



République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Kasdi Merbah-Ouargla

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Année universitaire : 2022 /2023

N° d'enregistrement :

/...../...../...../...../



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème cycle

Spécialité: Analyses Biochimiques

Présentée Par :

TEDJANI Aicha

Caractérisation structurale et activité biologique des extraits polysaccharidiques issus de deux plantes spontanées du genre *Astragalus* récoltées dans la région du Sahara Septentrional Est-Algérien

Soutenue publiquement le : 10/03/2024

Devant le jury

Président	OULD EL HADJ Mohamed Didi	Pr. Univ. Ouargla
Directeur de thèse	BOUAL Zakaria	Pr. Univ. Ouargla
Examineur	TLILI Mohamed Laid	MCA Univ. El-Oued
Examinatrice	KADRI Mounira	MCA Univ. El-Oued
Examineur	CHOUANA Toufik	MCA Univ. Ouargla

Dédicace

A mes chers parents

A mes frères et soeurs

À tous mes amis

A tous ceux qui me sont chers

Remerciements

Je rende grâce à Allah le Tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.

Mes vifs et sincères remerciements s'adresse à mon Directeur de thèse, Pr. BOUAL Zakaria, Professeur à l'Université Kasdi Merbah Ouargla-Algérie de m'avoir guidé et encadré au long des années de cette thèse, qu'elle étant le fruit de leur encouragement, leur disponibilité, leur esprit scientifique et leur soutien moral.

Je tiens à remercier le Professeur OULD EL HADJ Mohamed Didi pour m'avoir accueillie dans le laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides, Ouargla (Algérie).

A Monsieur le Professeur OULD EL HADJ Mohamed Didi à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, pour l'honneur qui me fait l'honneur d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

A Mr le Dr. CHOUANA Toufik, Dr. TLILI Mohamed Laid et Dr.KADRI Mounira votre présence pour examiner et juger ce travail est un honneur.

Je n'oublie pas de remercier le chef du laboratoire VTRS au Département des Sciences et Technologie à l'Université El chahid Hamma Lekhder, El-Oued (Algérie) : le Pr. LANEZ Touhami, et également les ingénieurs Mr. TLIBA Ali et Mr. NANI Sadok.

Et tous les membres du laboratoire VTRS : Dr. ZEGHEB Nadjiba, Pr. REBIAI Abdelkirim, Dr. ADAIKA Aicha, Dr. MOUADA Hanane, Dr. GUEDIRI Imane et Dr. CHELLALBA Imane.

Je remercie mes collègue et amies pour leurs soutien et plus précisément : RIGHI Nouhad Amina, BEN YAHKEM Meriem, HADRI Nassima, YOUMBAI Souhir, Dr.GHERAISSA Noura, Dr. LAIB Ibtissem et Dr. YOUMBAI Asma.

J'exprime aussi mon remerciements à Dr. BELLAOUEUR Ibtissem et Dr. RAHMANI Youssef de la laboratoire CRAPC-Ouargla (Algérie) et Dr. TELLI Alia Dr. à l'université de Kasdi merbah Ouargla-Algérie.

Je n'oublie pas le laboratoire d'analyse médicle de Khlif, El-Oued (Algérie).et surtout la laborantine HEZLA Sara.

Mes remerciements vont également aux l'herboriste NOUBLI Abdeldjabar et le chef du district forestier à Taleb Larbi : BOUKELBA Moncef pour les informations précieuses.

A tout le personnel administratif et technique de la faculté de la nature et de la vie

Surtout SOLTANE Abdelhak, Dr. CHEMSA Ahmed Elkhalfa et Dr. KHELEF Yahia de l'Université d'El-Oued et A tout le personnel administratif et technique de la faculté de Sciences et technologie et la faculté de science exacte, El-Oued (Algérie).

J'exprime ma profonde gratitude à le Professeur Philippe MICHAUD, Professeur à l'Université Blaise Pascal- Clermont Ferrand (France), pour les analyses GC/MS-EI.

A tous ma famille. Merci pour votre soutien et vos encouragements, à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce travail. Trouvent ici mon sentiment de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Très cordialement.

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction Générale	01
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Astragales	05
I.1. Diversité de la flore du Sahara septentrional Algérien	05
I.2. Famille des <i>Fabaceae</i>	06
I.2.1. <i>Astragalus</i>	07
I.2.1.1. Description	07
I.2.1.2. Distribution	08
I.2.1.3. Caractères morphologiques	08
I.2.1.4. Composition chimique des Astragales	09
I.2.1.4.1. Alcaloïdes indolizidines	09
I.2.1.4.2. Composés nitro	09
I.2.1.4.3. Dérivés du selenium	10
I.2.1.4.4. Saponines	10
I.2.1.4.5. Composés phénoliques	11
I.2.1.4.5. Polysaccharides	12
I.2.1.5. <i>Astragalus cruciatus</i> Link.	16
I.2.1.5.1. Description	16
I.2.1.5.2. Utilisation	16
I.2.1.5.3. Répartition et Habitat	16
I.2.1.5.4. Position systématique	17
I.2.1.6. <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	18
I.2.1.6.1. Description	18
I.2.1.6.2. Utilisation	18
I.2.1.6.3. Répartition et Habitat	19
I.2.1.6.4. Position systématique	19
Chapitre II : Mucilages	20
II.1. Nature chimique des mucilages	20
II.2. Anatomie des graines	21
II.3. Polysaccharides de réserves dans les plantes supérieures	22
II.4. Généralités sur les polysaccharides	24
II.4.1. Pectines	25
II.4.1.1. Généralités sur les pectines	25
II.4.1.2. Structure moléculaire des pectines	26
II.4.2. Galactomannanes	27
II.4.2.1. Généralités sur les galactomannanes	27
II.4.2.2. Structure moléculaire des galactomannanes	28
II.4.2.3. Les principales sources des galactomannanes	29
II.4.2.4. Répartition des unités des galactoses sur les chaînes des mannanes	32
II.4.2.5. Conformation des galactomannanes	32
II.4.2.6. Propriétés physico-chimique des galactomannanes	33
II.4.2.6.1. Solubilité	33

II.4.2.6.2. Stabilité	34
II.4.2.6.3. Viscosités	34
II.4.2.6.4. Interaction avec d'autres polysaccharides	35
II.4.2.7. Stabilité et dégradation des galactomannanes	35
II.4.2.8. Fonctions biologiques des galactomannanes	36
II.4.2.9. Biosynthèse des galactomannanes	36
II.4.2.10. Mobilisation des galactomannanes	38
II.4.2.12. Activités biologiques des galactomannanes	40
II.4.2.12.1. Activité immunomodulatrice	40
II.4.2.12.2. Activité antihyperglycémiant	41
II.4.2.12.3. Effet sur l'hypercholestérolémie et les maladies cardiovasculaires	42
II.4.2.12.4. Activité antioxydant	43
II.4.2.13. Applications des galactomannanes	44
II.4.2.13.1. Utilisation industrielle des galactomannanes	44
II.4.2.13.2. Utilisation alimentaire des galactomannanes	44
II.4.2.13.3. Utilisation pharmaceutique des galactomannanes	45

Dixième partie : Partie expérimental

Chapitre III : Matériels et méthodes	48
III.1. Enquête ethnobotanique	48
III.2. Fiche d'enquête	48
III.3. Représentation de la région d'étude	48
III.4. Récolte des plantes	50
III.5. Identification des plantes	50
III.6. Technique de séchage des graines	50
III.7. Extraction des polysaccharides hydrosolubles	52
III.8. Composition des deux extraits polysaccharidiques	54
III.8.1. Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois	54
III.8.2. Dosage des oses neutres	55
III.8.3. Dosage d'acides uroniques	56
III.8.4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford	57
III.8.5. Dosage des composés phénoliques totaux	58
III.9. Caractérisation structurale	59
III.9.1. Analyse UV-Vis des deux extraits polysaccharidiques	59
III.9.2. Spectres infrarouges (FT-IR)	59
III.9.3. Diffraction des rayons X (DRX)	60
III.9.4. Détermination des monosaccharides constitutifs	61
III.9.4.1. Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques	61
III.9.4.2. Détermination des monosaccharides constitutifs par chromatographie sur couche mince (CCM)	61
III.9.4.3. Détermination des monosaccharides constitutifs par (HPLC)	63
III.9.4.4. Détermination des monosaccharides constitutifs par (GC/MS-ED)	64
III.10. Activités biologiques des polysaccharides	67
III.10.1. Activité antidiabétique de PGAC et PGAG	67
III.10.1.1. Pouvoir inhibiteur sur l' α -amylase	67
III.10.1.2. Pouvoir inhibiteur sur l' α -glucosidase	69
III.10.2. Activité antioxydant par le test de piégeage du radical libre DPPH•	70

III.11. Evaluation du potentiel toxique par le teste d'hémolyse	71
III.12. Méthodes d'analyse statistique	72
III.12.1. Fréquence relative de citation (RFC)	73
III.12.2. Valeur d'usage (UV)	73
III.12.3. Niveau de fidélité (FL)	73
III.12.4. Facteur de consensus informateur (Fic)	73
III.12.5. Indice de similarité ethnobotanique Rahaman (RSI)	74
Chapitre IV : Résultats et Discussions	75
IV.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique	75
IV.1.1. Fréquence relative de citation (RFC) pour chaque espèce	76
IV.1.2. Niveau de fidelité (FL) pour chaque espèce	76
IV.1.3. Valeur d'usage (UV)	77
IV.1.4. Facteur de consensus informateur (Fic)	78
IV.1.5. Indice de similarité de Rahaman (RSI)	79
IV.1.6. Description socio-démographique de la population interrogée	79
IV.1.7. Usages médicaux des espèces d' <i>Astragalus</i>	82
IV.1.8. Parties utilisées	83
IV.1.9. Mode d'administration	84
IV.1.10. Dose et durée de traitement	85
IV.2. Rendement d'extraction et la composition globale des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de l' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. et d' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge	85
IV.3. Caractérisation structurale des deux extraits polysaccharidiques	87
IV.3.1. Analyse UV-vis des deux extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG	87
IV.3.2. Spectres infrarouges (FT-IR) de PGAC et PGAG	88
IV.3.3. Diffraction des rayons X (DRX)	90
IV.3.4. Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM) des PGAC et PGAG	91
IV.3.5. Détermination des monosaccharides constitutifs par (HPLC)	92
IV.3.6. Détermination des monosaccharides constitutifs par (GC/MS-EI)	99
IV.4. Evaluation de l'activité biologique des deux extraits polysaccharidiques	102
IV.4.1. Pouvoir inhibiteur de PGAC et PGAG sur l' α -amylase	102
IV.4.2. Pouvoir inhibiteur de PGAC et PGAG sur l' α -glucosidase	103
IV.4.3. Evaluation de l'activité antioxydant par le test de piégeage du radical libre DPPH [*]	105
IV.5. Evaluation du potentiel toxique par l'activité hémolytique des deux extraits polysaccharidiques vis-à-vis les globules rouges humains	107
Conclusion Générale	109
Références Bibliographiques	111

Liste des tableaux

Tableau 1 : Polysaccharides isolés de la racine d' <i>A. membranaceus</i>	15
Tableau 2 : Classification d' <i>Astragalus cruciatus</i> Link.	17
Tableau 3 : Classification d' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	19
Tableau 4 : Rapport Mannose/ Galactose des principales légumineuses	31
Tableau 5 : Galactomannanes dans le développement des formes galéniques solides	47
Tableau 6 : Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose par la méthode de Dubois	54
Tableau 7 : Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose par la méthode de Monsigny	55
Tableau 8 : Préparation de la courbe d'étalonnage d'acide galacturonique par la méthode de Blumenkrantz.	56
Tableau 9 : Préparation de la courbe d'étalonnage de BSA par la méthode de Bradford	57
Tableau 10 : Préparation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique par la méthode de Singleton	58
Tableau 11 : Test de l'inhibition de l' α -amylase	68
Tableau 12 : Test d'inhibition de l' α -glucosidase	70
Tableau 13 : Fréquence relative de citation (RFC) de l' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. et l' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. à El-Oued	76
Tableau 14 : Le niveau de fidélité (FL) de l' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. et l' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. à El-Oued	76
Tableau 15 : Valeur d'utilisation (UV) de l' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. et l' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. à El-Oued	77
Tableau 16 : Valeurs des FIC (Indice de la Connaissance Fidèle) de l'utilisation traditionnelle de l' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. et l' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. pour traiter les affections humaines à El-Oued	78
Tableau 17 : L'indice de similarité de Rahaman (RSI) entre l' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. Et l' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. Utilisées pour traiter diverses maladies à El-Oued	79
Tableau 18 : Description socio-démographique de la population interrogée dans la région d'El-Oued	81
Tableau 19 : L' <i>Astragalus cruciatus</i> Link. et l' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. utilisé pour traiter diverses maladies	84
Tableau 20 : Composition globale des deux extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG	87
Tableau 21 : Caractérisation par CCM deux extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG	91
Tableau 22 : Temps de rétention des étalons obtenu par la technique HPLC	95
Tableau 23 : Temps de rétention des mélange (Mannose/Galactose) obtenu par la technique HPLC	96
Tableau 24 : Composition des deux extraits polysaccharides PGAC et PGAG par HPLC.	97
Tableau 25 : Composition des deux extraits polysaccharides PGAC et PGAG par GC/MS-EI.	101

Liste des figures

Figure 1 : Photo d' <i>Astragalus cruciatus</i> Link.	10
Figure 2 : Schéma d' <i>Astragalus cruciatus</i> Link.	10
Figure 3 : La plante d' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	11
Figure 4 : Schéma d' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	11
Figure 5 : Anatomie des graines	22
Figure 6 : Structure de la paroi cellulaire des plantes	24
Figure 7 : a) La pectine ainsi que les composants cellulaires se trouvent dans les couches de la paroi cellulaire des plantes; b) Représentation structurale d'une molécule de pectine	26
Figure 8 : Molécule de pectines	27
Figure 9 : Les graines et les farines de fenugrec, guar, tara et caroube	28
Figure 10 : Structure moléculaire des galactomannanes	28
Figure 11 : Structures des unités répétitives des quatre principaux galactomannanes. Les résidus de mannose sont liés avec β - (1/4) et le galactose via des liaisons glycosidiques α - (1/6)	31
Figure 12 : Différents types de distribution des résidus de galactose le long de la chaîne de mannane: une disposition régulière (a), une disposition aléatoire (b) et une disposition en blocs uniformes (c)	32
Figure 13 : Structure générale du galactomannane et liaisons susceptibles d'être clivées par différentes enzymes	36
Figure 14 : Biosynthèse des galactomannanes.	38
Figure 15 : Voies biochimiques impliquées dans le catabolisme du galactomannane.	39
Figure 16 : Carte géographique de la région d'El-Oued	49
Figure 17 : Carte de la zone d'étude	49
Figure 18 : <i>Astragalus cruciatus</i> Link. (Mars 2019).	51
Figure 19 : <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. (Avril 2019).	51
Figure 20 : <i>Astragalus cruciatus</i> Link. Indexé	51
Figure 21 : <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge. Indexé	51
Figure 22 : Les graines de L' <i>Astragalus cruciatus</i> Link.	51
Figure 23 : Les graines de L' <i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	51
Figure 24 : Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles issu des graines.	53
Figure 25 : Schéma d'une source à ionisation par impact électronique	65
Figure 26 : Mécanisme de triméthylsilylation des <i>O</i> -glycosides.	66
Figure 27 : Forme libre et réduite du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle DPPH•	71
Figure 28 : Analyse de spectre UV-vis des PGAC et PGAG.	88
Figure 29 : Le spectres FT-IR de PGAC et PGAG	89
Figure 30 : DRX de PGAC	90
Figure 31 : DRX de PGAG	90
Figure 32 : Caractérisation chimique par CCM des polysaccharides PGAC et PGAG.	91
Figure 33 : Le chromatogramme du glucose obtenu par la technique HPLC.	93
Figure 34 : Le chromatogramme du mannose obtenu par la technique HPLC.	93

Figure 35 : Le chromatogramme d'arabinose obtenu par la technique HPLC.	94
Figure 36 : Le chromatogramme du galactose obtenu par la technique HPLC.	94
Figure 37 : Le chromatogramme du rhamnose obtenu par la technique HPLC.	94
Figure 38 : Le chromatogramme de la xylose obtenu par la technique HPLC.	95
Figure 39 : Le chromatogramme des mélange (Mannose/Galactose) obtenu par la technique HPLC.	96
Figure 40 : Le chromatogramme de l'extrait PGAC obtenu par la technique HPLC.	97
Figure 41 : Le chromatogramme de l'extrait PGAG obtenu par la technique HPLC.	97
Figure 42 : Profil GC/MS-EI après triméthylsilyl-O-glycosides issus des polysaccharides d' <i>A. cruciatus</i> .	100
Figure 43 : Profil GC/MS-EI après triméthylsilyl-O-glycosides issus des polysaccharides d' <i>A. gyzensis</i>	100
Figure 44 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAC sur l' α -amylase	103
Figure 45 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAG sur l' α -amylase	103
Figure 46 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAC sur l' α -glucosidase	104
Figure 47 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAG sur l' α -glucosidase	104
Figure 48 : Spectre d'absorption UV-Vis de DPPH• en absence et en présence de différentes concentrations d'PGAG	105
Figure 49 : Spectre d'absorption UV-Vis de DPPH• en absence et en présence de différentes concentrations d'PGAC	105
Figure 50 : Les valeurs d'IC ₅₀ pour PGAG, PGAC et AA	105
Figure 51 : Effets hémolytique de SDS, PGAC et PGAG	107

Liste des abréviations

°C	Degrés Celsius
A.Gal	D-acide galacturonique
A.Glc	D-acide glucuronique
AA	Acide ascorbique
AC	<i>Astragalus cruciatus</i> Link.
AG	<i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.
α-Gal	α -galactosidase
Ara	L-arabinose
β-gal	β -galactosidase
β-man	β -mannosidas
BSA	Sérum bovin albumine
CCM	La chromatographie sur couches minces
DO	Densité Optique
DPPH	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl
DRX	Diffraction des rayons X
FK	Fructose kinase
Fru-6-P	Fructose-6-phosphate
FT-IR	La spectroscopie infrarouge
Gal	D-galactose
GALK	Galactokinase
GALM	Aldose-1-épimérase
GALT	Galactose-1-phosphate uridylyltransférase
GGT	Galactomannane galactosyl transférase
GK	Glucokinase
Glc-6-P	Glucose-6-phosphate
Glu	D-glucose
GMP/MGT	GDP-mannosepyrophosphorylase/mannose-1-phosphate guanyltransférase
GalS	Galactinol synthase
HPLC	Chromatographie à haute performance.
HRBc	Human red blood cells
INV	Invertase
K₂HPO₄	Phosphate de potassium dibasique
KBr	Bromure de potassium
KH₂PO₄	Phosphate de potassium monobasique
M	Molaire
M/G	Mannose/Galactose
Man	D-mannose
ManS	Mannane synthase
<i>m</i>-HDP	<i>mé</i> ta-hydroxydiphényl
PBS	Phosphate salé de sodium
PGAC	Polysaccharides des graines <i>d'Astragalus cruciatus</i> Link.
PGAG	Polysaccharides des graines <i>d'Astragalus gyzensis</i> Bunge.
PGI	Phosphoglucoisomérase
PMI	Phosphomannose isomérase
PMM	Phosphomannomutase
<i>p</i>-NPG	<i>p</i> -nitrophényl- α -D glucopyranoside

RFC	Fréquence relative de citation
RFO	Oligosaccharides de la famille des raffinoses
Rha	L-rhamnose
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RS	Raffinose synthase
SDH	Sorbitol déshydrogénase
SDS	Sodium Dodecyl Sulfat
SPP	Saccharose phosphate phosphatase
SPS	Saccharose phosphate synthase
SS	Stachyose synthase
SUS	Saccharose synthase
TFA	Acide trifluoroacétique
UGE	UDP-glucose/UDP-galactose 4-épimérase
UV	Ultraviolet
Xyl	D-xylose

Introduction générale

La découverte de médicaments est en constante évolution, avec l'émergence de nouvelles approches telles que la chimie combinatoire et la conception de modèles moléculaires informatisés. Bien que de nombreux médicaments soient synthétisés chimiquement, il est crucial de souligner que les produits naturels continuent de jouer un rôle important dans cette recherche (**Veeresham, 2012**). Il est possible d'obtenir des composés bioactifs naturels ayant des structures chimiques diverses à partir de différentes sources, telles que les plantes, les animaux, les bactéries, les algues et les champignons (**Gyawali & Ibrahim, 2014**). Les métabolites sont des produits intermédiaires du métabolisme dans les systèmes biologiques, souvent limités aux petites molécules. On distingue deux types de métabolites : les métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires sont directement impliqués dans les processus de croissance, de développement et de reproduction normaux. En revanche, les métabolites secondaires n'ont pas de rôle direct dans ces processus, mais ont généralement une fonction écologique importante qui confère un avantage pour la survie (**Ramesha & Deeksha, 2018**). L'Homme récolte une multitude de sécrétions de métabolites pour améliorer la qualité de l'alimentation, diversifier la productivité agricole, impacter l'économie de notre société et protéger la santé (par exemple, des antibiotiques, des inhibiteurs d'enzymes, des immunomodulateurs, des agents antitumoraux, des promoteurs de croissance pour les animaux et les plantes) (**Thirumurugan et al., 2018**). Les produits naturels ont longtemps été la source principale de nouvelles pistes pour le développement pharmaceutique. Toutefois, avec l'avènement de la robotique, de la bioinformatique, du criblage à haut débit, de la biologie moléculaire-biotechnologie, de la chimie combinatoire, de la modélisation moléculaire et d'autres méthodologies, l'industrie pharmaceutique s'est progressivement éloigné des produits naturels d'origine végétale comme source principale de pistes et de candidats médicaments potentiels (**McChesney et al., 2018**). Au cours des dernières années, d'autres auteurs ont traité de l'importance actuelle et/ou du potentiel des plantes en tant que sources de substances médicamenteuses, ainsi que de l'utilisation de ces composés en tant que précurseurs pour la modification synthétique et d'excipients dans les formulations pharmaceutiques (**Kinghorn, 1992**). Le développement de techniques analytiques avancées a permis l'isolement, la purification et la détermination de la structure de composés individuels à partir d'extraits de plantes. Ces techniques nous permettent désormais d'identifier une large gamme de composés biologiquement actifs, appelés communément « la phytochimie ». Ces composés ont été largement utilisés dans les nutraceutiques comme ingrédients bénéfiques pour la santé (**Zhao et al., 2015**). L'étude de la flore est très importante car elle permet de connaître les principales caractéristiques biologiques des plantes ainsi que leur répartition

biogéographique (**Lavergne et al., 2005**). Toutefois, de nombreux aspects de nombreuses espèces végétales demeurent mal compris à bien des égards, qu'il s'agisse de leur biologie, de leur taxonomie ou de leur écologie (**Grubb, 1977 ; Pyšek et al., 2008**). En fonction de leur adaptation à la sécheresse, la flore saharienne peut être divisée en deux catégories : les plantes éphémères qui n'apparaissent qu'après la période des pluies et effectuent tout leur cycle végétatif avant l'assèchement du sol et les plantes permanentes (**Chahma & Djebbar, 2008**). La famille des *Fabaceae* est l'une des principales familles botaniques qui regroupe la plupart des plantes présentes dans les régions arides (**Chopra et al., 1960**). Le genre *Astragalus* est l'un des plus grands genres de cette famille. Les plantes de ce genre ont été analysées de manière intensive, principalement pour trois groupes principaux de composés biologiquement actifs : les polysaccharides, les flavonoïdes et les saponines (**Bratkov et al., 2016**). L'*Astragalus cruciatus* Link. est notamment connu en médecine traditionnelle maghrébine pour la présence de composés actifs tels que les saponines et les flavonoïdes (**Benchadi et al., 2013**). D'autre part, l'*Astragalus gyzensis* Bunge. est utilisé en médecine traditionnelle maghrébine pour traiter les morsures de serpent (**Chehema, 2006**).

Le mucilage, une substance gélatineuse de poids moléculaire élevé, est largement produit par diverses espèces végétales, principalement composé de polysaccharides, avec de petites quantités de protéines, de minéraux et de lipides. Alors que des études antérieures ont examiné la composition en monosaccharides et la structure des polysaccharides du mucilage, ce n'est que récemment que les propriétés fonctionnelles du mucilage ont été liées à sa chimie sous-jacente (**Nazari et al., 2020**). Les polysaccharides sont des polymères naturels issus de sources renouvelables. Par conséquent, des caractéristiques particulières telles que la biocompatibilité, la biodégradabilité, la bioadhésivité et la non-toxicité, associées à une large disponibilité et à des coûts généralement faibles, expliquent leur exploitation croissante dans la formulation de produits pour des applications alimentaires, biomédicales et cosmétiques. La large gamme de propriétés fonctionnelles des polysaccharides hydrosolubles est la principale caractéristique qui leur confère leur utilité dans l'industrie. Leurs propriétés fonctionnelles incluent la capacité à épaissir, chélater, émulsifier, stabiliser, encapsuler, flocculer, gonfler et mettre en suspension des environnements aqueux, ainsi qu'à former des gels, des films et des membranes (**Lapasin & Pricl, 1995**). La synthèse (chimique, enzymatique ou par polymérisation) offre la possibilité d'accéder à des polysaccharides avec une composition, une longueur et une substitution bien définies. Ces composés sont des sondes idéales pour étudier les polysaccharides au niveau moléculaire et identifier les corrélations entre structure et propriétés fonctionnelles. L'accès aux polysaccharides synthétiques a facilité la corrélation de

la structure chimique avec les conformations moléculaires, les interactions intermoléculaires et les réponses biologiques. Néanmoins, la complexité et la diversité des polysaccharides rendent les procédés de synthèse extrêmement laborieux et chronophages (**Fittolani et al., 2021**). Le problème général de la synthèse des polysaccharides peut être envisagé sous plusieurs angles. Les mécanismes biochimiques de la biosynthèse deviennent plus complexes à mesure que l'on considère des polysaccharides avec une complexité structurale ou fonctionnelle croissante (**Robbins et al., 1966**). Parmi les polysaccharides, les galactomannanes de graines sont des hydrocolloïdes préférés car ils sont relativement bon marché et non polluants lors de la production et de l'application. Les galactomannanes des graines ont plusieurs fonctions associées à leurs propriétés physico-chimiques et biologiques, ce qui offre en fait une grande variété d'applications. Contrairement à d'autres gommes, les galactomannanes ou leurs dérivés sont moins exploités à l'échelle industrielle. Ces gommes de galactomannane peuvent accumuler l'humidité (tolérance à la dessiccation) au stade précoce du gonflement des graines et servir de ressource énergétique glucidique lors de la germination des graines. De plus, elles peuvent également jouer un rôle protecteur en conférant une certaine résistance à l'endosperme entourant le germe à la périphérie. Cependant, comparées à de nombreuses autres solutions de gomme, les galactomannanes ont présenté une excellente rétention de la viscosité même à de faibles concentrations. Ainsi, elles peuvent être utilisées comme milieu de croissance de micro-organismes plus épais, stabilisateur alimentaire et dans plusieurs autres applications (**Jiang et al., 2010**). Les propriétés physico-chimiques des galactomannanes varient selon les espèces, le rapport Man/Gal de la chaîne galactomannane étant l'une des variables les plus utilisées pour prédire leurs propriétés finales. Ce sont des polysaccharides hydrosolubles, formant des solutions aqueuses très visqueuses et stables. Les galactomannanes sont polyvalents et utilisés pour de nombreuses applications, telles que raidisseurs et stabilisants d'émulsions. Ils ne sont pas toxiques, ce qui permet leur utilisation dans les industries textile, pharmaceutique, biomédicale, cosmétique et alimentaire. Les quatre principales sources végétales de galactomannanes sont la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua* L.), le guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), le tara (*Caesalpinia spinosa*) et le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) (**Dos Santos et al., 2015**). Le rapport mannose sur galactose (M/G) qui correspond au nombre de résidus de mannose pour un résidu galactose, varie selon les différentes sources de galactomannanes. Il est d'environ 4 : 1 pour la gomme de caroube, 3 : 1 pour la gomme de tara, 2 : 1 pour la gomme guar et 1 : 1 pour la gomme de fenugrec. Les caractéristiques moléculaires des galactomannanes peuvent également varier en fonction de la variété de plante, des conditions de culture telles que le climat et le sol, ainsi

que de la méthode d'extraction ou de préparation du polymère (**Dakia et al., 2009**). Les endospèrmes des graines des Astragales sont une source précieuse de galactomannanes, découverts chez plusieurs espèces de ce genre (**Tookey et al., 1962 ; Anulov et al., 1996 ; Mestechkina et al., 2000**). Actuellement, l'*Astragalus armatus* est considéré comme une source de galactomannanes bioactives (**Boual et al., 2014**). Des variations significatives de structure ont été décrites dans la littérature et ont été associées à des facteurs biotiques et abiotiques ainsi qu'à des changements physiologiques de la plante (**Fons et al., 2008**). L'intérêt croissant pour l'identification de nouvelles sources naturelles est à l'origine d'un grand nombre de travaux (**Dos Santos et al., 2015**).

À notre connaissance, aucune étude ethnobotanique n'a été réalisée sur les deux plantes afin de déterminer leur utilisation en médecine traditionnelle dans la région d'El-Oued, ni sur l'élucidation chimique, les potentiels biologiques et toxiques des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines d'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge. Cette thèse est structurée en quatre grands chapitres. Dans le premier chapitre, une synthèse bibliographique traite des caractéristiques taxonomiques et thérapeutiques des Astragales. Le deuxième chapitre est consacré aux mucilages des graines, en particulier les galactomannanes. Le troisième chapitre présente les matériels et méthodes utilisés dans cette étude pour l'extraction et la caractérisation structurale qui ont été réalisées en utilisant des dosages colorimétriques, une analyse UV-vis, FT-IR, la diffraction des rayons X (DRX), une chromatographie sur couche mince (CCM), une chromatographie à haute performance (HPLC) et par chromatographie en phase gazeuse (GC/MS-EI). Les activités biologiques ont été évaluées en mesurant l'inhibition du radical DPPH, l'inhibition des activités α -amylase et α -glucosidase, tandis que le potentiel toxique a été évalué par le test d'hémolyse. Enfin, un quatrième chapitre intitulé "Résultats et discussion" présente et discute les résultats obtenus, précédant ainsi la description des principales conclusions tirées de ce travail.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Astragales

Le premier chapitre traite des caractéristiques taxonomiques des Astragales, en se concentrant principalement sur deux espèces : *Astragalus cruciatus* Link et *Astragalus gyzensis* Bunge. Il abordera également la phytochimie de ces plantes, en se focalisant particulièrement sur les extraits polysaccharidiques. Dans le deuxième chapitre, nous nous intéresserons aux mucilages, plus précisément aux galactomannanes. Nous examinerons leurs structures, leurs activités biologiques ainsi que leurs différentes applications.

Chapitre I : Astragales

I.1. Diversité de la flore du Sahara septentrional Algérien

Le Sahara est le plus grand désert chaud du monde (**Rognon, 1994**). Occupant une superficie de 8,5 millions de km², soit environ 10% de la surface totale de l'Afrique, entre les latitudes 16 et 32° N (**Le Houérou, 1997**). L'Algérie, avec sa grande taille et sa diversité bioclimatique, abrite une variété d'espèces végétales naturelles, avec une gamme phyto-génétique riche et variée, témoignant ainsi d'une richesse floristique indéniable (**Yabrir et al., 2018; Hamza et al., 2019**). La plupart des espèces de la flore spontanée du Sahara algérien sont remarquablement résistantes et bien adaptées à la sécheresse et à la salinité, constituant une part importante des ressources génétiques locales à valeur pastorale, fourragère, alimentaire, aromatique et médicinale (**Ziani et al., 2015**).

Malgré sa superficie considérable, très peu de travaux liés à la mise en valeur des ressources biologiques du Sahara ont été enregistrés, alors que ces dernières sont très originales et représentatives des milieux arides (**Benzahi et al., 2016**). Les biogéographes ont divisé le Sahara en six unités fondamentales : le Sahara septentrional, le Sahara méridional, le Sahara central, les montagnes sahariennes, le Sahara occidental et Sahara atlantique (**Le Houerou, 1990**). La flore du Sahara septentrional est très pauvre compte tenu de l'immense étendue de la zone, limitant la survie spontanée des êtres vivants. Le désert algérien, quant à lui, est caractérisé par des conditions climatiques édaphiques très restrictives, avec des précipitations très faibles et des températures annuelles moyennes élevées (**Ozenda, 1983**). Sous ces conditions climatiques rigoureuses et diverses pressions présentes dans ces zones désertiques, de nombreuses plantes sahariennes ont été découvertes et sont encore utilisées aujourd'hui grâce à la médecine ethnique. Ces plantes peuvent servir de réservoir naturel pour des macromolécules sûres, naturelles et efficaces (**Hemmami et al., 2023**).

La flore Saharienne peut être divisée en deux types en fonction de leur mode d'adaptation à la sécheresse : les plantes éphémères, n'apparaissant qu'après la période des pluies et effectuant tout leur cycle végétatif avant que le sol ne s'assèche et les plantes

permanentes, qui ont mis en place une adaptation morphologique et anatomique consistant en une augmentation du système absorbant et une diminution de la surface d'évaporation. Ces dernières ont la capacité de survivre pendant de longues périodes et sont dotées de mécanismes efficaces d'absorption racinaire et de rétention d'eau (**Chahma & Djebbar, 2008**).

Les méthodes courantes de collecte de plantes pour la recherche pharmacologique reposent sur la connaissance des particularités chimiques de certaines familles de plantes (chimiotaxonomie), voire sur l'utilisation locale de la médecine traditionnelle comme première source d'information (**Krief, 2003**). Les principales familles botaniques auxquelles appartiennent la plupart des plantes des régions arides comprennent les *Amaryllidaceae*, *Asclepiadaceae*, *Cactaceae*, *Capparidaceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae*, *Cucurbitaceae*, *Labiatae*, *Liliaceae*, *Umbelliferae*, *Solanaceae* et *Fabaceae* (**Chopra et al., 1960**). Cette dernière famille, à laquelle appartient les Astragales, est l'objet de notre étude.

I.2. Famille des *Fabaceae*s

Les *Fabaceae*s sont communément appelées la famille des légumineuses (ou Léguminosae), qui regroupe des plantes à fleurs économiquement importantes. Elle comprend des arbres, des arbustes et des plantes herbacées vivaces ou annuelles. Cette famille est largement distribuée et est la troisième plus grande famille d'angiospermes après les *Asteraceae* et les *Orchidaceae*, comptant 770 genres et 19 500 espèces. Les légumineuses se trouvent couramment dans les forêts tropicales humides et les forêts sèches aux États-Unis et en Afrique (**Rahman & Parvin, 2015 ; Rahman & Parvin, 2014 ; Gomes et al., 2018**).

La plupart des légumineuses sont principalement utilisées pour leur haute teneur en protéines (33 % de protéines) et en glucides pour la consommation humaine (haricots, pois, fèves, etc.), pour le fourrage animal (soja, luzerne, etc.). Les légumineuses à grains sont généralement subdivisées en légumineuses et en graines oléagineuses. Les légumineuses sont ces légumineuses à grains qui, en plus des protéines, stockent des niveaux élevés de glucides et de faibles quantités de lipides dans leurs graines sèches, et les légumineuses oléagineuses sont celles qui présentent des taux de lipides plus élevés, mais des niveaux de glucides plus faibles. Les légumineuses sont également utilisées pour améliorer les sols grâce à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique. De nos jours, les légumineuses sont d'une grande importance dans l'ornementation, la fabrication du papier, ou comme source de produits chimiques et pharmaceutiques en raison de leurs nombreux avantages pour la santé (**Gebrelibanos et al., 2013 ; Baziz, 2015**).

Les *Fabaceae*s ont une grande importance en termes de richesse de taxons médicinaux. Leur valeur médicinale réside en partie dans leur efficacité dans le traitement d'une grande

variété de maladies humaines. La variété des constituants chimiquement actifs tels que les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes souvent trouvés dans les membres de cette famille, sont des substances ayant un niveau élevé d'activité biologique et le fait qu'elles soient largement utilisées suggère un modèle de connaissances ethnomédicales mondiales. Cependant, d'autres facteurs écologiques, morphologiques et socioculturels en plus de ces facteurs chimico-nutritionnels peuvent expliquer plus complètement l'utilisation extensive de cette famille botanique. Par exemple, la présence d'organes aériens colorés et/ou bien visibles, des caractères organoleptiques notables et leur diversité dans la flore locale sont des caractéristiques qui auraient probablement attiré l'attention des populations humaines, conduisant à des expérimentations et à des usages (Molares & Ladio, 2012).

