monde entier comme des herbes médicinales contre l'ulcère de l'estomac, la toux, la bronchite chronique, l'hypertension, les troubles gynécologiques, le diabète et les piqures venimeuses de scorpion (Walter., 1991).

*L'Astragalus* a des nombreux effets sur la santé humaine tels qu'agir comme anti-inflammatoire, stimuler le système immunitaire, effet anti-vieillessement, et protège le système cardiovasculaire (Huang *et al.*; 2012 ; Piao *et al.*, 2014). Et comme anti tumorales (Liu *et al.* ;2001), anti oxydantes (Zhang *et al.* ;2013), anticoagulantes (Athukorala *et al.* ;2006), anti compléments (Xu *et al.*, 2007), antiulcéreuses (Xu *et al.*, 2007), et hypoglycémiantes (Tongh Liang *et al.*, 2008).

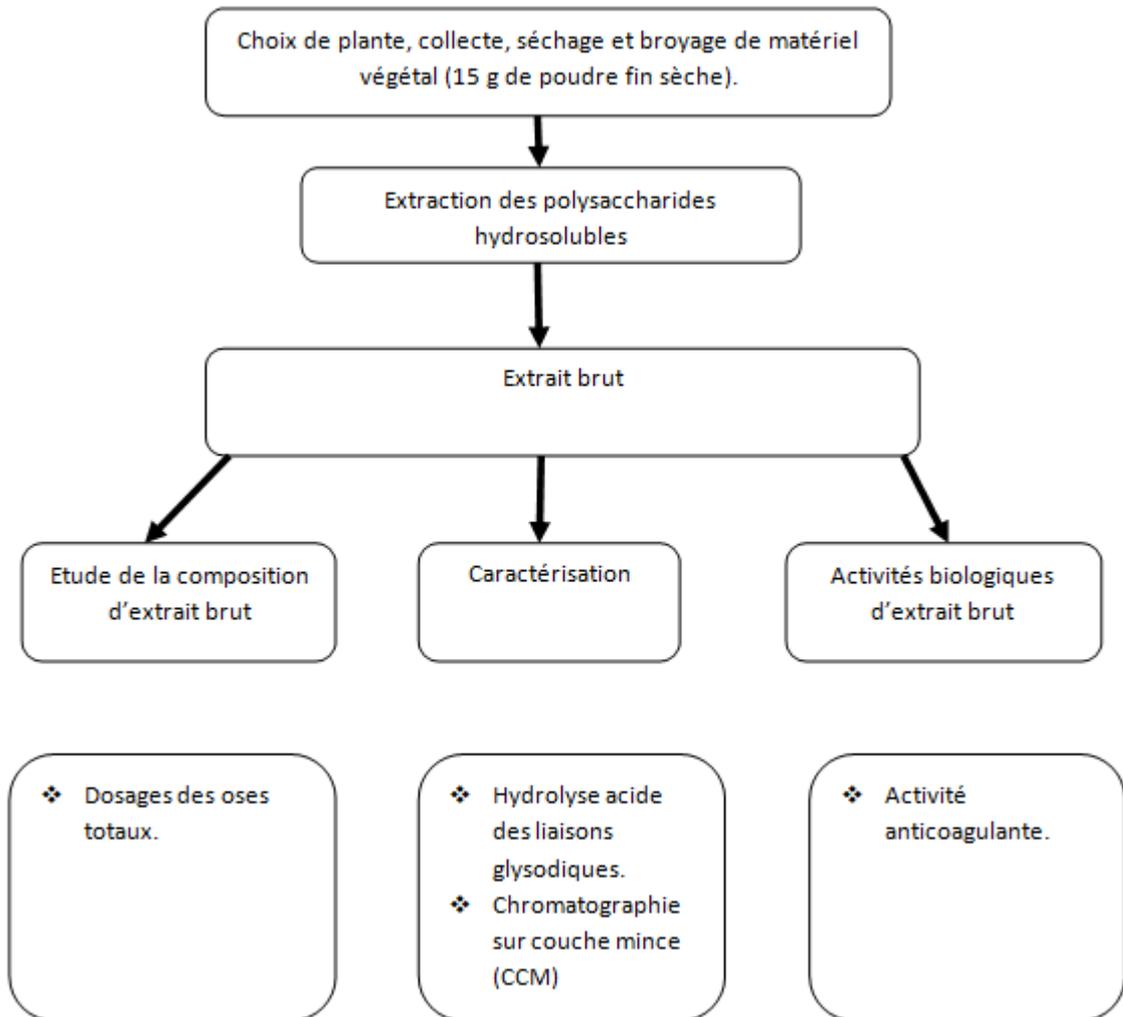
# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

La méthodologie de travail porte sur principe d'étude, matériel d'étude, extraction des polysaccharides hydrosolubles des tiges d'*Astragalus gombiformis* et leurs activités biologiques.

### II.1. Principe d'étude

L'étude porte sur l'extraction aqueuse des polysaccharides hydrosolubles issus de tiges d'*Astragalus gombiformis* Pomel. Ainsi, les extraits de polysaccharides sont caractérisés partiellement par des méthodes colorimétriques, à savoir la détermination des teneurs en oses totaux. De même, une analyse qualitative des résidus glycosidiques constitutifs après hydrolyse par chromatographie sur couche mince est effectuée. Cette étude vise aussi les propriétés biologiques dont l'activité anticoagulante (**Figure 06**).



**Figure 5:** Schéma globale de différentes étapes expérimentales

## II.2. Matériel d'étude

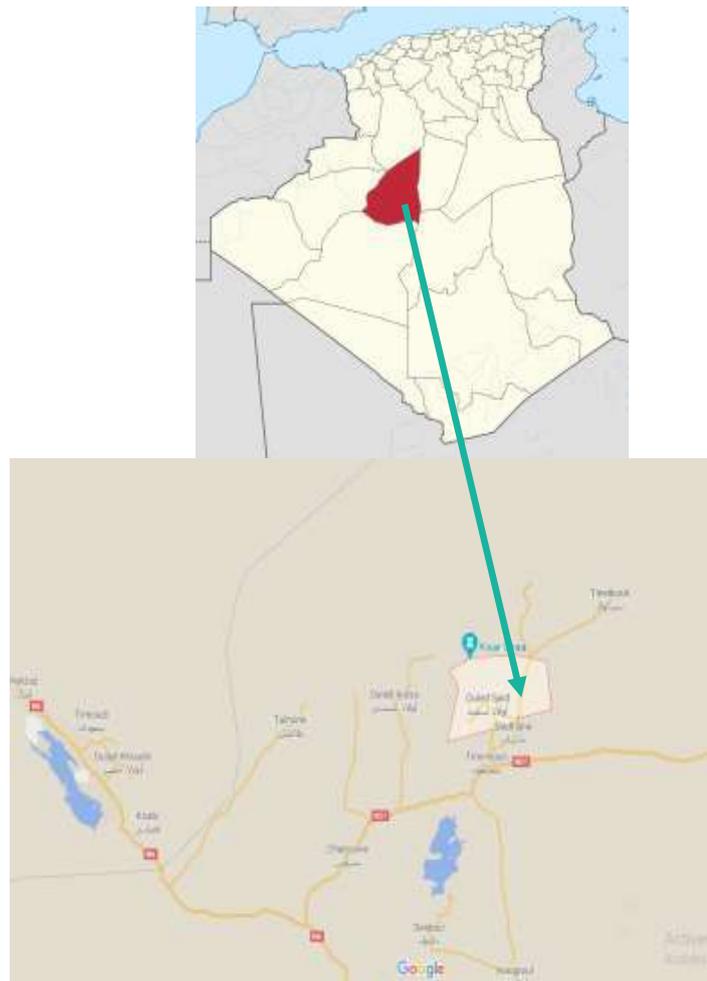
Le matériel d'étude est constitué de matériels biologiques, de produits chimiques et des appareils utilisés au cours de l'expérimentation.

### II.2.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est représenté par la plante médicinale spontanée *Astragalus gombiformis* Pomel.

#### II.2.1.1. Préparation du matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (tige) de la plante saine récolté dans la région de Ouled Saïd de la wilaya de Timimoune (Latitude 29°25'00.6"N ; Longitude 0°14'58.8"E). A la fin de Février 2021, l'identification botanique d'espèce végétal a été fait par Ms. Eddoud Amar enseignant a l'université de Kasdi Merbah Ouargla faculté de sciences de la nature et de la vie (**Figure 07**)



**Photo 5:** Carte géographique de Ouled Saïd commune de la wilaya de Timimoune.

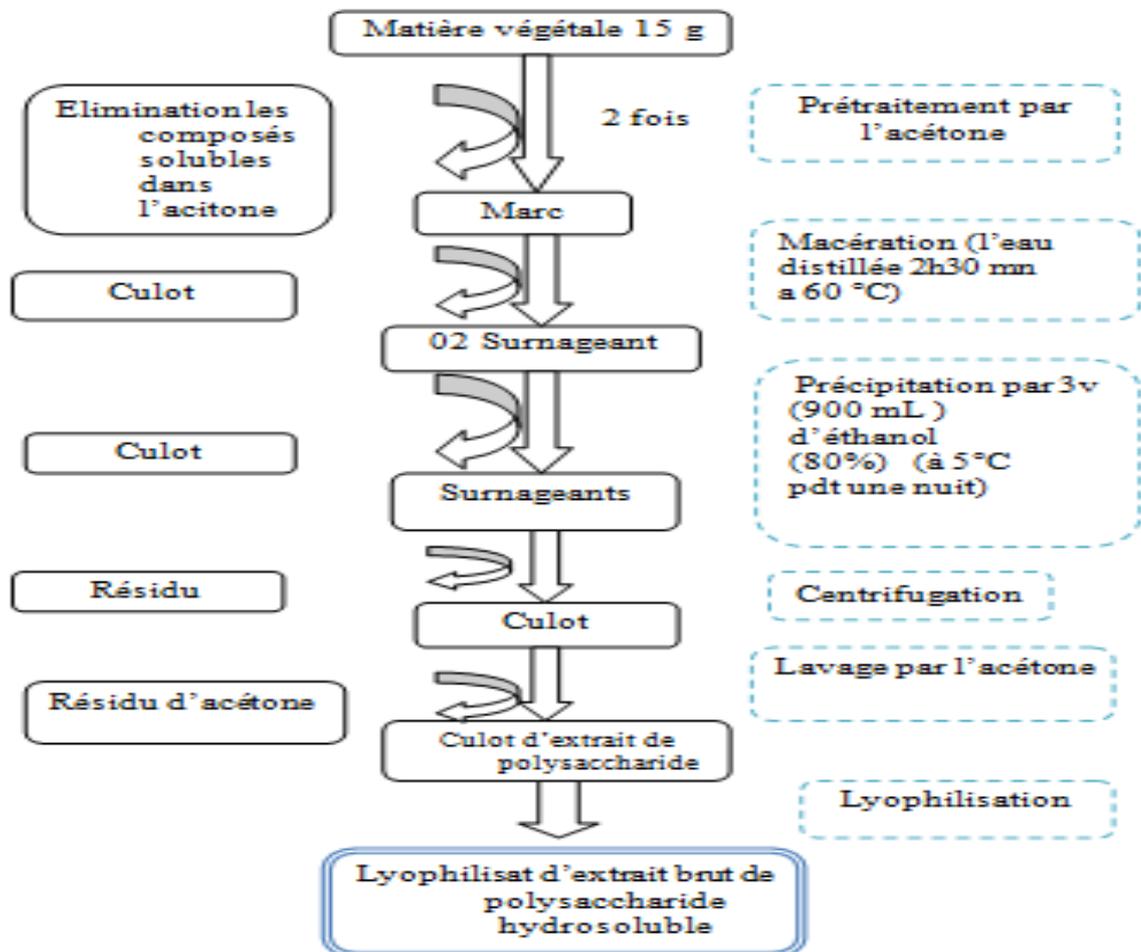
Un séchage est effectué à l'abri de la lumière et à température ambiante, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules (Addoun *et al.*, 2019), les tiges sont broyées avec un mixeur électrique pour obtenir une poudre (**Figure 08**). La poudre est conservée dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.



**photo 3:** Les tiges broyées d'*Astragalus gombiformis* (Haïfa *et Souad* ., 2021)

### **II.3. Extraction des polysaccharides hydrosolubles issus des tiges d'*Astragalus gombiformis***

Une quantité de 15g de poudre de tiges sont décolorées par traitement à l'acétone (150 ml) (Yang *et al.*, 2015) pendant 5 h sous agitation (100 rpm) à température ambiante deux fois (Yan *et al.*, 2019) Après filtration sur papier filtre, et séchage, le broyat est macéré dans 150 ml d'eau distillée à 60°C pendant deux heures (He *et al.*, 2017), la macération est répétée trois fois (Wang *et al.*, 2014). Le mélange a été ensuite centrifugé à 3500 rpm pendant 15 mn (Chen *et al.*, 2010b). les 3 surnageants sont récupérés puis précipités à l'aide de 3 volumes d'éthanol (750 ml) (80%) pendant une nuit à 4°C (Holderness *et al.*, 2011). Après centrifugation à 3500 rpm pendant 15, le culot obtenu a été lavé 3 fois par l'acétone (Tabarsa *et al.*, 2018). A la fin, une poudre blanc jaunâtre et sèche a été obtenue, c'est l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles.



**Figure 6:** Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles (Liu *et al.*, 2011; Chidouh *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2010b; Yang *et al.*, 2008; Holderness *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2014; Luo, 2014; Yan *et al.*, 2008; He *et al.*, 2013)

### II.3.1. Calcul du rendement des polysaccharides

Le rendement massique, est un rapport entre la masse de l'extrait brut obtenu et la masse de la matière de départ. Il se calcule comme suit (Wang *et al.*, 2018) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids en (g) de l'extrait brut des polysaccharides}}{\text{Poids de la matière végétale sec en (g)}} \times 100$$

**II.3.2. Composition des extraits des polysaccharides hydrosolubles**

L'étude de la composition de l'extrait brut polysaccharidique hydrosoluble des tiges (PTAG) consiste à déterminer les teneurs en oses totaux par un dosage colorimétrique.

**II.3.2.1. Dosage des oses totaux**

La teneur des oses totaux dans polysaccharidique hydrosoluble des tiges d'*Astragalus gombiformis* (PTAG) est déterminée selon la méthode phénol- acide sulfurique décrite selon (Dubois *et al.*, 1956).

**II.3.2.1. 1.Principe**

Le principe de dosage colorimétrique repose sur la condensation, En présence de l'acide sulfurique concentré, les oses déshydratés en composés de la famille de dérivés furfuriques, et en milieu acide fort et à chaud. Ces produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orangés (Lecheb., 2010), Les chromophores ainsi formés absorbent dans le domaine du visible entre 450 à 550 nm proportionnellement avec la quantité de sucres présents (Warrand., 2004).

**II.3.2.1.2. Préparation des réactifs et des solutions****✓ Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique 0,01% :**

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut PTAG dans 100 ml d'eau distillée.

**✓ Préparation de la solution mère de glucose 0,01% :**

La préparation est effectuée par 0.01 g du glucose dans 100 ml d'eau distillée.

**✓ Préparation de la solution du phénol 5% :**

La solution est préparée avec 1g du phénol dans 20ml d'eau distillée .

Tableau 3: Gamme étalon du glucose

	<b>Blanc</b>	<b>0.002%</b>	<b>0.004%</b>	<b>0.006%</b>	<b>0.008%</b>	<b>0.01%</b>
<b>Glucose (<math>\mu</math>l)</b>	0	40	80	120	160	200
<b>Eau distillée (<math>\mu</math>l)</b>	200	160	120	80	40	0

### II.3.2.1.2.- Mode opératoire

La teneur en oses totaux est déterminée par la méthode de DUBOIS *et al.*, 1956.

- Dans les tubes de dosage en verre, introduire 200  $\mu$ l de la solution polysaccharidique
- Additionner 200  $\mu$ l de la solution du phénol à 5%;
- Agiter le mélange;
- 1ml d'acide sulfurique, est rapidement introduit dans le milieu réactionnel
- Les tubes sont ensuite incubés au bain marie à 100°C pendant 5 mn;
- Les tubes sont refroidis dans un bain de glace, puis placés à l'obscurité pendant 30 min
- Lire la densité optique à 490 nm contre le blanc par un spectrophotomètre UV-Visible.

### II.3.3. Caractérisation des résidus glycosidiques

Pour la caractérisation des résidus glycosidiques, une déstructuration significative de polymères est nécessaire (Delattre ., 2005). La détermination de la composition des monosaccharides libérés sont ensuite analysés aussi bien par chromatographie sur couche mince (Ruthes *et al.*, 2015).

#### II.3.3.1. Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques

##### Principe

Le principe consiste à hydrolyser l'échantillon à analyser par un acide. La dépolymérisation peut être conduite avec des acides de forces et de concentrations variables sous diverses conditions opératoires (température, temps de réaction) selon la nature et la

structure du polysaccharide (Ruiz., 2005). Le clivage des liaisons glycosidiques est réalisé à haute température (100 °C) dans des acides forts dilués (hydrolyse ménagée) ou concentrés (2M) tels que l'acide Chlorhydrique (HCl), l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), l'acide trifluoroacétique (TFA), l'acide formique ou encore, l'acide nitrique (Delattre., 2005). L'acide trifluoroacétique est préféré à l'acide sulfurique car il présente de plus l'avantage d'être éliminé par une simple coévaporation avec du méthanol (Ruiz., 2005).

### **II.3.3.2. Mode opératoire (Athukorala et al., 2006)**

- Placer dans un flacon à vis de petit volume, 1ml de TFA de 2M ;
- Ajouter à 10mg d'extrait brut polysaccharidique, et on le laisse dans l'étuve à 100°C pendant 4h ;
- Refroidir le flacon au bain de glace ;
- L'acide est coévaporé par l'ajout de quelques gouttes de méthanol ;
- Les hydrolysats sont déposés dans un dessiccateur sous hotte pendant 24 heures jusqu'à évaporation complète.
- Ajouter 1ml de l'eau distillée à l'hydrolysate et le récupérer dans un Eppendorf.

Les monosaccharides libérés, sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM).

## **II.4. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)**

La chromatographie est une technique de séparation, de quantification et/ou d'identification des constituants présents dans des mélanges variés ; basée sur les phénomènes d'adsorption est permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique (Chavannes et al., 2006).