La classification phylogénétique LPWG (2017) divise le groupe des *Fabaceae* en 6 sous-familles : les *Duparquetioideae*, les *Detarioideae*, les *Cercidoideae*, les *Dialioideae*, les *Caesalpinioideae* et les *Papilionoideae*.

- Sous-famille de *Papilionoideae*

Selon LPWG (2017), les *Papilionoideae* sont de loin la plus grande sous-famille de la famille des *Fabaceae*, avec 503 genres et environ 14 000 espèces. Les membres de cette sous-famille sont principalement des herbes ou des plantes grimpantes herbacées, bien que certains soient des arbustes, des arbres ou des lianes dressés ou grimpants. Ils sont généralement distribués dans les régions tempérées et subtropicales du monde. Les membres des *Papilionoideae* sont facilement identifiables par leurs fleurs papilionacées caractéristiques (en forme de papillon), leurs graines asymétriques, leurs cotylédons ovales-elliptiques, leurs ovules campylotropes et l'axe de l'embryon est incurvé ou en spirale courte (El-Gazzar et al., 2013 ; Owlarbi & Adedeji, 2016). De nombreuses espèces ont une grande valeur économique à l'échelle mondiale en tant que cultures alimentaires, tandis que d'autres ont été largement utilisées pour de nombreuses applications en médecine, en ethnobotanique, en biochimie, en chimie organique et à d'autres fins commerciales (Leeratiwong, 2020).

I.2.1. *Astragalus*

I.2.1.1. Description

Selon Amiri et al. (2019), le genre *Astragalus* est le plus grand genre de plantes vasculaires. Jusqu'à présent, il a été estimé à plus de 3000 espèces et plus de 250 sections taxonomiques dans le monde (Rather et al., 2021 ; Kheloufi et al., 2019). Ces plantes sont inestimables et sont largement utilisées comme médicament, nourriture, fourrage, combustible

et comme plantes ornementales dans différentes pratiques ethnobotaniques (**Amiri et al., 2019**).

I.2.1.2. Distribution

Le genre *Astragalus* est largement répandu dans les régions montagneuses froides, arides et semi-arides de l'hémisphère nord et de l'Amérique du Sud (**Khalfallah et al., 2014**). Il compte environ 1500 espèces en Asie, 500 espèces en Amérique du Nord, 150 espèces en Amérique du Sud, 120 espèces en Europe et également sur les montagnes d'Afrique. Cependant, le centre d'origine et de biodiversité des plantes d'Astragale est l'Eurasie, en particulier les régions montagneuses du sud-ouest et du sud-est de l'Asie (**Lysiuk & Darmohray, 2016**). Les astragales sont connus pour leur présence dans un large éventail d'habitats en Asie occidentale, à des altitudes variant de 600 à environ 2800 mètres, la majorité se trouve dans la région d'Asie centrale-irano-turanienne (**Thomas et al., 2013**).

Ce genre est le plus diversifié dans la région Irano-turque, le plateau sino-himalayen de l'Asie centrale du sud et le grand bassin et le plateau du Colorado de l'ouest de l'Amérique du Nord. Environ 90 espèces ont été recensées, principalement dans les zones tempérées à alpines de l'Himalaya, qui ont une distribution de référence dans les déserts froids (**Chaudhary & Srivastava, 2007**). Les espèces d'*Astragalus* poussant en Afrique du Nord sont des plantes méditerranéennes ou sahariennes arabiques. Ils sont représentés par plus de 50 espèces délimitées en plusieurs sections, dont 15 se trouvent dans le Sahara algérien (**Benchadi et al., 2013**), y compris *Astragalus cruciatus* Link. et *Astragalus gyzensis* Bunge., qui font l'objet de cette étude.

I.2.1.3. Caractères morphologiques

Les astragales présentent une grande diversité morphologique, allant des herbes annuelles à vie courte (environ 80 espèces) aux herbes vivaces (environ 2500 espèces) et aux petits arbustes épineux formant des coussins (environ 300 espèces). Ces plantes sont caractérisées par des fleurs papilionacées typiques et présentent une synapomorphie morphologique unique (**Zarre & Azani, 2013**). Les espèces du genre *Astragalus* peuvent être des herbes annuelles ou vivaces, ou des petits arbustes atteignant jusqu'à 150-200 cm de hauteur. Leurs feuilles sont imparipennées ou paripennées, parfois terminées par une épine, les folioles sont entières. Les fleurs sont groupées en grappes ou en grappes axillaires, sessiles ou pédicellées. Le calice est infundibuliforme, tubulaire ou campanulé, parfois renflé en forme de fruit, avec des dents distinctes, égales ou inégales, une carène non mucronée à l'apex (très rarement mucronée

adaxiale), des étamines 10, diadelphes (très rarement 5, monadelphes), un stigmate et un style glabres. Le légume est généralement déhiscent, avec une forme et une texture très variée, glabre ou velue, uniloculaire à biloculaire. Les graines sont une ou plusieurs (**Ionokova, 1995**).

I.2.1.4. Composition chimique des Astragales

Le genre *Astragalus* est très homogène du point de vue chimique, présentant 6 types des composés chimiques : les alcaloïdes indolizidines, les composés nitrés endécaphyllines, 3-nitropropylglucosides, des dérivés sélénifères, les polysaccharides, les saponines ainsi que les flavonoïdes (**Rios & Waterman, 1997**).

I.2.1.4.1. Alcaloïdes indolizidines

Un certain nombre d'espèces du genre *Astragalus* se sont caractérisées par différents types de composés azotés ont été décrits, tels que les alcaloïdes indolizidine comme la swainsonine (**Echeverría et al., 2017**). La swainsonine est un inhibiteur de la α -mannosidase et de la mannosidase II qui modifie le traitement des glycoprotéines dans les cellules (**Martinez et al., 2019**). Deux alcaloïdes caprolactames inhabituels, le 3-(diméthylamino)hexahydro-2H-azépin-2-one et le 3-(méthylamino)-hexahydro-2H-azépin-2-one, ont été isolés des parties aériennes d'*Astragalus cryptanthus* Wedd (**Echeverría et al., 2017**).

I.2.1.4.2. Composés nitro

Plus de 470 espèces et variétés d'Astragales sont connues pour synthétiser des composés nitro. Plusieurs espèces d'Astragale qui synthétisent la misérotoxine, le 3-nitro-1-propyl- β -D-glucopyranoside (**Niknam et al., 2003**).

Des extraits de 440 espèces d'Astragale d'Iran ont été analysés pour la présence de composés nitro aliphatiques. Les métabolites des composés nitro identifiés comprennent le 3-nitro-1-propanol et l'acide 3-nitropropionique, en concentration de 4-25 mg NO₂/g de plante, qui ont été détectés chez 8,4 % des espèces. La présence de ces composés a été signalée chez 16 des 37 espèces étudiées, à savoir : *A. remotifolius* Boiss, *A. ammodendroides* Bornm, *A. corrugatus* Betrol., *A. florulentus* (Boiss et Hausskn) Podlech, *A. angustiflorus* ssp. *angustiflorus* Boiss, *A. apricus* Bunge, *A. maymanensis* Podlech, *A. masandaranus* Bunge, *A. daenensis* Boiss, *A. campylotrichus* Bunge, *A. robustus* Bunge, *A. deickianus* Bornm, *A. elegans* Bunge, *A. macrostachys* DC., *A. kerkukiensis* Bornm et *A. magistratus* (**Ebrahimzadeh et al., 1999**).

Quatre composés nitrés aliphatiques et l'acide p-hydroxybenzoïque ont été isolés à partir de l'extrait de racines d'*A. sikokianus*. Trois composés nitro aliphatiques ont été identifiés comme étant des glucosides de l'acide 3-nitropropanoïque, à savoir le 1,4,6-tris-O-(3-nitropropanoyl)- β -D-glucopyranose (corynocarpine) (1), le 1,3,6-tris-O-(3-nitropropanoyl)- β -D-glucopyranose (2) et le 1,2,6-tris-O-(3-nitropropanoyl)- β -D-glucopyranose (karakin) (3). L'ester méthylique de l'acide 3-nitropropionique (4) a également été identifié (Na et al., 2015).

I.2.1.4.3. Dérivés du sélénium

Un groupe de plantes a été identifié comme étant caractéristique de certaines conditions de sol et accumulant de grandes quantités de sélénium. Le plus grand groupe d'hyperaccumulateurs de sélénium appartient au genre *Astragalus*. Vingt-cinq espèces d'Astragales ont été caractérisées comme étant des hyperaccumulateurs de sélénium. Certaines espèces peuvent accumuler jusqu'à 0,6 % de leur poids sec en sélénium à partir de sols contenant 2 à 10 μg de sélénium par gramme de poids sec. Cela représente 100 à 1000 fois plus de sélénium que les plantes non-accumulateurs adjacentes, y compris d'autres espèces d'*Astragalus* (Sors et al., 2005).

Parmi les espèces sélénifères connues, on trouve *A. bisulcatus*, *A. saurinus*, *A. praelongus*, *A. flavus* et *A. tenellus* (Rios et Waterman, 1997).

I.2.1.4.4. Saponines

Les saponines sont une classe importante de composés bioactifs dans les espèces d'*Astragalus* qui ont été largement étudiées (Gülcemal et al., 2011). Des études chimiques sur les espèces d'*Astragalus* ont permis l'isolement de plusieurs saponines triterpénoïdes de type cycloartane (par exemple *A. erinaceus*, *A. hareftae*, *A. chivensis*, *A. membranaceus*, *A. wiedemannianus*, *A. unifoliolatus*, *A. chivensis*, etc.) et de saponines triterpénoïdes de type oléane (par exemple *A. tauricolus*, *A. angustifolius*, *A. caprinus*, *A. bicuspis*, *A. hareftae*, *A. tauricolus*, *A. cruciatus*, *A. flavescens*, etc.) (Li et al., 2014). Des études antérieures ont montré que ces glycosides de type cycloartane et oléane isolés des espèces d'*Astragalus* ont des propriétés biologiques intéressantes, notamment des activités immunostimulantes, anti-protozoaires, antivirales, cytotoxiques, cardiotoniques, cicatrisantes et adjuvantes (Savran et al., 2012).

I.2.1.4.5. Composés phénoliques

Depuis l'année 2000, la majorité des nouveaux constituants de deuxième type découverts dans les Astragales sont des flavonoïdes et leurs dérivés, notamment des flavones, des flavonols, des isoflavonoïdes et quatre autres types de flavonoïdes. Les flavonoïdes des Astragales ont attiré beaucoup d'attention en raison de leur structure et de leurs propriétés biologiques (Yang et al., 2013). Les flavonols sont les composés les plus souvent isolés, notamment la quercétine, le kaempférol et leurs glycosides, qui ont été trouvés en plus grand nombre dans certaines espèces d'*Astragalus*. Une étude phytochimique des graines d'*Astragalus complanatus* a mis en évidence la présence de complanatine, un nouveau glycoside de rhamnocitrine acylé avec des sesquiterpènes de type acide. Des glycosides similaires à la complanatine ont également été isolés, dont deux glycosides de rhamnocitrine acylés avec de l'acide p-coumarique et férulique (Bratkov et al., 2016).

Les glycosides flavonoïdes d'*Astragalus caprinus* ont été étudiés et plus de 30 glycosides ont été trouvés dans le matériel foliaire, basés sur les aglycones kaempférol, la quercétine et leurs dérivés méthylés. Parmi eux, 14 glycosides de flavonol ont été caractérisés. Ces composés comprenaient des dérivés de quercétine et de kaempférol, glycosylés par deux, trois ou quatre sucres avec une fraction acyle aliphatique ou aromatique (Semmar et al., 2001 ; Semmar et al., 2005). Deux nouveaux glycosides de rhamnocitrine ont été isolés des parties aériennes d'*Astragalus vogelii*, ainsi qu'un glycoside de rhamnocitrine déjà connu. Deux glycosides de flavonol connus et quatre dérivés de flavone connus ont également été isolés des parties aériennes d'*Astragalus eremophilus* (Perrone et al., 2009).

Le kaempférol, l'isorhamnétine, l'isorhamnétine-3-O-glucoside, l'isorhamnétine-3-O-rutinoside, la vitexine, l'ériodyctiol-7-O-rutinoside et la phloridzine ont été identifiés chez *A. ponticus* et la quercétine-3-O-rhamnoside (quercitrine), l'homoériodyctiol, l'ériodyctiol-7-O-rutinoside et la phloridzine dans *A. corniculatus*. De plus, l'umbelliférone, l'hyperoside et la rutine ont été identifiés dans *A. cicer* par LC/MS/MS et HPLC. Un flavonoïde a été isolé d'un extrait d'acétate d'éthyle d'*A. hamosus*, dont la structure a été établie à partir des données UV, RMN et HRMS comme étant le rhamnocitrin-3-O-neohesperidoside (Krasteva, 2013). Neuf flavonoïdes ont été identifiés dans les parties aériennes d'*Astragalus corniculatus* Bieb, dont la vitexine, l'orientine et l'ériodyctiol-7-O-glucoside qui sont obtenus pour la première fois dans le genre *Astragalus* L, et l'isorhamnétin-3-O-glucoside dans l'espèce (Krasteva & Nikolov, 2008). En outre, un nouveau glycoside de flavonol 7-O-méthyl-kaempférol 4'-β-D-galactopyranoside (rhamnocitrin 4'-β-D-galactopyranoside) a été isolé des parties aériennes

d'*Astragalus hamosus* et trois flavonols connus, l'hyperoside, l'isoquercitrine et l'astragaline, ont également été identifiés (**Krasteva et al., 2007**).

Un nouveau tétraglycoside de flavonol, la quercétine-3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 6)] - β -D-galactopyranosyl] -7-O- β -D-glucopyranoside, a été isolé des parties aériennes d'*Astragalus monspessulanus* ssp. *monspessulanus*. Deux flavonoïdes rares avec une fraction acide 3-hydroxy-3-méthylglutarique inhabituelle, quercétine -3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2) -[6-O-(3-hydroxy-3-méthylglutaryl) - β -D-galactopyranoside et kaempférol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2) -[6-O-(3-hydroxy-3-méthylglutaryl) - β -D galactopyranoside, ont été isolés des parties aériennes d'*A. monspessulanus* ssp. *Illyrique*. De plus, les huit flavonoïdes connus, l'alangiflavoside, l'alcesefoliside, la mauritanine, la quercétine-3- β -robinobioside, la cosmosine, l'apigénine-4'-O-glucoside, la trifoline et la rutine ont été isolés des parties aériennes d'*A. monspessulanus* ssp. *monspessulanus* (**Krasteva et al., 2015**).

A partir de l'extrait EtOH à 70 % des racines d'*Astragalus membranaceus*, onze dérivés flavonoïdes et un lignane ont été isolés et identifiés comme la liquiritigénine, la daidzéine, la formononétine, la sophorophénolone, la calycosine, la méthylnissofin, l'isomuronulatol, l'isomuronulatol 7-O-glucoside 3-O, la méthylnissofin-glucoside, calycosine 7-O-glucoside, (+)-syringaresinol O- β -D-glucoside et isomucronulatol 7,2'-di-O-glucoside (**Lee et al., 2008**).

Quatre flavonoïdes appelés narcissine, nicotiflorine, kaempférol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4) - α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6) - β -D-glucopyranoside et 5,7,2'-trihydroxyflavone ont été isolés du méthanol extrait de la plante entière d'*Astragalus cruciatus* Link (**Benchadi et al., 2013**).

I.2.1.4.6. Polysaccharides

Les plantes synthétisent souvent des polysaccharides bioactifs dans leurs racines, comme c'est le cas pour *A. membranaceus* Bunge. Cette plante a été utilisée en médecine traditionnelle chinoise. Pour analyser la composition chimique et la structure des polysaccharides d'*A. membranaceus*, appelés l'*Astragalus* polysaccharides (APS), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse (GC), la spectrométrie de masse (MS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) sont couramment utilisées. La plupart des études ont montré que l'APS est composée de sucres neutres tels que le glucose (Glc), le rhamnose (Rha), le galactose (Gal), l'arabinose (Ara), le xylose (Xyl) et le mannose (Man), ainsi que de sucres acides tels que l'acide glucuronique (A. Glc) et l'acide galacturonique (A. Gal). La chaîne principale contient des résidus de glucose

liés $-(1\rightarrow4)$. La masse moléculaire relative de l'APS est de $5,6 \times 10^3$ à 10^6 Da (Wang et al., 2019). À ce jour, 24 polysaccharides ont été isolés et identifiés à partir d'*A. membranaceus* Bunge, et leurs caractéristiques structurales, telles que le poids moléculaire, la composition en monosaccharides, la structure primaire et les propriétés pharmacologiques, sont présentées dans le tableau 03 (Jin et al., 2014).

De plus, l'hémicellulose AX-I-3b a été identifiée à partir de résidus de la plante *Astragalus membranaceus*. L'analyse de la composition des monosaccharides a révélé qu'elle se composait d'arabinose, de xylose et de glucose avec un rapport molaire de 10,4 : 3 : 1,1. Elle a montré une activité antitumorale contre le cancer du poumon *in vitro* et *in vivo* et a montré une activité immunomodulatrice (Li et al., 2019). D'autres polysaccharides, nommés polysaccharides A-D, ont été isolés à partir d'un extrait aqueux de la même espèce *Astragalus*. Le polysaccharide A est un glucane contenant un $(1\rightarrow4)$ et un $(1\rightarrow6)$ $(5 : 2)$ glucoside. Ce polysaccharide est soluble dans l'eau, tandis que les polysaccharides B et C sont tous deux des $(1\rightarrow4)$ glucanes. Le polysaccharide B est soluble dans l'eau chaude et la solution alcaline diluée, alors que le polysaccharide C n'est pas soluble dans l'eau chaude. Le polysaccharide D est un hétéropolysaccharide composé de glucose, d'arabinose et de rhamnose avec un rapport molaire de 9 : 3 : 2 (Pistelli, 2002). Généralement, le contenu en APS est différent selon la partie médicinale, les sources de base, le lieu de production, la méthode de plantation et l'année de croissance. Ceci est attribué aux structures chimiques complexes et aux différences de teneur en polysaccharides (Zheng et al., 2020).

Certaines plantes du genre *Astragalus* produisent des exsudats lorsqu'elles sont exploitées ou soumises à un autre stress, peut-être en tant que mécanisme de protection. Les exsudats hydrophiles, appelés gommés, sont principalement composés de polysaccharides solubles dans l'eau, fréquemment avec un petit résidu protéique lié de manière covalente (1 à 3 %). De telles gommés ont été approuvées pour une utilisation dans des aliments et des formulations pharmaceutiques en tant que stabilisants et agents épaississants. Ils sont notamment non toxiques lorsqu'ils sont pris par voie orale, car les polysaccharides ne sont généralement pas absorbés par le système gastro-intestinal et ne pénètrent pas dans la circulation lorsqu'ils sont ingérés (Bmee & Verblscar, 1995). L'exsudation d'*A. gummifer* Labill. (GT) est un protéoglycane acide très complexe, grossièrement hétérogène, de poids moléculaire élevé. L'hydrolyse acide donne l'arabinose, la xylose, le fucose, le galactose, le rhamnose et l'acide galacturonique. Des traces d'amidon et de matière cellulosique peuvent également être présentes. À partir d'un *A. aitosensis* Ivann. endémique bulgare, un mélange de

polysaccharides (3,6 %) a été isolé. Les sucres composants ont été identifiés comme étant le D-xylose, le D-glucose, le D-galactose et le L-arabinose (**Ionkovai, 1995**).

Les graines du genre *Astragalus* sont des sources précieuses de galactomannanes, qui ont été trouvées dans différentes espèces. Un galactomannane (de rendement 3,58 %) de poids moléculaire 876 kDa a été isolé des graines d'*Astragalus sericeocanus* Gontsch. Le rapport molaire de galactose et de mannose était de 1 : 1,58. La chaîne principale était constituée d'unités 1,4- β -D-mannopyranose, dont 63 % étaient substituées en C-6 par des unités simples α -D-galactopyranose (**Olennikov & Rokhin, 2008**). Un autre galactomannane de poids moléculaire 472 kDa a été isolé à partir d'*Astragalus danicus* Retz. Le rapport molaire de galactose et de mannose était de 1 : 1,40. La chaîne principale était constituée d'unités 1,4- β -D-mannopyranose, dont 71 % étaient substituées en C-6 par des unités simples α -D-galactopyranose (**Olennikov & Rokhin, 2009**). Les graines d'*Astragalus cicer* L. ont fourni un galactomannane (rendement 5,90 %) de poids moléculaire 1064 kDa. Le rapport molaire de galactose et de mannose était de 1 : 1,39. La chaîne principale était constituée d'unités 1,4- β -D-mannopyranose substituées à 72 % des positions C-6 par des unités uniques α -D-galactopyranose (**Olennikov & Rokhin, 2010**). D'autres travaux ont été effectués sur les graines d'*A. alpinus* et *A. tibetanus* et ont trouvé un autre galactomannane (rendement 0,59 % et 4,65 %) avec des rapports de galactose:mannose de 1 : 1,48 et 1 : 1,33 et des poids moléculaires de 999 et 1549 kDa, respectivement. La chaîne principale était constituée d'unités 1,4- β -D-mannopyranose substituées à 67,5 % (*A. alpinus*) et 75,2 % (*A. tibetanus*) en position C-6 par des unités α -D-galactopyranose uniques (**Olennikov & Rokhin, 2011**). D'autres études ont été réalisées sur *A. armatus* et *A. gombo*, à partir des graines de ce dernier deux galactomannanes ont été détectés avec un rapport M/G de 1,6 et 1,7 respectivement (**Boual et al., 2015 ; Chouana et al., 2017b**).

Tableau 01: Polysaccharides isolés de la racine d' *A. membranaceus* (Jin et al., 2014).

No.	Nom du composant	Composition monosaccharidique	Poids moléculaire (Da)	Structures	Propriétés pharmacologiques
01	APS	Glc, Ara, Gal and Rha			Immunomodulation
02	Polysaccharide d'astragale	Glc		(1→4) -Glucan	Antioxydant et antitumoral
03	APS	Glc	2.1×10^4	Un squelette de dextrane lié (1 → 4) avec une branche liée (1 → 6) tous les 10 résidus	Antioxydant et immunomodulatrice
04	APS-I	Ara:Xyl:Glc dans le rapport 0.54 : 1 : 18.14	4.8×10^6	Squelette principalement composé de - (1→3) Glc majeur et de quelques 1→4, 1→6 Glc, avec une chaîne latérale composée d'Ara et de Xyl	Antitumoral
05	APS-II	Ara:Xyl:Glc dans le rapport 0.23 : 1 : 29.39	8.7×10^3	Squelette principalement composé de - (1→3) Glc majeur et de quelques 1→4, 1→6 Glc, avec une chaîne latérale composée d'Ara et de Xyl	Antitumoral
06	APS	Glc	3.6×10^4	Un -(1→4) -D-glucane avec -(1→6) branches liées attachées à l'O-6 des points de ramification	Antitumoral et immunomodulatrice
07	APS-I	Glc:Gal:Ara dans le rapport 1.75 :1.63: 1	3.6×10^4		Anti-athérosclérose et anti-diabète
08	APS-II	Glc	1.2×10^4	Dextran lié principalement avec une liaison - (1 → 4) -D-glycosidique	Anti-athérosclérose et anti-diabète
09	APS-III	Glc	3.5×10^4	Dextran lié principalement avec une liaison - (1 → 4) -D-glycosidique	Anti-athérosclérose et anti-diabète
10	APS	Man, Gal, Fru, Fuc and Xyl		Hétéropolysaccharide avec et liaisons indicatrices	Antiviral et immunomodulatrice
11	Astragalan	Glc	1.5×10^4	(1→4) -Glucane	Antiviral
12	APS	Glc:Gal:Ara dans le rapport 1.75 :1.63 :1	3.6×10^4		Hépatoprotection
13	APS	Glc	3.6×10^4	Un -(1→4) -D-glucane, avec un seul -d-Glc en position C-6 tous les neuf résidus, en moyenne, le long de la chaîne principale	Protection rénale
14	APS	Rha:Glc:Gal:Ara dans le rapport 1.19:72.01:5.85:20.95	1.1×10^4		Anti-inflammation
15	AMon-S	Ara:Gal:GalA:GlcA dans le rapport 18 :18 :1 :1	7.6×10^4	-Motifs structuraux de type arabino-3,6-galactane	Activité de potentialisation du système réticulo-endothélial
16	F-8	Rha:Rib:Fuc:Ara:Xyl: Man:Gal:Glc dans le rapport 2:2:1:2:6:2:3:100	2.2×10^4		Immunomodulation
17	F-9	Fuc:Xyl:Glc dans le rapport 1:2:100	1.2×10^4		Immunomodulation
18	APS	Rha:Xyl:Glc:Gal:Man: Fru dans le rapport 4.9:4.7:8.3:122.2:2.2:3 .1			Immunomodulation
19	APSID3	Ara:Rha:Gal:Glc dans le rapport 2:2:5:6	5.8×10^5	L'unité de répétition minimale composée d'un Ara terminal, d'un Ara lié en 1,5, d'un Rha lié en 1,3, d'un Rha lié en 1,3,4, de six GlcA liés en 1,4 et de cinq liés en 1,4 Résidus GalA	
20	APS-I	Ara:Glc dans le rapport 1:3.45	1.7×10^6		
21	APS-II	Rha:Ara:Glc dans le rapport 1:6.25:17.86	1.2×10^6		
22	APS	Ara:Man:Glc:Gal dans le rapport 0.10:1.26:1:0.01			Antioxydant
23	APS		6.9×10^4		Immunomodulation
24	APS	Rha:Xyl:Glc:Gal dans le rapport 1:4:5:1.5	3.0×10^5	Squelette principalement composé de résidus -d-Gal liés en 1,3 avec insertion de -Glc, -Gal lié en 1,6, -Xyl lié en 1,5, -Gal lié en 1,4, -d-Gal, 1 ,2-linked -Rha, 1,2,4-linked -Rha résidus	

I.2.1.5. *Astragalus cruciatus* Link.

I.2.1.5.1. Description

L'espèce *Astragalus cruciatus* Link. (figure 01 et 02) est connue localement en Algérie sous le nom de « Bou akifa ». C'est une plante herbacée annuelle, mesurant de 10 à 30 cm de longueur et portant des poils blanchâtres. Les feuilles sont composées d'environ 11 paires de folioles petites et ovales, de couleur verte et couvertes de poils. Les fruits (cosses) sont petits, de la couleur de la plante dans son ensemble, courbés et avec une base légèrement plus large que le sommet (**Benchadi et al., 2013 ; Ozenda, 2004**). L'espèce a également quatre synonymes : *A. aristidis* Coss., *A. radiatus* Ehrenb., *A. trabutianus* Batt. et *A. corrugatus* Bertol.

I.2.1.5.2. Utilisation

À l'état frais, l'espèce *Astragalus cruciatus* Link. est un pâturage recherché par les chameaux en raison de sa sève abondante. Cependant, s'il est brouté en excès par fortes chaleurs, il peut entraîner une maladie appelée "Asaydal" par les nomades du Sahara occidental. Cette intoxication se manifeste par des troubles digestifs, en particulier des météorismes, accompagnés de désordres nerveux et de congestion cérébrale. À l'état sec, la plante est encore plus toxique et provoque chez les animaux une maladie souvent mortelle appelée "l-gergâr", dont les symptômes rappellent, mais en plus graves, ceux de la maladie précédente. Il semble que le toxique soit principalement localisé dans les graines (**Bellakhdar, 1997**).

I.2.1.5.3. Répartition et Habitat

Cette plante est commune dans les déserts mais rare en zone méditerranéenne (**Benchadi et al., 2013**). Elle pousse dans la plupart des endroits et prospère particulièrement dans les régions montagneuses, les monticules entourant les fermes et les vallées, en privilégiant les endroits les plus humides (**Helisse, 2005**).



Figure 01 : Photo d'*Astragalus cruciatus* Link. (Helisse, 2005).

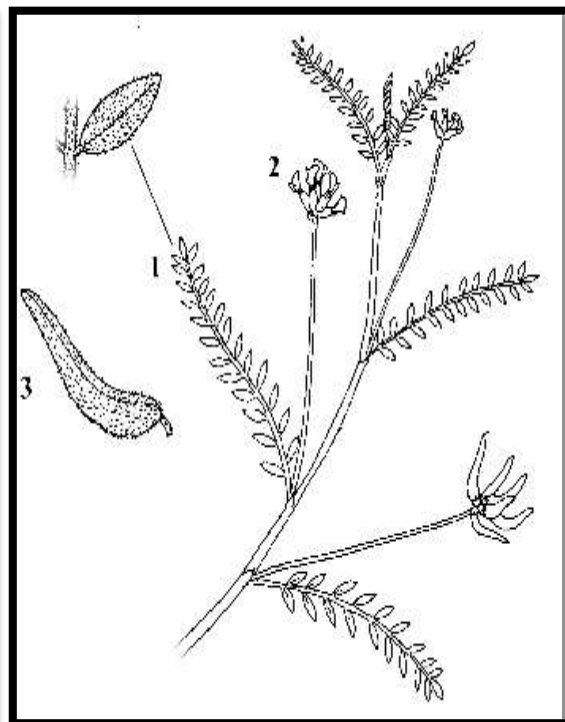


Figure 02 : Schéma d'*Astragalus cruciatus* Link. 1. Les feuilles 2. Les fleurs 3. Les gousses (Helisse, 2005).

I.2.1.5.4. Position systématique

La classification phylogénétique établie par le Legume Phylogeny Working Group (LPWG) permet de définir la position systématique d'*Astragalus cruciatus* Link. (Tableau 02) (LPWG, 2017).

Tableau 02 : Classification d'*Astragalus cruciatus* Link.

Embranchement	Cormophytes
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Papilionaceae
Tribu	Galgae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	<i>Astragalus cruciatus</i> Link.

I.2.1.6. *Astragalus gyzensis* Bunge.

I.2.1.6.1. Description

L'espèce *Astragalus gyzensis* Bunge (figure 03 et 04) a deux synonymes : *A. arpilobus* subsp. *A. hauarensis* (Boiss.) Podlech. Cette plante est localement connue en Algérie sous le nom de «Dlilia». C'est une petite plante herbacée annuelle de petite taille, avec des tiges cylindriques rampantes de couleur blanche à jaune et portant des poils blanchâtres. Les feuilles sont composées de 7 folioles vertes couvertes de poils. Les folioles sont larges et dépassent 8 mm de largeur. Les fleurs de cette plante peuvent être blanches, violettes ou rosâtres et se présentent sous forme d'une grappe de fruits au-dessus d'une grappe fleurie. Les fruits sont des gousses contenant de petites graines. Ces informations ont été rapportées par plusieurs sources, notamment **Amiri et al. (2020)** , **Ozenda (2004)** et **Helisse (2005)**.



Figure 03 : La plante d'*Astragalus gyzensis* Bunge. (Helisse, 2005).

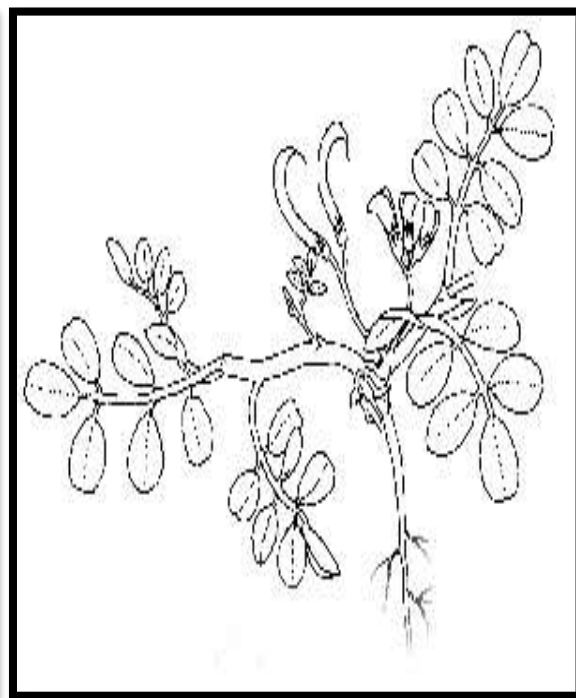


Figure 04 : Schéma d'*Astragalus gyzensis* Bunge. (Helisse, 2005).

I.2.1.6.2. Utilisation

Cette plante est particulièrement connue en médecine traditionnelle algérienne, où elle est utilisée contre les piqûres de scorpion et les morsures de serpent (**Chehema, 2006**). Elle fait également partie des plantes de pâturage qui contribuent à la diversification des régimes alimentaires des animaux (**Helisse, 2005**).

I.2.1.6.3. Répartition et Habitat

Elle est commune dans tout le Sahara et pousse en pieds isolés, après les pluies, dans les terrains sableux et argileux des lits d'oueds et des dépressions (Chehema, 2006).

I.2.1.6.4. Position systématique

La position systématique d'*Astragalus gyzensis* Bunge a été définie par la classification phylogénétique établie par le Legume Phylogeny Working Group (Tableau 03) (LPWG) en 2017.

Tableau 03 : Classification d'*Astragalus gyzensis* Bunge.

Embranchement	Cormophytes
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Papilionaceae
Tribu	Galgae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	<i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.

Chapitre II

Mucilages

II. Mucilages

Au cours de la différenciation de certaines cellules végétales, d'importantes quantités de matériaux polyosidiques sont synthétisées pour former le mucilage. Cette substance est relativement hydrophile (**Bouchet & Deysson, 1976**). Le mucilage est une substance gélatineuse de haut poids moléculaire produite par presque toutes les plantes. Il est principalement composé de polysaccharides, mais contient également des protéines, des minéraux et des lipides. Bien que la composition monosaccharidique et la structure polysaccharidique du mucilage aient déjà été étudiées, ce n'est que récemment que les premiers liens ont été établis entre la chimie du mucilage et ses propriétés fonctionnelles (**Nazari et al., 2020**). En raison de sa grande variabilité en termes de constituants chimiques, le mucilage assume probablement une multitude de fonctions physiologiques chez les plantes. On le trouve dans les rhizomes, les racines et les endospermes des graines, où il peut agir principalement comme réserve d'énergie. Les mucilages foliaires jouent également un rôle dans les réponses aux plaies, les interactions plante hôte-pathogène, le transport de l'eau et les réponses aux stress abiotiques. La capacité élevée de fixation de l'eau des groupes hydroxyle dans le noyau polysaccharidique permet au mucilage de s'hydrater et donc de stocker d'énormes réserves d'eau ce qui peut offrir aux plantes la capacité de résister à la sécheresse physiologique. Il est de plus en plus évident que les mucilages extracellulaires en particulier peuvent jouer un rôle important dans la résistance à la sécheresse de certaines espèces végétales (**Ghanem et al., 2010**). Des études antérieures ont examiné la composition en monosaccharides et la structure des polysaccharides de mucilage, ce n'est que récemment que les propriétés fonctionnelles du mucilage ont été liées à sa chimie sous-jacente (**Nazari et al., 2020**). Le mucilage dérivé des plantes, en raison de ses propriétés uniques liées à la santé et à l'alimentation (notamment l'activité anticancéreuse, l'inhibition enzymatique, la stimulation immunitaire et l'activité anti-diabétique), est largement utilisé comme ingrédient actif dans la production de produits pharmaceutiques, fonctionnels et nutraceutiques (**Tosif et al., 2021**).

II.1. Nature chimique des mucilages

Le mucilage, une substance gélatineuse de poids moléculaire élevé, est largement produite par diverses espèces végétales. Elle est principalement composée de polysaccharides, avec de petites quantités de protéines, de minéraux et de lipides (**Nazari et al., 2020**). Par hydrolyse, les mucilages produisent un grand nombre de monosaccharides différents. En fonction des produits d'hydrolyse obtenus, ils peuvent être classés en pentosanes (comme le xylane) ou en hexosanes (comme l'amidon ou la cellulose). Les gommes et les mucilages sont

étroitement liés aux hémicelluloses en termes de composition (Prajapati et al., 2013a). Structurellement, le mucilage est un complexe de polysaccharides polymériques, principalement composé de glucides à structures hautement ramifiées constituées d'unités monomères de L-arabinose, de D-xylose, de D-galactose, de L-rhamnose et d'acide galacturonique. De plus, ils contiennent des glycoprotéines et une variété de composés bioactifs tels que des tanins, des alcaloïdes et des stéroïdes (Tosif et al., 2021).