### **II.4.1 Principe**

La phase stationnaire est constituée par des adsorbants tels que le gel de silice et la cellulose, étalés en couche mince sur une plaque de verre, d'aluminium ou sur une feuille de matière plastique (Delattre., 2005). Chacun des solutés est soumis à une force de rétention par adsorption et une force d'entraînement par la phase mobile (Hainque et al., 2008).

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants appelé éluant. Elle progresse le long de la phase stationnaire (Chavannes et al., 2006).

Le choix de l'éluant est le point crucial pour réussir une bonne séparation en chromatographie sur couche mince. Il dépend de la polarité des constituants que l'on a séparés. Ces derniers entraînés par l'éluant, migrent avec lui le long des grains de la phase stationnaire (Chavannes *et al.*, 2006).

Les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Si un constituant est plus entraîné par l'éluant, il est moins adsorbé sur la phase stationnaire (Delattre., 2005).

Après migration, les spots sont révélés par une réaction colorée le Nigrum, basée sur les réactions furfuraliques des sucres. Après chauffage à l'étuve à 105°C pendant 10 à 15mn les aldohexoses donnent une coloration bleuâtre, les aldopentoses donnent une coloration verdâtre, les cétooses donnent une coloration rougeâtre (Paulsen *et al.*, 2002).

Pour identifier un produit, le chromatogramme obtenu avec la solution du produit à examiner est comparé avec celui obtenu avec la solution étalon du même produit. Il est supposé qu'il s'agit de la même substance il y a un même tracé dans les deux cas, le calcul de rapport frontal (Rf) permet d'identifier les composés qui ont été séparés, la mesure s'effectuant à partir du point de dépôt (Ballereau *et al.*, 1993 ;Galy *et al.*, 2012).

## **II.4.2.Mode opératoire**

### **II.4.2. 1.Préparation de révélateur**

Nigrum est le réactif de révélation des plaques (Ghebreg Z *et al.*, 1975). Il compose de deux solutions A et B

**Solution A:** 2 g de diphénylamine dans 50 mL d'acétone,

**Solution B:** 48ml d'acétone complété jusqu'à 50 mL par l'aniline. Après mélangé les deux solutions A et B, 10 mL d'acide ortho-phosphorique (85%), sont ajoutés (Paulsen *et al.*,2002)

### **II.4.2.2. Préparation des phases mobiles**

Deux systèmes de séparation sont utilisés.

- Système I: la phase mobile est constituée d'acétate d'éthyle, pyridine, eau, n butanol, acide acétique dans les proportions 5-4-4-10-2 (Hoton-dorge., 1976).

- Système II : la phase mobile est constituée de chloroform, n butanol, méthanol, eau distillée, a. acétique avec les proportions suivantes 4,5-12,5-5-1,5-1,5 (Yang *et al.*, 2010).

#### **II.4.2.3. Phase stationnaire**

Les phases stationnaires sont des plaques en gel de silice prêtes à l'emploi de type Silica gel 60 F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille de plastique. (Wang *et Fang.*, 2004).

Les plaques sont entièrement utilisées. Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, puis activée dans l'étuve à 100°C pendant 10mn. Après activation, les plaques sont prêtes pour le dépôt des échantillons et des étalons sur la ligne à l'aide d'un applicateur (Boual *et al.*, 2013a).

#### **II.4.2.4. Dépôt des hydrolysats et des étalons**

A chaque 10 mg d'ose étalon (arabinose, galactose, glucose, mannose, rhamnose, xylose et acide glucuronique) est ajouté 1 ml d'eau distillée (Boual *et al.*, 2013). Les solutions sont déposées à l'aide d'un applicateur, en utilisant une micropipette de 10 µl (Audigie *et al.*, 1995).

#### **II.4.2.5. Préparation des cuves chromatographiques**

Les cuves chromatographiques sont des récipients habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche ils sont préparées selon la technique inspirée de (Audigie *et al.*, 1995).

Les plaques sont placées verticalement dans des cuves contenant de la phase mobile de façon à ce que les plaques trempent sur une hauteur d'environ 1cm. Le solvant est laissé monter le long des plaques par capillarité. Au cours de son ascension, il va entraîner les différents constituants du mélange déposé en bas des plaques, les constituants les moins retenus par l'adsorbant étant entraînés le plus facilement. (Morot *S.*, 1991), en évitant tout déplacement ou vibration des cuves pendant l'élution. Quand le solvant arrivera à 1cm du bord supérieur, les plaques sont retirées doucement et le front du solvant est marqué avec un crayon (Delattre *.*; 2005). Elles sont ensuite séchées à l'air libre et révélées par le Nigrum à

l'aide d'un pulvérisateur. Les plaques sont incubées à l'étuve à 105°C jusqu'à l'apparition des spots colorés (ou taches) environ 15mn (Boual .; 2011).

#### **II.4.2.6. Calcul des facteurs de rétention (rapport frontal des spots)**

Le facteur de rétention (Rf) est calculé pour chaque spot obtenu des hydrolysats et des étalons (David *et al.*, 1998). Pour but de comparer les Rf, et déterminer les différents types d'oses constitutifs des extraits de (PTAG).

Le facteur de rétention selon (Audigie *et al.*, 1995) :

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon ou le témoin}}{\text{Distance parcourue par le solvant (phase mobile)}} \times 100$$

### **II.5. Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique**

Les activités biologiques concernent l'activité anticoagulante de PTAG qui a été réalisée dans le laboratoire de l'EPH hôpital Mouhamed Boudiaf Ouargla.

#### **II.5.1 Activité anticoagulante**

L'effet des polysaccharides hydrosolubles sur la coagulation du sang, est évalué par des tests de coagulation qui sont le temps de prothrombine (TP), le temps de céphaline Kaolin (TCK) à l'aide d'un coagulomètre. Le plasma utilisé est obtenu à partir du sang de sujets sains (25-45ans). Le prélèvement est fait par ponction veineuse. Le sang est mélangé au citrate trisodique (3,8%) et centrifugé (2400 g/mn, 20 mn) pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (PPP). (Zhang *et al.*, 2010).

Le temps de prothrombine (TP), est un test de la voie extrinsèque (indication des facteurs V, VII et X, II) (Rizzo *et al.*, 2008).

Le temps de céphaline Kaolin (TCK), est un test de la voie intrinsèque (indication des facteurs VIII, IX, XI et XII) (Rizzo *et al.*, 2008.)

Une solution mère de polysaccharides hydrosolubles de 1mg/ml est préparée à l'eau ultra pure à une concentration de 0.1% (Yoon *et al.*, 2002), puis différentes dilutions sont préparées (0.01% et 0.001%).

**II.5.2. Mesure du temps de céphaline Kaolin (TCK)**

A 90µl de plasma humain normal sont ajoutés à 10µl de solution (PTAG) des différentes concentrations allant de 0.001 , 0.01 et 0.1 % ,et 50µl de plasma humain normal sont ajoutés à 50µl de (PTAG) des différentes concentrations allant de 0.001 , 0.1 et 0.1 % ; puis 100µl de réactif de TCK est ajouté à les deux échantillons. Le mélange est incubé 5mn à 37°C. Après l'ajout de 100µl de CaCl<sub>2</sub> (0,025 mol/l), le temps de céphaline (kaolin) activée est enregistré (Wang *et al.*, 2013).

Des tests de coagulation sont aussi effectués sur l'héparine comme témoin positif à des concentrations allant de 10 à 200µg/ml.

**II.5.3. Mesure du temps de prothrombine (TP)**

A 40µl de plasma sont ajoutés 10µl de (PTAG) des différentes concentrations allant de 0.001, 0.1 et 0.1 % et 25µl de plasma sont ajoutés 25µl de (PTAG) des différentes concentrations allant de 0.001, 0.1 et 0.1 % ; les deux échantillons sont incubés à 37°C pendant 2mn. La réaction est déclenchée par addition de 100 µl de thromboplastine. Le temps de coagulation est mesuré. Les résultats de tests sont exprimés en taux de prothrombine (%) et en International Normalised Ratio (INR) (Yoon *et al.*, 2002).

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

Le présent chapitre porte sur la calcul de rendement d'extraction de PTAG, ainsi que la dosage colorimétrique des oses totaux, Une analyse qualitative des oses constitutifs de cette fraction est effectuée par chromatographie sur couche mince, en outre d'une évaluation de leur activités anticoagulante.

### III.1. Rendement d'extraction des polysaccharides

Ce rendement relatif est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction (Wang *et al.*, 2018), A partir de 15 g de la matière sèche des (TAG) on a obtenu un rendement massique de 1.07%. Il est faible à celui trouvé par Chouana (2017) qui trouve le rendement massique obtenu à partir des tiges d'*Astragalus gombo.bége* 02%. Et inférieur que celui décrit par Boual (2014), qui trouve le rendement d'extraction de polysaccharide hydrosoluble des graines d'*Astragalus armatus* est 4,21%.

Le rendement des polysaccharides peut varier en fonction des facteurs environnementaux et des conditions climatiques (Kaewmanee., 2014). Par ailleurs, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction, le type et la quantité de solvant, agissent sur le rendement massique de polysaccharides hydrosolubles (Ebringerova., 2003). De même, (Kaushik *et al.* 2017) ont signalé que la température d'extraction est également une variable importante qui influence sur le rendement d'extraction. Ainsi, le temps représente l'un des facteurs affectant le rendement massique de l'extraction (Wang *et al.*, 2016a).les interactions entre ces paramètres ont également influencé le rendement d'extraction (Brebion., 2013).