II.2. Anatomie des graines

Les galactomannanes des graines, également appelés gommages des graines, constituent le deuxième grand groupe de polysaccharides de stockage en termes de distribution dans le règne végétal et sont associés à la paroi cellulaire de l'endosperme des graines appartenant à plusieurs familles botaniques (Figure 05) (Mittal et al., 2016). Les cellules de l'endosperme des graines de *Trigonella foenum-graecum* sont totalement remplies de galactomannanes et bien qu'une paroi cellulaire primaire soit apparemment présente entre les parois de stockage, l'endosperme s'est avéré être non vivant. La couche d'aleurone présente dans les graines de *T. foenum-graecum*, *Trifolium incarnatum* (trèfle pourpre) et *Medicago sativa* (luzerne) est la couche cellulaire responsable de la production des hydrolases des galactomannanes. Dans les graines de guar, l'endosperme est également non vivant et les cellules sont presque totalement remplies de galactomannanes. D'autre part, dans les graines de *Ceratonia siliqua* (caroube), les cellules de l'endosperme sont vivantes et les galactomannanes peuvent être considérés comme un épaississant de la paroi. Dans ce cas, il n'y a pas de distinction claire entre l'endosperme et la couche d'aleurone et les enzymes sont probablement produites et libérées dans les parois cellulaires par les cellules endospermiques. Le cytoplasme des cellules de l'endosperme est rempli de corps protéiques, qui servent également de réserves lors de la germination. Bien qu'une couche d'aleurone unicellulaire soit présente entre le tégument et l'endosperme, il n'y a aucune preuve directe qu'elle produise des hydrolases des galactomannanes. Contrairement à la caroube, dans les graines de *Sesbania marginata*, une couche d'aleurone est clairement visible entre le tégument et l'endosperme, mais en même temps, la plupart des cellules de l'endosperme contiennent des corps protéiques. Une anatomie complètement différente se produit dans les graines de *Schizolobium parahybum*. Au lieu d'une couche d'aleurone, on observe de longues cellules de type haustorium, qui semblent être immergées dans un endosperme vitreux de galactomannanes (Buckeridge et al., 2000).

Les graines de fenugrec dicotylédone sont composées d'un tégument ridé brun-jaune ou d'une enveloppe, renfermant deux moitiés d'endosperme translucide blanchâtre principalement composées de polysaccharides hydrosolubles (des galactomannanes). Les

graines contiennent des protéines (25-30 %), un extrait éthylique (7-9 %), des saponines stéroïdiennes (5-7 %), des galactomannanes (25-30 %), des fibres insolubles (20-25 %) et des cendres (3-4 %). Entre les deux moitiés d'endosperme se trouve une portion de germe jaunâtre sablé. Ce germe est principalement composé de protéines comestibles de bonne qualité, et contient également un extrait éthylique (5-7 %) composé de diosgénine, de pigments jaunes, de trigonelline, d'acides aminés libres, de vitamines du groupe du complexe B et de flavonoïdes. Le matériau fibreux contient principalement des fibres cellulosiques insolubles et des galactomannanes hydrosolubles (Mathur & Mathur, 2005).

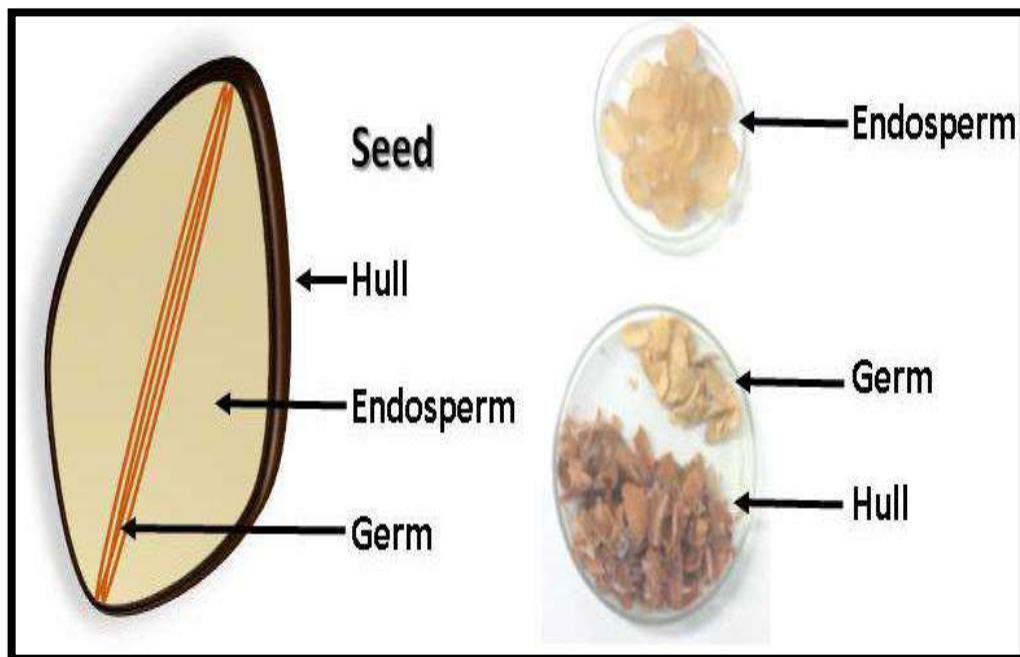


Figure 05 : Anatomie des graines

II.3. Polysaccharides de réserves dans les plantes supérieures

La paroi végétale est composée d'une matrice extracellulaire qui entoure chaque cellule végétale. Cette matrice (Figure 06) est constituée d'un mélange complexe de polysaccharides et de glycoprotéines qui ont des structures et des compositions osidiques variées. Les polysaccharides qui composent la paroi végétale peuvent être neutres ou acides, linéaires ou ramifiés, et peuvent être substitués par des groupes méthyles ou acétyles. Les polysaccharides neutres incluent les arabinogalactanes, les arabinanes, les galactanes, les β -glucanes, les glucomannanes, les xyloglucanes, les xylanes, les mannanes et les galactomannanes. Les polysaccharides acides incluent les homogalacturonanes, les polysaccharides pectiques et les glucuronoxylanes (Angone et al., 2010). Les cellules végétales peuvent également stocker des polysaccharides de réserve, généralement pendant les périodes d'activité photosynthétique intense. L'amidon est le seul polysaccharide stocké dans les plastes, tandis que les

polysaccharides non amylacés sont stockés soit dans des vacuoles, soit à l'extérieur du plasmalemme. Les polysaccharides vacuolaires peuvent être utilisés comme matériaux de réserve, tandis que les polysaccharides extra-plasmalemmiques peuvent servir de macromolécules structurales ou de substances de réserve. Les polysaccharides de réserve non amylacée se trouvent principalement dans les graines, les racines, les rhizomes, les tubercules, les bulbes, les tiges des pousses et dans une moindre mesure, dans les feuilles. Ils peuvent se produire conjointement avec l'amidon ou être les seules réserves glucidiques dans un organe végétal donné (**Meier & Reid, 1982**).

Les polysaccharides des parois cellulaires sont chimiquement inertes et présentent différents degrés de solubilité dans l'eau. Cette caractéristique confère des avantages similaires à ceux de l'amidon (faible réactivité et capacité à former des gels) et permet l'existence d'un "compartiment" cellulaire, la paroi cellulaire, qui permet à l'eau de s'écouler avec un degré de liberté considérable. Les polysaccharides de stockage de la paroi cellulaire ont généralement été classés en trois groupes : les mannanes, les xyloglucanes et les galactanes (**Buckeridge et al., 2000**). Les mannanes sont les principaux polysaccharides de réserve d'énergie dans les graines de différentes familles de plantes (par exemple, les légumineuses, les palmiers) et peuvent également être trouvés en tant que composants structuraux dans la paroi cellulaire végétale secondaire des résineux. Les mannanes peuvent être classés en mannanes linéaires, galactomannanes, glucomannanes et galactoglucomannanes (**Vilaplana et al., 2018**). Les polysaccharides les mieux étudiés de ce groupe sont les galactomannanes, en raison de leur importance économique. Ils peuvent être utilisés comme agents épaississants et stabilisants dans l'industrie. De plus, ils peuvent être isolés des graines avec une pureté et un rendement relativement élevé, sont solubles dans l'eau, non toxiques et biocompatibles et sont également adaptés aux applications biologiques.

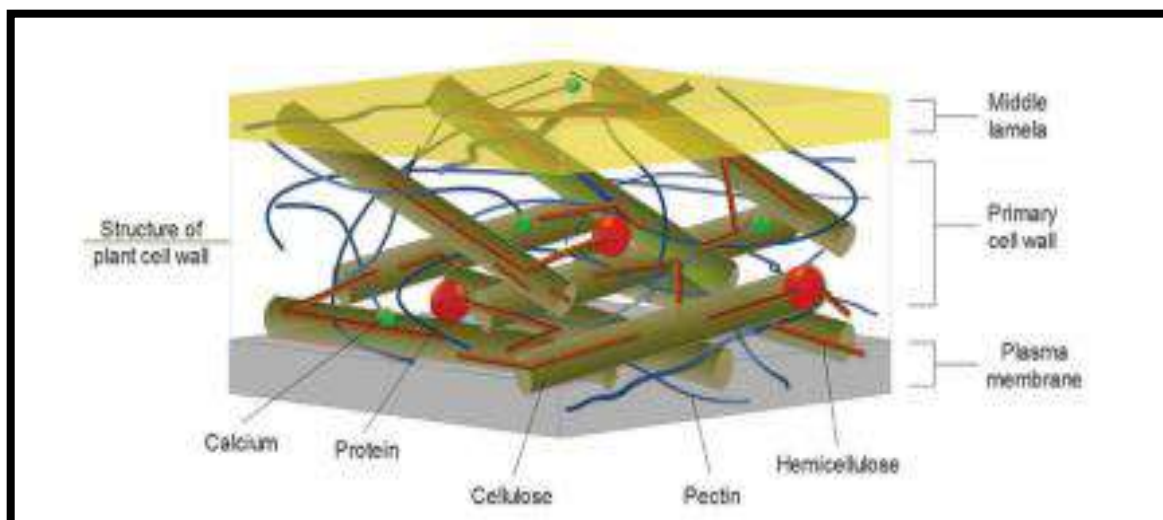


Figure 06 : Structure de la paroi cellulaire des plantes

II.4. Généralités sur les polysaccharides

Les biopolymères naturels peuvent être classés en huit grandes familles, comprenant les acides nucléiques, les polyamides, les polyoxoesters, les polythioesters, les polyesters inorganiques, les polyisoprénoides et les polysaccharides. Ces derniers ont été identifiés chez une multitude d'organismes, allant des bactéries aux animaux, en passant par les champignons, les micro- et les macro-algues, ainsi que les plantes supérieures (**Petera, 2016**). Les plantes présentent des stratégies différentes pour accumuler de grandes quantités de ces composés, ce qui favorise leur adaptation à différents environnements. Ces substances sont mobilisées au cours du développement et leurs produits sont utilisés à plusieurs fins, telles que la génération d'énergie et la production de matières premières. Parmi les principales substances stockées par les plantes, de nombreux polymères glucidiques ont été sélectionnés au cours de l'évolution (**Buckeridge et al., 2000**). Environ 99% des polysaccharides naturels totaux se trouvent dans les plantes et les légumes, ce qui en fait une source renouvelable majeure de ces polymères, grâce à leurs propriétés physico-chimiques utiles telles que le pouvoir émulsifiant, la viscoélasticité, le polyélectrolyte conformation, l'adhérence, la biocompatibilité et le pouvoir stabilisant. Ils sont généralement exploités dans plusieurs domaines d'application. Les polysaccharides naturels des plantes sont non toxiques, biocompatibles, biodégradables et solubles dans l'eau (**Poli et al., 2011**).

Les polysaccharides sont composés de nombreux résidus monosaccharidiques liés les uns aux autres par des liaisons O-glycosidiques. La grande diversité des caractéristiques structurales des polysaccharides, qui provient de différences dans la composition des monosaccharides, les types et modèles de liaison, les formes de chaîne et le degré de

polymérisation, dicte leurs propriétés physiques, notamment la solubilité, le comportement d'écoulement, le potentiel de gélification et/ou la surface et l'interface. La diversité structurale dicte également les propriétés fonctionnelles uniques présentées par chaque polysaccharide. Les polysaccharides, qui sont disponibles dans le commerce pour être utilisés dans les industries alimentaires et non-alimentaires comme stabilisants, épaississants et gélifiants, inhibiteurs de cristallisation et agents d'encapsulation, etc., sont également appelés hydrocolloïdes (**Izydorczyk et al., 2005**). Ces dernières années, les polysaccharides végétaux sont devenus une classe importante de produits naturels bioactifs. Une large gamme de polysaccharides a été rapportée comme présentant des activités anti-tumorales, immunostimulatrices, anti-complémentaires, anti-inflammatoires et anti-coagulantes. La plupart des polysaccharides dérivés de plantes supérieures ne provoquent pas d'effets secondaires importants, ce qui constitue un problème majeur associé aux polysaccharides bactériens et aux composés synthétiques (**Shi & Fu, 2011**).

II.4.1. Pectines

II.4.1.1. Généralités sur les pectines

Les pectines (Figure 07) sont une famille de polysaccharides complexes présents dans la paroi cellulaire primaire et les régions intercellulaires des dicotylédones, qui confèrent de la flexibilité et de la résistance mécanique aux plantes (**Belkheiri et al., 2021**). Le poids moléculaire de la pectine mesuré par viscosimètre est généralement compris entre 50 et 150 kDa, tandis qu'il peut atteindre jusqu'à 1000 kDa en utilisant la méthode de diffusion de la lumière. La pectine est largement utilisée comme additif naturel dans l'industrie alimentaire et a des impacts bénéfiques sur la santé humaine. L'importance de la pectine réside dans sa capacité à former des gels en combinaison avec du sucre et de l'acide. Cette molécule hydrocolloïde absorbe une grande quantité d'eau et confère des propriétés épaississantes et gélifiantes (**Zoghi et al., 2021**).

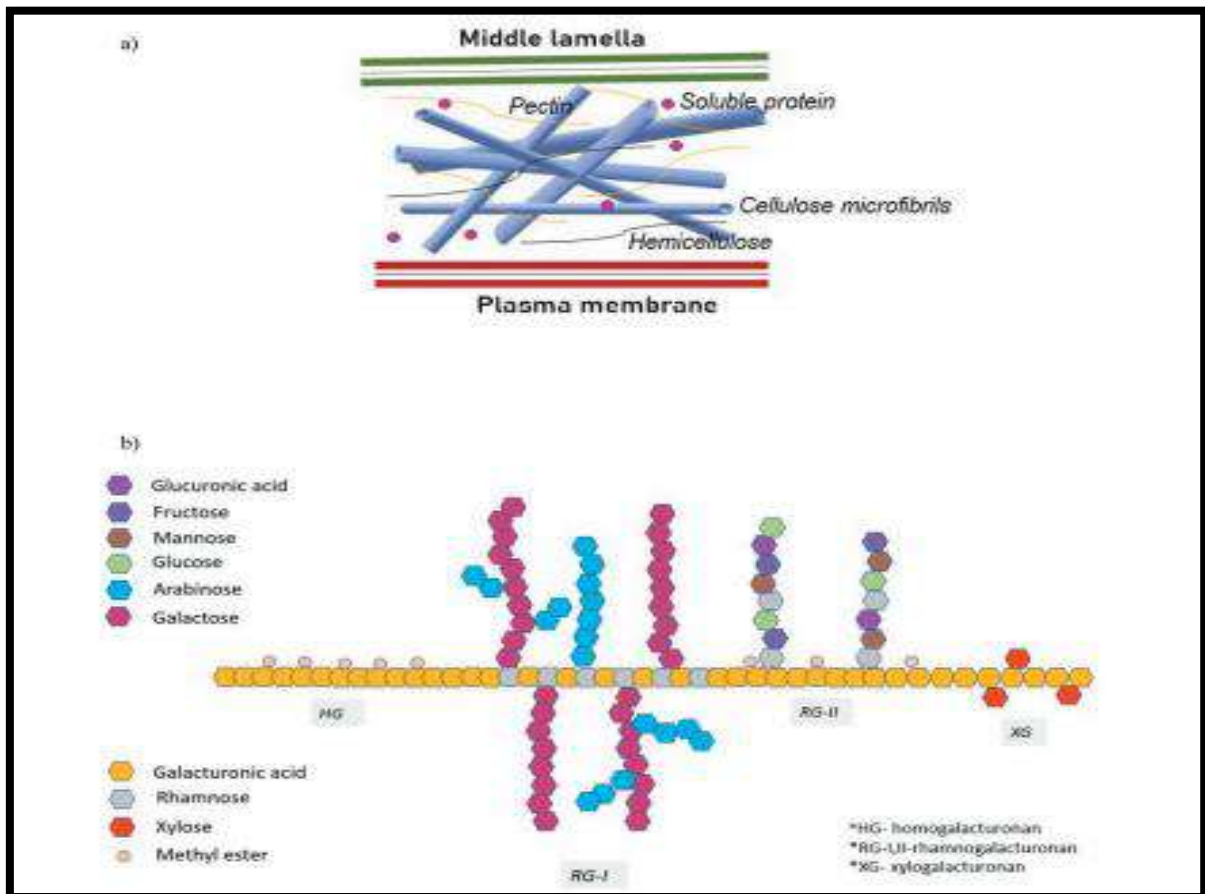


Figure 07 : a) La pectine ainsi que les composants cellulaires se trouvent dans les couches de la paroi cellulaire des plantes ; b) Représentation structurale d'une molécule de pectine (Khubbe et al., 2021).

II.4.1.2. Structure moléculaire des pectines

La pectine (Figure 08) est constituée principalement d'acide D-galacturonique relié en α -(1→4) par des liaisons glycosidiques, ainsi que de faibles quantités de α -L-rhamnose plus ou moins ramifiées. La structure de la pectine varie selon l'espèce végétale, le stade de développement, la localisation et la méthode d'extraction. Les homogalacturonanes (HG) sont les composants les plus abondants dans la paroi d'un tissu non différencié, représentant 65% des pectines, tandis que la proportion de rhamnogalacturonane I (RG I) se situe entre 20% et 35%. Les rhamnogalacturonanes II (RG II) et les xylogalacturonanes (XGA) sont des composés minoritaires représentant moins de 10% de la pectine. Ces différents domaines interagissent pour former une macromolécule complexe selon plusieurs modèles structuraux (Sebaoui, 2018).

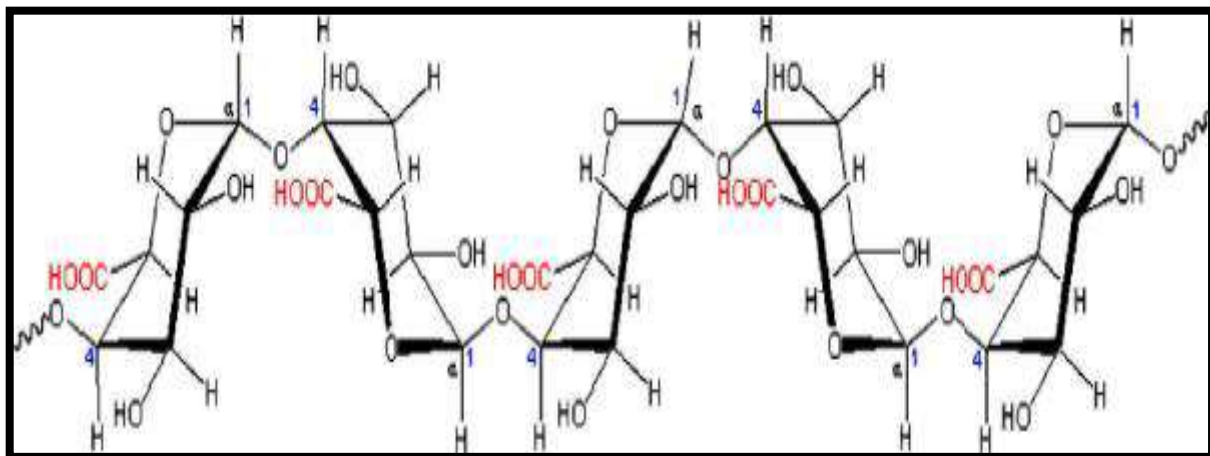


Figure 08 : Molécule de pectines (Sebaoui, 2018).

II.4.2. Galactomannanes

II.4.2.1. Généralités sur les galactomannanes

Les galactomannanes sont un groupe important d'hydrocolloïdes polysaccharidiques produits dans certaines plantes, sous forme de polysaccharides de paroi cellulaire et de stockage. Ils sont principalement produits à partir de graines de la famille des légumineuses. En effet, une étude menée par **Mathur & Mathur (2005)** a examiné 163 graines de légumineuses, parmi lesquelles 119 endospermes contenaient des galactomannanes comme principal constituant polysaccharidique des réserves. Cependant, certains galactomannanes provenant de sources non légumineuses ont également été identifiés, notamment dans des plantes telles que *Cocos nucifera*, *Coffea arabica*, *Elaies guineensis*, *Phoenix dactylifera* et *Phytelphas macrocarpa*. Dans de rares cas exceptionnels, comme chez *Glycine max*, *Gymnocladus dioica* ou *Mucuna*, les galactomannanes se trouvent respectivement dans la coque, la face interne du tégument et le noyau (**Nishinari et al., 2007**).

Les galactomannanes (Figure 09) sont connus pour leurs propriétés de liaison depuis l'Antiquité, les Égyptiens les utilisaient pour coller les bandages des momies en employant la gomme de caroube. Toutefois, ce n'est qu'au cours du 20^{ème} siècle que les galactomannanes sont devenus des produits industriels. Ils ont de nombreuses utilisations, notamment comme agent épaississant dans l'industrie alimentaire pour des produits tels que les crèmes glacées, mayonnaises, sauces et produits de boulangerie, ainsi que dans l'industrie non-alimentaire, notamment l'imprimerie, la photographie, le béton, les explosifs, les fluides de forage (pétrole), la peinture, l'encre, le cirage, les textiles, les produits de beauté et les produits anti-diarrhéiques (**Dakia et al., 2009**).

Les études sur la structure, la caractérisation, les modifications, la biogenèse et les applications des galactomannanes sont à jour, comme en témoigne la constante augmentation du volume de données scientifiques sur ce type de biopolymères (Olennikov & Rokhin, 2010).



Figure 09 : Les graines et les farines de fenugrec, guar, tara et caroube (Kontogiorgos, 2018).

II.4.2.2. Structure moléculaire des galactomannanes

Les galactomannanes ont tous une structure générale similaire, avec un squelette composé d'un β -(1 \rightarrow 4)-D-mannane auquel est attaché une seule branche D-galactose liée à α -(1 \rightarrow 6). Les différences entre eux sont principalement observées à travers le rapport mannose/galactose (M/G), qui varie en fonction de l'origine végétale. Le poids moléculaire moyen des galactomannanes varie de 1 à 2×10^6 g/mol, mais cela dépendra des conditions d'extraction et de solubilisation (Figure 10) (Binhamad, 2018).

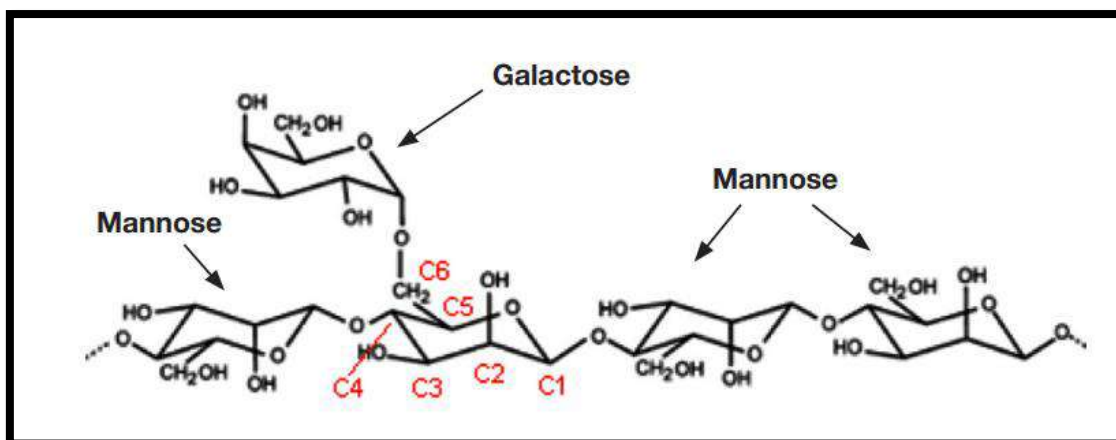


Figure 10 : Structure moléculaire des galactomannanes (Sittikijyothin et al., 2005).

II.4.2.3. Principales sources des galactomannanes

Les quatre principales sources végétales de galactomannanes sont la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua* L.), le guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), le tara (*Caesalpinia spinosa*) et le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) (Dos Santos et al., 2015). Le rapport mannose sur galactose (M/G), c'est-à-dire le nombre de résidus de mannose pour un résidu de galactose, est d'environ 4 : 1 pour la gomme de caroube (LBG), d'environ 3 : 1 pour la gomme de tara (TG), d'environ 2 : 1 pour la gomme guar (GG) et d'environ 1 : 1 pour la gomme de fenugrec (FG). Des études ont montré que les caractéristiques moléculaires des galactomannanes, telles que le rapport M/G et la masse molaire, peuvent varier en fonction de la variété et des conditions de culture (climat, sol), ainsi que de la méthode d'extraction ou de préparation du polymère, même à partir de la même source de galactomannanes (Tableau04 et Figure11) (Dakia et al., 2009).

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) est une plante importante, contenant divers composés phytochimiques connus, qui est récoltée dans différentes régions, notamment dans la partie ouest de l'Asie. Le galactomannane obtenu à partir de graines de fenugrec présente une teneur élevée en glucides et une faible teneur en protéines et matières grasses. Des recherches antérieures ont démontré que les galactomannanes de graines de fenugrec ont la capacité de former des émulsions de meilleure qualité et plus stables que les autres galactomannanes. Par conséquent, la production d'émulsions contenant cet hydrocolloïde peut être utile pour les chercheurs de l'industrie alimentaire (Niknam et al., 2022).

Les galactomannanes de caroube présentent la plus faible teneur en galactose. Les galactomannanes de caroube donnent des solutions relativement stables et très visqueuses, qui sont peu affectées par les changements de pH. Elles forment également des gels comestibles car elles interagissent avec d'autres polysaccharides tels que le carraghénane, l'agarose et le xanthane. La taille moléculaire et la structure (rapport Man/Gal) des galactomannanes sont des caractéristiques moléculaires importantes qui ont une forte influence sur les propriétés fonctionnelles de la gomme de caroube dans les dispersions aqueuses pures ou dans les produits alimentaires. Ces caractéristiques moléculaires sont également des déterminants importants de leur rhéologie en solution, de leur capacité à s'auto-associer (lors de la congélation et de la décongélation) et des interactions avec d'autres polysaccharides. Cependant, il est encore peu connu des différences intervariétales dans les caractéristiques moléculaires des galactomannanes de graines de caroube. En raison de l'intérêt pour les bénéfices physiologiques, tels que l'atténuation des réponses glycémiques et insuliniques, la réduction du taux de cholestérol sérique, etc., les études sur la caractérisation des structures et

des propriétés en solution des polysaccharides végétaux sont importantes pour combler les lacunes de structure-fonction de ces matériaux et aider au développement de nouveaux produits alimentaires bénéfiques pour la santé (**Lazaridou et al., 2000**).

La gomme de tara est un galactomannane commercial dérivé des endospermes de graines de l'arbre épineux *Caesalpinia*. Elle est considérée comme une alternative importante à la gomme de guar et à la gomme de caroube en raison de ses propriétés fonctionnelles similaires et de la pénurie d'approvisionnement des deux galactomannanes courants. Elle est généralement utilisée comme épaississant et stabilisant dans les industries alimentaires et chimiques. Cependant, son application est limitée par ses propriétés rhéologiques qui dépendent du poids moléculaire des polysaccharides. La gomme de tara avec un grand poids moléculaire présente une viscosité élevée même à faible concentration, ce qui peut causer des problèmes d'hydratation partielle et de modifications chimiques dans les produits. Pour répondre aux diverses demandes de traitement dans différentes industries, il est nécessaire de diminuer sa viscosité et de préparer des galactomannanes de tara avec différents poids moléculaires. Des recherches pertinentes sont nécessaires pour explorer son potentiel en tant que complément alimentaire, biomatériau et biomédecine (**Wu et al., 2015**).

La gomme de guar est le galactomannane le plus couramment utilisé dans l'industrie et possède un rapport M/G d'environ 2,2. Sa popularité découle principalement de ses propriétés structurales qui permettent de produire des solutions polymères à haute viscosité. Le guar peut également être modifié chimiquement ou enzymatiquement pour étendre ses applications industrielles. Les différentes formes de guar et ses modifications ont ainsi généré une variété d'utilisations commerciales dans des domaines tels que la fracturation hydraulique, l'alimentaire, les produits pharmaceutiques, les textiles, les cosmétiques, les détergents, ainsi que les soins de santé et personnels. De plus, le guar est considéré comme sûr pour la consommation humaine et est souvent combiné avec d'autres biopolymères pour épaissir ou lier les produits alimentaires. Étant donné que le guar possède le rapport M/G le plus faible parmi les galactomannanes naturels disponibles sur le marché, des galactomannanes avec un rapport M/G plus élevé peuvent être obtenus par débranchage du guar. Ces guar modifiés devraient avoir des propriétés similaires à celles d'autres galactomannanes naturels (**Shamsheer et al., 2007**).

Bien que de nombreuses plantes puissent être sources de galactomannanes, seules la gomme de caroube, le guar, le tara et la gomme cassia sont fabriqués commercialement. Parmi ces sources de galactomannanes, la gomme de guar, facilement disponible à moindre coût, est largement étudiée par divers chercheurs (**Thombare et al., 2016**). Par conséquent,

les galactomannanes ne peuvent pas toujours être remplacés par d'autres dans une application spécifique. C'est la raison pour laquelle les galactomannanes provenant de plusieurs sources végétales différentes doivent être utilisés pour la production commerciale, malgré leur disponibilité variable et leurs différences de prix. Les variations moléculaires, chimiques et structurales qui entraînent des différences dans leur comportement fonctionnel et leur occurrence ont également entraîné l'existence d'un large spectre de ces polysaccharides végétaux (Mathur, 2012). En général, les galactomannanes naturels sont difficiles à dissoudre dans l'eau car ils ont des poids moléculaires élevés et une viscosité élevée en solution aqueuse. De plus, les galactomannanes présentent des cristallinités liquides lyotropes et thermotropes à certaines concentrations dans l'eau, faisant d'eux l'un des groupes importants de polysaccharides ramifiés (Muschin & Yoshida, 2012).

Tableau 04 : Rapport Mannose/ Galactose des principales légumineuses

Source	Ratio (Man/Gal)
<i>Schizolobium parahybum</i>	3 : 1
<i>Mimosa scrabella</i>	1,1 : 1
<i>Cyamopsis tetragonolobus</i> (la gomme de guar)	2 : 1
<i>Caesalpinia spinosa</i> (la gomme de tara)	3 : 1
<i>Ceratonia siliqua</i> (la gomme de caroube)	4 : 1
<i>Trigonella foenum-graecum</i> (la gomme de fenugrec)	1 : 1

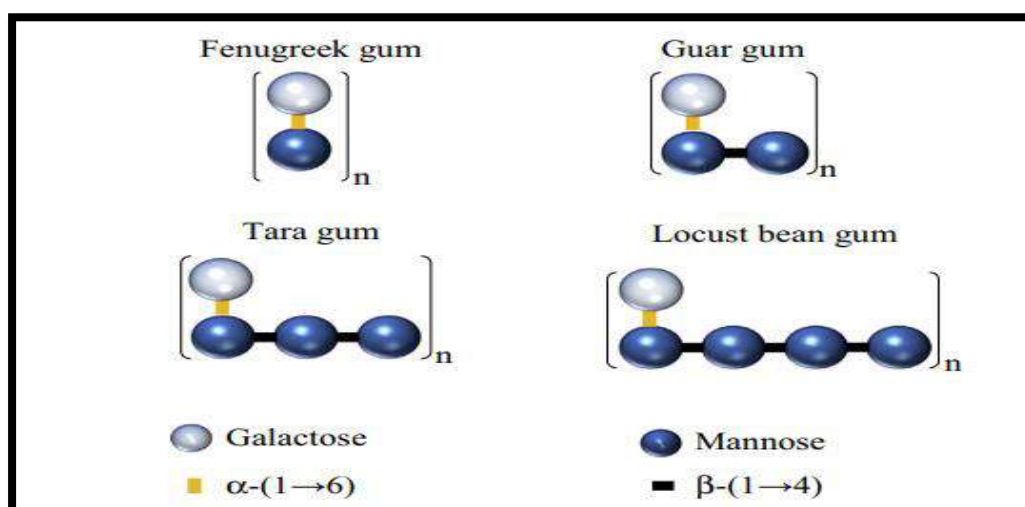


Figure 11 : Structures des unités répétitives des quatre principaux galactomannanes. Les résidus de mannose sont liés avec β -(1/4) et le galactose via des liaisons glycosidiques α -(1/6) (Kontogiorgos, 2018).

II.4.2.4. Répartition des unités des galactoses sur les chaînes des mannanes

Les galactomannanes ont des structures générales similaires, mais diffèrent dans leur rapport mannose/galactose (M/G). Une étude menée par **Daas et al. (2000)** a montré que la distribution des unités de galactose sur la chaîne de mannose n'obéissait pas à une simple répartition statistique. En effet, l'utilisation d'enzymes telles que la β -mannanase issue d'*Aspergillus niger* ou les graines de guar en germination permet de dégrader le polymère des galactomannanes. Ces enzymes coupent les liaisons β (1-4) de la chaîne de mannane aux endroits dépourvus de galactose. L'analyse de la composition en monosaccharides des produits de dégradation (oligosaccharides) a permis de proposer trois types de distribution des unités de galactose : une disposition ordonnée ou régulière, une disposition aléatoire et une disposition en blocs uniformes (où les "zones lisses", totalement dépourvues de ramification des galactoses, alternent avec les "zones hérissées", où les résidus galactoses sont présents sur toutes les unités mannoses) (Figure 12) (**Dakia et al., 2009**).

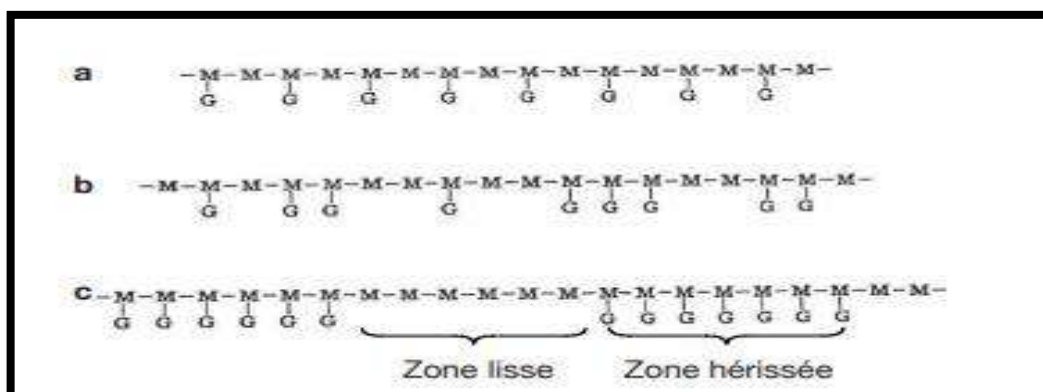


Figure 12 : Différents types de distribution des résidus de galactose le long de la chaîne de mannane: une disposition régulière (a), une disposition aléatoire (b) et une disposition en blocs uniformes (c) (**Dakia et al., 2009**).

II.4.2.5. Conformation des galactomannanes:

Les galactomannanes ont des structures générales similaires, mais diffèrent dans le rapport mannose sur galactose (M/G). Une étude menée par **Daas et al. (2000)** a montré que la distribution des unités de galactose sur la chaîne de mannose n'obéit pas à une simple répartition statistique. En effet, l'utilisation d'enzymes (β -mannanase issue d'*Aspergillus niger* ou des graines de guar en germination) permet de dégrader le polymère des galactomannanes. Les enzymes coupent les liaisons β (1-4) de la chaîne de mannane aux endroits dépourvus de

galactose. L'analyse de la composition en monosaccharides des produits de dégradation (oligosaccharides) a permis de proposer trois types de distribution des unités galactose: une disposition ordonnée ou régulière, une disposition aléatoire et une disposition en blocs uniformes (où les « zones lisses » totalement dépourvues de ramification des galactoses alternent avec les « zones hérissées » où les résidus galactoses sont présents sur toutes les unités mannoses) (**Dakia et al., 2009**). Les unités monosaccharides des galactomannanes possèdent une paire cis des groupes hydroxyles sur leur structure cyclique pyranosyle (positions 2,3 dans le cas du mannose et position 3,4 dans le cas du galactose). En revanche, le glucose, la cellulose et l'amidon ont des groupes trans-hydroxyle. La présence d'une paire cis-hydroxyle avec une configuration de chaîne essentiellement linéaire conduit à de nombreuses interactions uniques des galactomannanes. La propriété de liaison hydrogène des polymères de galactomannanes est beaucoup plus forte que celle du glucane. Les galactomannanes en solution ont une conformation allongée en forme de bâtonnet et occupent un grand volume de giration. Les polysaccharides de fenugrec ont un squelette de mannane presque complètement substitué, laissant peu de chance d'association interchaîne. Les molécules giratoires de ces polysaccharides linéaires se colloïdent les unes avec les autres et avec des amas de molécules de solvant pour produire des solutions de haute viscosité, qui dépendent du poids moléculaire (**Mathur & Mathur, 2005**).

II.4.2.6. Propriétés physico-chimique des galactomannanes

En comparant différents galactomannanes, il est évident que l'augmentation de la substitution conduit à une solubilité plus élevée, mais une réticulation supplémentaire via des liaisons hydrogènes va de pair avec une solubilité moindre. Le rapport M/G varie considérablement en fonction de la source des galactomannanes et se situe généralement entre 1,1 et 5,0. Les variations dans la structure des galactomannanes, en particulier dans le rapport M/G et la structure fine, provoquent des changements significatifs dans la solubilité, la viscosité et les interactions des galactomannanes avec d'autres polysaccharides (**Prajapati et al., 2013b**).

II.4.2.6.1. Solubilité

En pratique, la solubilité des galactomannanes en solution aqueuse est généralement mesurée en pourcentage, en évaluant la proportion du produit qui reste en solution après centrifugation. La solubilité dépend de nombreux facteurs tels que les propriétés physicochimiques des molécules, l'équilibre des interactions entre les molécules et le solvant,

ainsi que l'état physique de la matière (Gillet *et al.*, 2014). Les galactomannanes ayant une teneur élevée en galactose sont généralement plus solubles dans l'eau et ont tendance à former des gels moins forts par rapport aux galactomannanes ayant un rapport M/G plus faible. Cette solubilité plus élevée est attribuée à la présence d'un plus grand nombre de chaînes latérales, qui maintiennent les chaînes principales de mannose suffisamment éloignées pour empêcher des interactions intermoléculaires efficaces (Prajapati *et al.* 2013b). Le niveau de substitution en galactose est également un facteur clé dans la solubilité des galactomannanes. Un taux de substitution en galactose d'au moins 10% est nécessaire pour une solubilité adéquate dans l'eau. Les galactomannanes ayant une teneur en galactose inférieure à 10% ont tendance à former des précipités à température ambiante en raison de l'association des régions non substituées du polymère. La solubilité à des températures plus basses est limitée aux chaînes ayant une teneur en galactose supérieure à la valeur moyenne de la gomme entière, et des fractions de différents rapports M/G peuvent être obtenues en dissolvant à des températures progressivement plus élevées (Buckeridge *et al.*, 2010). En conclusion, le niveau de solubilité des galactomannanes dépend de nombreux facteurs, notamment la concentration, la température de la solution, les caractéristiques structurales des polymères et la masse moléculaire (Gillet *et al.*, 2014).

II.4.2.6.2. Stabilité

La dépolymérisation de la chaîne des mannanes entraîne une réduction significative de la viscosité. Cela se produit, par exemple, lorsque des solutions de galactomannanes à pH très faible sont chauffées. À température ambiante, ces solutions sont stables dans une plage de pH allant de 3 à 11, mais elles peuvent subir une dégradation par les micro-organismes. Par conséquent, il est recommandé de les stériliser avant de les conserver (Dionisio & Grenha, 2012). Les solutions de gomme de guar et de tara présentent une très bonne stabilité lors des traitements de congélation-décongélation, tandis que celle de caroube devient partiellement insoluble après la congélation (Neukom, 1989).

II.4.2.6.3. Viscosités

Les galactomannanes ont la capacité de former des solutions très visqueuses à faibles concentrations, qui sont légèrement affectées par le pH, l'ajout d'électrolytes et le traitement thermique. Ces solutions présentent généralement un comportement non newtonien, avec une viscosité qui diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement. La viscosité des solutions dépend principalement de la masse molaire, tandis que les interactions synergiques semblent

être déterminées par le rapport mannose/galactose (M/G) et la structure fine de la chaîne des galactomannanes (**Bourbon et al., 2010**). En général, les galactomannanes ayant une teneur plus élevée en galactose sont facilement solubles dans l'eau et présentent une tendance plus faible à former des gels suite à des interactions synergiques par rapport à ceux avec une teneur inférieure en galactose (**Prajapati et al., 2013b**). Les hydrocolloïdes sont utilisés pour modifier les attributs texturaux des aliments et l'étude de leur comportement rhéologique est essentielle pour le calcul de tout processus impliquant un écoulement de fluide (par exemple, dimensionnement de la pompe, extraction, filtration, extrusion, purification). Ils jouent également un rôle important dans l'analyse des conditions d'écoulement dans les processus alimentaires tels que la pasteurisation, l'évaporation, le séchage et l'asepsie (**Bourbon et al., 2010**).

II.4.2.6.4. Interaction avec d'autres polysaccharides

Les galactomannanes extraits de graines de quatre espèces différentes de Leguminosae, à savoir *Adenantha pavonina*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Gleditsia triacanthos* et *Sophora japonica* présentent des caractéristiques adaptées à leur utilisation dans l'industrie alimentaire et biomédicale. Les interactions synergiques des deux galactomannanes non conventionnels (*G. triacanthos* et *S. Japonica*) avec le carraghénane et le xanthane offrent des alternatives aux galactomannanes traditionnels, tels que la gomme de guar et la gomme de caroube avec les mêmes polysaccharides. Ces interactions peuvent être utilisées pour conférer différentes propriétés rhéologiques aux produits alimentaires (**Albuquerque et al., 2014**). En outre, les galactomannanes ayant moins de chaînes latérales (rapport M/G plus élevé) peuvent interagir avec d'autres polysaccharides en raison de leurs longs blocs d'unités de mannose non substituées. Les galactomannanes sont riches en groupes hydroxyle, ce qui leur permet de se lier et d'absorber de l'eau. Ils sont également riches en groupes cis-OH, qui permettent l'agrégation des chaînes en chaînes via des liaisons hydrogène, rendant l'hydratation plus complexe. Dans ce cas, une réticulation par échange peut avoir lieu. La substitution par du galactose introduit un encombrement stérique entre les molécules, améliorant ainsi la solubilité dans l'eau (**Prajapati et al., 2013b**).

II.4.2.7. Stabilité et dégradation des galactomannanes

Les galactomannanes peuvent être dégradés par la dégradation thermique, lorsqu'ils sont chauffés à des températures très élevées pendant une période prolongée, ou par l'hydrolyse acide. Les liaisons glycosidiques sont hydrolysées dans les solutions de pH= 3 ou moins,

entraînant une perte rapide de viscosité. À des valeurs de pH alcalines douces, la β -élimination de l'extrémité réductrice de la chaîne peut se produire, ce qui entraîne un raccourcissement lent de la chaîne. Les galactomannanes peuvent également être dégradés enzymatiquement par des enzymes capables de cliver les trois liaisons sensibles: les liaisons endo- et exo- β -1-4 sur le squelette D-mannose et la liaison α -1,6 entre l'unité mannose et la chaîne latérale galactose. Ces enzymes sont respectivement l'endo- et l'exo- β -mannanase et la α -galactosidase (Figure 13) (Landin & Echezarreta, 2010).

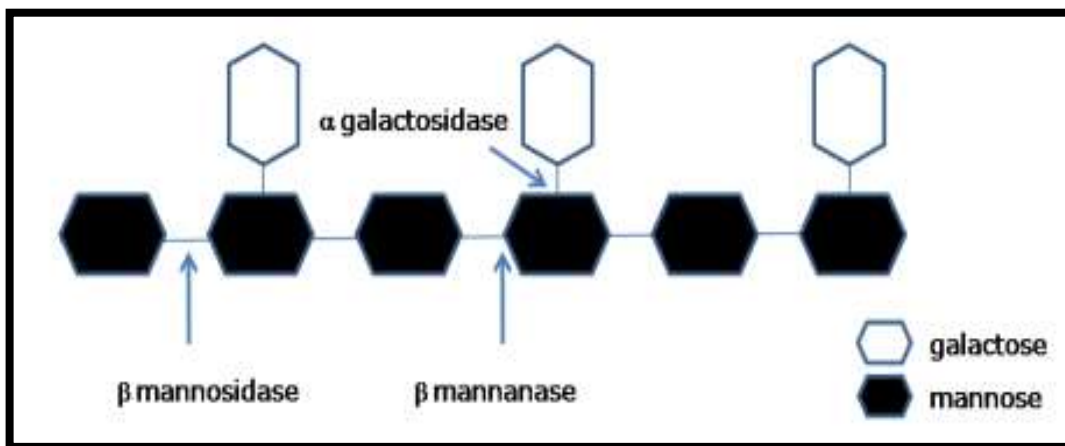


Figure 13 : Structure générale du galactomannane et liaisons susceptibles d'être clivées par différentes enzymes (Landin & Echezarreta, 2010).

II.4.2.8. Fonctions biologiques des galactomannanes

Le rôle biologique des galactomannanes dans les graines de légumineuses est complexe et difficile à comprendre. En plus d'être des polysaccharides de réserve, ils fournissent également un environnement propice à la germination de la graine et protègent contre le stress hydrique pendant les périodes de pénurie d'eau. Ils régulent également l'absorption d'eau par les graines de différentes espèces végétales et créent des conditions favorables à leur croissance dans les conditions climatiques prédominantes d'une région géographique. Cette propriété d'avoir une forte affinité pour l'eau est partagée à des degrés divers par tous les galactomannanes et elle a trouvé de nombreuses applications dans l'industrie et la production alimentaire (Mathur, 2012).

II.4.2.9. Biosynthèse des galactomannanes

Les galactomannanes sont synthétisés dans les endospermes en développement par une mannosyltransférase dépendante de GDP Man et une galactosyltransférase dépendante de l'UDP Gal (GalT) (Buckeridge, 2010). La majeure partie du carbone est transportée sous

forme de saccharose dans les plantes en raison de sa nature non réductrice. La liaison α -1, 2-glycosidique présente dans le saccharose peut être clivée de manière irréversible/réversible par l'action de l'invertase/sucrose synthase, comme illustré à la figure 14. L'invertase catalyse la scission du saccharose en glucose et en fructose et la saccharose synthase convertit le saccharose en UDP-glucose et fructose en présence d'UDP. Le fructose est phosphorylé par le fructose kinase pour former du fructose-6-phosphate et s'isomérisé en mannose-6-phosphate par la phosphomannoisomérase. Ensuite, la phosphomannomutase transfère le groupe phosphate du carbone 6 au carbone 1. De plus, la GDP-mannose pyrophosphorylase utilise ce mannose-1-phosphate et produit du GDP-mannose en éliminant le phosphate inorganique. La conversion de l'UDP-glucose en UDP-galactose est catalysée par l'UDP-galactose 4-épimérase. La synthèse de substrats comme le GDP-mannose et l'UDP-galactose a lieu dans le cytoplasme puis est transportée dans l'appareil de Golgi par des transporteurs de nucléotides de sucre pour la biosynthèse des galactomannanes. La mannane synthase produit ainsi le squelette du mannane polysaccharide en utilisant le GDP-mannose et les résidus galactosyle sont transférés de l'UDP-galactose au squelette du mannane par la galactosyltransférase pour produire des galactomannanes (**Sharma et al., 2020**). Chez certaines espèces ayant un haut degré de substitution en galactose, c'est-à-dire avec des rapports M : G plus faibles comme le fenugrec (M : G = 1,1) et le guar (*Cyamopsis tetragonolobus* ; M : G = 1,6), le rapport M:G est déterminé lors de la synthèse, alors que dans les graines de *Senna occidentalis* (M : G = 2,3–3,2), le galactomannane synthétisé est édité dans l'endosperme par une α -galactosidase spécifique (Figure 14) (**Buckeridge, 2010**).

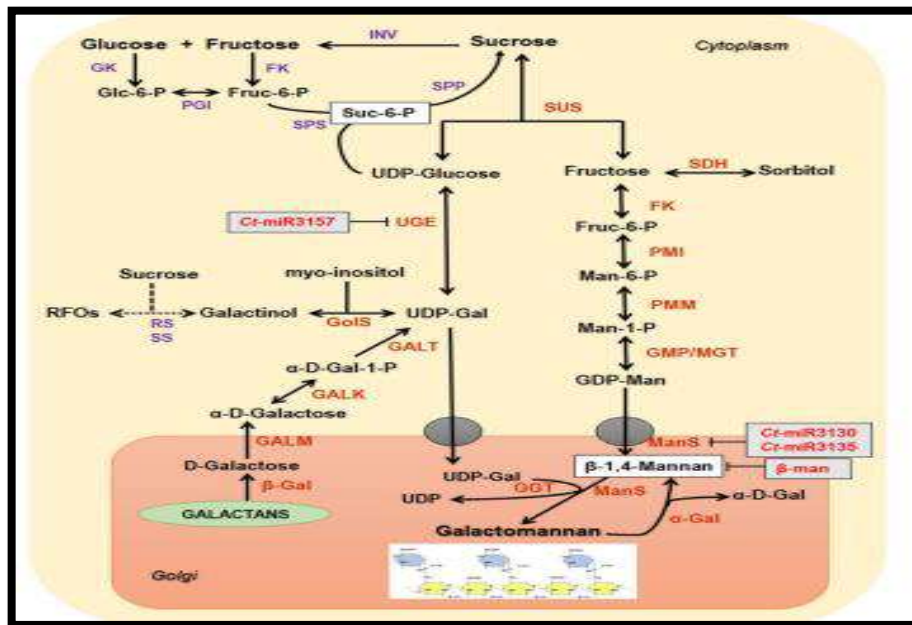


Figure 14 : Biosynthèse des galactomannanes (Sharma *et al.*, 2020).

Glc-6-P: glucose-6-phosphate; **Fru-6-P:** fructose-6-phosphate; **Gal:** galactose; **Man:** mannose; **SUS:** saccharose synthase; **UGE:** UDP-glucose/UDP-galactose 4-épimérase; **GMP/MGT:** GDP-mannose pyrophosphorylase/mannose-1-phosphate guanyltransférase; **FK:** fructose kinase; **GK:** glucokinase; **PMM:** phosphomannomutase; **PMI:** phosphomannose isomérase; **ManS:** mannane synthase; **GGT:** galactomannane galactosyl transférase; **GALM:** aldose-1-épimérase; **β-gal:** β-galactosidase; **α-Gal:** α-galactosidase; **β-man,** β-mannosidase; **RS:** raffinose synthase; **GALK:** galactokinase; **GalS:** galactinol synthase; **SS:** stachyose synthase; **SPS:** saccharose phosphate synthase; **SDH:** sorbitol déshydrogénase; **SPP:** saccharose phosphate phosphatase; **PGI:** phosphoglucoisomérase; **GALT:** galactose-1-phosphate uridylyltransférase; **INV:** invertase; **RFO:** oligosaccharides de la famille des raffinoses.

II.4.2.10. Mobilisation des galactomannanes

Chez le fenu grec, lors de la mobilisation du galactomannane à partir de l'endosperme, une accumulation transitoire d'amidon a été observée quantitativement et par microscopie à transmission électronique dans les cotylédons et l'axe du fenu grec. L'amidon est synthétisé et rapidement mobilisé à partir des cotylédons avec une augmentation concomitante de l'activité de l' α -amylase. Les galactomannanes sont décomposés par trois hydrolases : l' α -galactosidase, l'endo- β -mannanase et la β -mannosidase. Les polysaccharides sont désassemblés en leurs constituants monosaccharidiques (mannose et galactose libres) en même temps que le saccharose est produit dans l'endosperme. Apparemment, le saccharose est le sucre de transport qui amènera les produits de la mobilisation du stockage (carbone et énergie) jusqu'à l'embryon en croissance. L'amidon est produit de manière transitoire dans les cotylédons (Buckeridge *et al.*, 2000).

McCleary et ses collègues (1976) ont effectué des études approfondies sur le sort des produits des galactomannanes de guar après la mobilisation. Ils ont détecté les activités de la phosphomannoisomérase et de la phosphoglucoisomérase dans l'endosperme et ont suggéré que ces enzymes sont probablement responsables de l'épimérisation du mannose en glucose,

qui sera probablement utilisé pour la synthèse du saccharose dans l'endosperme. **Reid et Edwards (1995)** ont mis en évidence le fait que l'endo- β -mannanase des graines de légumineuses agit comme une véritable mannanase, son action hydrolytique sur les galactomannanes étant entravée par la substitution du galactose. Ceci souligne l'importance de la déramification préalable du polymère et explique probablement les très hauts niveaux d'activité α -galactosidase retrouvés lors de la mobilisation des galactomannanes *in vivo* chez des espèces contenant des polymères fortement substitués. L'exo- β -mannanase (ou β -mannosidase ou β -D-mannoside mannohydrolase) est une enzyme qui a montré une spécificité sur les manno oligosaccharides et aucune activité sur le polymère. Sur la base de ces résultats, on peut suggérer que cette enzyme a pour fonction d'hydrolyser les manno oligosaccharides produits par l'action concertée de l' α -galactosidase et de l'endo- β -mannanase (Figure 15) (**Buckeridge et al., 2000**).

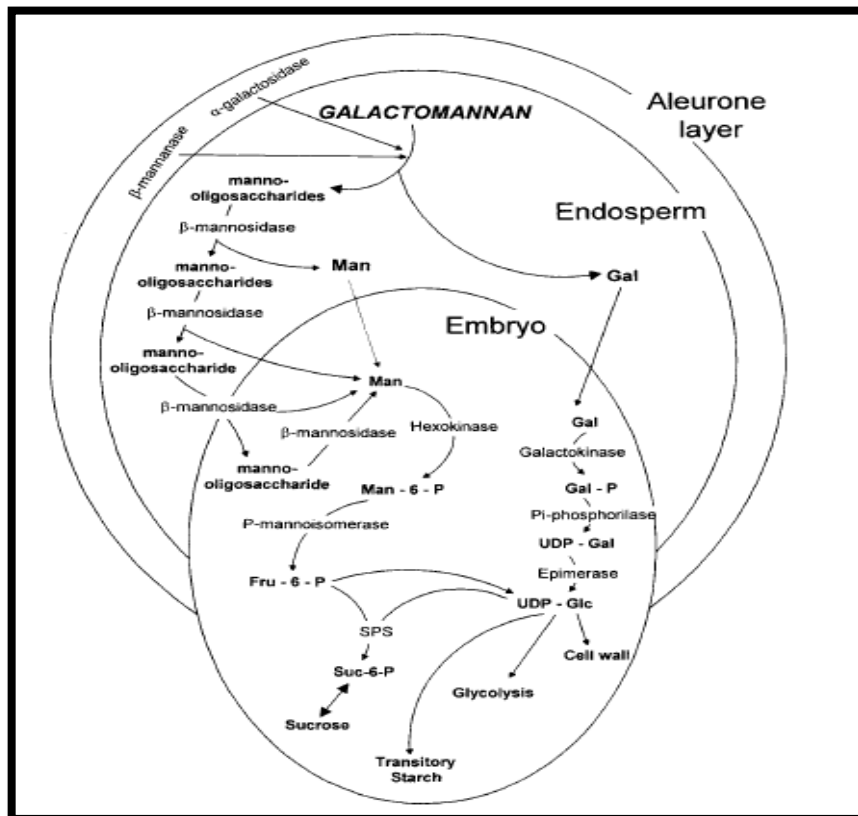


Figure 15 : Voies biochimiques impliquées dans le catabolisme du galactomannane (man, mannose, gal, galactose ; SPS, saccharose phosphate synthase ; Man-6- P, mannose-6-phosphate ; Fru-6-P, fructose-6-phosphate ; UDP-gal, uridine diphosphate galactose ; Suc-6-P, saccharose-6-phosphate) (**Buckeridge et al., 2000**).

II.4.2.11. Activités biologiques des galactomannanes

Ces dernières années, les polysaccharides d'origine végétale sont devenus une classe importante de produits naturels bioactifs. Une large gamme de polysaccharides ont été rapportés pour présenter des activités biologiques telles que des effets anti-tumoraux, immunostimulants, anti-complémentaires, anti-inflammatoires, anti-coagulants et fibrinogènes. Contrairement aux polysaccharides bactériens et aux composés synthétiques, la plupart des polysaccharides dérivés de plantes supérieures sont relativement non toxiques et ne provoquent pas d'effets secondaires importants (Shi & Fu, 2011). Les mannanes, y compris les galactomannanes et les glucomannanes, ont montré les activités biologiques les plus marquées chez les mammifères, notamment l'activation des macrophages et la stimulation des lymphocytes T. Par conséquent, ils sont considérés comme de puissants immunostimulants avec une activité significative contre les maladies infectieuses et les tumeurs (Hassan et al., 2009).

II.4.2.11.1. Activité immunomodulatrice

L'activité biologique des galactomannanes est diverse et complexe, bien que leur potentiel immunomodulateur soit généralement considéré. Les galactomannanes sont une classe hétérogène de polysaccharides en termes d'origine, de structure et d'activités biologiques. Par exemple, les conidies du champignon *Aspergillus fumigatus* contiennent des galactomannanes qui induisent la maturation des cellules de Langerhans humaines via le récepteur DC-SIGN, entraînant une activation de la réponse immunitaire innée. Les galactomannanes de *Caesalpinia spinosa* et d'*Aspergillus fumigatus* se lient également au récepteur de la pentraxine, mais le mécanisme moléculaire sous-jacent reste inconnu. Des études ont montré que les galactomannanes de *Ramalina celastri* et de *Morchella esculenta* stimulent l'activité des macrophages et l'activation du facteur de transcription NF- κ B, qui sont principalement associés à des réponses inflammatoires. En outre, des galactomannanes extraits de *Mimosa scabrella* et de *Leucaena leucocephala* ont été rapportés pour protéger contre l'infection par les flavivirus après sulfatation (Santander et al., 2011). Un galactomannane avec une unité répétitive d'octasaccharide (ACP) a été isolé du champignon médicinal taïwanais *Antrodia cinnamomea*. Sa structure chimique a été déterminée et l'ACP a montré une activité significative pour améliorer la phagocytose et l'activité bactéricide des macrophages murins J774A.1 contre *Escherichia coli* (Perera et al., 2017). Ces résultats montrent le potentiel pharmacologique des galactomannanes et leur capacité à moduler la réponse immunitaire pour lutter contre les infections bactériennes.

II.4.2.11.2. Activités antidiabétiques

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie et des perturbations métaboliques des protéines, des glucides et des graisses. Cette maladie résulte de l'échec de la production d'insuline ou de l'action de l'insuline ou les deux. Le traitement du diabète de type 2 reste compliqué en raison de plusieurs facteurs inhérents au processus pathologique, notamment l'insulinorésistance, l'hyperinsulinémie, l'altération de la sécrétion d'insuline, une diminution de l'absorption et de l'utilisation de glucose induite par l'insuline. Des inhibiteurs de l' α -glucosidase et de l' α -amylase tels que la metformine et le glibenclamide, sont utilisés pour traiter ce type de diabète (**Mrabti, 2018**).

Récemment, les polysaccharides visqueux ont attiré beaucoup d'intérêt en tant que traitement potentiel pour le diabète sucré. La gomme de caroube est un exemple de polysaccharide visqueux couramment utilisé dans les aliments et comme adjuvant pour le traitement du diabète. Des recherches ont montré que la gomme de caroube peut réduire les niveaux de glucose dans le sang chez les rats et inhiber significativement le processus de glycogénèse, augmentant ainsi la teneur en glycogène du foie chez les souris normales. Ces résultats suggèrent que le mécanisme de régulation de la glycémie par la gomme de caroube pourrait être lié à la promotion de l'absorption du glucose par le foie et les tissus périphériques et à l'inhibition de la voie de la glycogénèse hépatique. En outre, la gomme de caroube peut réduire ou retarder l'absorption du glucose dans le tractus intestinal, augmenter la satiété et réduire la faim (**Zhu et al., 2020**).

La gomme de guar, qui est une farine de légumineuse riche en galactomannanes, a suscité un intérêt considérable en tant qu'agent antidiabétique oral dans le traitement du diabète, principalement de type 2 (non insulino-dépendant). Les mécanismes exacts par lesquels elle réduit l'augmentation postprandiale de la glycémie ne sont pas bien compris, mais sa présence augmente la viscosité du contenu gastro-intestinal, ce qui affecte les fonctions physiologiques telles que la vidange gastrique et le péristaltisme. L'augmentation de la viscosité et la diminution de l'activité de l'eau pendant le traitement hydrothermique de l'amidon pourraient influencer l'action de l' α -amylase. Les galactomannanes du guar ont un effet inhibiteur non compétitif direct sur l' α -amylase. Leurs effets sur la baisse de la glycémie postprandiale impliquent non seulement des modifications de la physiologie intestinale, mais incluent également une inhibition directe de la première étape de la dégradation biochimique de l'amidon (**Kashef et al., 2008**).

II.4.2.11.3. Effet sur l'hypercholestérolémie et les maladies cardiovasculaires

Les dyslipidémies sont des troubles du métabolisme des lipides courants dans le monde, caractérisés par une augmentation des taux plasmatiques de différentes fractions lipidiques et lipoprotéiques, notamment le cholestérol total, les lipoprotéines de basse densité (LDL), les lipoprotéines de très basse densité (VLDL), les triglycérides et les chylomicrons. Ces dyslipidémies ont un impact important sur le développement des maladies cardiovasculaires (MCV), en particulier l'hypercholestérolémie et le niveau de LDL. Par conséquent, la réduction de ces niveaux peut aider à la gestion des MCV (Elahe *et al.*, 2017). On a beaucoup étudié le rôle des polysaccharides visqueux dans la réduction des taux de cholestérol et de triglycérides dans le sang chez l'homme et l'animal. La gomme de guar (GG) est l'un des galactomannanes les plus visqueux qui ne sont pas digérés dans l'intestin grêle des mammifères et qui est particulièrement efficace pour réduire le taux de cholestérol. Son effet sur le métabolisme du glucose chez les humains atteints de diabète sucré a également été signalé. Des rats diabétiques induits par la streptozotocine ont été utilisés dans certaines études pour étudier les effets des fibres alimentaires sur les états métaboliques du diabète. La gomme de xanthane (XG) et la gomme de caroube (LBG) sont également des polysaccharides visqueux qui ont des effets hypocholestérolémiants et hypoglycémiant. Bien que le GG ait été utilisé avec succès pour le traitement de l'hypercholestérolémie, son application clinique est limitée en raison de son goût désagréable. Des tentatives ont été faites pour créer des aliments agréables au goût contenant une quantité efficace de GG, ou pour produire des boissons contenant du GG hydrolysé, ce qui améliore le métabolisme des lipides et des glucides. D'autres polysaccharides ou une combinaison de polysaccharides plus efficaces que le GG pourraient être utiles pour le traitement clinique de l'hyperglycémie. La manière dont les polysaccharides visqueux exercent leurs effets hypocholestérolémiants reste incertaine, mais de nombreuses études ont suggéré que leur viscosité élevée est un facteur important de leur activité puissante. Chez les rats et les hamsters, un GG à haute viscosité a une forte activité hypocholestérolémiante par rapport à son homologue à faible viscosité. Les synergies observées avec les propriétés rhéologiques des mélanges de XG et de galactomannanes sont bien connues dans l'industrie agroalimentaire. La gélification se produit en mélangeant deux gommes non gélifiantes XG et LBG. Un mélange de XG et de GG n'entraîne pas la formation d'un gel, mais augmente la viscosité à une valeur supérieure à celle attendue par simple addition des deux viscosités de polysaccharide. La viscosité accrue et la propriété gélifiante obtenues en mélangeant ces combinaisons de polysaccharides peuvent être utiles pour induire un puissant effet hypocholestérolémiant. Seules quelques tentatives ont été faites pour étudier

les effets hypocholestérolémiants et hypoglycémiantes de mélanges très visqueux de polysaccharides (Yukiko et al., 2000). Des études ont montré que les fibres solubles peuvent abaisser les concentrations plasmatiques de cholestérol en raison de deux causes possibles. La première est que les fibres solubles augmentent la viscosité du digesta et augmentent l'épaisseur de la couche non agitée dans l'intestin grêle, ce qui peut inhiber l'absorption du cholestérol et des acides biliaires. La deuxième est que les fibres solubles sont un excellent substrat pour la fermentation des micro-organismes dans le gros intestin, produisant des acides gras volatils qui semblent supprimer la synthèse hépatique du cholestérol (Evans et al., 1992). Une comparaison de trois types de galactomannanes (gomme de guar, gomme de caroube et gomme de fenugrec) a montré que tous les trois réduisent le cholestérol plasmatique par rapport à un régime témoin à base de cellulose purifiée. De plus, la structure chimique a influencé l'ampleur de l'effet. Les graines de fenugrec sont une bonne source de fibres alimentaires solubles (SDF) et leur consommation a été démontrée pour entraîner une réduction significative des taux de cholestérol sérique et hépatique. Les facteurs responsables de cet effet n'ont pas encore été établis jusqu'à présent, mais il a été suggéré que les fibres alimentaires totales (TDF) pourraient avoir joué un rôle clé dans la réduction du taux de cholestérol en augmentant l'excrétion fécale des acides biliaires et des sels ainsi que les inhibiteurs de la biosynthèse hépatique du cholestérol par les acides gras à chaîne courte produits par la fermentation bactérienne du SDF dans les parties inférieures du gros intestin (Ramulu et al., 2011).

II.4.2.11.4. Activité antioxydant

De nombreux polysaccharides purifiés à base de plantes sont désormais utilisés comme ingrédients antioxydants fonctionnels et nutraceutiques dans de nombreux aliments et produits pharmaceutiques. Ils agissent comme des pièges de radicaux libres pour protéger les organismes vivants contre les dommages oxydatifs. Les polysaccharides antioxydants provenant de sources végétales ont suscité une admiration particulière en raison de leurs capacités à piéger les radicaux libres, bloquer la peroxydation des lipides et arrêter l'induction de dommages neuronaux. En se basant sur les différents mécanismes antioxydants, tels que l'excès de ROS (O_2 , OH, H_2O_2 , etc.), le dysfonctionnement du système antioxydant (enzyme, SOD, CAT, non-enzyme: GSH) et les voies de signalisation liées au stress oxydatif comme AKT, MAPK...etc., l'activité antioxydante *in vitro* des polysaccharides à base de plantes est évaluée à l'aide de l'activité de piégeage du DPPH, de l'activité de piégeage des radicaux hydroxyle, de l'activité de piégeage des radicaux superoxyde, du dosage de la peroxydation anti-lipidique et des méthodes de dosage de l'acide β -carotène-linoléique. Les véritables

utilisations des polysaccharides antioxydants à base de plantes constituent désormais un domaine de recherche exigeant en tant que biomédecine dans le traitement de l'obésité, de l'athérosclérose, des lésions hépatiques, des maladies neurodégénératives, de la colite, des cancers gastriques, du cancer du sein, etc. (Mohanta *et al.*, 2022).

II.4.2.12. Applications des galactomannanes

II.4.2.12.1. Utilisation industrielle des galactomannanes

Les galactomannanes sont utilisés dans plusieurs industries, notamment l'industrie du papier, où ils agissent comme agents de défloculation et de renforcement des fibres. En ajoutant des quantités modérées de galactomannanes à la pâte, la production de papier peut être augmentée. De même, la gomme carboxyméthylée est utilisée comme additif humide pour produire des papiers légers avec une excellente étanchéité pour empêcher l'encre d'impression de traverser. Les galactomannanes sont également utilisés dans l'industrie textile comme agent d'encollage lorsqu'ils sont combinés avec de l'amidon et comme épaississant dans les peintures pour produire des motifs fortement imprimés avec des solutions de colorant épaissies. Les galactomannanes sont également utilisés dans l'industrie pétrolière pour rompre les roches en appliquant une pression élevée (fracturation hydraulique). Les fluides de fracturation sont épaissis avec des solutions de gomme et transportent le sable dans les roches rompues pour permettre un écoulement facile du pétrole ou du gaz vers le puits de forage. En outre, les galactomannanes sont utilisés dans l'industrie cosmétique pour produire des shampooings capillaires, des lotions, des onguents et des pâtes dentifrices, qui bénéficient de leurs propriétés non toxiques, de leur glissement lors de l'extrusion et de leur capacité à stabiliser les systèmes. Enfin, les galactomannanes sont également utilisés dans l'industrie des explosifs en raison de leurs propriétés de blocage de l'eau, de gélification et de gonflement. Les solutions de gomme sont mélangées à la nitroglycérine, au nitrate d'ammonium et aux explosifs pétroliers pour maintenir leur propriété explosive même dans des conditions humides (Sharma *et al.*, 2020).

II.4.2.13.2. Utilisation alimentaire des galactomannanes

Les galactomannanes peuvent être utilisés en combinaison avec d'autres ingrédients nutritifs et enzymes pour la production de produits de boulangerie sans gluten. Ils améliorent le volume et la teneur en humidité du pain de mie et peuvent remplacer le gluten en raison de ses propriétés viscoélastiques. L'ajout d'une solution de gomme à la suspension de farine de blé augmente la viscosité, la viscosité maximale, la viscosité finale et les valeurs de retrait,

tout en abaissant la température de gâchage. La farine de blé connaît également une augmentation du temps de développement de la pâte et de la capacité d'absorption d'eau lors de l'ajout d'une solution de gomme. Les galactomannanes sont également efficaces en combinaison avec l'amidon pour supprimer le rétrécissement, la fissuration et la déshydratation des garnitures de tarte surgelées. De plus, les solutions de gomme sont utilisées comme épaississant, stabilisant et augmentent la durée de conservation des boissons pour une large gamme de pH, car elles présentent une stabilité. Les galactomannanes ont également des propriétés tensioactives, qui peuvent être utilisées comme stabilisateurs d'émulsion de boisson huile dans l'eau. Enfin, les galactomannanes sont utilisés pour la fabrication de produits à base de viande farcie et de saucisses, car ils possèdent des capacités de liaison et de lubrification. Ils lient les morceaux de viande ensemble, suppriment la séparation des phases pendant les traitements thermiques et améliorent le rendement grâce à la gestion de l'eau (**Sharma et al., 2020**). Les gommés de guar et de caroube sont couramment utilisées dans la formulation de crèmes glacées pour réguler la formation et la recristallisation des cristaux de glace et prévenir la cristallisation du lactose pendant le stockage congelé. Elles sont également utilisées dans d'autres produits laitiers, tels que les fromages à tartiner, pour améliorer l'étalement ou les yaourts (**Kontogiorgos, 2018**). Ainsi ; pour obtenir des produits laitiers faibles en gras avec une texture et une stabilité améliorée. Les galactomannanes de caroube sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et ont été classés par le Codex européen comme additif alimentaire humain accepté (E410). Des études ont également été menées pour améliorer les propriétés texturales des yaourts allégés et écrémés en associant des hydrocolloïdes tels que les galactomannanes (**Sadoud et al., 2022**). Les galactomannanes ont également trouvé des applications en tant que films comestibles grâce à leurs propriétés physiques, chimiques et thermomécaniques, telles que la perméabilité à l'humidité et l'échange de gaz tels que le CO₂ et l'O₂ qui se produisent dans ces matériaux (**Martinez et al., 2021**).

II.4.2.13.3. Utilisation pharmaceutique des galactomannanes

Les galactomannanes ont une longue histoire en tant qu'excipients. La gomme de caroube (*Ceratonia*) a été le premier galactomannane introduit en 1936 en tant que substitut peu coûteux de la gomme adragante et elle a été rapidement incorporée dans différentes formulations pour des usages tels que l'excipient suspendant, l'épaississant et le stabilisant dans les formes posologiques liquides orales et topiques, en particulier les émulsions. En 1965, les laboratoires Merck ont déposé le premier brevet d'application des galactomannanes dans l'industrie pharmaceutique. Cette invention particulière utilisait des galactomannanes

comme liants afin d'éliminer l'étape de granulation avant la compression dans la préparation des comprimés. En 1969, Merck a breveté la première forme posologique solide de composés vitaminiques oraux stabilisés en préparant des solutions de gomme de guar et de gomme de caroube. Bien que son incorporation soit tardive, la gomme de guar est l'un des galactomannanes les plus couramment utilisés dans l'industrie pharmaceutique, probablement en raison de sa situation réglementaire. Suite à l'évolution de la littérature pharmaceutique sur les galactomannanes, on peut établir que bien que leur utilisation ait commencé tôt, ce n'est qu'à partir des années 90 que l'intérêt pour ces matériaux s'est substantiellement accru (**Landin & Echezarreta, 2010**).