Le rendement des polysaccharides extraits peut varier en fonction de l'état physiologique des plantes (sa source, l'âge des arbres à partir de laquelle il a été obtenu, les conditions climatiques et l'environnement du sol),

AKROUT *et al.* (2010) ont expliqué que le rendement varie selon le type d'espèce investiguée. Dans le même type varie considérablement et dépend de l'emplacement et la séparation géographique et la saison de récolte. L'hétérogénéité des rendements d'extraction est à la fois due aux plantes concernées et aux parties analysées mais aussi au protocole d'extraction utilisé.

**Tableau 4:** Caractéristiques de l'extrait de PTAG

Caractéristiques	Poids(g)	Aspect	Couleur	Rendement(%)	Solubilité
Extrait polysaccharidique	0,16	Poudre	Blanc jaunâtre	1,07	Eau distillé



**Photo 4:**Extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de tige d'*Astragalus gombiformis* (Haïfa et Souad ; 2021)

### III.2 .Composition de l'extrait brut des polysaccharides

Après le dosage colorimétrique, la concentration d'oses totaux est évaluée dans le **tableau 05**

Selon les résultats qui sont obtenus, l'extrait polysaccharidique hydrosoluble renferme des oses totaux avec une teneur de 11,5% qui est inférieur à celui des tiges d'*Astragalus gombo.B* soit 69,4% (Chouana., 2017).

**Tableau 5:** Composition biochimique de l'extrait de PTAG

Oses	Oses totaux
Pourcentages	11,5%

Les différences entre les compositions chimiques des polysaccharides peuvent être dues aux matières premières (Liu *et al.*, 2017b), et diverses conditions telles que l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique, la période de récolte (Saenz *et al.*, 2004) et les méthodes d'analyse utilisées (Wang *et* Zhu, 2019).

### III.3. Caractérisation par chromatographie sur couche mince des polysaccharides

L'hydrolyse de PTAG permis d'obtenir de hydrolysat de couleur transparente.

La CCM est un outil de choix pour l'analyse phytochimique de routine d'extraits hydro solubles des polysaccharides, De ce fait nous avons opté pour cette technique dans le but de caractériser les différents constituants des extraits de (PTAG). Le système de solvants de migration a permis d'avoir une bonne résolution chromatographique et une visibilité des spots révélés sous observation ultraviolette à 450 nm, et par révélation par le Nigrum

Dans le premier système, le suivi d'hydrolyse est représenté sur la (photo 5).

Le profil de CCM montre quatre taches.

Dans le deuxième système, le suivi d'hydrolyse est représenté sur la (photo 6).

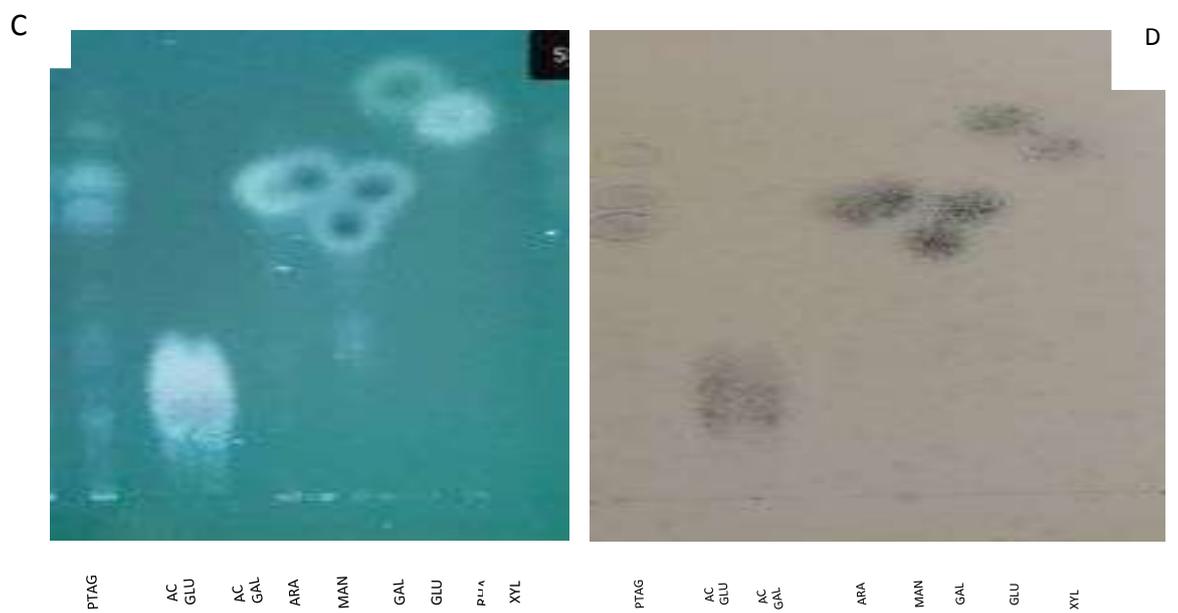
Le profil de CCM montre quatre taches aussi.



A : révélation par UV

B : révélation par Nigrum

**Photo 5:** Chromatogramme du système (I)



C : révélation par UV

D : révélation par Nigrum

**photo 6 :** Chromatogramme du système (II)

D'après les rapports frontaux (Rfs) de l'échantillon et témoins (Tableau 06), il ressort que le D.Glucose la L.Arabinose, le L.Ramnose et la Xylose sont présents dans l'extrait (PTAG). En effet, quatre spots de cet extrait ont donné lieu à des rapports frontaux similaires à ces quatre témoins.

**Tableau 6:** Rapports frontaux des spots issus de la séparation de l'extrait de (PTAG) ainsi que ceux des témoins utilisés.

Extraits / Témoins	Système I	Système II
Extrait PTAG	<b>0,46. 0,5. 0,59. 0,68</b>	<b>0,15. 0,43. 0,65. 0,55</b>
A.glucoronique	0,16	<b>0,15</b>
A.galactoronique	0,22	0,21
L.Arabinose,	<b>0,50</b>	<b>0,47</b>
D. mannose	0,51	0,48
D.Galactose	0,41	0,39
D.Glucose	<b>0,46</b>	<b>0,43</b>
L.Rhamnose	<b>0,68</b>	<b>0,65</b>
D.Xylose	<b>0,59</b>	<b>0,55</b>

L'hydrolyse acide d'extraits polysaccharidiques permet d'observer des taches ayant des différents Rf et différents couleurs marans et grise. On a observé l'apparition de quatre taches pour l'échantillon : De L.Rhamnose Xylose L.Arabinose, D.Glucose.

Ces résultats semblent proches à ceux de l'étude analytique par CPG menée par (Chawana .; 2017) sur l'extrait des polysaccharides hydrosolubles d'*Astragalus gombo* Bunge a permis d'identifier sept composés des monosaccharides : Acide galacturonique (32,7 %), de galactose (14,7 %), d'arabinose (13,8 %), d'acide glucuronique0 (14,9 %), de

rhamnose (10,7 %), de xylose (7,3 %) et de glucose (6,8 %).qui est le rhamnogalactane (Chawana .; 2017).

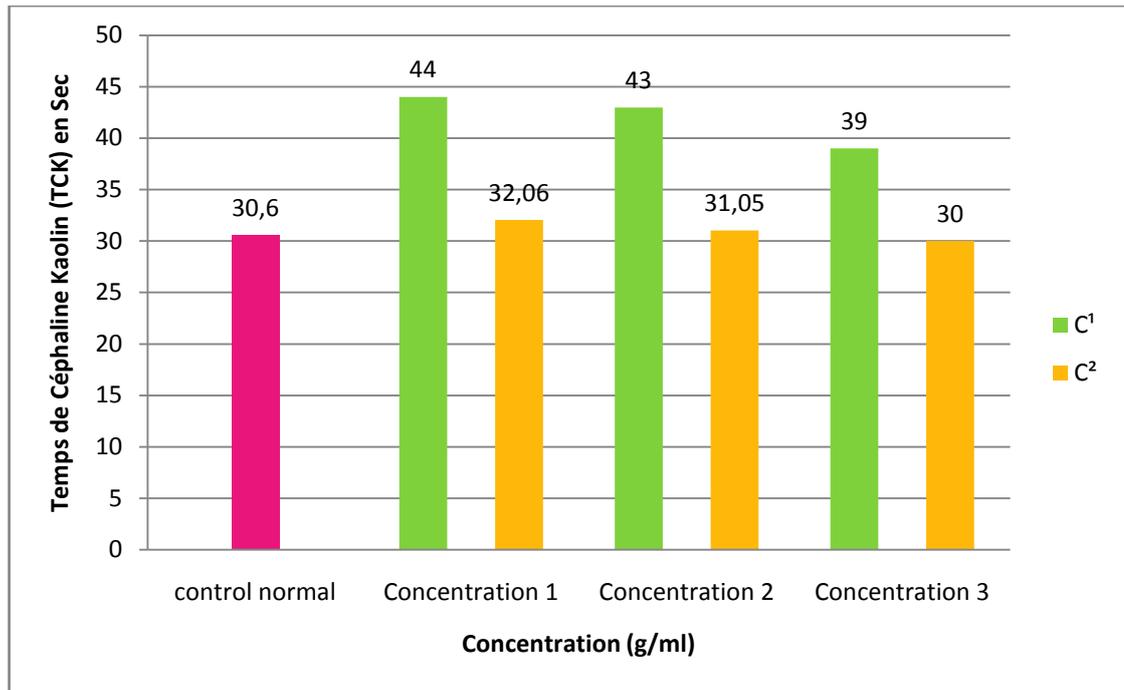
La composition en monosaccharides des extraits PTAG est proche de celle des hémicelluloses. Les hémicelluloses regroupent tous les polysaccharides de la paroi végétale qui ne sont ni cellulosiques, ni pectiques (Chambat *et al.*,1984) .