Les galactomannanes sont principalement utilisés dans les technologies pharmaceutique et cosmétique, sous forme de farine brute plutôt que sous forme pure. Les farines commerciales contiennent environ 85% de galactomannane pure en masse et sont largement utilisées dans de nombreux produits. Les galactomannanes sont souvent utilisés en combinaison avec d'autres polysaccharides, tels que la gomme de xanthane, l'agar et le kappa-carraghénane, pour former des gels aux propriétés nouvelles. Ces dernières années, l'utilisation pharmaceutique des galactomannanes de différentes sources, commerciales et non commerciales, a été largement étudiée. Les galactomannanes offrent un potentiel dans la tendance mondiale à l'utilisation de produits à base de plantes pour des motifs écologiques et leur production et leur application ne causent pas de pollution ni ne perturbent l'écosystème. Il existe une variété de sources de galactomannanes et diverses formes pharmaceutiques d'application, telles que des comprimés ou des gélules, des hydrogels et des films. Outre leur utilisation en tant qu'excipient inerte, ces polysaccharides jouent également un rôle dans la modification de la libération de médicaments, en particulier dans l'environnement colique, en tant que matrice ou matériau d'enrobage. Les galactomannanes peuvent donc être utilisés pour développer des formulations de médicaments à libération prolongée ou ciblée (**Tableau 05**) (**Silveira & Bresolin, 2011**).

Tableau 05 : Les galactomannanes dans le développement des formes galéniques solides
(Silveira & Bresolin 2011).

Source des galactomannanes	Formes posologiques pharmaceutiques	Modèle de médicament	Fonction des galactomannanes
La gomme de guar (Meyprogat®)	Tablette	Heophylline	Désintégrant et liant
Locust bean gum (Viscogum®)	Comprimé pelliculé	Erapamil HCl	Enrobage
Locust bean gum (graines)	Tablette	5-ASA	Liant
La gomme de guar (Supercol Guar Gum®)	Tablette	- Dexaméthasone - Budésonide	Liant
Leucaena leucocephala (graines)	Tablette	Paracétamol	Liant
La gomme de guar (Supercol Guar Gum®, GuarNT®)	Comprimé et gélules	Ranitidine HCl Diltiazem HC	Liant
Lactan from Rahnella aquatilis (bactéries anaérobies)	Microsphères	Indométhacine	Liant
Gomme de caroube réticulée avec du butanedioldiglycidyléther Galactomannanes: pectin	Tablette	Théophylline	Pelliculage
La gomme de guar (Meyprolin M-175®)	Tablette	Nifédipine	Pelliculage
La gomme de guar (seeds)	Tablette	Ibuprofène	Désintégrant et liant
La gomme de guar (seeds)	Tablette	Mébendazole	Liant
Carboymethyl guar	Tablette	5-fluorouracile	Revêtement compressif
La gomme de guar et xanthan	Transdermique	Sulfate de terbutaline	Film
Galactoamannanes de Gleditsia triacanthos	Tablette	5-fluorouracile	Revêtement Compressif
Galactoamannanes de Mimosa scabrella	Tablette	Théophylline	Liant
Galactoamannanes de Mimosa scabrella	Tablette	Théophylline	Liant
La gomme de guar/Locust Bean (réticulation avec le glutaraldéhyde)	Tablette	Diclofénac sodique	Liant
La gomme de guar /alginate (réticulation avec le glutaraldéhyde)	Hydrogel lyophilisé et séché à l'air	Théophylline	Liant
La gomme de locust bean/Xanthan (TIMERx®)	Tablette	Albumine de sérum bovin	Matrice
	Tablette	- Oxymorphone - Nifédipine - Cybutynine	Liant

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

III. Matériels et méthodes

La présente étude porte sur deux aspects principaux. Premièrement, elle se concentre sur l'étude ethnobotanique de deux plantes ayant des propriétés médicinales dont l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge dans la région d'El-Oued, située dans le Sahara septentrional-Est Algérien. Deuxièmement, elle vise à étudier les polysaccharides extraits des graines de ces deux plantes en tant que molécules potentielles. Cette recherche contribue à élargir la gamme de composés biologiquement actifs qui peuvent être utilisés en tant que substituts aux médicaments synthétiques.

III.1. Enquête ethnobotanique

Notre étude ethnobotanique sur les deux plantes de l'*A. cruciatus* et l'*A. gyzensis* a consisté en une enquête de terrain menée entre février et novembre 2022 dans la commune d'El-Oued, auprès de 250 participants issus de neuf municipalités très peuplées de la Wilaya d'Oued Souf, connues pour leurs marchés de médecine à base de plantes, notamment Douar el ma, Guemar, Taghzout, Hassi Khalifa, El-Hamraya, Mih Ouenesa, Robbah, Debbila et le centre-ville. Les personnes interrogées comprenaient des tradipraticiens, des herboristes, des chercheurs et la population locale. Le questionnaire utilisé a été préparé avec de légères modifications selon **Bouallala et al. (2014)**.

III.2. Fiche d'enquête

Chaque fiche d'enquête contient les informations suivantes :

- Des informations personnelles** : telles que l'âge, le sexe, le lieu de résidence et le niveau d'instruction.
- Des informations sur les plantes spontanées ayant des propriétés médicinales dans la région** : (partie(s) utilisée(s), mode de préparation, dose et maladies traitées), ainsi que des informations sur l'utilisation non médicinale des plantes.

III.3. Représentation de la région d'étude

Le Sahara algérien est l'un des plus grands déserts du monde, couvrant 84 % de la superficie terrestre de l'Algérie (**Benarba et al., 2015**). La vallée d'El-Oued (figure 16 et 17) est située dans la partie sud-est de l'Algérie, dans la wilaya d'El-Oued, dans un grand bassin synclinal, connu sous le nom de basse Sahara en raison de son altitude basse. El-Oued est devenue une municipalité en 1957 et une province en 1984. Elle couvre une superficie de 11 738 km², comprenant 18 municipalités, avec une population de plus d'un demi-million,

principalement concentrée dans les grandes villes (41,41 habitants/km²), selon les données de l'Office national des statistiques (2015) (Barkat *et al.*, 2022). La vallée d'El-Oued est située dans le sud-est de l'Algérie et est bordée par la Tunisie à l'est et la province de Tébessa au nord-est, Biskra et Khenchela au nord et Djelfa et Ouargla à l'ouest et au sud-ouest, respectivement. La région connaît un été chaud et sec et un hiver doux, avec des précipitations faibles et peu fréquentes et des taux d'évaporation élevés. Les températures maximales moyennes varient de 20,76°C en janvier à 45,31°C en juillet, tandis que les températures minimales moyennes varient de 9,62°C en janvier à 30,18°C en août (Barkat *et al.*, 2021).

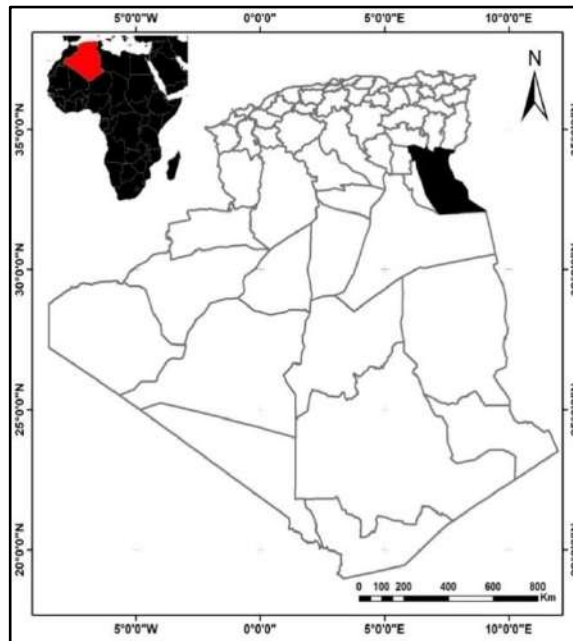


Figure 16 : Carte géographique de la région d'El-Oued

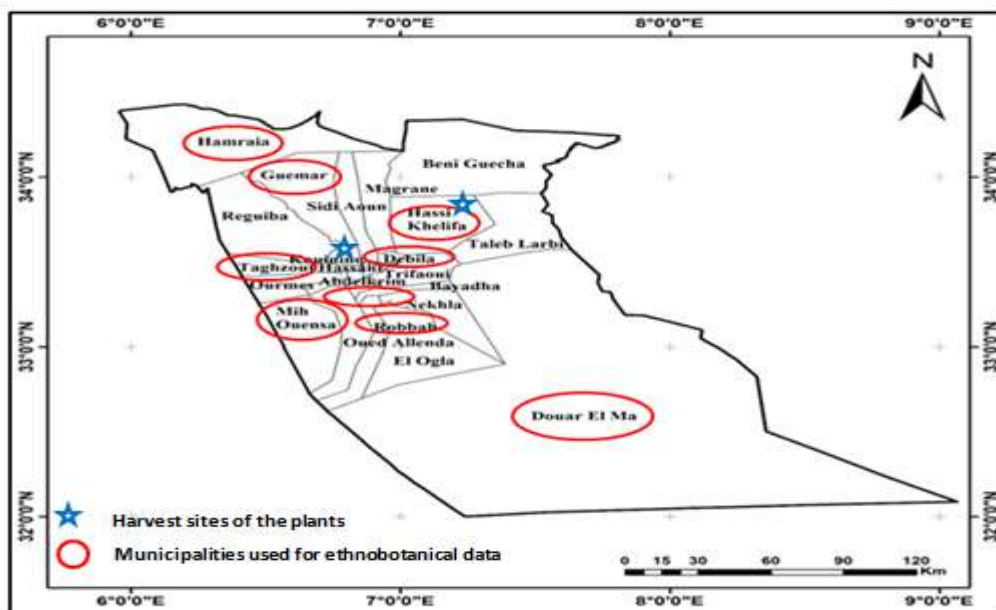


Figure 17 : Carte de la zone d'étude (municipalités de la province d'El-Oued choisies dans cette étude).

III.4. Récolte des plantes

Après avoir choisi les stations de collecte en fonction des facteurs écologiques les plus discriminants de la végétation, notamment la géomorphologie et le sol, des relevés phytoécologiques ont été effectués sur l'ensemble de la zone de répartition des plantes spontanées dans la région (OMS, 2003). Pour assurer le succès de l'échantillonnage, les relevés ont été réalisés durant la saison où le développement et la diversité floristique sont à leur maximum, notamment pour les espèces annuelles. La floraison des espèces pérennes facilite leur identification (Ozenda, 2004).

Les espèces végétales figures 18, 19, 20, 21, 22, 23. ont été récoltées dans leur habitat naturel, loin des zones affectées par l'activité humaine, afin d'éviter toute perturbation. Les récoltes ont été effectuées entre mars et mai 2019. L'espèce *A. cruciatus* a été récoltée à Hassani Abdelkirim, à (33°27'15.9" N et 6°53'20.5" E), tandis que l'espèce *A. gyzensis* a été récoltée à Hassi Khalifa, à (33°33'33.9" N et 7°03'50.8"E) dans la Wilaya d'El-Oued (Algérie). Le choix des plantes est basé sur la recherche de nouvelles sources de polysaccharides et de nouvelles activités biologiques. Le choix de la partie à traiter dépend de l'espèce de plante utilisée .

III.5. Identification des plantes

L'identification des plantes collectées a été réalisé par Pr. Slimani Noureddine, Dr. à l'université d'Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, Faculté des sciences de la nature et de la vie. Selon Ozenda, 2004. Afin de garantir la précision des échantillons, des spécimens témoins ont été créés pour chaque espèce (Lot No. AC-1903) pour *A. cruciatus* et (Lot No. AG-1904) pour *A. gyzensis* et utilisés pendant l'étude, comme illustré dans les Figures 20 et 21.

III.6. Technique de séchage des graines

Les gousses saines et mûres ont été séchées à température ambiante (entre 35 et 40°C) pendant deux semaines, jusqu'à ce que leur masse sèche soit stabilisée. Les gousses remplies de graines ont été ensuite conservées dans des sachets en papier kraft, dans un endroit frais, sec et à l'abri de la lumière, jusqu'à leur utilisation.



Figure 18 : *A. cruciatus* (Mars 2019).



Figure 19 : *A. gyzensis* (Avril 2019).



Figure 20 : *A. cruciatus* indexé



Figure 21 : *A. gyzensis* indexé



Figure 22 : Les graines de l'*A. cruciatus*



Figure 23 : Les graines de l'*A. gyzensis*

III.7. Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Le protocole d'extraction est suivie la méthode décrit par **Chouana (2017)** avec quelques modifications. Les graines sèches des deux plantes ont été retirées des gousses et broyées pour obtenir de fines poudres. Ensuite, 10 g de poudre de graines ont été suspendus dans 200 mL d'eau distillée et la suspension a été agitée à 500 rpm pendant 2 heures à 65 °C sous agitation constante. L'extrait a formé un gel très visqueux. Le mélange a ensuite été refroidi à 4°C dans un bain de glace, puis centrifugé à 4000 rpm pendant 15 minutes à 4 °C pour séparer le gel. Le culot a été récupéré, puis extrait trois fois avec de l'eau à 65°C pendant 2 heures. Les surnageants ont été réunis et concentrés 1/3 fois sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif, à une température de 65 °C. Le concentré a été refroidi à 4°C dans un bain de glace, puis les polysaccharides ont été précipités par l'ajout de trois volumes d'éthanol absolu (96 %) pendant une nuit. Le surnageant a été éliminé par centrifugation à 4000 rpm pendant 15 minutes à 4 °C. Le culot final a été lavé trois fois avec de l'acétone (500 mL). Le polysaccharide a été séché à 45 °C pendant 24 heures à l'air libre, puis broyé dans un mortier en une fine poudre blanche appelé PGAC pour les polysaccharides d'*A. cruciatus* et PGAG pour les polysaccharides d'*A. gyzensis* (Figure 24).

- Calcul du rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des polysaccharides bruts sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{\text{Masse des polysaccharides bruts (g)}}{\text{Masse des poudres sèches de la plant (g)}} \times 100$$

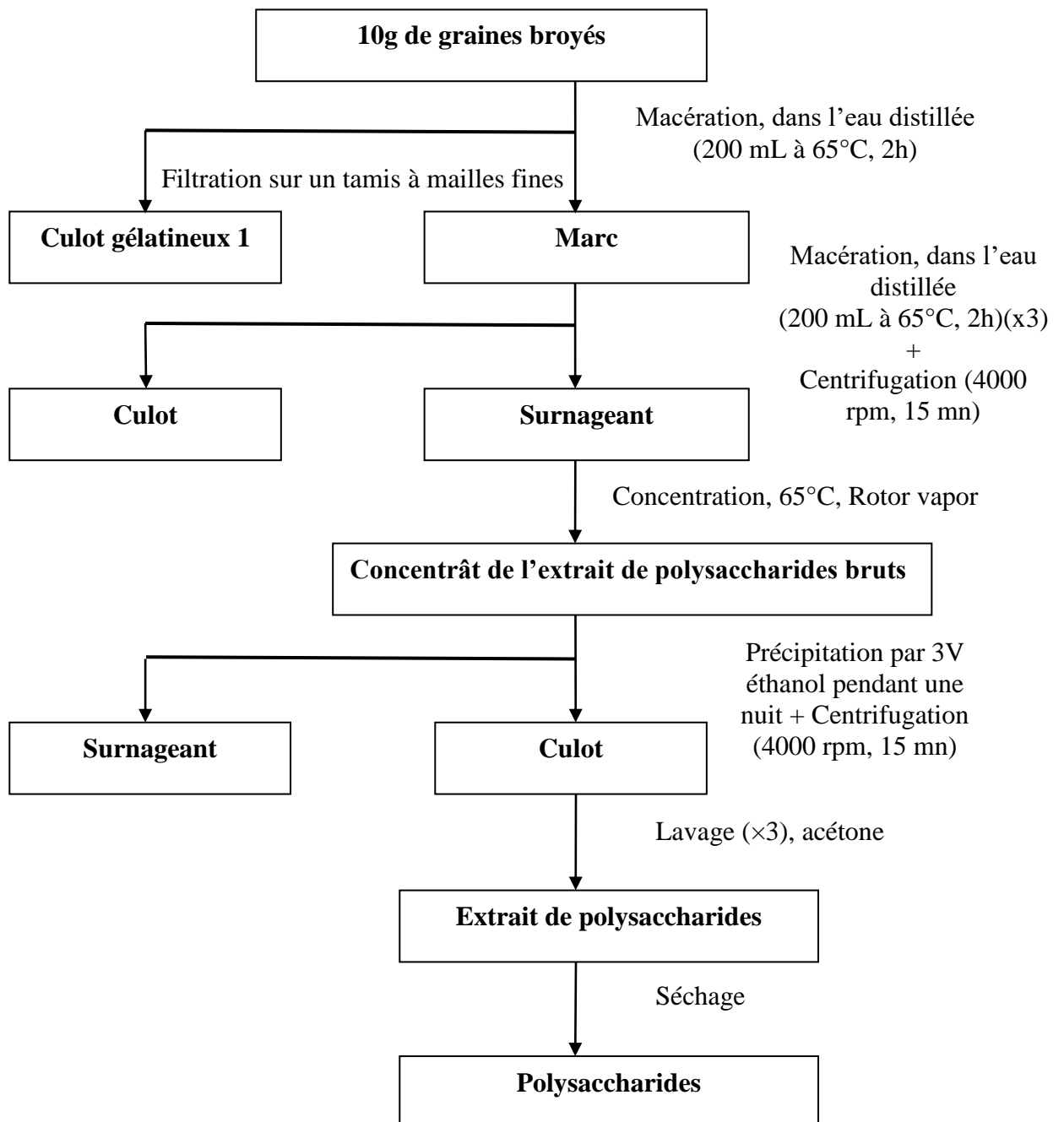


Figure 24 : Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosolubles issu des graines.

III.8. Composition des deux extraits polysaccharidiques

Les teneurs en oses totaux, oses neutres, oses acides, protéines et polyphénols des deux extraits polysaccharidiques ont été déterminées par des méthodes colorimétriques.

Pour préparer les solutions des extraits polysaccharidiques, 10 mg de chaque extrait brut de polysaccharides a été dissous dans 100 mL d'eau distillée et conservé à 4°C.

III.8.1. Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois

Principe : La quantité d'oses totaux est déterminée par la méthode de dosage colorimétrique de **Dubois et al. (1956)**. Les liaisons glycosidiques sont hydrolysées en présence d'acide sulfurique concentré à chaud et la déshydratation des unités osidiques conduit à la formation de composés furfuriques. Ces derniers interagissent avec le phénol par condensation, formant ainsi des composés de coloration orange-jaune qui absorbent à une longueur d'onde de 492 nm.

Matériels et réactifs : Phénol (Sigma-Aldrich, PL037). Solution aqueuse de phénol à 5% (m/v). Acide sulfurique 80% (Honeywell, 30743). Glucose (Sigma-Aldrich, G8270). Solution aqueuse de glucose (100 µg/mL avec les dilutions nécessaires). Eau distillée. Echantillon à tester (PGAC et PGAG 0.01 %). Bain marie (Julabo, TW12). Spectrophotomètre (SHIMADZU1800).

Mode opératoire :

(i) Préparation de la solution de phénol à 5% : Dissoudre 1g de phénol dans 20 mL d'eau distillée.

(ii) Préparation de la solution mère de glucose à 100 µg/mL : Dissoudre 10 mg de glucose dans 100 mL d'eau distillée (Tableau 06).

Tableau 06 : Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose par la méthode de Dubois

Concentration (%)	Blanc	0.001	0.002	0.005	0.008	0.01
Eau distillée (µL)	200	180	160	100	40	0
Glc 100 µg/ml (µL)	0	20	40	100	160	200

(iii) Dans des tubes de dosage en verre, ajouter 200 µL de (l'échantillon / l'étalon) et placer les tubes dans un bain de glace. Ajouter ensuite 200 µL de la solution aqueuse de phénol (5%) et homogénéiser. Ajouter avec précaution 1 mL d'acide sulfurique H₂SO₄ (80%) à 90°C pendant

30 minutes, puis maintenir pendant 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. Mesurer l'absorbance à $\lambda = 490$ nm.

III.8.2. Dosage des oses neutres

Principe : La détermination de la quantité d'oses neutres constitutifs repose sur la méthode de dosage colorimétrique décrite par **Monsigny et al. (1988)**. Cette méthode consiste en une hydrolyse quantitative des liaisons glycosidiques des polysaccharides en présence d'acide sulfurique concentré et à chaud. Cette hydrolyse libère les unités osidiques qui subissent ensuite une déshydratation pour former des dérivés furfuriques. Ces dérivés furfuriques sont ensuite capables de se condenser avec le résorcinol en milieu acide pour donner un complexe brun-orange. Il convient de souligner que cette méthode de dosage colorimétrique est très sensible et permet une mesure précise de la quantité d'oses neutres constitutifs présents dans un échantillon donné.

Matériels et réactifs : Résorcinol (Sigma-Aldrich, 398047). Solution aqueuse de résorcinol à 0,6% (m/v). Acide sulfurique 80% (Honeywell, 30743). Glucose (Sigma-Aldrich, G8270). Solution aqueuse de glucose (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ avec les dilutions nécessaires). Eau distillée. Echantillon à tester (PGAC et PGAG 0.01 %). Bain marie (Julabo, TW12). Spectrophotomètre (SHIMADZU1800).

Mode opératoire :

(i) **Préparation de la solution de résorcinol (0,6 %) :** pour préparer la solution de résorcinol à 0,6 %, il faut dissoudre 6 mg de résorcinol dans 1 mL d'eau milli-Q. Cette solution peut ensuite être stockée à 4°C, où elle reste stable pendant 4 semaines.

(ii) **Préparation de la solution mère de glucose 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$:** pour préparer la solution mère de glucose à 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, il faut dissoudre 10 mg de glucose dans 100 mL d'eau distillée. Cette solution peut être utilisée pour préparer des solutions diluées de glucose pour les dosages (Tableau 07).

Tableau 07 : Préparation de la courbe d'étalonnage de glucose par la méthode de Monsigny

Concentration (%)	Blanc	0.001	0.002	0.005	0.008	0.01
Eau distillée (μL)	200	180	160	100	40	0
Glc 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (μL)	0	20	40	100	160	200

(iii) On dépose 200 μL de (l'échantillon / l'étalon) dans un tube de dosage, suivi de 200 μL de la solution de résorcinol et 1 mL d' H_2SO_4 . Le mélange est agité, puis incubé dans un bain

marie sec à 80°C pendant 30 minutes. Après le retour à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

III.8.3. Dosage d'acides uroniques

Principe : La méthode de dosage colorimétrique de **Blumenkrantz et al. (1973)** est utilisée pour déterminer la quantité d'acide uronique dans un échantillon. Cette méthode repose sur la réactivité des dérivés furfuriques formés sous l'action d'acides concentrés à chaud. Les acides uroniques du milieu subissent une déshydratation interne poussée suivie d'une cyclisation aboutissant à la formation de dérivés d'acide 5-formylfuroïque. Pour mesurer la quantité d'acide uronique, les acides uroniques réagissent ensuite avec le méta-hydroxydiphényl (*m*-HDP) pour former un chromophore de couleur rose. Ce chromophore est alors mesuré à une longueur d'onde spécifique à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette méthode est sensible et permet de détecter des quantités d'acide uronique aussi faibles que 1 µg.

Matériels et réactifs : Tétraborate de sodium (Sigma-Aldrich, 221732). Solution aqueuse de tétraborate de sodium à 0,12M. *m*éta-hydroxydiphényl (*m*-HDP) (Sigma-Aldrich, 262250). Solution de *m*-HDP à 100 g/L. Acide sulfurique 80% (Honeywell, 30743). Acide galacturonique (Sigma-Aldrich, 48280). Solution aqueuse d'acide galacturonique (100 µg/mL avec les dilutions nécessaires). Eau distillée. Echantillon à tester (PGAC et PGAG 0.01 %). Bain marie (Julabo, TW12). Spectrophotomètre (SHIMADZU1800). Vortex. Bain de glace.

Mode opératoire :

- (i) La solution de Borax (NaH_3BO_4) 0,12M est préparée en ajoutant 0,95 g de NaH_3BO_4 à 1 mL d'eau, puis complétée à 100 mL avec de l' H_2SO_4 (96%).
- (ii) La solution *m*-HDP 0,15% est préparée en ajoutant 0,075 g de *m*-HDP à 50 mL de NaOH 0,5%.
- (iii) La solution mère d'acide galacturonique 100 µg/mL est préparée en dissolvant 10 mg d'acide galacturonique dans 100 mL d'eau distillée (Tableau 08).

Tableau 08 : Préparation de la courbe d'étalonnage d'acide galacturonique par la méthode de Blumenkrantz.

Concentration (%)	Blanc	0.001	0.002	0.005	0.008	0.01
Eau distillée (µL)	200	180	160	100	40	0
A. Gal 100 µg/ml (µL)	0	20	40	100	160	200

(iv) Dans les tubes de dosage, on ajoute 200 μL de (l'échantillon / l'étalon) et 1,2 mL d'une solution de tétraborate de sodium à 0,12M. Le mélange est homogénéisé au vortex, puis refroidi dans la glace. Les tubes sont ensuite incubés à 100°C pendant 5 minutes dans un bain-marie. Après refroidissement dans un bain de glace, on ajoute 20 μL d'une solution de *m*-HDP à 0,15%. Les tubes sont agités et une coloration rose se développe pendant 5 minutes. La densité optique est ensuite mesurée à 520 nm.

III.8.4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Principe : La quantité de protéine est déterminée par la méthode de dosage colorimétrique de **Bradford (1976)**. Elle repose sur la formation d'un complexe entre le bleu de Coomassie G-250 et les protéines en solution. Le bleu de Coomassie se lie surtout aux résidus arginine, tryptophane, tyrosine, histidine, et phénylalanine des protéines.

Matériels et réactifs : Réactif de Bradford. Sérum d'albumine bovine (BSA) (Sigma-Aldrich, A2153). Solution aqueuse de BSA (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ avec les dilutions nécessaires). Eau distillée. Echantillon à tester (PGAC et PGAG 0.01 %). Vortex. Spectrophotomètre (SHIMADZU1800).

Mode opératoire :

(i) **Préparation de réactif de Bradford :** dissoudre 100 mg de bleu de coomassie dans 50 mL d'éthanol (95%). On agite le mélange pendant 2 heures avec un agitateur à l'abri de la lumière. Puis on ajoute 100 mL de l'acide orthophosphorique (85%). Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée. Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre. Ce réactif est stable pendant 2 semaines à 4°C.

(ii) **Préparation de la solution mère de BSA 0.01 (%) :** la préparation est effectuée par 10 mg de BSA dans 100 mL d'eau distillée (Tableau 09).

Tableau 09 : Préparation de la courbe d'étalonnage de BSA par la méthode de Bradford

Concentration (%)	Blanc	0.0005	0.001	0.002	0.005	0.008	0.01
Eau distillée (μL)	800	760	720	640	400	160	0
BSA 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (μL)	0	40	80	160	400	640	800

(iii) On dépose dans les tubes de dosage 500 μL de (l'échantillon / l'étalon), 500 μL de réactif de Bradford, vortexer les tubes pendant 5 secondes, laisser reposer à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min, mesurer l'absorbance à 595 nm.

III.8.5. Dosage des composés phénoliques totaux

Principe : La quantité de composés phénoliques est déterminée par la méthode de dosage colorimétrique de **Singleton et al. (1999)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu contient du phosphomolybdate et du tungstate de sodium qui oxydent les polyphénols, conduisant à la formation d'oxydes de tungstène et de molybdène. La réduction de ces ions métalliques provoque une augmentation de l'absorbance mesurée à 765 nm, ce qui permet de quantifier la concentration des composés phénoliques dans l'échantillon.

Matériels et réactifs : le réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, F9252). Carbonate de sodium (Sigma-Aldrich, S7795). Solution aqueuse de carbonate de sodium à 10 %. Acide gallique (Sigma-Aldrich, G7384). Solution aqueuse d'acide gallique (100 µg/mL avec les dilutions nécessaires). Eau distillée. Echantillon à tester (PGAC et PGAG 0.01 %). Spectrophotomètre (SHIMADZU1800).

Mode opératoire :

- (i) **Préparation du réactif de Folin 1/10 :** diluer le réactif de Folin 10 fois avec de l'eau distillée.
- (ii) **Préparation de la solution de carbonate de sodium à 20% :** dissoudre 20 g de carbonate de sodium dans 100 mL d'eau distillée.
- (iii) **Préparation de la solution mère d'acide gallique à 0,1% :** dissoudre 100 mg d'acide gallique dans 100 mL d'eau distillée (Tableau 10).

Tableau 10 : Préparation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique par la méthode de Singleton

Concentration (%)	Blanc	0.0005	0.001	0.0015	0.002	0.0025	0.003	0.0035
Eau distillée (µL)	100	95	90	85	80	75	70	65
Acide gallique 100 µg/ml (µL)	0	5	10	15	20	25	30	35

(iv) Dans les tubes de dosage, ajouter 100 µL d'échantillon, 500 µL de réactif de Folin, agiter et laisser reposer pendant 3 minutes. Ajouter ensuite 2 mL de la solution de carbonate de sodium, mélanger pendant 10 secondes et laisser le mélange reposer dans l'obscurité à température ambiante pendant 1 heure. Mesurer la densité optique à 765 nm.

III.9. Caractérisation structurale des deux extraits polysaccharidiques

III.9.1. Analyse UV-vis des deux extraits polysaccharidiques

Principe : La pureté des polysaccharides doit être estimée après leur extraction. Les acides nucléiques et les protéines absorbent fortement les UV à des longueurs d'onde comprises entre 260 et 280 nm (Guo et al., 2013; Pan & Mei, 2010), il est donc important de mesurer l'absorbance des échantillons à ces longueurs d'onde pour estimer la présence de ces contaminants éventuels.

Matériels et réactifs : Dihydrogénophosphate de potassium (Sigma-Aldrich). Hydrogénophosphate de dipotassium (Sigma-Aldrich). Spectrophotomètre (SHIMADZU1800).

Mode opératoire :

(i) La solution tampon est préparée en mélangeant du dihydrogénophosphate de potassium et de l'hydrogénophosphate de dipotassium, à une concentration de 0,2 mol/L et avec un pH de 7,2.

(ii) Pour estimer la pureté des extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG et détecter toute éventuelle contamination par des protéines et des acides nucléiques, la mesure de la densité optique (DO) est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, dans une cuve en quartz de 200 nm à 900 nm. Pour cela, 1 mL de chaque extrait polysaccharidique ($C_m=5\text{mg/mL}$) est ajouté à 1 mL de la solution tampon. Ensuite, l'absorbance est mesurée à 260 nm et à 280 nm pour évaluer la présence de contaminants. Les longueurs d'onde 260 nm et 280 nm ont été choisies car elles correspondent aux maxima d'absorption des acides nucléiques et des protéines (Pan & Mei, 2010 ; Zhibankov, Andrianova & Marchewkab, 1997).

On mesure la concentration des protéines suivant la loi de Warburg & Christian (1941) suivant :

$$\text{Concentration des protéines (mg/mL)} = (1.55 \times \text{DO en 280}) - (0.76 \times \text{DO en 260})$$

III.9.2. Spectroscopie infrarouge (FT-IR)

Principe : La spectroscopie infrarouge (FT-IR) est une technique d'absorption qui permet l'identification des différents groupes fonctionnels présents dans un composé donné. Les liaisons chimiques absorbent le rayonnement infrarouge (IR) à des longueurs d'onde spécifiques en fonction de leur nature et de leur conformation. Les informations obtenues à

partir du spectre permettent l'identification des différents constituants, tels que les groupes OH, CH, C-C, etc. Cette technique est particulièrement adaptée à l'analyse des échantillons biologiques organiques tels que les polysaccharides. La gamme de longueurs d'onde utilisée pour l'analyse infrarouge s'étend de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} , ce qui correspond aux transitions moléculaires de type vibration et rotation. Cette plage contient la quasi-totalité des signatures spectrales des molécules organiques du vivant, et est donc bien adaptée à l'analyse des polysaccharides (**Keirsse, 2003**).

Matériels et réactifs : KBr, Echantillons (poudre) à analyser. Instrument FT-IR (Nicolet iS5, Thermo Fisher Scientific).

Mode opératoire : Les spectres infrarouges ont été utilisés pour identifier les différents groupements présent dans les extraits polysaccharidiques. Pour cela, les spectres infrarouges de toutes les fractions ont été enregistrés sur des disques de Bromure de Potassium (KBr) à l'aide d'un spectrophotomètre IR, dans la plage de longueurs d'onde de 400 à 4000 cm^{-1} . Deux milligrammes d'échantillon sec ont été mélangés à 200 mg de KBr sec, puis le mélange a été pressé pour former un disque qui a été utilisé pour l'enregistrement du spectre. Cette méthode permet d'obtenir des informations précises sur la structure chimique des polysaccharides, notamment en identifiant les différents groupes fonctionnels présents dans la molécule et en analysant les vibrations moléculaires (**Keirsse, 2003**).

III.9.3. Diffraction des rayons X (DRX)

Principe : La méthode de caractérisation par diffraction X sur poudre permet d'obtenir des informations sur la structure cristalline des matériaux, telles que leur texture. Elle repose sur l'interaction entre une onde électromagnétique telle que les Rayons X et le réseau périodique de la matière cristallisée. Cette technique est couramment utilisée pour la caractérisation des solides sous forme pulvérulente. En effet, le faisceau X incident est envoyé sur un ensemble de cristallites orientés aléatoirement, suffisamment nombreux pour que toutes les orientations soient représentées. Cette technique est particulièrement utile pour déterminer la structure cristalline de matériaux complexes tels que les polymères, les céramiques et les minéraux (**Sahli, 2015**).

Matériels et réactifs : Echantillons (poudre) à analyser. Instrument diffractomètre (Panalytical, modèle Empyrem).

Mode opératoire : Les mesures de diffraction des rayons X ont été effectuées sur un diffractomètre de type Panalytical Empyrem, utilisant une radiation de $\text{CuK}\alpha$ (longueur d'onde $\lambda = 1,54056\text{ \AA}$) à une tension de 40 kV et un courant de 40 mA . Les échantillons ont

été analysés en mode Bragg-Brentano HD avec une plage angulaire de 3° à 70°, avec des pas de 0,1° et un temps de mesure de 60 secondes par pas. Les données ont été normalisées et tracées pour générer des diffractogrammes.

III.9.4. Détermination des monosaccharides constitutifs

La détermination des monosaccharides constitutifs est réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM), par chromatographie à haute performance (HPLC) et par chromatographie en phase gazeuse (GC/MS-EI).

III.9.4.1. Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques

Principe : L'hydrolyse acide est une méthode couramment utilisée pour dépolymériser les polysaccharides en monosaccharides. Cette méthode consiste à couper les liaisons osidiques des polysaccharides en présence d'un acide fort. Les conditions opératoires, telles que la température, le temps de réaction, la concentration d'acide et le type d'acide, varient selon la nature et la structure des polysaccharides. Toutefois, en raison des dégradations non spécifiques causées par la force de l'acide, l'acide trifluoroacétique est souvent préféré. En effet, il permet de réaliser une hydrolyse acide plus spécifique et de qualité supérieure. De plus, l'acide trifluoroacétique peut être facilement éliminé par coévaporation avec du méthanol, ce qui facilite le traitement ultérieur des échantillons (**Brudieux, 2007**).

Matériels et réactifs : Acide trifluoroacétique (Sigma-Aldrich, T6508). Solution aqueuse de TFA 2M. Eau ultrapure. Polysaccharide à analyser (poudre). Etuve.

Mode opératoire :

50 mg de PGAC et PGAG sont hydrolysés avec 2,5 mL d'acide trifluoroacétique 2M à 100°C pendant 4 heures dans des tubes fermés. Après refroidissement dans un bain de glace, l'hydrolysats est récupéré. L'acide est coévaporé en ajoutant quelques gouttes de méthanol. Les hydrolysats sont ensuite complètement évaporés (**Athukorala et al., 2006**). Finalement, l'hydrolysats est préparé en ajoutant 1 mL d'eau ultra-pure pour atteindre une concentration de 50 mg/mL avec les dilutions nécessaires.