Toujours ces différences en compositions en ose constitutifs des polysaccharides issus de l'*Astragalus* sont expliqués par leurs source, l'âge des plante à partir de laquelle elle a été obtenu, les conditions climatiques et l'environnement du sol (Alassaf *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 1968; Idris *et al.*, 1998; Islam *et al.*, 1997; Karamalla *et al.*, 1998; Verbeken *et al.*, 2003). Ainsi, Il est souhaitable de suivre l'identification par d'autres techniques d'analyse afin de déterminer la nature et la ration des oses. Et donc de confirmer en plus ces résultats.

#### **III.4.- Activité anticoagulante**

La Figure 11 laisse apparaître que les valeurs enregistrées de TCK d'extrait de PTAG pour différentes concentrations : 0.001% (concentration 1), 0.01% (concentration 2) et 0.1% (concentration 3) ; par rapport au control normal (test sans ajout de polysaccharide).

C<sup>1</sup> : PTAG : 50ul /plasma : 50ul C<sup>2</sup> : PTAG : 10ul / plasma : 90ul



**Figure 7** : TCK (sec) d’extraits de PTAG, pour différentes concentrations par rapport au control normal.

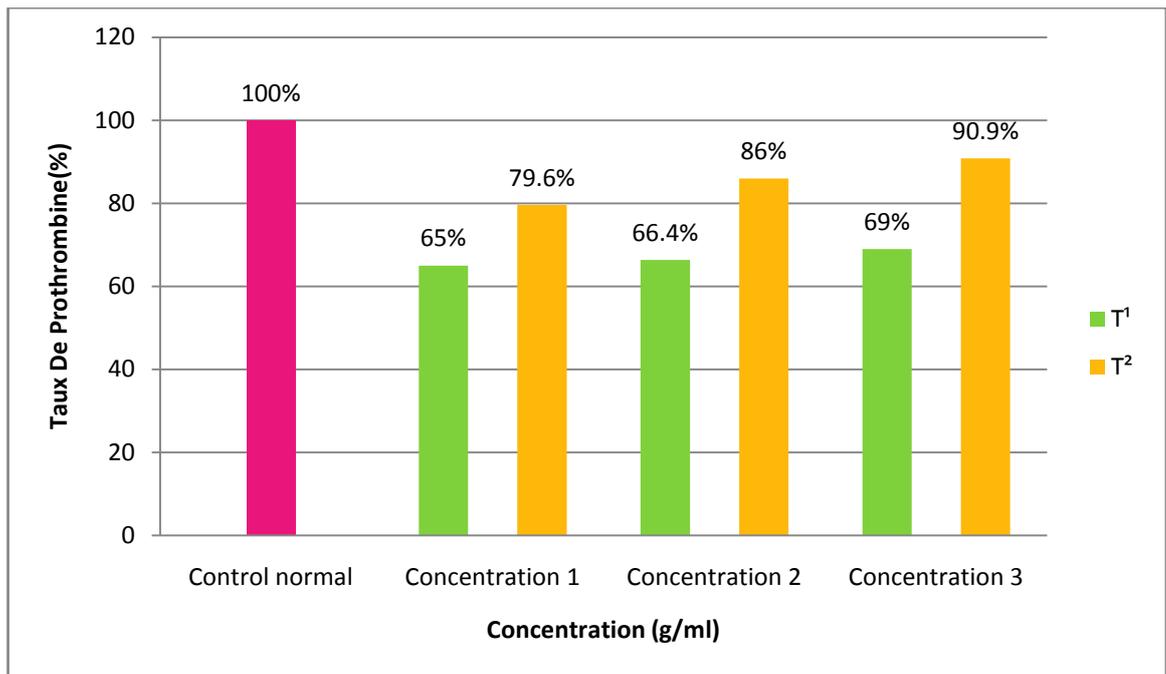
Les résultats de l’activité anticoagulante obtenus (Figure 12) révèlent que les extraits des PTAG possèdent une activité anticoagulante par rapport au control normal en C<sup>1</sup> (C<sup>1</sup> : PTAG : 50ul /plasma : 50ul), le résultat situé entre 09 à 14 secondes par rapport le temps du témoin.

Pour le C<sup>2</sup> (C<sup>2</sup> : PTAG : 10 ul / plasma : 90ul), le résultat situé entre 1 à 2 secondes par rapport le temps du témoin .

Remarqué que les valeurs sont proportionnelles aux volumes de (PTAG) (Figure 12).

Figure 8 montre des valeurs de test (TP) pour différentes concentrations de l’extract de PTAG. Pour le test TP, il est remarqué que les valeurs sont proportionnelles aux concentrations dont les valeurs enregistrées sont 65%, 66,41%, 69%, pour des concentrations de 0,001% ; 0,01% ; 0,1% respectivement pour T<sup>1</sup>. Et le TP pour T<sup>2</sup> il est remarqué que les valeurs sont proportionnelles aux concentrations aussi 79,6% ; 86% ; 90,9% pour des concentrations de 0,001% ; 0,01% ; 0,1% respectivement.

$$T^1 = \text{PTAG} : 25\text{ul}, \text{Plasma} : 25\text{ul} \quad T^2 = \text{PTAG} : 10\text{ul}, \text{Plasma} : 40\text{ul}$$



**Figure 8:** TP (%) d'extraits de PTAG, pour différentes concentrations par rapport au control normal.

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenus (Figure 08) révèlent que les extraits des PTAG possèdent une activité anticoagulante par rapport au control normal en T<sup>1</sup> et T<sup>2</sup> aussi. Ce résultat est similaire au résultat obtenu par (A-Qureshi *et al.*, 2020)

Il est remarqué que l'activité anticoagulante *in vitro* de PTAG prolonge significativement le taux de prothrombine TP, et faible effet sur le temps de céphaline kaolin TCK. L'extrait de PTAG inhibe la voie extrinsèque de la coagulation ; mais possèdent un faible effet sur la voie intrinsèque.

## **Conclusion et perspectives**

## **Conclusion**

L'étude des polysaccharides hydrosolubles des tiges d'*Astragalus gombiformis* Pomel, une plante spontanée de la famille des Fabacées, récoltée dans la région d'Ouled Saïd de Timimoune en 2021, débute par un prétraitement des tiges par l'acétone, puis macéré dans l'eau distillée à 60°C. La précipitation des polysaccharides hydrosolubles se fait par l'éthanol, un lavage par l'acétone, afin d'obtenir un extrait brut PTAG, Le rendement massique de cet extrait est 1,07%.

L'étude de la composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles donne des valeurs 11,5% d'oses totaux.

L'analyse qualitative des oses constitutifs de l'extrait de polysaccharides des tiges d'*Astragalus gombiformis*, se fait par chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant deux systèmes. L'analyse a montré la présence du glucose, d'arabinose, du rhamnose, et de la xylose. L'extrait PTAG est constitué d'une hétérogénéité et d'une diversité en oses constitutifs (pentoses et hexoses).

L'activité anticoagulante par le test TCA (voie endogène), et le test TP (voie exogène) de l'effet des extraits de PTAG de la coagulation a permis d'avoir que l'extrait a un effet anticoagulant sur les deux voies de la coagulation avec un effet plus marqué sur la voie exogène que sur la voie endogène.

## **Perspectives**

Il est souhaitable d'optimiser les conditions d'extraction, à savoir la température, le temps d'extraction, le type et le pourcentage d'alcool-eau ajouté pour augmenter le rendement d'extraction des polysaccharides.

Afin de confirmer les résultats obtenus par CCM, on suggère de faire appel à des techniques plus avancées comme CPG/SM et la HPAEC-PAD pour caractériser précisément les résidus glycosidiques constituant les polysaccharides de cette plante. En plus une analyse structurale par spectrométrie de masse SM et par la résonance magnétique RMN est recommandée pour établir la relation structure fonction entre l'extrait et les activités signalées.

Il est souhaitable de compléter cette étude par d'autres tests afin d'envisager d'autres activités biologiques. Et études de la pharmacocinétique des principes actifs pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.

faire des tests in vivo pour confirmé les teste in vitro de l'activité anticoagulante .

# **Références bibliographiques**

## **Références bibliographiques**

Abid, S., Khajuria, A., Parvaiz, Q., Sidiq, T., Bhatia, A., Singh, S., Ahmad, S., Randhawa, M.K., Satti, N. K., PrahbuDutt, P., (2012). Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, vol.12: 626–634. activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J. Sci*, 33: 63-72.

Addoun, N., Boual, Z., Delattre, C., Ursu, A. V., Des brières, J., Le Cerf, D., Pierre, G. (2019). Structural features and rheological behavior of a water-soluble polysaccharide extracted from the seeds of *Plantago ciliata* Desf. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.106

Alkhatib R. (2010). - Etude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferulalycia* Boiss (Apiacees). *Chemical Sciences*. Université du Droit et de la Santé - Lille II, France 233p. - Hammiche V.,

analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*. Vol.14(4):213–219.