III.9.4.2. Détermination des monosaccharides constitutifs par chromatographie sur couche mince (CCM)

Principe : La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode d'analyse couramment utilisée pour la séparation et l'identification des composés organiques (**Autran, 1991**). Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption, où la phase mobile est un

solvant ou un mélange de solvants qui progressent le long d'une phase stationnaire (gel de silice, polyamide, cellulose, etc.). Chaque échantillon est soumis à une force de rétention par adsorption et une force d'entraînement par la phase mobile. L'équilibre qui en résulte entre la force de rétention et d'entraînement aboutit à une migration différentielle de l'échantillon à analyser, ce qui permet leur séparation et leur identification (**Délatre, 2005**). Cette identification est rendue possible grâce à des étalons, solutions de sucres connus déposées dans les mêmes conditions que le mélange à analyser. Chaque sucre est caractérisé par son R_f (facteur de rétention). Après la migration, les spots sont révélés par une réaction colorée avec le réactif Nigrum, basée sur les réactions furfuraliques des sucres, après chauffage (**Paulsen et al., 2002**).

Matériels et réactifs : Acétate d'éthyle (Biochem Chemopharma). Pyridine (Biochem Chemopharma). Eau distillée. n-butanol (Prolabo). Acide acétique (Eden Labo). Chloroforme (Biochem Chemopharma). Méthanol (Biochem Chemopharma). Diphenylamine (Biochem Chemopharma). Acétone (Sigma-Aldrich). Aniline (Biochem Chemopharma). Acide orthophosphorique à 85% (Sigma-Aldrich). L-arabinose (Sigma-Aldrich, 13256). D-galactose (Sigma-Aldrich, G0750). D-glucose (Sigma-Aldrich, G8270). D-mannose (Sigma-Aldrich, M6020). L-rhamnose (Sigma-Aldrich, W373011). D-xylose (Sigma-Aldrich, X1500). D-acide galacturonique (Sigma-Aldrich, 48280). D-acide glucuronique (Sigma-Aldrich, G5269). Silica gel 60 F 254. Les cuves chromatographiques. L'hydrolysate (PGAC, PGAG) (C=10 mg/mL).

Mode opératoire :

(i) **Préparation des phases mobiles** : Deux systèmes de séparation sont utilisés en fonction de la nature des oses à séparer et des rapports frontaux recherchés. Le premier système est constitué d'acétate d'éthyle, de pyridine, d'eau, de n-butanol et d'acide acétique dans des proportions de 5/4/4/10/2 (**Hoton-Dorge, 1976**). Le deuxième système est composé de chloroforme, de n-butanol, de méthanol, d'acide acétique et d'eau dans des proportions de 4,5/12,5/5/1,5/1,5 (**Cheng et al., 2010**). Les phases mobiles sont versées dans la cuve chromatographique à une hauteur d'environ 0,5 cm et laissées fermées hermétiquement pendant 24h pour assurer une saturation maximale en vapeur de la phase mobile (**Audigie et al., 1995**).

(ii) **Préparation de la phase stationnaire** : La phase stationnaire utilisée est constituée de plaques en gel de silice de type Silica gel 60 F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium (**Wang & Fang, 2004**). La ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur des plaques, puis elles sont activées dans l'étuve à 100°C pendant 10 min.

(iii) **Préparation des étalons** : Les étalons sont préparés en dissolvant 10 mg de l'étalon dans 1 ml d'eau distillée.

(iv) **Préparation du révélateur** : La solution du Nigrum est préparée selon **Ghebregzabeier et al. (1975)** en mélangeant deux solutions A et B. La solution A est constituée de 2g de diphenylamine dans 50 ml d'acétone, tandis que la solution B est composée de 48 ml d'acétone complétée jusqu'à 50 ml par l'aniline. On ajoute à ce mélange 10 ml d'acide orthophosphorique à 85%.

(v) **Chromatographie** : Les plaques sont introduites dans les cuves de manière à ce que la ligne de dépôt soit au-dessus de la phase mobile. La cuve est fermée pour laisser les plaques se développer lentement en évitant tout déplacement ou vibration des cuves pendant l'élution. Lorsque le solvant arrive à 1cm du bord supérieur, les plaques sont retirées et le front du solvant est marqué avec un crayon (**Delattre, 2005**). Les plaques sont ensuite séchées à l'air libre et révélées à l'aide d'un pulvérisateur. Les plaques sont incubées à l'étuve à 100°C pendant 15 min jusqu'à l'apparition des taches colorées.

(vi) **Calcul du rapport frontal des spots** : Le rapport frontal est calculé pour chaque spot obtenu à partir des hydrolysats et des étalons afin de comparer les R_f et de déterminer les différents types d'oses constitutifs des extraits bruts des polysaccharides hydrosolubles obtenus (**Audigie et al., 1995**).

$$R_f = (\text{Distance parcourue par la substance} / \text{Distance parcourue par le front})$$

III.9.4.3. Détermination des monosaccharides constitutifs par (HPLC)

Principe : La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) repose sur le principe de la séparation des composants d'un mélange en solution, en utilisant une colonne de chromatographie remplie de particules stationnaires hautement poreuses, comme la silice ou l'octadécylsilyl. Les composants se séparent en fonction de leur affinité relative pour la phase mobile et la phase stationnaire, ce qui entraîne des différences de temps de rétention et de distribution des composants dans la colonne (**Anderson et al., 2015**). Le processus de séparation est réalisé par l'écoulement continu de la phase mobile à travers la colonne, qui entraîne les composants du mélange à travers la phase stationnaire. Les composants se séparent en fonction de leur affinité relative pour la phase mobile et la phase stationnaire, ce qui entraîne des différences de temps de rétention et de distribution des composants dans la colonne. Les composants émergent de la colonne à des instants différents et sont détectés par un détecteur approprié. L'échantillon est dissous dans la phase mobile et injecté dans la colonne de chromatographie. La phase mobile peut être composée d'un solvant simple ou d'un

mélange de solvants qui est spécifiquement choisi en fonction de la nature du composé à séparer. Des paramètres tels que le pH, la concentration en sel et la température peuvent également être ajustés pour optimiser la séparation (Meyer, 2010). Le détecteur utilisé pour l'HPLC peut être un détecteur UV, un détecteur à fluorescence ou un détecteur de masse, en fonction de la nature des composés recherchés et de la sensibilité nécessaire pour leur détection (Anderson *et al.*, 2015).

Matériels et réactifs : Eau ultra pure. Acétonitrile (Honeywell). L-arabinose (Sigma-Aldrich, 13256). D-galactose (Sigma-Aldrich, G0750). D-glucose (Sigma-Aldrich, G8270). D-mannose (Sigma-Aldrich, M6020). L-rhamnose (Sigma-Aldrich, W373011). D-xylose (Sigma-Aldrich, X1500). D-acide galacturonique (Sigma-Aldrich, 48280). D-acide glucuronique (Sigma-Aldrich, G5269). L'hydrolysats (PGAC, PGAG) (C=50 mg/mL).

Mode opératoire :

(i) Les deux hydrolysats polysaccharidiques PGAC et PGAG ont été analysés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) selon le protocole décrit par Tihomirova *et al.*, (2016) avec plusieurs modifications. Pour cela, une colonne NH₂ (150 mm x 4,6 mm de diamètre interne x 5 µm) a été utilisée et maintenue à une température de 35°C. L'élution a été réalisée à un débit constant de 1 mL/min en utilisant une phase mobile constituée d'un mélange d'acétonitrile (solvant A) et d'eau ultra pure (solvant B) dans un ratio de 80 : 20 (v/v), en mode isocratique. La détection des composés a été effectuée à l'aide d'un détecteur réfractométrique.

(ii) Des standards des monosaccharides tels que l'arabinose, le galactose, le glucose, le mannose, le rhamnose, le xylose, l'acide galacturonique et l'acide glucuronique ont été dissous dans de l'eau ultra pure et utilisés pour l'identification des monosaccharides constitutifs présents dans les deux extraits. L'identification des pics dans l'analyse HPLC a été réalisée en comparant les temps de rétention des standards de référence avec ceux des pics observés dans les extraits.

(iii) Pour déterminer le pourcentage de chaque monosaccharide présent dans les extraits, la zone de chaque pic des composés de référence a été mesurée. Ensuite, le pourcentage de chaque monosaccharide présent dans les extraits a été calculé en utilisant la zone de chaque pic des composés de référence.

III.9.4.4. Détermination des monosaccharides constitutifs par (GC/MS-EI)

Principe : L'analyse par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse après ionisation par impact électronique est une technique couramment utilisée pour déterminer la

composition en monosaccharides d'un hydrolysate acide de polysaccharides. Toutefois, étant donné la faible volatilité des oses, il est nécessaire de dériver les résidus formés avant l'analyse. Cette étape de dérivation permet de rompre les liaisons hydrogène et de masquer les dipôles pour augmenter la volatilité des composés à des températures inférieures à 300°C. Les dérivatisations les plus fréquemment utilisées sont l'acétylation, la méthylation et la silylation. Les groupements acétyles et triméthylsilyles utilisés comme substituants augmentent non seulement la volatilité des composés dérivés, mais améliorent également leur ionisation par impact électronique. Cette ionisation implique l'impact d'électrons (Figure 25) sur les molécules sortant de la chromatographie, ce qui conduit à la fragmentation des liaisons C-C. Les hétéroatomes des molécules sont souvent ciblés par ces électrons, formant ainsi des radicaux vrais et/ou des cations-radicaux. Le spectre de masse obtenu pour chaque composé est très spécifique en termes de fragmentation et d'abondance des fragments, ce qui donne une empreinte de fragmentation caractéristique. Il convient de noter que les spectres de masse en ionisation par impact électronique présentent rarement le pic de l'ion moléculaire. Lorsque les oses sont dérivés, les groupements acétyle ou triméthylsilyle forment des zones de forte densité électronique, qui seront les cibles préférentielles pour les électrons provenant de la source d'ionisation et induiront ainsi les fragmentations internes (**Petera, 2016**).

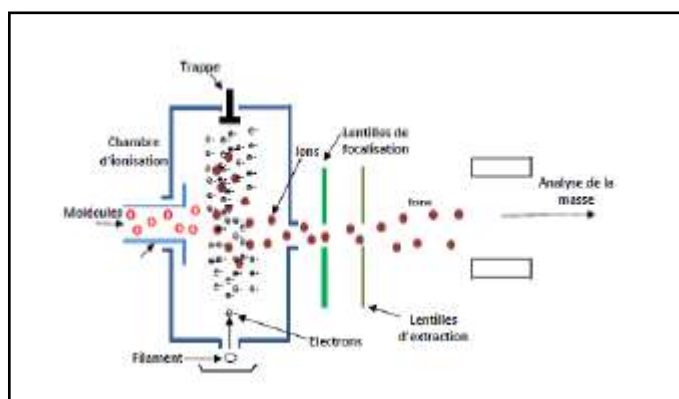


Figure 25 : Schéma d'une source à ionisation par impact électronique (**Petera, 2016**).

La silylation est une technique couramment utilisée pour dériver des monosaccharides avant leur analyse en CPG/SM. Cette méthode implique la substitution d'atomes d'hydrogène actifs dans des groupes fonctionnels tels que -OH, -COOH, -NH, -NH₂ et -SH par des groupements triméthylsilyle. Cela réduit la polarité (amélioration de la forme du pic) et augmente la volatilité en éliminant les liaisons hydrogènes. Les réactifs les plus couramment utilisés pour la triméthylsilylation de nombreuses fonctions sont le BSTFA (Bis(triméthylsilyl) trifluoroacétamide) et le TMCS (triméthylchlorosilane). Le BSTFA agit comme donneur triméthylsilylique, tandis que le TMCS joue le rôle de catalyseur et

améliore l'efficacité de la dérivation en augmentant la réactivité du BSTFA (Petera, 2016). La réaction de triméthylsilylation sur un monosaccharide est présentée dans la Figure 26.

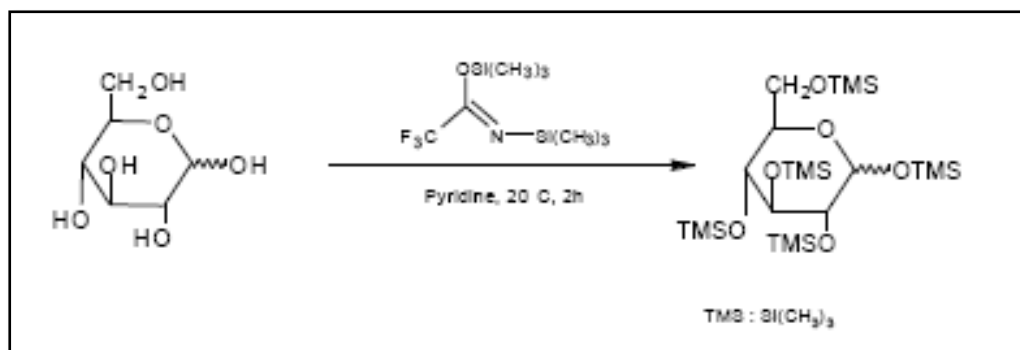


Figure 26 : Mécanisme de triméthylsilylation des *O*-glycosides (Petera, 2016).

Matériels et réactifs : Méthanol (Sigma-Aldrich, 323415). BSTFA: TMCS 99 : 1 (Sigma-Aldrich, 33149). Pyridine (Sigma-Aldrich, 270407). Dichlorométhane (Sigma-Aldrich, 270997). Solutions standards ((L-Rha (Sigma-Aldrich, W373011), L-Ara (Sigma-Aldrich, 13256), D-Xyl (Sigma-Aldrich, X1500), D-Man (Sigma-Aldrich, M6020), D-Gal (Sigma-Aldrich, G0750), D-Glc (Sigma-Aldrich, G8270), D-GlcA (Sigma-Aldrich, G5269), D-GalA (Sigma-Aldrich, 48280), injectées de 0,1 à 10 mg/mL). Solution de monosaccharides à analyser (0.1 à 10 mg/mL selon l'analyse, avec dilutions si nécessaire). CPG/SM-EI (Agilent, GC 6890 couplée à un détecteur sélectif de masse Agilent 5973). Colonne GC (Macherey-Nagel, OPTIMA-1MS, 30 m, 0,32 mm, 0,25 μ m). Evaporateur sous jet d'azote (Stuart, Block Heater SBH 200D/3 et Concentrator SBH CONC/1).

Mode opératoire :

(i) Les échantillons hydrolysés sont séchés sous un flux d'azote pour éliminer les excès d'acides (séchage à l'air sec). Ajouter 1 mL de méthanol, puis agiter vigoureusement et sécher à nouveau sous un flux d'azote. Répéter cette étape deux fois pour éliminer toute trace résiduelle d'acides. La dérivation est réalisée à l'aide de BSTFA : TMCS (99 : 1), Pour 2 mg de monosaccharides, ajouter 200 μ L de pyridine et 200 μ L de BSTFA : TMCS (99 : 1). Bien mélanger, puis placer à température ambiante sous agitation (450 rpm) pendant 2 heures. Sécher à nouveau sous un flux d'azote, puis dissoudre les résidus de triméthylsilyl-*O*-glycosides dans du dichlorométhane (à des concentrations de 10, 4, 2, 1 et 0,1 mg/mL).

(ii) Préparer les standards (L-Rha (Sigma-Aldrich, W373011), L-Ara (Sigma-Aldrich, 13256), D-Xyl (Sigma-Aldrich, X1500), D-Man (Sigma-Aldrich, M6020), D-Gal (Sigma-Aldrich, G0750), D-Glc (Sigma-Aldrich, G8270), D-GlcA (Sigma-Aldrich, G5269), D-GalA (Sigma-

Aldrich, 48280)) dans les mêmes conditions, à des concentrations différentes (10, 4, 2, 1 et 0,1 mg/mL).

(iii) Les analyses ont été effectuées par CPG/SM-EI et les échantillons ont été injectés sur une colonne OPTIMA-1MS à un débit d'hélium de 2,3 mL/min. La pression d'hélium est fixée à 8,8 psis et le ratio de division à 50 : 1. Fixer la température initiale du four à 100°C pendant 3 minutes. Programmer une augmentation de la température de 8°C/min jusqu'à 200°C et maintenir la température pendant 1 minute. Terminer par une augmentation de la température de 5°C/min jusqu'à 215°C (durée totale de 19 minutes et 50 secondes). L'ionisation est réalisée par Impact Électronique (EI, 70 eV), la température de la trappe est fixée à 150°C et la plage de ciblage ionique à 40-800 m/z. La température de l'injecteur est fixée à 250°C.

III.10. Activités biologiques des polysaccharides

En raison de la similarité dans l'utilisation traditionnelle des deux plantes étudiées pour traiter le diabète, nous avons entrepris de tester l'efficacité des deux extraits polysaccharidiques en tant qu'agents antidiabétiques.

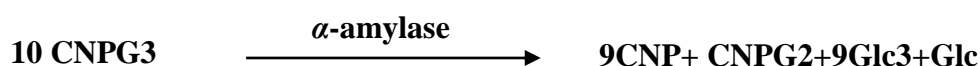
III.10.1. Activité antihyperglycémiant de PGAC et PGAG

Les fibres alimentaires, en particulier les fibres solubles, se démarquent comme une partie importante d'un régime alimentaire sain visant à traiter le diabète (**Pinto Vieira et al., 2018**). La réduction de l'hyperglycémie postprandiale est l'une des méthodes de traitement pour le diabète à un stade précoce. Cela est réalisé en inhibant les enzymes de digestion des glucides, l' α -glucosidase et l' α -amylase, dans le système digestif afin de prévenir l'absorption du glucose. Par conséquent, les inhibiteurs de ces enzymes ralentissent l'absorption du glucose (**Kashtoh & Baek 2022**).

III.10.1.1. Pouvoir inhibiteur sur l' α -amylase

Principe : L'estimation de l'activité de l' α -amylase repose sur l'utilisation du substrat chromogène 2-chloro-p-nitrophényl- α -D-maltotrioside (CNPG3), qui est hydrolysé par l'enzyme pour libérer le 2-chloro-nitrophénol (CNP), le 2-chloro-p-nitrophényl- α -D-maltoside (CNPG2), le maltotriose (Glc3) et le glucose (Glc).

Le schéma réactionnel est le suivant:



Le taux de 2-chloro-nitrophénol (CNP) reflète le degré de l'activité de l' α -amylase (Yadav & Prakash, 2011).

Le potentiel inhibiteur des deux fractions polysaccharidiques isolé d'*Astragalus cruciatus* Link. et *Astragalus gyzensis* Bunge. sur l'activité de l' α -amylase est évalué par la diminution de la capacité de l' α -amylase à hydrolyser son substrat en présence de PGAC et PGAG.

Matériels et réactifs : Acarbose (Sigma-Aldrich, A8980-1G). Solutions d'acarbose (100mM, avec les dilutions nécessaires). α -amylase (megaamylase 3000UI). Solution d' α -amylase 5UI/L. CNPG3 (Santa Cruz Biotechnology, sc-506551-1G). Solution CNPG3 (0,5mg/mL). Echantillon à tester (PGAC et PGAG 5mg/mL, avec les dilutions nécessaires). Eau distillée. Incubateur (Tegimenta). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-1240).

Mode opératoire : Le pouvoir inhibiteur de PGAC et PGAG sur l'activité de l' α -amylase est estimé selon les protocoles modifiés de **Kajaria et al. (2013)** et **Kumar et al. (2011)**:

Dans des tubes secs, on ajoute un volume de 180 μ L de chaque concentration de PGAC, PGAG et d'acarbose (le contrôle positif) (0,1, 0,25, 0,5, 1, 2,5 et 5 mg/mL) ainsi que de l'eau distillée (le contrôle négatif). On ajoute ensuite un volume de 90 μ L de la solution d' α -amylase à 5 UI/L pour chaque tube. Les mélanges réactionnels sont pré-incubés pendant 15 minutes à 37°C. Ensuite, on ajoute 500 μ L de la solution de substrat (CNPG3 à 0,5 mg/mL) sous agitation, suivie d'une incubation à 37°C pendant 10 minutes (voir Tableau 11). La lecture de l'absorbance est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à $\lambda=405\text{nm}$.

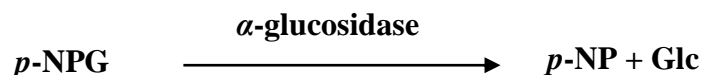
Tableau 11 : Test de l'inhibition de l' α -amylase.

	α -amylase (μ L)	90
Contrôle positif	Acarbose (μ L)	180
	CNPG (μ L)	500
	α -amylase (μ L)	90
<i>Astragalus cruciatus</i> Link.	PGAC (μ L)	180
	CNPG (μ L)	500
	α -amylase (μ L)	90
<i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	PGAG (μ L)	180
	CNPG (μ L)	500
	α -amylase (μ L)	90
Contrôle négatif	Eau distillée (μ L)	180
	CNPG (μ L)	500

III.10.1.2. Pouvoir inhibiteur sur l' α -glucosidase

Principe : La technique actuelle est basée sur la mesure de l'absorbance du *p*-nitrophénol (*p*-NP) libéré lors de la dégradation enzymatique de *p*-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (*p*-NPG) par l'enzyme α -glucosidase (Ha *et al.*, 2016).

Le schéma réactionnel est le suivant :



Le pouvoir inhibiteur de PGAC et PGAG natifs sur l'activité de l'enzyme α -glucosidase est déterminé par la diminution de la dégradation du substrat *p*-NPG à $\lambda=405\text{nm}$ (Mosihuzzman *et al.*, 2013).

Matériels et réactifs : Acarbose (Sigma-Aldrich, A8980-1G). Solution d'acarbose (100mM, avec les dilutions nécessaires). α -glucosidase 2000UI/L (DIASYS, 1 0501 99 10 921). Solution d' α -glucosidase (2UI/L). *p*-NPG (Sigma-Aldrich, N1377-1G). Solution *p*-NPG 4mM préparée dans le PBS 0,1M (pH 6,9). Echantillons à tester (PGAC et PGAG 5mg/mL avec les dilutions nécessaires). Na_2CO_3 (BiochemChemopharma). Solution de Na_2CO_3 0,2M. Eau distillée. Incubateur (Tegimenta). Spectrophotomètre (Shimadzu, UV-1240).

Mode opératoire : Le potentiel inhibiteur de PGAC et PGAG sur l'activité de l' α -glucosidase est déterminé selon les protocoles modifiés de Bisht *et al.* (2013) et Qian *et al.* (2015).

Dans des tubes secs, 500 μL de la solution d' α -glucosidase 2 UI/L sont introduits avec 100 μL de chaque dilution de PGAC, PGAG et acarbose (le contrôle positif) (0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5 et 5 mg/mL) ou avec PBS (le contrôle négatif). Le mélange est pré-incubé à 37°C pendant 15 min. Puis, 100 μL de la solution du substrat (*p*-NPG) sont ajoutés. Les tubes sont agités et incubés à 37°C pendant 20 min (Tableau 12). Une solution de Na_2CO_3 (1 mL, 0,2 M) est ajoutée afin d'arrêter la réaction et les absorbances sont mesurées à $\lambda=405\text{ nm}$.

Tableau 12 : Test d'inhibition de l' α -glucosidase.

	α -glucosidase (μ L)	500
Contrôle positif	Acarbose (μ L)	100
	<i>p</i> -NPG (μ L)	100
	α -glucosidase (μ L)	500
<i>Astragalus cruciatus</i> Link.	PGAC (μ L)	100
	<i>p</i> -NPG (μ L)	100
	α -glucosidase (μ L)	500
<i>Astragalus gyzensis</i> Bunge.	PGAG (μ L)	100
	<i>p</i> -NPG (μ L)	100
	α -glucosidase (μ L)	500
Contrôle négatif	PBS (μ L)	100
	<i>p</i> -NPG (μ L)	100
	α -glucosidase (μ L)	500

- Expression des résultats de l'activité anti-hyperglycémiant

L'activité anti-hyperglycémique des polysaccharides hydrosolubles de PGAC et PGAG, ainsi que de l'acarbose sur les enzymes α -amylase et α -glucosidase, est exprimée en pourcentage d'inhibition en utilisant l'équation suivante (Telagari & Hulltti, 2015):

$$\text{Équation.} \quad \% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{A_{\text{Contrôle-}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{Contrôle-}}} \right) \times 100\%$$

III.10.2. Activité antioxydant par le test de piégeage du radical libre DPPH•

Principe : Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés. L'évaluation de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette due à la réduction des radicaux DPPH• en un jaune pâle correspondant à l'hydrazine (Figure 27).

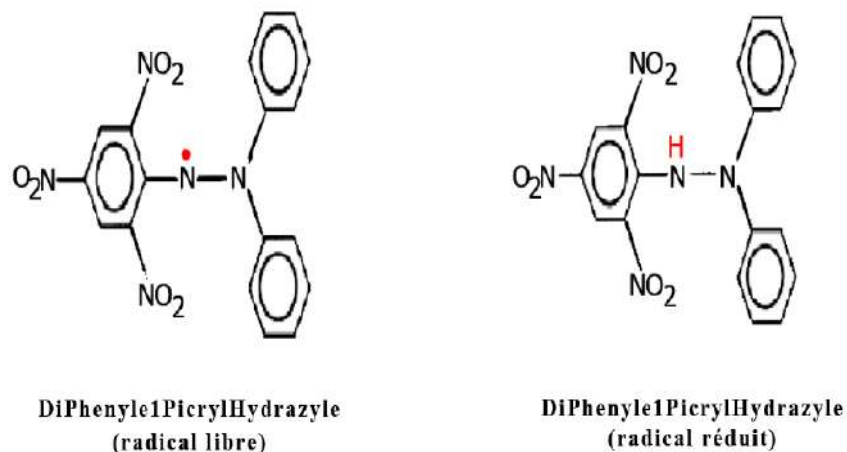


Figure 27 : Forme libre et réduite du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle DPPH• (**Bentabet, 2015**).

Matériels et réactifs : Ethanol (Biochem Chemopharma). Eau distillée. L'acide ascorbique (Sigma-Aldrich). 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich).

Mode opératoire : L'activité de piégeage des radicaux DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) a été évaluée selon la méthode de **Delattre et al. (2015)**, avec quelques modifications. Pour cela, 1 ml d'extrait polysaccharidique (PGAG/PGAC) ou d'étalons à diverses concentrations ont été mélangés avec 1 ml de DPPH• (0,25 mM). Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'activité de piégeage a été calculée comme la diminution de l'absorption des échantillons par rapport à la solution standard DPPH•. Les résultats ont été exprimés en tant que pouvoir antioxydant.

Équation :
$$\text{Inhibition (\%)} = (1 - (A_{\text{échantillon}}/A_{\text{control}})) \times 100$$

III.11. Evaluation du potentiel toxique par le teste d'hémolyse

Principe : Compte tenu de la sensibilité des globules rouges humains à l'hémolyse induite par certaines substances, il est important de réaliser un test de propriété hémolytique (**Devecioglu et al., 2001**). Le modèle érythrocytaire est largement utilisé car il fournit une indication générale de la toxicité membranaire. L'hémolyse se produit lorsque la bicouche lipidique membranaire des globules rouges est détruite, ce qui est lié à la concentration et à la puissance de l'extrait. De plus, l'activité hémolytique de chaque extrait est liée à sa composition chimique (**Mohammedi & Atik, 2014**).

Matériels et réactifs : Tampon PBS (10 mM, pH 7,4). EDTA (Sigma-Aldrich). MgCl₂ (Sigma-Aldrich). SDS (Sigma-Aldrich). NaCl (Sigma-Aldrich).

Protocole :

(i) **Préparation de la suspension érythrocytaire :** Du sang frais est prélevé chez un volontaire sain au-dessus du coude qui n'a pas pris d'anti-inflammatoires dans les 48 heures précédant le prélèvement. Les prélèvements sanguins sont effectués dans des tubes héparinés. Ensuite, le sang est centrifugé à 4000 tr/min pendant 5 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavé deux fois avec du tampon phosphate de sodium salé (PBS) 10 mM, pH 7,4 contenant 150 mM de NaCl, puis resuspendu dans ce même tampon.

(ii) **Mesure de la fuite de l'hémoglobine :** La suspension érythrocytaire est diluée 20 fois avec le PBS, puis incubée à 37°C sous agitation continue pendant 30 minutes après l'ajout des différentes concentrations des deux extraits PGAC et PGAG. Des prélèvements de 500 µL sont prélevés à partir des solutions réactionnelles auxquelles nous avons ajouté 2 mL d'une solution de lavage glacée (NaCl 150 mM, MgCl₂ 2 mM). Après centrifugation à 4000 tr/min pendant 5 minutes, nous avons récupéré le surnageant sur lequel nous avons mesuré la fuite de l'hémoglobine intracellulaire en mesurant la densité optique à une longueur d'onde de 548 nm. Pour le contrôle positif, l'hémolyse totale est obtenue en mettant les globules rouges en suspension avec du SDS à une concentration de 10 %. Le tampon seul est utilisé comme contrôle négatif. Pour chaque échantillon, le pourcentage d'activité hémolytique maximale est déterminé par l'équation suivante :

$$\text{Taux d'hémolyse} = (\text{DO en présence de l'extrait} / \text{DO en présence de SDS}) \times 100$$

III.12. Méthodes d'analyse statistique

Les résultats de l'enquête ethnobotanique ont été analysés à l'aide de plusieurs indices: l'indice ethnobotanique de la fréquence relative de citation (RFC), la valeur d'usage (UV), le niveau de fidélité (FL), le facteur de consensus de l'informateur (Fic) et l'indice de similarité ethnobotanique Rahaman (RSI). Le test du Chi² a été utilisé pour évaluer l'association entre les connaissances sur les usages traditionnels des plantes médicinales et les différentes caractéristiques sociodémographiques de la population interrogée.

Les résultats de l'étude phytochimique ont été analysés à l'aide de teste T student. Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS IBM 2022 avec un seuil de signification de 5 %. Les graphiques ont été tracés à l'aide du Excel 2007 et le logiciel Origin Pro 8.

III.12.1. Fréquence relative de citation (RFC)

La fréquence relative de citation (RFC) est calculée en divisant le nombre d'informateurs mentionnant une espèce utile par le nombre total d'informateurs ayant participé à l'enquête, sans tenir compte des catégories d'utilisation. Cet indice varie de 0 (lorsque les personnes ne mentionnent pas la plante comme étant utile) à 1 (lorsque tous les informateurs mentionnent l'utilisation de l'espèce) (**Tardio et al., 2008**) :

$$RFC = \frac{FC}{N}$$

Où FC est la fréquence de citation et N est le nombre total d'informateurs.

III.12.2. Valeur d'usage (UV)

La valeur d'usage des espèces (UV) est une méthode quantitative qui permet de mesurer l'importance des espèces connues et utilisées localement. Cet indice est obtenu grâce à la formule suivante (**Tardio et al., 2008 ; Phillips & Gentry, 1993 ; Andrade-Cetto & Heinrich, 2011**) :

$$UV_s = \sum \frac{U_{is}}{n_s}$$

Où U_{is} représente le nombre de rapports d'utilisation des espèces mentionnés par chaque informateur (i) et n_s représente le nombre total d'informateurs ayant cité une espèce donnée.

III.12.3. Niveau de fidélité (FL)

Le niveau de fidélité (FL) a été déterminé pour les maladies de la manière suivante (**Friedman et al., 1986**) :

$$FL = \frac{I_p}{I_u} \times 100$$

Où I_p représente le nombre d'informateurs ayant mentionné l'utilisation d'une espèce pour une maladie ou une utilisation spécifique, et I_u représente le nombre total d'informateurs ayant mentionné l'espèce pour n'importe quelle utilisation.

III.12.4. Facteur de consensus informateur (Fic)

Pour identifier les plantes médicinales potentiellement efficaces, **Trotter & Logan (1986)** ont mis au point une méthode basée sur le concept de «consensus informateur». Le Fic est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$Fic = \frac{n_{resp} - nt}{n_{resp} - 1}$$

Où n_{resp} représente le nombre de rapports d'utilisation dans chaque catégorie et nt représente le nombre de taxons utilisés. Le résultat du produit est compris entre 0 (si les

espèces végétales sont peu connues et utilisées par les informateurs) et 1 (si les espèces végétales sont très connues et utilisées par les informateurs) (**Heinrich et al., 1998 ; Thomas, 2008**).

III.12.5. Indice de similarité ethnobotanique Rahaman (RSI)

L'indice de similarité ethnobiologique de Rahman (RSI), qui permet d'évaluer la similarité entre les espèces en termes d'usages, est calculé de la manière suivante :

$$\text{RSI} = \frac{nc}{na + nb - nc} \times 100$$

Cette formule est similaire à l'indice de similarité de Jaccard. **Rahman et al. (2019)** ont utilisé cet indice pour comparer l'utilisation des plantes médicinales dans deux communautés différentes en enregistrant le nombre d'espèces de plantes médicinales traitant un certain état de santé dans chaque communauté, ainsi que le nombre d'espèces de plantes couramment utilisées pour traiter cet état de santé dans les deux communautés. Dans cette recherche, cette approche a été adaptée pour évaluer la similarité des usages entre paires d'espèces. Les variables utilisées sont n_a et n_b , représentant le nombre de rapports d'usage des espèces a et b respectivement, ainsi que n_c , représentant le nombre d'usages communs enregistrés pour les deux espèces. Le RSI peut varier de 0 à 100 %, et un RSI inférieur à 50 % indique une faible similitude en termes d'utilisations entre les deux espèces, tandis qu'un RSI supérieur à 50 % indique une forte similitude en termes d'utilisations entre les deux espèces.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV. Résultats et Discussion

Dans le présent chapitre, nous allons exposer les différents résultats obtenus lors de l'enquête ethnobotanique, de l'extraction, de la composition, des analyses structurales, des activités biologiques et du potentiel toxique des deux extraits polysaccharidiques hydrosolubles isolés à partir des graines de l'*A. cruciatus* et l'*A. gyzensis*.

IV.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique

L'Organisation Mondiale de la Santé estime que la majorité des habitants des pays en développement, jusqu'à 80 %, continuent de dépendre des plantes médicinales locales pour répondre à leurs besoins en matière de soins de santé primaires. Dans certains pays africains, cette dépendance peut atteindre jusqu'à 90 % de la population. Il est important de noter que 25 % des médicaments sur ordonnance et 11 % des médicaments considérés comme essentiels par l'OMS sont dérivés de plantes, soulignant ainsi l'importance des plantes médicinales pour la santé humaine. En outre, un grand nombre de drogues synthétiques sont obtenues à partir de composés précurseurs provenant de plantes (Maroyi, 2011).

La phytothérapie suscite un regain d'intérêt, en particulier en Afrique du Nord (Mrabti et al., 2021), et la transmission orale de la médecine traditionnelle a continué de jouer un rôle important dans la plupart des pays en développement, tels que l'Algérie. Cependant, ces connaissances risquent de disparaître avec le développement de la vie et de l'industrie pharmaceutique, soulignant la nécessité d'archiver et d'intégrer la médecine traditionnelle dans le système de santé moderne en utilisant l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie. L'enregistrement des noms locaux et des utilisations indigènes des plantes présente des avantages sociétaux potentiels importants. Dans ce contexte, les entretiens et les inventaires représentent le moyen le plus efficace pour préserver ces connaissances (Senouci et al., 2019). Avec plus de 3139 espèces, la flore algérienne est l'une des plus riches d'Afrique du Nord, ce qui en fait un réservoir important de plantes médicinales potentielles. En plus de sa biodiversité, l'Algérie possède une longue et riche médecine traditionnelle à base de plantes.

Le but de cette étude ethnobotanique était de valoriser et d'identifier les différentes utilisations traditionnelles de deux plantes de l'*A. cruciatus* et l'*A. gyzensis* Bunge, de la région d'El-Oued, de documenter la connaissance médicinale traditionnelle liée à l'utilisation de ces plantes en collaboration avec les tradithérapeutes, les herboristes, les chercheurs et la population locale qui sont les détenteurs de savoirs dans ce domaine. Nous avons cherché à obtenir un aperçu général du pouvoir curatif de ces plantes, des parties utilisées et du mode de préparation.

IV.1.1. Fréquence relative de citation (RFC) pour chaque espèce

Tableau 13 : Fréquence relative de citation (RFC) de l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. à El-Oued.