Athukorala Y., Jung W. K., Vasanthan T., et Jean Y. J., (2006). An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of *Ecklonia cava*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 66: 184–191.

Autran J. C., (1991). *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Ed. Tec et Doc, Paris: 115-137.

Bactérie associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*. Thèse Magister

BAZIZ k., (2016). Organisation du génome et étude palynologique de quelques espèces algériennes du genre *Astragalus*. L. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biologie et Ecologie Végétale. UNIVERSITE CONSTANTINE 1 THESE DOCTORAT EN SCIENCES Option: Biotechnologies végétales.

BEN ABDALLAH R., D. FRIKHA., MAALEJ2 ET S., SASSI (2019). évaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro évaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae article.

Ben Moussa MT, Khaled K., Hassina H., Samia L., Yousef H Batna (2020). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Brocchia cinerea* VIS.

d'Algérie Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Brocchia cinerea* VIS. from Algeria 7(2):122-8 128

BENAOUN F., (2017). Caractérisation Structurale et Potentiel Biologique des Polysaccharides issus de *Plantago notata* Lagasca (Plantaginaceae). Thèse DOCTEUR D'UNIVERSITE. Université Kasdi-Merbah (Ouargla)  
Pour l'obtention du grade de

Benchaita Hadjer.,(2014). Etude de l'activité biologique des extraits polysaccharidiques issus l'*Astragalus gombo* récoltée au Sahara septentrional Est algérien. En Vue De L'obtention Du Diplôme D'ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques.université kasdi merbah Wargla.

Beni Bassia., (2017) microbiote ruminal d'ovins. Mémoire de magister en biochimie et Microbiologie appliquées.UniversitéMentouri Constantine faculté des sciences (gps: 32.0149, -3.1481)

Benjamin P., (2016). Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis* universite blaise pascal. *thèse* présentée à l'université d'antsiranana pour l'obtention du grade de docteur d'universite

Blumenkrantz N., et Asboe-Hansen G., (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical biochemistry*, vol. 54: 484 - 489.

Boual Z., Pierre G., Delattre C., Benaoun F., Petit E., Gardarin C., Michaud P., Ould Elhadj M. D., (2015).- Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrate and Dietary Fibre*, vol.5:10-18. Yan H., Zhu D., Xu D., Wu J., Bian X., (2008).- A study on *Cordycepsmilitaris* polysaccharide purification, composition and activity analysis. *African Journal of Biotechnology*, vol: 7: 4004-4009.

Boual, Z., Pierre, G., Delattre, C., Benaoun, F., Petit, E., Gardarin, C., ... & El Hadj, M. D. O. (2015). Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 10-18.

Boual, Z., Pierre, G., Delattre, C., Benaoun, F., Petit, E., Gardarin, C., ... & El Hadj, M. D. O. (2015). Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 10-18.

Bouazza M., Mahboubi A., Loisel R., Benabadji N., (2001). Bilan de la flore de la région de Tlemcen (Oranie-Algérie). *Foret méditerranéenne* T.XXII, vol.2: 130-136.

BOUGANDOURA A . , recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de trois espèces algériennes. universite freres mentouri Constantine 1 .faculté des sciences exactes département de chimies. thèse doctorat troisième cycle (lmd) spécialité: chimie pharmaceutique option : analyse physico-chimique, contrôle de la qualité et synthèse de substances bioactives.

Bradford M.M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding *Analytical biochemistry* vol.72: 248-254.

Cesarman- Maus, G., & Hajjar, K. A. (2005). Molecular mechanisms of fibrinolysis. *British journal of haematology*, 129(3), 307-321.

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

Chen R., Li H., Li S., Jin C., et Lu J.,( 2015). Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 72: 185–194.

Chen Z. G., Zhang D. N., Zhu Q., Yang Q. H., Han Y. B., (2014). Purification, preliminary characterization and in vitro immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, vol.106: 217–222.  
- Ibanez M. C. et Ferrero C., 2003.- Extraction and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa*DC seeds. *Food Research International*, vol. 36: 455 – 460.

Chena M. L., Wu S., Tsai T. C., Wang L. K., Tsai F. M., (2014). Regulation of neutrophil phagocytosis of *Escherichia coli* by antipsychotic drug. *International Immunopharmacology*, vol. 23: 550–557.

Chidouh A., Aouadi S., Heyraud A., (2014). Extraction, fractionation and characterization of water-soluble polysaccharide fractions from myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit. *Food Hydrocolloids*, vol.35: 733-739.

Chouana, T. (2017). *Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Clermont Auvergne). université KasdiMerbah, Ouargla,.

Chouana, T. (2017). *Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Clermont Auvergne).

CHRISTIAN N. , (2011) .faculté de pharmacie les interactions entre les antithrombotique et les plantes médicinales. t h e s e .université henri Poincaré – nancy.

Czuprynski, C. J., Noel, E. J., et Adlam, C., (1991). Interaction of bovine alveolar macrophages with *Pasteurella haemolytica* A1 in vitro: modulation by purified capsular polysaccharide. *Veterinary microbiology*, vol. 26: 349-358.

De Catarina R. Husted S. Walentin L. Andreotti F. Arnesen H. Bachman F. Baigent C. Hubert K. Jespersen J. Kristensen SD. Goy HL. Morais J. Rasmussen LH. Siegbahn A. Verheugt FWA. Weitz JI. (2012). General Mechanism of coagulation and targets of anticoagulant. *ThrombHaemos* , pp 569-579.

de l'environnement N°19. Disponible sur: <http://www7.inra.fr/dpenv/sribad19.htm> (consulté

Delattre, C. (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes (Doctoral dissertation, Amiens)

désertiques méridionales. Ed. CNRS Paris. vol. 1 et 2:1170 p.

Doat, J. (1974). Application de la chromatographie sur couche mince à l'analyse des gommes et des bois tropicaux. *Revue Bois et Forêts Tropiques*, 156: 63-74.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. D., Rebers P. A., Smith F., (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chern.*, vol. 28: 350-356.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

EDDOUKS M., AJEBLI M et HEBI M., (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of Ethno pharmacology*, vol.198, 516-530.

ESPINOZA L. C., SILVA-ABREU M., CALPENA A. C., RODRÍGUEZ-LAGUNAS M.J., FÁBREGA M.-J., GARDUÑO-RAMÍREZ M. L & CLARES B., (2019). Nanoemulsion strategy of pioglitazone for the treatment of skin inflammatory diseases. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*

Extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1: 98-106.

FARAH H., KHADIDJ Z ., ADEL SIDI Y ., TARIK M C., (2016) . Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*helichrysum stoechas* subsp. évaluation of antimicrobial

activity of different extracts of helichrysum stoechas subsp. rupestre bulletin de la société royale des sciences de liège, vol. 85, 2016, p. 152 – 159 .152. rupestre manuscrit.

Farnsworth, N. R., O. Akerele, A. S. Bingel, D. D. Soejarto, and Z.-G. Guo. (1985). Medicinal plants in therapy. Bull. WHO 63:965–981. [PMC free article] [PubMed]

futur, 293- 318

General Subjects, Toutain G.,(1979). Eléments d'agronomie saharienne (de la recherche au développement), Paris, Ann. agro. saha. p 279.

Génomique et Techniques Avancées des Végétaux, université Mentouri ,Constantine ,11p.

Ghebregzabeier M., Rufini S., Monaldi B. Lato M., (1976). Thin,Layer chromatography of carbohydrates. Journal of Chromatography, vol.127: 133-162.

Goldhirsh A., (1997). Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant

Harif M. (2007). Hémotase de la physiologie à la pathologie.Editeur Mohamed Harif, p229

Harun N. H., Septama A. W., et 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(1): 48-53.

herbs in Israel,the Golan Heights and the West Bank region. Journal of Ethno pharmacology

HOECOU Y., (2013). , evaluation del'activiteantimicrobiennede momordica charantia (cucurbitaceae), psidium guajava (myrtaceae) et pteleopsissube....

Article *in* European Scientific Journal · December

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Recherche de nouvelles molécules bioactives dans la lutte contre les maladies tropicales négligées contribution to the improvement of Buruli ulcer management. Université de Lomé

HOLALY G.E., SIMPLICE K.D., CHARLEMAGNE G., KODJOVI A., KOKOU A., TCHADJOBOT., AMEGNONA A., KOMLAN B et JACQUES S., (2017). Etude et hnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la médecine traditionnelle de la région Maritime du Togo. Pan African Medical Journal, vol.12 :1- 16.

Holderness, J., Schepetkin, I. A., Freedman, B., Kirpotina, L. N., Quinn, M. T., Hedges, J. F.,

inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. *Journal of Ethnopharmacology*.vol 234 :27-35.

Jalali, H. T., Ebrahimianb, Z. J., Evtuguinb, D. V., Neto C. P., (2011). Chemical composition of oleo-gum-resin from *Ferulagummosa*.*Industrial Crops and Products*, vol.33: 549–553.

JIA X., LIANG Y., ZHANG C., WANG K., TU Y., CHEN M., HE C. (2018).

Jutila, M. A. (2011). Polysaccharides isolated from Acai fruit induce innate immune responses. *PloS one*, 6(2).

KEMASSI A., DAREM S., CHERIF R., BOUAL Z., SADINE S.E., AGGOUNE M.S., OULD EL HADJ-KHELIL A et OULD ELHADJ M.D., (2014).- Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M’Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, vol.1(1) :1-5.297.66283 : 251-265.

KEMASSI A., DAREM S., CHERIF R., BOUAL Z., SADINE S.E., AGGOUNE M.S., OULD EL HADJ-KHELIL A et OULD ELHADJ M.D., (2014).-Recherché et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M’Zab (Sahara septentrional Est. Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, vol.1(1) :1-5.

KUMAR V.,(2019). Inflammation research sails through the sea of immunology to reach immunometabolism. *International Immunopharmacology*, vol. 73: 128–145

L’environnement. Ed. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 749 p.

LABED A., KHERRAB E. , (2016) . Investigation phytochimique et biologique de l’espèce *Astragalus armatus* ssp.numidicus (Coss. Et Dur.) Maire.et Synthèse catalytique de nouveaux dérivés julolidines. Niversite des frères mentouri-Constantine. Faculté des sciences exactes département de chimie.

Lai, F., Q. Wen, L. Li, H. Wu, and X. Li. (2010). Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted frommung bean (*Vignaradiata* L.) hull with ultrasonic assisted treatment. *Carbohydr. Polym.* 8:323–329.

l’*Astragalus gombo*(Bunge) (2014)..Mémoire Lavoisier Tec et Doc, Paris, 546 p.

- Le kmine S.,(2018). L'effet des saponines extraites d'une plante fourragère *Astragalus gombiformis* sur les protozoaires ruminal. Mémoire de Master, université L'Arbi Ben Mhidi, Oum El Boughi,54p.
- Lecheb, F. (2010). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes: essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin (Doctoral dissertation).
- Lei H., Wang B., Li W.P.,Yang Y., Zhou A.W., M.Z.(2003). *Acta Pharmacol. Sin*24 : 230-234p
- Lhotse J., Grison P. 1989.La phytopharmacie française.Ed, INRA,Paris, 279p.
- LI Z., HE X., LIU F., WANG J & FENG J., (2018) A review of polysaccharides from *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera* : Properties, functions and applications. *Carbohydrate Polymers*. Vol.184:178–190
- Liston A., Wheeler J.A. (1994). The phylogenetic position of the genus *Astragalus* (Fabaceae): Evidence from the chloroplast genes *rpoC1* and *rpoC2*. *Biochemical Systematics and Ecology*22: 377-388
- MARISA F.M et DAVID L.B., (2015). Evaluation of the Effects and Mechanisms of Bioactive Components Present in Hypoglycemic Plants. *International Journal of Chemical and Bimolecular Science*, vol.1: 167-178.
- MARISA F.M et DAVID L.B.,( 2015). Evaluation of the Effects and Mechanisms of Bioactive Components Present in Hypoglycemic Plants. *International Journal of Chemical and Bimolecular Science*, vol.1: 167-178.
- Mehaoua M.S ., Bensalah M.K., Rafarafi T., Kebechi H.,Nadji T., Ouakid M.L.(2009).Etude de quelques aspects bioécologiques de la pyrale des dattes *Ectomyeloisceratoniae* Zeller,1839 (lepidotera, pyralidae) et essai de lutte biologique par le spinosad dans les conditions contrôlées, *communi. Ourgla*,21p.
- MEHELLOU Z.,(2015). Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien. Thèse de Magister, Université Kasdi Merbah d'Ouargla, 170p.
- Mehllou Z., (2016). Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien.Thèse de Magister, université Kasdi Merbah, Ouargla, 170p.
- Merad R., Azzouz M., (2013).- Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen *Collection Phytothérapie pratique*: 123-127.
- Merbah,Ouargla.
- Mohammad zadeh M, J. M., Emam-Djomeh, Z., Safari M., Mousavi; M., Ganbarzadeh, B., Philips Glyn, O., (2007). *Physicochemical and Emulsifying Properties of Barijeh*

(Ferulagumosa) Gum. Iran. J. Chem. Chem. Eng, vol. 26 (3): 81-88.

Monsigny M., Petit C., et Roche A.C., (1988) Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. Analytical biochemistry, vol. 175: 525-530.

Monsigny, M., Petit, C., & Roche, A. C. (1988). Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acid micromethod. Analytical biochemistry, 175(2), 525-530.

Naseri-Nosar, M., & Ziora, Z. M. (2018). Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. Carbohydrate polymers, 189, 379-398.

Nationale supérieure agronomique, El-Harrach Alger, 91p.

Negre R. 1961. Petite flore des régions aride du Maroc occidental tome (1). Ed C.N.R.S, Paris,

Norouzi A., Talebi A., Fathipour A.Y. (2008). Development and demographic parameters of

Nose M., Terawaki, K., and Ogihara, Y., (1997). The role of a crude polysaccharide fraction in the macrophage activation by Shosaikoto. Phytomedicine, vol. 4 (1):23-26.

of flavonoids. Phytochem, 67: 2058-2070.

ONDUA M., NJOYA E. M., ABDALLA, M. A. and MCGAW L. J. ,2018- Anti inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. Journal of Ethnopharmacology.vol 234 :27-35.

Ozenda P. 1991.flore et végétation du Sahara. Ed, CNRS (3éme édition augmentée), Paris,

Ozenda P., (1977). - Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, 15, quai Anatole-France, Paris: 360-361.

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

Paulsen B. S., Olafsdottir E. S., et Ingolfs dottir K., (2002). Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. Journal of chromatography, vol. 967: 163-171.

Pench L. (2015). Peut-on prendre le risque hémorragique par le biais d'un interrogatoire médical ?thèse de doctorat en chirurgie dentaire, Université Toulouse III, Faculté de chirurgie dentaire, p 111.

Persin, Z., Stana-Kleinschek, K., Foster, T. J., van Dam, J. E., Boeriu, C. G., & 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*, 84(1), 22-32.

*Pharmacol*, 33: 2-16.

Phénoliques de l'Atriplexhalimus L et de l'Haloxylonsco parium pomel du Sahara

Phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticulture*16: 144-158

Photochemical analysis of some important medicinal and aromatic plants. *Adv. Biol. Res* 3:

Physicochemical property of the different polysaccharide fractions purified from *Angelica sinensis*. *Carbohydrate Polymers*, vol. 71: 372-379.

PICKING D.,( 2017).- The Global Regulatory Framework for Medicinal Plants. *Current Trends in Pharmacognosy Research*, vol.35:663-675.

Pierce TB. Maruf MBA. Razzuk LA. Hoover SJ. (1999). A comprehensive review of the physiology of hemostasis and antithrombotic agents. *BUMC*, pp 3949.

Pimenov M. G., et Leonov M. V., (2004).- The Asian Apiaceae biodiversity database (ASIUM) with particular reference to south-west Asian taxa *Turk. J. Bot.*, vol. 28:139-145.

Plantes médicinales du Sud Ouest Algérien sur la cristallisation lithiasique oxalocalcique.

plateau. *P. J. S. I*, 12(2): 80-86.

Plaziat-Decoucel A. (2009). Les anticoagulants. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Henry Poincare – Nancy 1, Faculté de pharmacie, P 123.

Polysaccharide PRM3 from *Rhynchosia minima* root enhances immune function throughTLR4-NF-κB pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol.1862 (8): 1751–1759.

Polysaccharide PRM3 from *Rhynchosia minima* root enhances immune functionthrough

POMPERMAIER L., MARZOCCO S., ADESSO S., MONIZI M., SCHWAIGER S., NEINHUIS C., ... LAUTENSCHLÄGER T. (2018). Medicinal plants of northern Angola and their anti-inflammatory properties. *Journal of Ethnopharmacology*.vol.216, 26–36

Popov, S. V., Popova, C. Y., Ovodova, R. G., Bushneva O. A., Ovodov, Y. S., (1999). Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. *International Journal of Immunopharmacology*, vol. 21: 617-624..

products. *International Journal of Pharmacognosy* 35(4): 265- 273.

Purification, and characterization of novel polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves and their immunostimulatory effects. *International Journal of Biological Macromolecules*.vol 128 :546-555.

purification, characterization and immune stimulatory activity of polysaccharides derived from American ginseng. *Carbohydrate Polymers*, vol. 156: 9–18

Quézel P., Santa S. (1962-1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques

Quézel, P., & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

QURESHI, A., BILAL, R., & AHMAD, B. In-vitro anticoagulant activity of threeextracts of *Astragalus sarcocolla*.

Rahmani M.( 2016). Activité biologique des extraits foliaires de *cleome arabica*

Regnault-Roger C., Philogene B., Vincent C. (2008). *Biopesticides d'origine végétale*. Ed.

Ribéreau-Gayon P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod, Paris, 254.

Rira m ., (2006). Effet des poly phénols et des tanins sur l'activité métabolique

Rosicka-Kaczmarek, J., Komisarczyk, A., &Nebesny, E. (2018). Heteropolysaccharide preparations from rye and wheat bran as sources of antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 81, 37-43.

ROUBA I., (2012)., activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols des graines de *Nigella sativa* L. universite ferhat abbas-setiffaculte des sciences de la nature et de la vie departement de biochimie. magister

EN BIOCHIMIE

Bouzidi M, A., Latrèche A., Attaoui I., Mehdadi Z.,

Benyahia M., Bouguenaya N et Meliani .,(2010), H LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE - Volume 5, N°1923

Caractérisation et valorisation des polysaccharides pariétaux d'*Urginea*

pancration (Steinh) Phil. de Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien) Article original

Roux D., Catier O. (2007). *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. 3ème éd.,Wolters.