	AC	AG
RFC	0.404	0.4

Les résultats ont montré que les deux espèces végétales sont moins connues de la population d'El-Oued avec une valeur RFC d'*A. cruciatus* de 0,404 et d'*A. gyzensis* de 0,40 (Tableau 13), probablement en raison du fait que ces plantes poussent dans une écologie spécifique, dans les buttes protégées des fermes et des vallées, en particulier dans les endroits les plus humides de la région d'El-Oued (**Helisse, 2005**). De plus, l'apparition de ces plantes dépend des précipitations (**Chehma, 2006**). Qui sont caractérisées par des précipitations faibles, oscillantes et peu fréquentes, avec une moyenne annuelle de 5,90 mm, selon l'analyse statistique des données météorologiques recueillies à la station météorologique de l'aéroport d'Oued Souf entre 1978 et 2016 (**Barkat et al., 2021**). De plus, la communauté locale montre un niveau de familiarité plus élevé avec les plantes médicinales qui sont répandues et largement utilisées, contrairement aux plantes pastorales qui sont plus familières aux nomades.

IV.1.2. Niveau de fidélité (FL) pour chaque espèce

Tableau 14 : Le niveau de fidélité (FL) de l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. à El-Oued.

Utilisation	(FL) AC	(FL) AG
Nourriture animale	77.23	79
Nourriture humaine	76.24	62
Utilisation médicinale	18.81	19
Utilisation cosmétique	3.96	0

La plupart des espèces les plus populaires, tel que rapporté par les informateurs, sont déterminées par leur niveau de fidélité (**Caunca & Balinado, 2021**).

La population d'El-Oued utilise principalement la plante d'*A. cruciatus* pour l'alimentation animale avec un niveau de fidélité (FL=77,23) et pour l'alimentation humaine avec un niveau de fidélité plus élevé (FL=76,24), mais également pour des usages médicaux (FL=18,81) et cosmétiques (FL=3,96). En revanche, l'*A. gyzensis* est utilisée pour l'alimentation animale avec un niveau de fidélité plus élevé (FL=79), pour l'alimentation humaine avec un niveau de fidélité (FL=62), mais également pour des usages médicaux

(FL=19) (**Tableau 14**). Les résultats montrent que ces deux plantes sont utilisées à des fins différentes, contribuant à la diversification de l'alimentation animale et humaine, notamment grâce à leurs goûts sucrés appréciés de la population. Les plantes du genre *Astragalus* sont riches en glucides, que l'on trouve dans différents organes et espèces de plantes. Par exemple, la teneur en polysaccharides des racines de 17 espèces d'*Astragalus* récoltées en Iran varie de 1,3 % à 7,33 % en poids sec, tandis que la teneur en mucilage des folioles des différentes espèces varie de 5,32 % à 19,24 % du poids sec (**Niknam & Salehi Lisar, 2004**). Les graines du genre *Astragalus* sont également une source précieuse de polysaccharides, trouvés dans 16 autres espèces de ce genre (**Olennikov & Rokhin, 2008**). Les graines d'*Astragalus podolobus*, récoltées en Iran, ont une composition chimique qui comprend 13,23% de protéines, 71,74% de glucides, 3,15% de matières grasses/lipides, 6,02% de fibres brutes et 10,42% de cendres totales. Ces nutriments fournissent une excellente valeur nutritive, rendant les graines adaptées comme source d'alimentation pour le bétail ainsi que comme source alimentaire pour la consommation humaine (**Kumleh et al., 2016**). Bien que certains habitants locaux utilisent ces plantes à des fins thérapeutiques ou médicinales, de nombreuses espèces d'*Astragalus* sont connues pour leur potentiel à produire des composés bioactifs. Par exemple, *Astragalus membranaceus* est un matériau médicinal bien connu utilisé en médecine traditionnelle chinoise (**Zheng et al., 2020**). De nombreuses espèces d'*Astragalus* ont été soumises à une analyse chimique pour identifier la présence de divers constituants bioactifs, tels que des flavonoïdes, des acides aminés non protéiques, des saponines, des alcaloïdes, des composés nitro, du mucilage, des stérols, une teneur en proline, des composés phénoliques et d'autres composés connexes (**Rahimi et al., 2017**).

IV.1.3. Valeur d'usage (UV)

Tableau 15 : Valeur d'utilisation (UV) de l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. à El-Oued.

	AC	AG
UV	1.84	0.68

L'espèce d'*A. cruciatus* avait une plus grande valeur d'utilisation pour la population d'El-Oued, avec un UVs= 1.84. Tandis que l'espèce d'*A. gyzensis* avait une faible valeur d'utilisation UVs=0.68 (Tableau 15).

Cette disparité indique une importance plus grande d'*A. cruciatus* pour la population étudiée, attribuable à ses multiples utilisations en tant que source de nourriture pour les humains et les animaux, remède médicinal et produit cosmétique. En revanche, *A. gyzensis* a

été considéré comme moins important en raison de son utilisation limitée en tant que source de nourriture pour les humains et les animaux et en tant que remède médicamenteux.

IV.1.4. Facteur de consensus informateur (Fic)

Tableau 16 : Valeurs des Fic (Indice de la Connaissance Fidèle) de l'utilisation traditionnelle de l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. pour traiter les affections humaines à El-Oued.

	Fic de AC	Fic de AG
Diabète	0.66	-
Toux	-	-
Morsure de serpents et de scorpions	-	0.66
Fertilité féminine	-	-
Troubles digestifs	-	0.5

Le Fic (facteur de consensus des informateurs) a été calculé pour évaluer le niveau d'accord entre les informateurs concernant les plantes à utiliser pour chaque catégorie de maladies (Cauncaand & Balinado, 2021). Le tableau 16 présente les valeurs du Fic pour l'utilisation des deux plantes dans le traitement de différentes affections. La valeur de Fic la plus élevée a été observée pour l'utilisation d'*A. cruciatus* dans le traitement du diabète (Fic=0.66). En revanche, la valeur maximale de Fic pour l'*A. gyzensis* a été rapportée pour son utilisation dans la prise en charge des morsures de serpent et de scorpion (Fic=0.66), suivie des troubles digestifs (Fic=0.5).

IV.1.5. Indice de similarité de Rahaman (RSI)

Tableau 17 : L'indice de similarité de Rahaman (RSI) entre l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. utilisées pour traiter diverses maladies à El-Oued.

	Douar el Ma	Guemar	Taghzout	Hassi khalifa	El-Hamraya	Mih Ouenesa	Robbah	Debbila	El-Oued center
Douar el Ma	*								
Guemar	0	*							
Taghzout	0	0	*						
Hassi khalifa	0	0	0	*					
El-Hamraya	100	0	0	0	*				
Mih Ouenesa	0	0	0	0	0	*			
Robbah,	0	0	0	0	0	0	*		
Debbila	0	0	0	0	0	0	0	*	
El-Oued center	0	0	0	0	0	0	0	0	*

L'indice de similarité de Rahaman (RSI) a été calculé pour déterminer la similarité des utilisations médicinales des espèces végétales étudiées dans différentes communautés. Les résultats ont indiqué que certaines communautés n'avaient qu'une seule utilisation médicinale en commun pour les deux espèces végétales. Un niveau élevé de similarité a été observé entre El Hamraya/Douar el Ma, avec une valeur de RSI de 100%, indiquant une forte similarité dans les utilisations des deux espèces (Tableau 17).

IV.1.6. Description socio-démographique de la population interrogée

En ce qui concerne les résultats présentés dans le tableau 18, il a été constaté que l'*A. cruciatus* et l'*A. gyzensis* sont bien connus et fréquemment cités par les participants des régions de Douar el Ma et Hassi Khalifa, avec respectivement 68,3 % et 15,8 % des participants mentionnant *A. cruciatus*, et 64 % et 19 % des participants mentionnant *A. gyzensis*. En revanche, les participants des autres municipalités étaient moins familiers avec ces deux espèces et moins susceptibles de les utiliser. Cette différence de connaissance et d'utilisation est probablement due au fait que ces plantes sont plus abondantes dans les régions de Douar el Ma et Hassi Khalifa.

La majorité des participants qui étaient familiers avec *A. cruciatus* et *A. gyzensis* étaient des hommes, avec 92,1 % et 97 % des participants masculins signalant une connaissance de ces plantes, respectivement. Cette constatation contredit les recherches ethnobotaniques précédentes, qui suggèrent que les femmes possèdent généralement une connaissance traditionnelle plus grande des plantes médicinales (Hamel et al., 2018). Cependant, il

convient de noter que dans le contexte de l'enquête sur le terrain, les hommes ont tendance à être responsables de la collecte des plantes médicinales, tandis que les femmes sont responsables du séchage, du stockage et de la préparation de ces plantes pour les utiliser dans les soins aux membres de la famille (**Mehdioui & Kahouadji, 2007**). Le fait que ces deux plantes soient moins connues et moins fréquemment utilisées en médecine traditionnelle par la population étudiée peut expliquer pourquoi la connaissance de ces plantes est plus répandue chez les hommes dans cette étude.

Les personnes âgées de 60 ans et plus représentaient environ 59,4% et 59% des participants. Les participants plus jeunes avaient peu ou pas de connaissances sur les utilisations traditionnelles des deux espèces étudiées (Tableau 18). Ces résultats sont en accord avec une étude ethnobotanique précédente (**Mehdioui & Kahouadji, 2007**). Les personnes âgées sont une source d'information plus fiable car ils possèdent une richesse de connaissances ancestrales transmises par voie orale (**Chaachouay et al., 2019**). L'accumulation d'expérience au fil du temps est la principale source locale d'information pour l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle (**Belhaj et al., 2020**). Lorsqu'une personne âgée décède, toute une bibliothèque disparaît et toutes ces connaissances sont diluées et perdues pour une masse d'utilisateurs, ce qui les met en danger de devenir courantes (**Daoudi et al., 2015**). En outre, pour de nombreuses personnes âgées, la raison principale d'utiliser des médicaments à base de plantes est qu'ils sont considérés comme une alternative aux médicaments synthétiques, car ils sont considérés comme moins nocifs, moins chers et plus faciles à obtenir (**Pereira et al., 2016**). Nous avons également constaté que les jeunes ont perdu la pratique de la médecine populaire et certains aspects de la culture locale, confirmant que les personnes âgées, considérées comme des experts en médecine naturelle, ne sont pas en mesure de transmettre leurs connaissances aux générations plus jeunes en raison de la réduction de la consommation de plantes par les jeunes. Le déclin des connaissances ethnobotaniques chez les jeunes peut être attribué à la poursuite de l'urbanisation de la communauté et à la migration des jeunes vers les villes, où ils ont un accès plus important à l'emploi, à l'éducation et aux services de santé, mais également où les nouvelles options de produits et services peuvent conduire à l'abandon et à la marginalisation des connaissances traditionnelles sur les plantes médicinales (**Oliveira et al., 2020**).

La majorité des participants étaient illettrés, représentant environ 80,2% et 79%, tandis que les personnes ayant une éducation secondaire étaient proches derrière avec 9,6% et 8% (Tableau 18). Ces résultats sont en accord avec des études précédentes (**Saadi et al., 2013**). De manière intéressante, l'utilisation des plantes était inversement proportionnelle au niveau

d'éducation des participants, les répondants plus jeunes et ayant un niveau d'éducation plus élevé étant plus enclins à se tourner vers la médecine moderne, entraînant ainsi la perte de connaissances précieuses liées aux remèdes traditionnels à base de plantes (Abouri et al., 2012). Ces résultats sont cohérents avec ceux de Skalli et al. (2019).

L'utilisation des plantes est généralement acquise par un long processus d'expérience accumulée et transmise de génération en génération. La grande majorité des participants (94,1% pour *A. cruciatus* et 91% pour *A. gyzensis*) étaient des citoyens.

Selon le test de Chi-carré, une association significative a été observée entre la connaissance des utilisations des plantes et des facteurs tels que la région, le genre, l'âge, le niveau d'éducation et l'occupation pour les deux espèces (Tableau 18).

Tableau 18 : Description socio-démographique de la population interrogée dans la région d'El-Oued.

		Per AC (%)	Per AG (%)	Analyse du test du Chi-carré pour AC	Analyse du test du Chi-carré pour AG
Commune	El hamraya	3	3	$\chi^2 = 301,297,$ df = 7, P = 0.000	$\chi^2 = 305,900,$ df = 8, P = 0.000
	guemar	5	6		
	Douar el ma	68.3	64		
	Hassi khalifa	15.8	19		
	El-Oued center	5	4		
	Robbah	1	1		
	Debila	1	1		
	Taghzout	1	1		
	Mih ouensa	0	3		
Sexe	Homme	92.1	97	$\chi^2 = 71,535,$ df = 1, P = 0.000	$\chi^2 = 88,360,$ df = 1, P = 0.000
	Femme	7.9	3		
Âge	18-30	2	2	$\chi^2 = 86,287,$ df = 3, P = 0.000	$\chi^2 = 86,640,$ df = 3, P = 0.000
	31-45	5.9	5		
	46-60	32.7	34		
	>60	59.4	59		
Niveau d'éducation	Illettré(e)	80.2	79	$\chi^2 = 164,307,$ df = 3, P = 0.000	$\chi^2 = 155,600,$ df = 3, P = 0.000
	Niveau primaire	5	6		
	Niveau secondaire	9.6	8		
	Niveau universitaire	7.9	7		
Occupation	Citadin(e)	94.1	91	$\chi^2 = 256,980,$ df = 3, P = 0.000	$\chi^2 = 232,640,$ df = 3, P = 0.000
	Herboriste	3	5		
	Chercheur(se)	2	3		
	Guérisseur(se)	1	1		

IV.1.7. Usages médicaux des espèces d'*Astragalus*

La présente étude révèle que la plante d'*A. cruciatus* n'a pas été précédemment répertoriée comme plante médicinale en Algérie ou dans les pays voisins. L'analyse ethnobotanique des informations recueillies nous a permis d'identifier plusieurs maladies qui peuvent être traitées par cette plante. Les résultats présentés dans le tableau 19, démontrent que cette plante est principalement utilisée pour traiter les troubles d'estomac et les flatulences (27,8%), ainsi que pour gérer le diabète (22,2%). De plus, cette espèce possède des propriétés anti-inflammatoires (16,7%) et peut être utilisée pour traiter les troubles gynécologiques, les maladies rénales, les ulcères et améliorer la fertilité féminine (11,1%). En outre, elle est utile dans le traitement des troubles digestifs, des morsures de serpent et de scorpion, de l'hypertension, de la perte d'appétit, de la toux et de trauma (5,6%). La plante d'*A. gyzensis* est principalement utilisée contre les morsures de serpent et de scorpion (21,1%) et pour traiter les maladies digestives et la jaunisse (15,8%) (Tableau 19). Elle est moins couramment utilisée pour traiter d'autres affections, telles que le diabète, la fertilité féminine, la lactation, le nettoyage utérin, l'immunostimulation, l'angine, les maladies respiratoires, la toux, le cancer, l'inflammation gencives, les douleurs dorsales et comme fortifiant.

L'extrait méthanolique obtenu à partir de la plante entière d'*A. cruciatus* a produit sept composés connus, qui comprenaient deux saponines, l'azukisaponine V et l'astragaloside VIII, quatre flavonoïdes (la narcissine, la nicotiflorine, le kaempférol 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1_4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1_6)- β -D-glucopyranoside et la 5,7,2'-trihydroxyflavone) et un glycoside de phytostérol, le daucostérol (**Benchadi et al., 2013**). Les saponines présentent des activités biologiques diverses telles que l'hémolyse, la toxicité pour les mollusques, les effets anti-inflammatoires, antibactériens ou antimicrobiens, antiparasitaires, antiviraux, anticancéreux et antioxydants. De plus, elles ont montré des effets comme adjuvants immunologiques (**Nafti et al., 2022**). Les flavonoïdes dérivés du genre *Astragalus* présentent diverses activités biologiques, notamment des effets antioxydants et radioprotecteurs, des propriétés hépatoprotectrices et antifibrotiques, une activité cytotoxique contre le système cardiovasculaire, des effets modulateurs sur les systèmes respiratoire et nerveux, des effets sur le système urinaire, ainsi que des activités anti-inflammatoires et antidiabétiques (**Bratkov et al., 2016**). L'*Astragalus membranaceus* a été largement étudié pour son potentiel en tant qu'agent antidiabétique. De nombreuses études ethnopharmacologiques ont rapporté que ses extraits bruts étaient un candidat prometteur pour des recherches antidiabétiques ultérieures. Des études récentes se sont concentrées sur les constituants phytochimiques pour déterminer

leur signification pharmacologique pour les diabètes de type 1 et 2. Diverses fractions de ses polysaccharides, saponines et flavonoïdes, ainsi que plusieurs composés isolés, ont été étudiées. Ces constituants ont montré des potentiels différents pour corriger les défauts caractéristiques d'une production, d'une sécrétion et d'une action insulines insuffisantes sur les cellules cibles. La fraction totale de polysaccharides a montré une activité significative contre le diabète de type 1 en protégeant les cellules bêta pancréatiques de la mort cellulaire intracellulaire (auto-immune) par une modulation immunitaire de plusieurs cytokines, enzymes et protéines inflammatoires et apoptotiques. De plus, elle a démontré le potentiel de moduler les cellules T auxiliaires 1 et 2, de réduire les réponses inflammatoires et de favoriser les activités antioxydantes, offrant ainsi une protection anti-apoptotique des cellules bêta pancréatiques. L'astragaline et la formononétine ont également démontré des effets régulateurs sur divers indicateurs inflammatoires et apoptotiques (**Agyemang et al., 2013**). L'étude menée par **Labed et al. (2016)** visait à étudier les métabolites secondaires présents dans les gousses d'*Astragalus armatus* algérien. L'extrait d'acétate d'éthyle a produit un flavonoïde, tandis que l'extrait de n-butanol contenait quatre flavonoïdes, un cyclitol et une saponine de type cycloartane. Parmi les différents extraits, l'extrait d'acétate d'éthyle a présenté la plus forte activité antioxydante, tandis que l'extrait de chloroforme a démontré l'activité antibactérienne la plus puissante contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. De plus, l'extrait de n-butanol a été trouvé pour améliorer l'activité phagocytaire.

IV.1.4. Parties utilisées

Une variété de parties de la plante *A. cruciatus* y compris les feuilles, les graines et les racines, ont été utilisées pour le traitement de diverses affections. Cependant, les feuilles étaient la partie de la plante la plus prévalente utilisée, représentant 88,9% de l'utilisation, suivies des graines et des racines à 5,6%. De même, les feuilles étaient la partie la plus fréquemment utilisée d'*A. gyzensis*, constituant 57,9% de l'utilisation, suivies des parties aériennes à 21,1%, des gousses immatures à 15,8% et des tiges à 5,1% (Tableau 19). L'utilisation prédominante des feuilles pour la préparation de la médecine à base de plantes peut être attribuée à leur abondance, leur accessibilité et leur facilité de collecte, ainsi qu'au fait qu'elles sont le site de la photosynthèse et parfois le lieu de stockage de métabolites secondaires aux propriétés médicinales. Il est à noter que les utilisations de différents organes de la plante sont parfois combinées (**Chermat & Gharzouli, 2015**).

IV.1.5. Mode d'administration

La population étudiée a principalement administré l'*A. cruciatus* (66,66%) sous forme de décoction, suivie de poudre + eau (16,66%), frais (11,11%), infusion (11,11%) et poudre + miel (5,55%). Pour l'*A. gyzensis*, la majorité des répondants ont utilisé une décoction (63,2%), suivie de l'utilisation cutanée (21,1%), des gouttes nasales (15,8%), de la poudre + lait (5,3%), de l'infusion (5,3%) et du chauffage avec de l'huile d'olive pour usage cutané (5,3%) (Tableau 19). L'utilisation prédominante de la décoction peut être attribuée à la croyance qu'elle réduit la toxicité de la plante, comme rapporté dans une étude précédente (Jeddi et al., 2021). D'autres modes d'administration ont été moins fréquemment utilisés. La popularité de la décoction pourrait également être due à sa facilité de préparation et de faisabilité, ce qui est cohérent avec les résultats de Nekhla et al. (2021).

Tableau 19 : L'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. utilisé pour traiter diverses maladies.

Maladie/Objet	Partie utilisée	Modes de préparation	AC	AG
Trauma	Feuilles	Décoction	Oui	Non
Diabétique	Racines/feuilles	Décoction	Oui	Oui
	Feuilles	Infusion		
Maladie rénale	Graines/feuilles	Décoction	Oui	Non
Troubles d'estomac et flatulence	Feuilles	Poudre + eau	Oui	Non
		Fraîche		
		Décoction		
Ulcer	Feuilles	Infusion	Oui	Non
		Poudre + miel		
Troubles gynécologiques	Feuilles	Décoction	Oui	Non
		Infusion		
		Poudre + miel		
Toux	Feuilles	Décoction	Oui	Oui
Perte d'appétit	Feuilles	Fraîche	Oui	Non
Hypertension	Feuilles	Décoction	Oui	Non
Contre les morsures de serpents et de scorpions	Feuilles	Décoction	Oui	Oui
	Partie aérienne	Usage cutané		
Fertilité féminine	Feuilles	Décoction	Oui	Oui
Troubles digestifs	Feuilles	Infusion	Oui	Oui
		Décoction		
Inflammation	Feuilles	Décoction	Oui	Non
Angine	Feuilles	Poudre + lait	Non	Oui
Maladies respiratoires	Feuilles	Décoction	Non	Oui
Cancer	Feuilles	Décoction	Non	Oui
Inflammation des gencives	Feuilles	Usage cutané	Non	Oui
Douleur dorsale	Feuilles	Chauffage avec de l'huile d'olive pour usage cutané	Non	Oui
Jaunisse	Gousses immatures	Gouttes nasales	Non	Oui
Nettoyant utérin	Feuilles	Décoction	Non	Oui
Fortifiant	Tiges	Décoction	Non	Oui
Galactagogue	Feuilles	Décoction	Non	Oui

IV.1.6. Dose et durée de traitement

La plupart des sujets interrogés ont déclaré l'utilisation des deux plantes avec prudence en raison de leur toxicité potentielle pour les animaux ou les humains. Par conséquent, la durée du traitement dépend de la maladie spécifique traitée et de la source de la recommandation. Cependant, cette pratique est parfois caractérisée par des comportements irrationnels, anarchiques et non contrôlés, entraînant une part importante de cas d'empoisonnement liés à une mauvaise utilisation des plantes (Fadil et al., 2021). Des recherches antérieures ont démontré la présence de composés nitro toxiques dans les feuilles d'*A. cruciatus*, ce qui peut expliquer la toxicité de la plante pour le bétail (Benchadi et al., 2013). Une plante est considérée comme toxique si elle contient une ou plusieurs substances qui provoquent la mort ou divers troubles graves chez les humains ou les animaux. De nombreuses plantes toxiques sont répertoriées par plusieurs centres antipoison. La toxicité aiguë des plantes est généralement évaluée par des injections intrapéritonéales de divers extraits de plantes chez des animaux de laboratoire, une dose létale moyenne (DL₅₀) de 500 mg/kg ou moins indiquant une toxicité potentielle. Parmi les plantes considérées comme toxiques, certaines peuvent causer des troubles digestifs mineurs tandis que d'autres peuvent être mortelles par injection (Mostefai et al., 2015). Étant donné les risques importants liés à une mauvaise utilisation des plantes, il est essentiel d'aborder leur utilisation avec prudence et de rechercher les conseils professionnels appropriés.

IV.2. Rendement d'extraction et la composition globale des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de l'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge.

Le tableau 20 représente les rendements massiques et la composition en oses totaux, oses neutres, oses acides, protéines et polyphénols des deux extraits polysaccharidiques hydrosolubles isolés des graines. Le protocole d'extraction a été adapté selon une méthode fréquemment utilisée dans la médecine traditionnelle afin de minimiser les dommages causés aux polysaccharides lors de l'extraction. Les rendements massiques des deux extraits polysaccharidiques hydrosolubles par rapport aux matières sèches sont de l'ordre de 12,87% et 20,69%. Ces valeurs sont supérieures aux rendements en polysaccharides trouvés dans d'autres espèces de graines d'autres plantes de la famille des Fabacées telles que le fenugrec (10%) (Rashid et al., 2017), *Alhagi maurorum* Medik. (12,58%) (Chakou et al., 2021), et *Caesalpinia ferrea* Mart. (9%) (Gallão et al., 2013), mais inférieures au rendement obtenu des graines de *Senna tora* (35%) (Pawar & Lalitha, 2014). Les mucillages des graines sont

principalement obtenus à partir des plantes légumineuses, les endospermes des graines étant principalement responsables de la solubilité dans l'eau (Srivastava & Kapoor, 2005). Les rendements sont supérieurs à ceux décrits pour d'autres espèces du genre *Astragalus* tels que *A. cicer* (5,9%) (Olennikov & Rokhin, 2010), *A. lehmannianus* (4,8%) (Mestechkina et al., 2000), *A. sericeocanus* (3,6%) (Olennikov & Rokhin, 2008), *A. danicus* (3,4%) (Olennikov & Rokhin, 2009), *A. alpinus* (0,6%), et *A. tibetanus* (Olennikov & Rokhin, 2011). Le taux de polysaccharides extrait des graines d'*A. cruciatus* et d'*A. gyzensis* sont plus élevé que celui décrit pour d'autres espèces d'*Astragalus* collectées dans la même zone saharienne (Sahara septentrional Algérien), tels que *A. armatus* (4,2 %) (Boual et al., 2015) et *A. gombo* (6,8%) (Chouana et al. 2017a). Ces résultats indiquent le potentiel des deux plantes en tant que sources riches et précieuses de glucides. L'allocation des ressources au stockage des glucides chez les plantes est un trait clé qui détermine leurs stratégies écologiques et économiques. Des études récentes ont montré que les espèces qui stockent des poly- et oligosaccharides solubles dans l'eau comme principaux composés de stockage du carbone adoptent une stratégie économique lente, caractérisée par une utilisation conservatrice des ressources et une persistance à long terme dans des conditions stressantes, en particulier celles limitées par la sécheresse (Lubbe et al., 2021). Les modifications des sucres structuraux faisant partie des composants de la paroi cellulaire sont connues pour jouer un rôle crucial dans la confération de la tolérance à la sécheresse chez les plantes. Les principaux constituants de la paroi cellulaire des plantes, notamment la cellulose, les hémicelluloses (telles que la mannane, la xyloglucane, le xylane et le glucane à liaisons mixtes) et la lignine, confèrent une résistance mécanique et un soutien à la cellule végétale. Des études récentes ont montré que des modifications de la biosynthèse et du dépôt de ces composants de la paroi cellulaire, en particulier les hémicelluloses et la lignine, peuvent renforcer la résistance de la plante au stress hydrique en renforçant la paroi cellulaire et en améliorant la rétention d'eau (Hlahla et al., 2022). Selon Tang et al. (2019), les polysaccharides végétaux sont divisés en polysaccharides intracellulaires, polysaccharides extracellulaires et polysaccharides de la paroi cellulaire. Il existe différentes méthodes d'extraction pour chaque type de tissu de la même plante. Le taux d'extraction des polysaccharides a augmenté avec l'optimisation des conditions d'extraction, surtout lorsque la température était inférieure à 92°C. Cependant, la méthode d'extraction et de purification à l'aide d'acides, principalement l'acide trichloroacétique (TCA), peut entraîner la dégradation de certains polysaccharides (Shi, 2016).

Les deux extraits PGAC et PGAG sont principalement composés d'oses neutres (64,13 %) et (63,92 %) et d'oses acides (19,97 %) et (15,78 %), respectivement. La composition en oses neutres est cohérente avec la composition biochimique des autres polysaccharides extraits des graines d'*Astragalus* sp. (Boual et al., 2015 ; Mestechkina et al., 2000 ; Olennikov & Rokhin, 2008 , 2009 , 2010 , 2011). La teneur en acide uronique était supérieure aux valeurs décrites pour les autres graines de polysaccharides d'*A. armatus* et *A. gombo* (Boual et al., 2015 ; Chouana et al., 2017). Ces changements dans les compositions biochimiques pourraient être attribués aux différences entre les espèces et la zone de récolte. Les deux extraits contiennent des protéines à hauteur de 4,84 % et 8,08 %, ainsi que des polyphénols à hauteur de 2,72 % et 2,57 % respectivement. La teneur élevée en oses totaux indique l'efficacité du procédé d'extraction et la présence de quantités remarquables de protéines et de polyphénols. Cependant, l'élimination des protéines peut être difficile, surtout lorsqu'il s'agit de protéines conjuguées (Chouana et al., 2017). Les glycoprotéines, dans lesquelles la protéine est liée de manière covalente au fragment polysaccharidique, peuvent être difficilement séparées par des techniques de purification sans entraîner la dégradation des polysaccharides et la perte de leur structure native (Horan & Eccles, 1986).

Ces résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0.05$) dans la composition chimique des deux plantes en termes de rendement, de teneur en oses totaux, en oses neutres, en acides uroniques, en protéines et en polyphénols. Cela indique une grande similarité dans la composition chimique en polysaccharides hydrosolubles des graines des deux plantes.

Tableau 20 : Composition globale des deux extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG

	Rendement d'extraction (%)	Oses totaux (%)	Oses neutres (%)	Acides uroniques (%)	Protéines (%)	Composés Phénoliques (%)
PGAG	20.69	78.60 ± 0.29	63.92 ± 0.67	15.78 ± 0.76	8.08 ± 0.04	2.57 ± 0.05
PGAC	12.87	85.47 ± 0.2	64.13 ± 1.6	19.97 ± 1.48	4.84 ± 0.16	2.72 ± 0.37

IV.3. Caractérisation structurale des deux extraits polysaccharidiques

IV.3.1. Analyse UV-vis des deux extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG

Avant d'entreprendre des analyses structurales rigoureuses sur des polysaccharides isolés, il est nécessaire d'estimer leur pureté, c'est-à-dire la proportion de composant polysaccharidique et la présence d'impuretés. Le terme « sucres totaux » désigne l'ensemble des mono-, oligo- et polysaccharides par rapport aux non-sucres (protéines, lipides, composés

aromatiques, minéraux...) pouvant être présents (Synytsya & Novak, 2014). L'étude de la pureté des extraits polysaccharides est indispensable après leur extraction. Les spectres d'absorption (UV-visible) des deux extraits polysaccharides PGAC et PGAG sont présentés dans la figure 28. Comme on peut le voir, l'extrait brut présente des pics d'absorption ultraviolette à 210 nm et un pic d'absorption plus important entre 250 et 300 nm. On sait que les polysaccharides ont des pics d'absorption à environ 190 nm. Les impuretés telles que les protéines et/ou les acides nucléiques présentent un pic d'absorption autour de 280 nm (Liu et al., 2018 ; Xiao et al., 2016). On peut supposer que les deux extraits contiennent des quantités de protéines avec des pourcentages de 5.6% pour PGAC et 6.34% pour PGAG. Ceci est cohérent avec les résultats des dosages mentionnés précédemment. Il n'y a pas non plus d'absorption à 620 nm, ce qui suggère que le pigment a été complètement éliminé, comme cela a été rapporté par Tang et al. (2019).

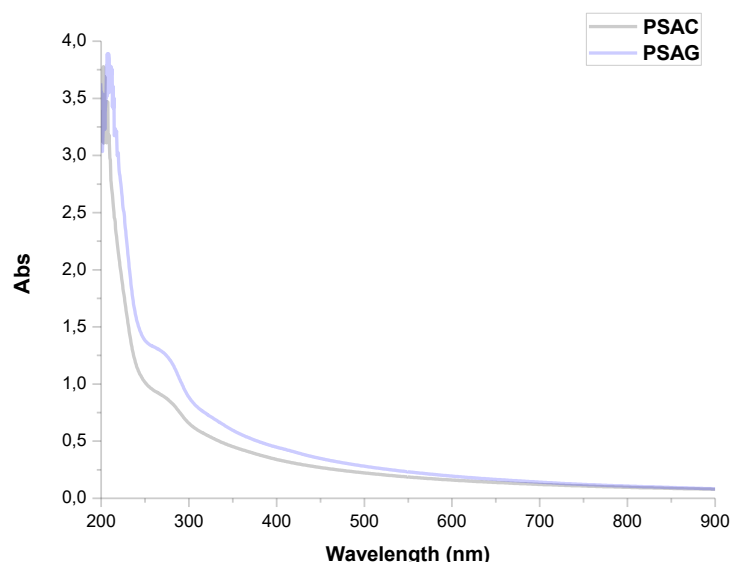


Figure 28 : Analyse de spectre UV-vis des PGAC et PGAG.

IV.3.2. Spectres infrarouges (FT-IR) de PGAC et PGAG

La spectroscopie FT-IR est un outil puissant d'analyse structurale des polysaccharides. Cette méthode sert pour déterminer les groupements fonctionnelles et sensible à la position et à la configuration anomérique des liaisons glycosidiques (Synytsya & Novak, 2014). La figure 29 présentée montre des bandes caractéristiques classiquement décrites dans la littérature pour les galactomannanes (Boual et al., 2014). Les spectres sont analysés par FT-IR dans des domaines de fréquence compris entre 400 cm^{-1} et 4000 cm^{-1} .

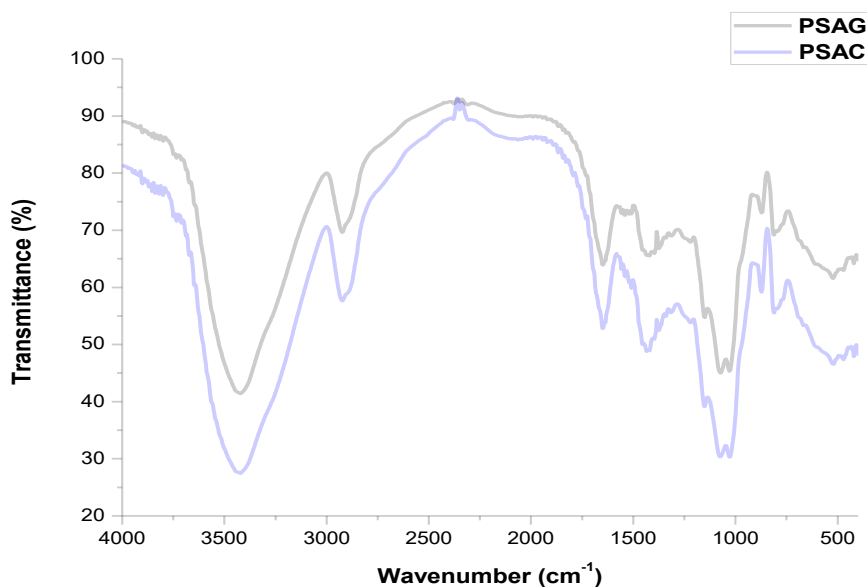


Figure 29 : Le spectres FT-IR de PGAC et PGAG.

L'analyse structurale du PGAC et PGAG par l'infrarouge a révélé des résultats presque similaires. La présence d'une large bande d'absorption à environ $3421,72 \text{ cm}^{-1}$ a été observée, qui pourrait être associée à la présence d'un groupement hydroxyle. Selon **Chien et al. (2015)**, les bandes d'absorption entre 3200 et 3600 cm^{-1} peuvent être attribuées aux vibrations du groupement hydroxyle des polysaccharides (**Hammi et al., 2016**). Une autre bande d'absorption a été observée à $2924,09 \text{ cm}^{-1}$ (dans la région entre 3000 et 2800 cm^{-1}), qui a été attribuée aux vibrations du groupement méthyle $-\text{CH}$ (**Feng et al., 2016**). Deux bandes apparaissent en raison des modes d'étirement asymétrique et symétrique de COO^- à environ $1650-1600$ et $1450-1400 \text{ cm}^{-1}$, respectivement (**Acikgoz, 2010**). Une bande d'absorption à $1373,32 \text{ cm}^{-1}$ a également été observée et attribuée à la déformation du groupement C-H (**Bouhadi et al., 2018**). Les bandes d'absorption dans la région de $900-1200 \text{ cm}^{-1}$ correspondent aux vibrations des groupements C-C-O , C-OH et C-O-C (**He et al., 2011**). Les bandes d'absorption à $1029,99 \text{ cm}^{-1}$ et $1149,57 \text{ cm}^{-1}$ indiquent que les cycles de sucre constitutifs dans PGAC et PGAG appartiennent au cycle de pyranose, qui sont les bandes d'absorption générées par les vibrations du lien éther C-O-C (**Chouaibi et al., 2018**). Enfin, les bandes d'absorption à $815-820 \text{ cm}^{-1}$ et $873-878 \text{ cm}^{-1}$ sont associées à la présence de configurations anomères α et β et de liaisons glycosidiques, attribuées respectivement à l' α -D-galactopyranose et à l'unité β -D-mannopyranose (**Chouaibi et al., 2018**).