Roy, P., S. Amdekar, A. Kumar, and V. Singh. (2011). Preliminary study of the antioxidant properties of flowers and roots of *Pyrostegi avenusta* (Ker Gawl) Miers. *BMC Complementar. Alter. Medic.* 11:69.

Rudy Covis, (2011).synthèse de polysaccharides amphides à partir de dextrane applique a la stabulation d'émulsion directes et invers. ,thèse doctorat Génie procédés et production p19 32

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

SALEHIZADEH H., YAN N., FARNOOD, R. (2018). Recent advances in polysaccharide bio-based flocculants. *Biotechnology Advances*, vol.36 (1):92–119.

Scherson, R. A., Vidal, R., & Sanderson, M. J. (2008). Phylogeny, biogeography, and rates of diversification of New World *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on South American radiations. *American Journal of Botany*, 95(8), 1030-1039.

SCHLIENGER J.L., (2014). Diabète et phytothérapie: les faits. *Médecine des Maladies Métaboliques*, vol.8(1) :101-106.

Semmar N., Fenet B., Gluchoff-FiassonK., Comte G., Jay M.(2002).Chem. Pharm. Bull 50 : septentrional. *Annales des Sciences et Technologie*, Vol 7, N° 1.

SORNSIRI J, SRISOOK K, PORNGAM P, SOOTANAN P. (2018) Prediction of biochemical mechanism of anti-inflammation explained from two marine-derived bioactive compounds. *Agriculture and Natural Resources*,vol. 52 : 588-595

Steven M. M., Lennie S. E., Sturrock R. D., Gemmell C. G.,( 1984). Enhanced bacterial phagocytosis by peripheral blood monocytes in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, vol. 43: 435-439.

Tabarsa, M., You, S., Dabaghian, E. H., &Surayot, U. (2018). Water-soluble polysaccharides from *Ulva intestinalis* : Molecular properties, structural elucidation and immunomodulatory activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 599–608. doi:10.1016/j.jfda.2017.07.016

Teyeb H., Olfa H., Wahiba D., Mohamed N.(2012). Composition chimique et activité

THAKUR M., WENG A., FUCH H., SHARMA V., BHARGAVA C.S., CHAUHAN N. S., DIXIT V. K et BHARGAVA S., (2012). Rasayana properties of Ayurvedic herbs: Are polysaccharides a major contributor. *Carbohydrate Polymers*, vol. 87:13– 15.

Ticar B. F., Rohmah Z., Ambut C. V., Choi Y. J., Mussatto B. D. C., (2015).- Enzyme-assisted extraction of anticoagulant polysaccharide from *Liparistessellatus* eggs. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 74: 601–607.

Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., Kaur H.( 2011). Phytochemical screening and TLR4-NF-B pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*.

Wang M., Jiang C., Ma L., Zhang Z., Cao L., Liu J., Zeng X., (2013).-Preparation, preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharide fractions from the peduncles of *Hoveni dulcis*. *Food Chemistry*, vol.138 (1): 41–47.

Wang X., Zhang Z., Yao Z., Zhao M., Qi H., (2013). Sulfation, anticoagulant and antioxidant activities of polysaccharide from green algae *Enteromorpha linza*. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol.58: 225-230.

Wang, Z., Lu, C., Wu, C., Xu, M., Kou, X., Kong, D., & Jing, G. (2014). Polysaccharide of *Boschniakia rossica* induces apoptosis on laryngeal carcinoma Hep2 cells. *Gene*, 536(1), 203–206. doi:10.1016/j.gene.2013.11.090

Warrand, J. (2004). Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum Usitatissimum* L.) (Doctoral dissertation, Amiens).

Wertheimer, M.(1958). Un des principaux parasites du palmier dattier algérien. le Myelois décolore Fruits. 13 (8):109-123.

WIJESEKARA I., PANGESTUTI R et KIM S-K., 2011.- Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*, vol.84: 14-21.

Xuenong X. (2004). Control of spider mites. Combined releases of predators for biological.

Yang L, Zhang L.M., (2009).Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*. vol.(76): 349–361.

YANG, X ZHAI, X., ZHU, C., ZHANG., Y., SUN J and ALIM A., (2018) .Chemical characteristics, antioxidant capacities and hepatoprotection of polysaccharides from pomegranate peel. *Carbohydrate Polymers*. vol 202 :461-469

YANG, X., ZHAO, Y., LV Y., (2008). In vivo macrophage activation.

YARO, B., GNOULA C and GUISSOU I. P.,( 2016). Activités anti-inflammatoire.

YAYA H.S et KENGNE A.P., (2014). Le défi de la prévention des maladies cardiovasculaires et ses perspectives en Afrique. *Presses de l'Université Laval*, vol.13 :23-31.

YEHY, A.H., ASIF, M., TAN, Y.J., SASIDHARANA, S., ABDUL MAJID, A.M.S., EINOON, C., (2016).Broad spectrum targeting of tumor vasculature by medicinal plants. An updated review. *Journal of Herbal Medicine*, vol.3:27-34.

YOUGBARÉ-ZIÉBROU M. N., OUÉDRAOGO N., LOMPO M., BATIONO H.,

Young-Ran, S., Han, A. R., Lim, T. G., Lee, E. J and Hong, H.D., (2018) Isolation.

- YU, X. H., LIU, Y., W.U., X.L., LIU, L.Z., F.U., W., and SONG D,D., (2017). Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides derived from American ginseng. *Carbohydrate Polymers*. vol. 156: 9–18.
- YUe, Y., SHEN, M., SONG, Q., XIE, J. (2018). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources. A review. *Carbohydrate Polymers*, vol.183: 91–101.
- ZAHN, R., PERRY, N., PERRY, E., MUKAETOVA-LADINSKA E. B. (2019).Use of herbal medicines. Pilot survey of Northern England (UK) user views.*Complementary Therapies in Medicine*: 1-58
- Zarre, S., &Azani, N. (2013). Perspectives in taxonomy and phylogeny of the genus *Astragalus* (Fabaceae). a review. *Progress in biological sciences* p 3(1), 1-6.
- ZHANG L., REDDY N et KOYYALAMUDI S.R., (2014). Isolation, Characterization, and Biological Activities of Polysaccharides from Medicinal Plants and Mushrooms. *Studies in Natural Products Chemistry*, vol.42: 117-151.
- Zhang Y., Zhang J., Mo X., Lu X., Zhang Y. and Qin L., (2010).-Modification, characterization and structure–anticoagulant activity relationships of persimmon polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, vol. 82: 515–520.
- Zououeche F. Z.(2012). Comportement de la pyrale des dattes. *Ectomyeloisceratoniae* Zeller.

## Résumé

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'activité anticoagulante de polysaccharides hydrosolubles issus des extraits d'une plante à caractère médicinal dont l'*Astragalus gombiformis pomel*, récoltée dans la région Ouled Saïd de Timimoune en 2021, située au Sahara du Sud Algérien, sont obtenus par extraction à l'eau distillée, puis leur précipitation est faite par l'éthanol. Le rendement des extraits de polysaccharides hydrosolubles est de 1,07%. L'étude de la composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles a donné de valeur suivante : oses totaux 11,5%. Laisse apparaître après analyse par chromatographie sur couche mince (CCM), du glucose, d'arabinose, du rhamnose, et du xylose. Une activité anticoagulante a permis d'asseoir que l'extrait exerce un effet anticoagulant a été observée surtout avec le test TP qu'avec le test TCK

Mots clés: Activité anticoagulante, *Astragalus gombiformis*, TCK, TP, Polysaccharides.

## Abstract

The objective of this work is to evaluate the anticoagulant activity of water-soluble polysaccharides derived from extracts of a medicinal plant including *Astragalus gombiformis pommel*, collected in the Ouled said region of Timimoune in 2021, located in the Sahara of South Algeria, are obtained by extraction with distilled water, then their precipitation is made by ethanol. The yield of the water-soluble polysaccharide extracts is 1,07%. The study of the composition of the crude extract of water-soluble polysaccharides gave the following value of total oses 11,5%. Show after analysis by thin layer chromatography (TLC), glucose, arabinose, rhamnose, and xylose. Anticoagulant activity found that the extract exerted an anticoagulant effect was observed especially with the TP test than with the TCK test.

Keywords : Anticoagulant activity, *Astragalus gombiformis*, TCK, TP, Polysaccharides.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للتخثر للسكريات القابلة للذوبان في الماء المشتقة من

مستخلص النبات طبي، *Astragalus gombiformis Pomel*،

التي حصدت منطقة أولاد سعيد بولاية تيميمون الواقعة في الصحراء جنوب الجزائر عام 2021، تم الحصول على مستخلص متعدد السكريات عن طريق الاستخراج بالماء المقطر، ثم الترسيب بواسطة الإيثانول. العائد من مستخلص متعدد السكريات الكاملة القابلة للذوبان في الماء هو 1,07%، كما أعطت دراسة تركيبية للمستخلص الخام للسكريات الكاملة الذائبة في الماء الكميات الإجمالية 11,5%، تظهر التحليل بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وجود الجلوكوز و الأرابينوز و الرامنوز و الكزيلوز. و وجد النشاط المضاد للتخثر أن المستخلص له تأثير خاصة على

اختبار TP مقارنة مع اختبار TCK