IV.3.3. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X est l'une des principales techniques de division des hydrocolloïdes en structures cristallines, non cristallines (amorphes) et semi-cristallines. Des pics nets se produisent lorsque les atomes et les molécules sont dans un ordre régulier et ont une structure cristalline, mais si la structure est non cristalline ou amorphe, cela provoquera de larges halos (Niknam *et al.*, 2020). Les motifs de diffraction des rayons X (DRX) obtenus confirment la nature amorphe des deux échantillons PGAC et PGAG, comme indiqué par la présence d'un pic large autour de $2\theta = 20^\circ$, qui est caractéristique des structures amorphes. Cette découverte est conforme à des études antérieures ayant rapporté des motifs XRD similaires liés à la galactomannane amorphe extraite de graines de *Delonix regia* (Rodriguez-Canto *et al.*, 2018). Aussi, avec les résultats obtenus des galactomannanes des graines de *Gleditsia sinensis*, *Gleditsia melanacantha* et *Gleditsia microphylla* (Jiang *et al.*, 2010). Il est connu que les polysaccharides interagissent avec les molécules d'eau, ce qui peut entraîner des transitions structurales qui peuvent affecter leur mobilité moléculaire et leurs propriétés fonctionnelles, en particulier en ce qui concerne les transitions amorphes-cristallines (Albuquerque *et al.*, 2014).

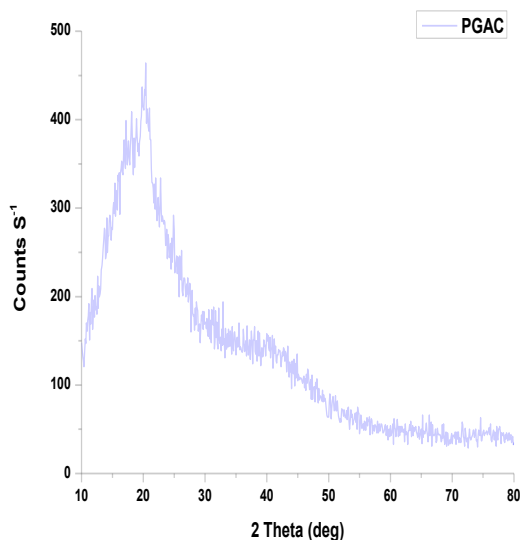


Figure 30 : DRX de PGAC

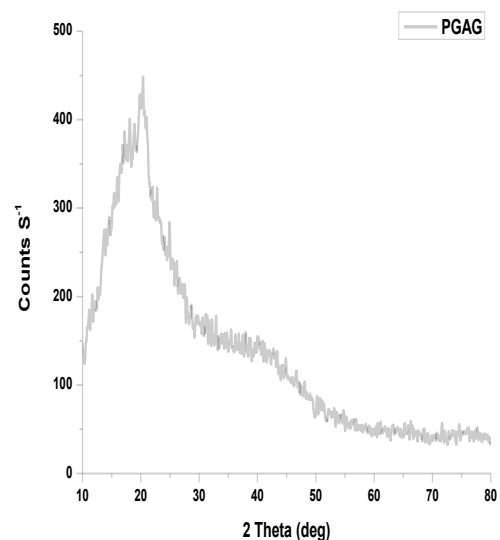


Figure 31 : DRX de PGAG

IV.3.4. Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM) des PGAC et PGAG

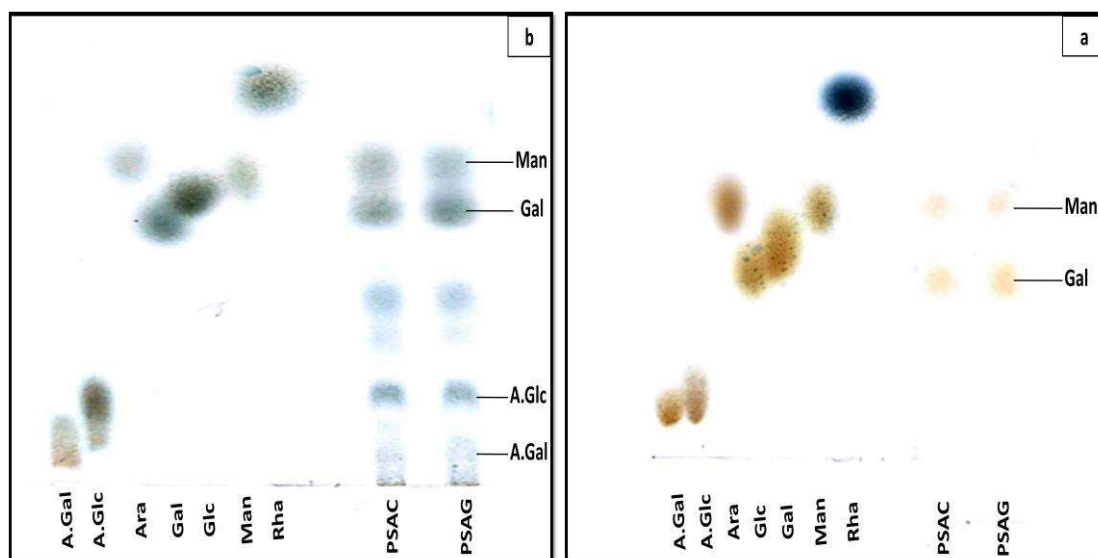


Figure 32 : Caractérisation chimique par CCM des polysaccharides PGAC et PGAG. (a) Chromatogrammes TLC de PGAC et PGAG par le première système. (b) Chromatogrammes TLC de PGAC et PGAG par le deuxième système.

Tableau 21 : Caractérisation par CCM des deux extraits polysaccharidiques PGAC et PGAG

Le premier système							
	A. Gal	A. Glu	Ara	Gal	Glu	Man	Rha
	0.15	0.21	0.54	0.48	0.43	0.54	0.69
PGAC	/	/	/	/	0.43	0.54	/
PGAG	/	/	/	/	0.43	0.54	/
Le deuxième système							
	A. Gal	A. Glu	Ara	Gal	Glu	Man	Rha
	0.18	0.22	0.537	0.45	0.51	0.531	0.64
PGAC	0.18	0.22	/	0.45	/	0.531	/
PGAG	0.18	0.22	/	0.45	/	0.531	/

Les deux extraits polysaccharidiques obtenus à partir des graines de l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. ont été hydrolysés en milieu acide pour obtenir des unités monosaccharidiques libres, qui ont été caractérisées par la technique CCM. Le premier système (figure 32a et tableau 21) montre que les deux échantillons migrent avec deux taches: $R_{f1} = 0,43$ et $R_{f2} = 0,54$, semble similaires à celles obtenues à partir de la migration des étalons galactose et mannose, respectivement. Tandis que le deuxième système

(figure 32b et tableau 21) montre la migration de quatre taches, de $R_{f1} = 0,18$, $R_{f2} = 0,22$, $R_{f3} = 0,45$ et $R_{f4} = 0,531$, similaires à celles obtenues à partir de la migration de l'acide galacturonique, de l'acide glucuronique, du galactose et du mannose respectivement. Ceci est cohérent avec les résultats du dosage colorimétrique des compositions en oses neutres et en oses acides obtenus précédemment. En plus, le résultat de la séparation par chromatographie sur couche mince (CCM) des extraits à l'aide du premier système a indiqué la présence d'un polysaccharide de type galactomannane dans l'échantillon. D'autre part, l'utilisation du deuxième système a suggéré la présence de polysaccharides de type galactomannane et pectine dans l'extrait. La pectine, qui est principalement composée de D-Galacturonique, est un composant prédominant dans de nombreux tissus végétaux. Le D-Glucuronique, un composant clé de divers polysaccharides naturels, est un élément vital dans les processus métaboliques qui se produisent dans les organismes vivants (**Kohn & Kovac, 1978**). Les résultats de notre étude présentent une ressemblance avec l'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) d'un hydrolysat de galactomannanes de guar à l'aide de deux systèmes de solvants monophasiques : d'abord, n-butanol/éthanol/eau (4/1/1) et ensuite, n-butanol/acide acétique/eau (4/1/1). Les résultats obtenus de la révélation par CCM ont démontré la présence de deux taches distinctes qui correspondaient à des unités de monosaccharides D-mannose et D-galactose (**Mulimani & Prashanth, 2002**). L'hydrolyse du polysaccharide isolé de gousses non mûres de *Caesalpinia spinosa* dans un milieu acide a libéré des unités de monosaccharides libres, qui ont été ultérieurement caractérisées à l'aide de techniques de chromatographie sur couche mince (CCM). Les résultats de l'analyse par CCM ont révélé que l'échantillon de galactomannane hydrolysé a migré avec la même valeur R_f qu'un mélange 1:1 d'unités de monosaccharides de galactose et de mannose (**Santander et al., 2011**). Ainsi, nos résultats sont similaires aux résultats obtenus à partir de galactomannanes issus des graines d'*Astragalus armatus* hydrolysés avec 4M TFA à 100°C, permettant l'obtention de cinq oses simples constitutifs : l'arabinose, le galactose, l'acide glucuronique et le mannose (**Boual, 2014**).

IV.3.5. Détermination des monosaccharides constitutifs par HPLC

Les colonnes à base d'amines sont efficaces pour séparer les monosaccharides. Tandis que, le détecteur de l'indice de réfraction (RID) est utilisé pour l'analyse des glucides car les sucres n'ont pas de chromophores et les détecteurs alternatifs sont coûteux malgré son manque de sensibilité relative (**Cortés-Herrera et al., 2018**). Dans la présente étude l'utilisation de la technique HPLC par combinaison d'une colonne NH_2 et d'un détecteur RID est utile pour la

détection des monosaccharides, les chromatogrammes de chaque étalon sont représentés dans les figures 33, 34, 35, 36, 37 et 38, Ainsi le temps de retention dans le tableau 22:

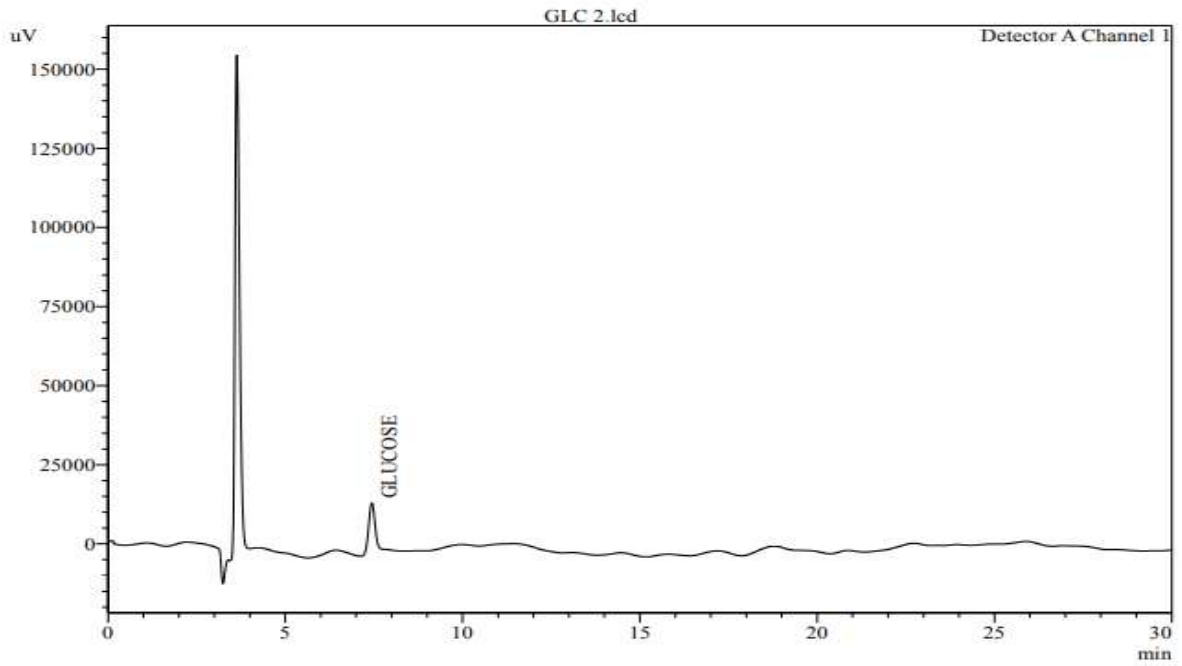


Figure 33 : Le chromatogramme du glucose obtenu par la technique HPLC.

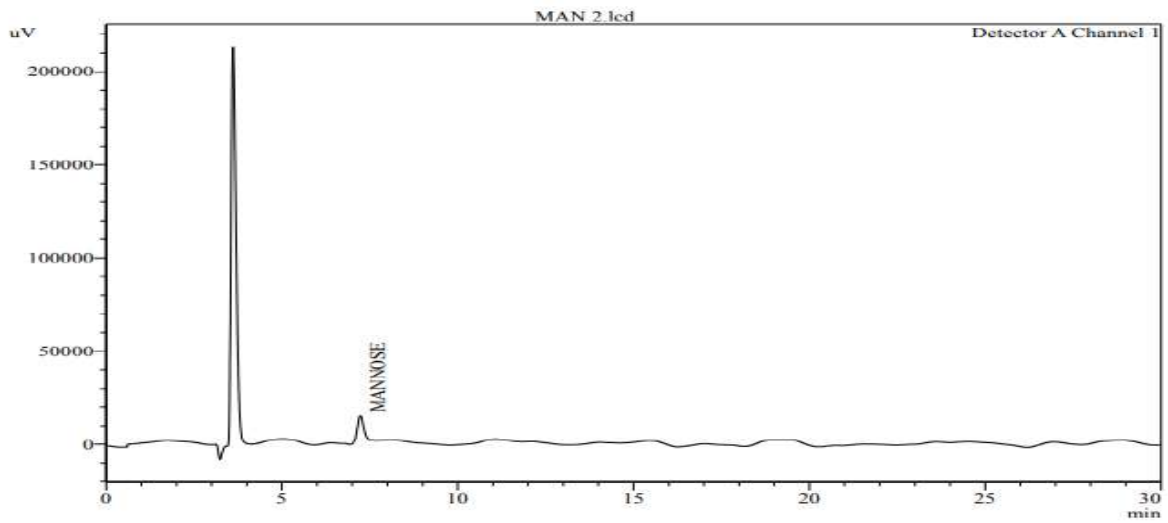


Figure 34 : Le chromatogramme du mannose obtenu par la technique HPLC.

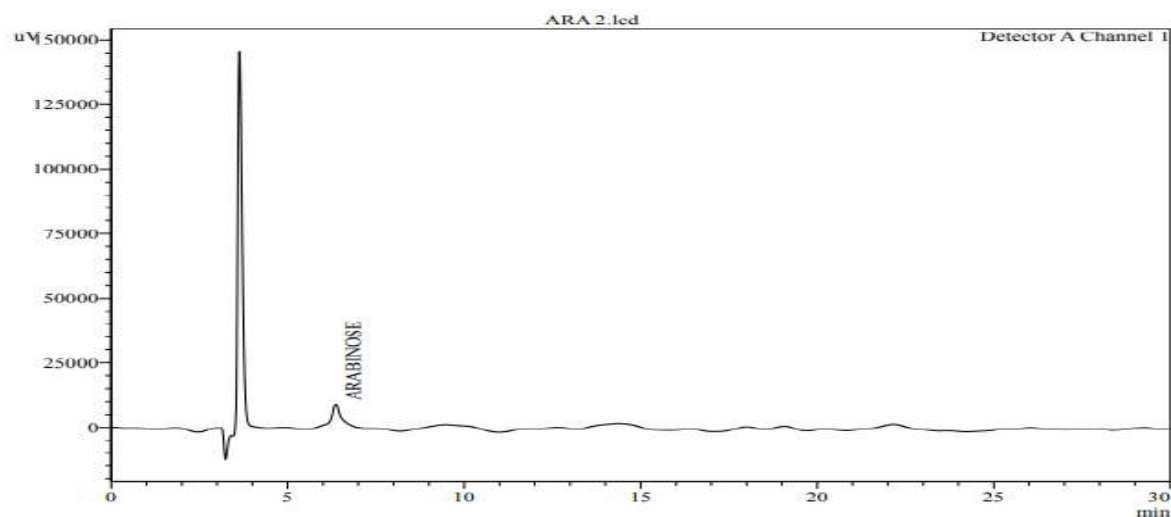


Figure 35 : Le chromatogramme d'arabinose obtenu par la technique HPLC.

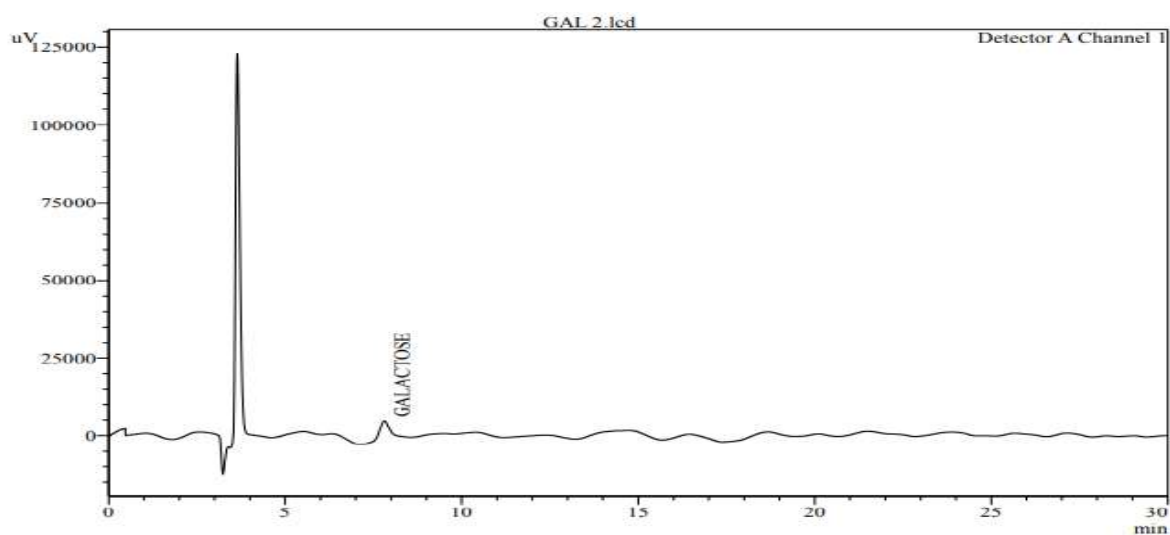


Figure 36 : Le chromatogramme du galactose obtenu par la technique HPLC.

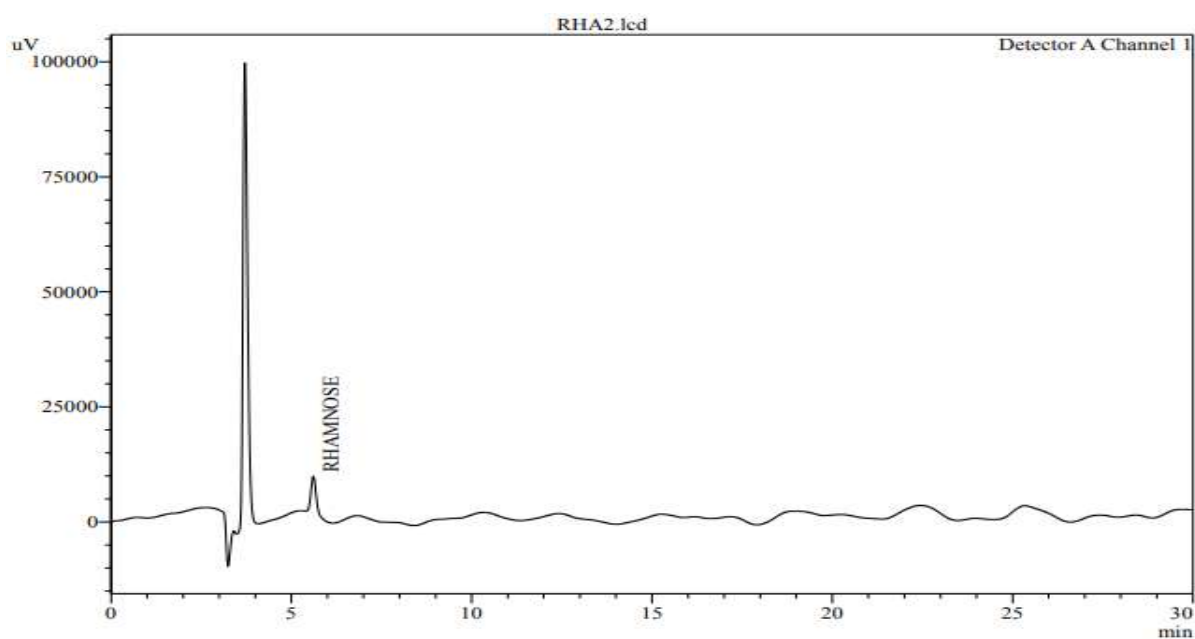


Figure 37 : Le chromatogramme du rhamnose obtenu par la technique HPLC.

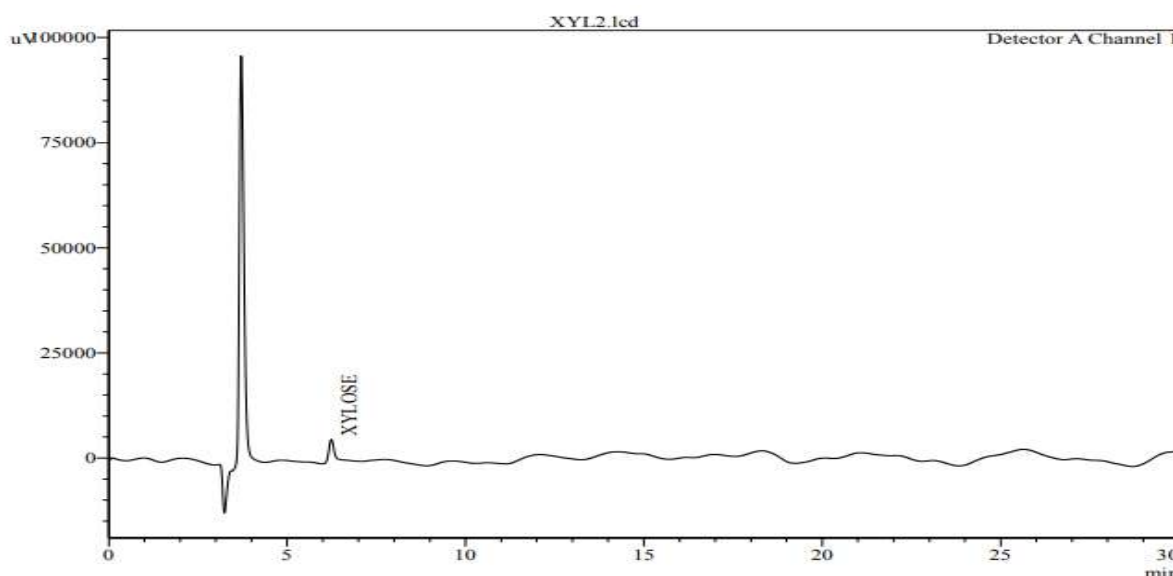


Figure 38 : Le chromatogramme de le xylose obtenu par la technique HPLC.

Tableau 22 : Temps de rétention des étalons obtenu par la technique HPLC.

L'étalon	Temps de rétention (min)
Glucose	7.440
Mannose	7.227
Arabinose	6.363
Galactose	7.811
Rhamnose	5.607
Xylose	6.238

Les résultats montrent que la technique présentée est valable pour les oses neutres mais pas pour les acides uroniques. Elle permet l'identification de 6 étalons: glucose, mannose, arabinose, galactose, rhamnose et xylose. Le signal à environ 3,80 minutes correspond à la H₂O présente dans la phase mobile, il est constant pour toutes les injections comme le résultat signalé par (Cortés-Herrera et al., 2018). Le détecteur à indice de réfraction (RID) utilisé en HPLC est sensible aux variations de l'indice de réfraction du milieu d'écoulement.

Le temps de rétention des 06 oses varient entre 5.607 à 7.811 min, le t_r du glucose est 7.440, t_r du mannose est 7.227, t_r de l'arabinose est 6.363, t_r du galactose est 7.811, t_r du rhamnose est 5.607 et le t_r de la xylose est 6.238. Il est courant que les étalons aient des temps de rétention différents lorsqu'ils sont injectés seuls dans le système de chromatographie, même s'ils ont des structures similaires. Cela peut être dû à des différences dans les interactions des composés avec la phase stationnaire de la colonne de chromatographie, ou à des différences dans leur polarité, leur taille ou leur forme moléculaire.

Ensuite, le chromatogramme de la mélange mannose et galactose a été réduit à un temps de 15min le figure 39. Ainsi, Temps de rétention de mélange est représenté dans le tableau 23:

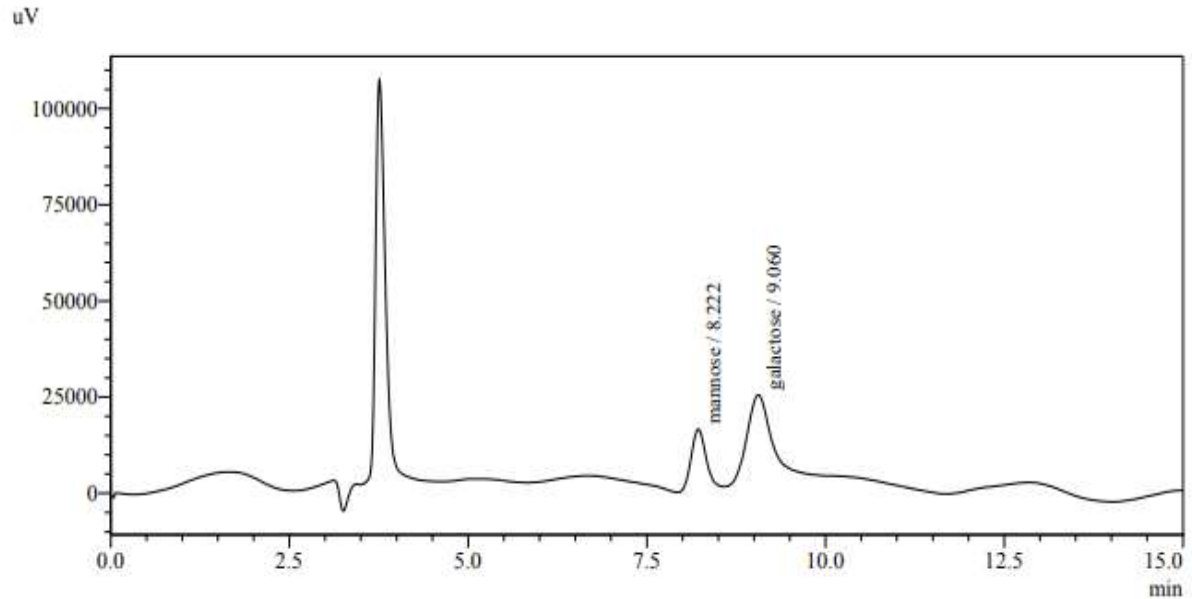


Figure 39 : Le chromatogramme des mélange (Mannose/Galactose) obtenu par la technique HPLC.

Tableau 23 : Temps de rétention de mélange (Mannose/Galactose) obtenu par la technique HPLC.

L'étalon	Temps de rétention (min)	R ²
Man	8.22	0.9935469
Gal	9.06	0.9736251

Les résultats ayants montré que le mannose a un $t_r=8.22$ min tandis que le galactose a un $t_r=9.06$ min. Lorsque les étalons sont injectés ensemble dans le système de chromatographie, ils peuvent se séparer en fonction de leurs propriétés physico-chimiques et donner des pics distincts dans le chromatogramme. Les temps de rétention de chaque étalon dans le mélange peuvent être différents de ceux observés lorsqu'ils sont injectés seuls, en raison des interactions avec les autres composants du mélange et des effets de compétition pour les sites de liaison sur la phase stationnaire comme le résultat signalé par (Cortés-Herrera et al., 2018).

Les chromatogrammes des deux hydrolysats PGAC et PGAG sont représentés dans les figures 40 et 41 et les compositions dans le tableau 24:

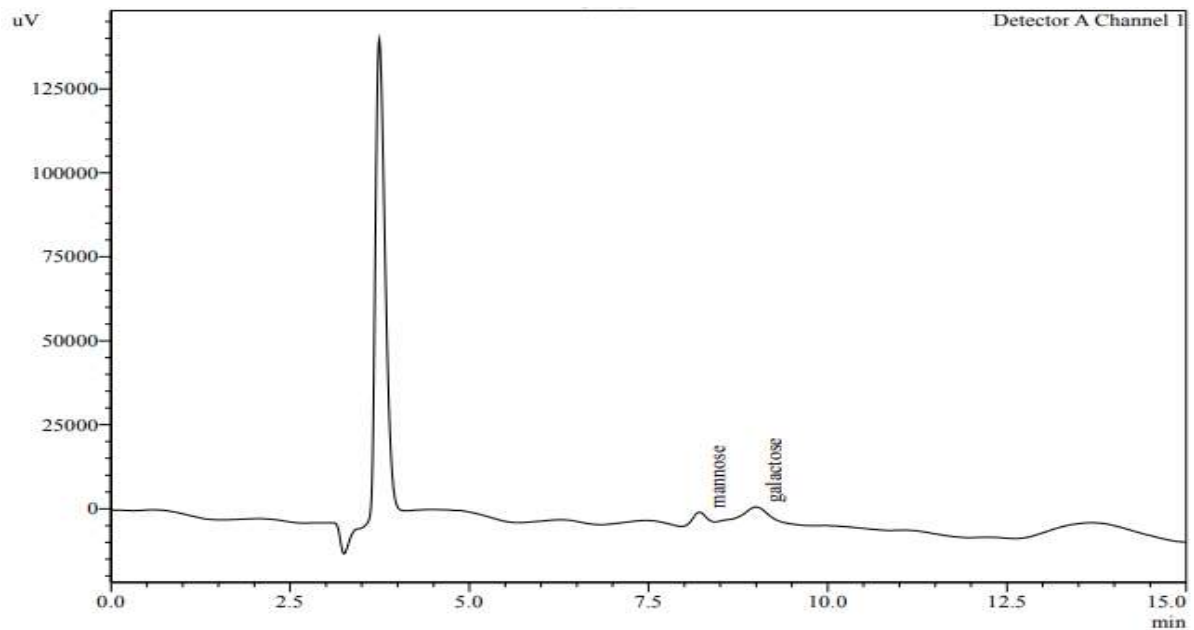


Figure 40 : Le chromatogramme de l'extrait PGAC obtenu par la technique HPLC.

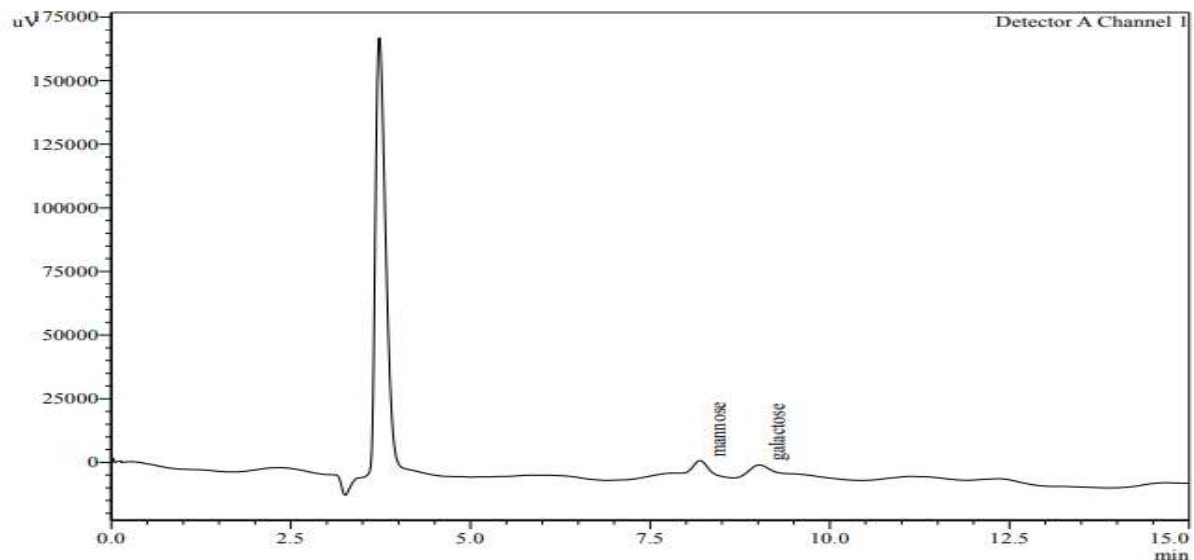


Figure 41 : Le chromatogramme de l'extrait PGAG obtenu par la technique HPLC.

Tableau 24 : Composition des deux extraits polysaccharides PGAC et PGAG par HPLC

	PGAC	PGAG
Man (%)	71.82	84.74
Gal (%)	28.16	15.25
Purité (%)	49.559	57.44
Le rapport (M/G)	2.54	5.55

Les résultats montrent que les deux extraits polysaccharidiques constituent deux composants principaux : le galactose et le mannose, ce qui confirme que les deux

polysaccharides sont de type galactomannanes. Les analyses des monosaccharides constitutifs tableau 24 montrent que PGAC constitue 71.82 % mannose et 28.16 % galactose avec un rapport M/G= 2.54 tandis que PGAG constitue 84.74 % mannose et 15.25 % galactose avec un rapport M/G= 5.55. Cependant, différents ratios de mannose et de galactose ont été trouvés dans de nombreuses autres espèces végétales, comme l'ont rapporté d'autres chercheurs. Les galactomannanes isolés des graines de *Leucaena leucocephala* présentent un rapport M/G=1.01 (**Rahim et al., 2017**). Les galactomannanes dans cette étude ont un rapport M/G plus élevé 2.54 pour PGAC et 5.55 pour PGAG par rapport aux autres études. Cette valeur affecte les propriétés des galactomannanes. Les galactomannanes du présent travail moins solubilisés dans l'eau. Ainsi, on peut souligner que la solubilité du galactomannane augmente dans l'eau avec l'augmentation du nombre de chaînes latérales de galactose. De plus, la solubilité du galactomannane provenant de cette étude a été trouvée être plus faible dans l'eau. Cette découverte suggère que la solubilité du galactomannane dans l'eau diminue à mesure que le nombre de chaînes latérales de galactose diminue (**Rahim et al., 2017**). Des ratios variables ont été rapportés dans de nombreuses espèces végétales, telles que la gomme de caroube (environ 4 : 1), la gomme de tara (environ 3 : 1), la gomme de guar (environ 2 : 1) et la gomme de fenugrec (environ 1 : 1), selon plusieurs études (**Dakia et al., 2010**). Les variations moléculaires, chimiques et structurelles qui donnent lieu à des différences de comportement fonctionnel et de distribution ont contribué à la grande variété de polysaccharides végétaux qui existent (**Mathur, 2012**). L'HPLC-RID est préférable aux méthodes traditionnelles pour l'analyse des sucres. Les résultats des méthodes traditionnelles dépendent d'un temps de réaction exact, d'une température et d'une concentration de réactif utilisée. La technique HPLC-RID est innovante, plus efficace et est la méthode de choix pour analyser le type de sucres. La technique est moins consommatrice de temps et de solvants que les méthodes conventionnelles, tout en étant simple, rapide et respectueuse de l'environnement (**Tiwari et al., 2023**). Cependant, **Tihomirova et al. (2016)** ont constaté que la méthode HPLC-RI était utile pour l'analyse qualitative des sucres uniquement, et non pour leur quantification. C'est pourquoi nous avons confirmé nos résultats de l'analyse HPLC-RI à une analyse par GC/MS-EI.

IV.3.5. Détermination des monosaccharides constitutifs par (GC/MS-EI)

La détermination de la composition en monosaccharides constitutifs des polysaccharides des graines d'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge. est confirmée par GC-MS après triméthylsilylation. Il est important de noter que le pourcentage total de sucre neutre n'a pas atteint 100% en raison de la présence d'acides uroniques, de protéines, de composés phénoliques et d'autres constituants encore présents dans les mucilages même après le processus d'extraction. La quantité totale de sucre neutre présente dans l'extrait était d'environ 71.18 pour PGAC et 65.07 PGAG. Il suggère la présence des galactomannanes. La composition en oses pour PGAC démontre clairement la présence majoritaire de galactomannane avec 74.22% de D-mannose et 24.37% de D-galactose avec un rapport man/gal de 3.04 avec les petits traces de dérivés pectiques (visibles entre 10-12 min) et le petit trace de glucose figure 42 et tableau 25, tandis que la composition en oses pour PGAG démontre clairement la présence majoritaire de galactomannane avec 73.09% de D-mannose et 26.90% de D-galactose avec un ratio man/gal de 2.7104 avec les petits traces de dérivés pectiques figure 43 et tableau 25. Ces valeurs confirment les résultats obtenus par CCM et HPLC sur la qualité des monosaccharides constitutifs, mais le GC/MS-EI présente des résultats plus fiables en termes de quantité de monosaccharides.

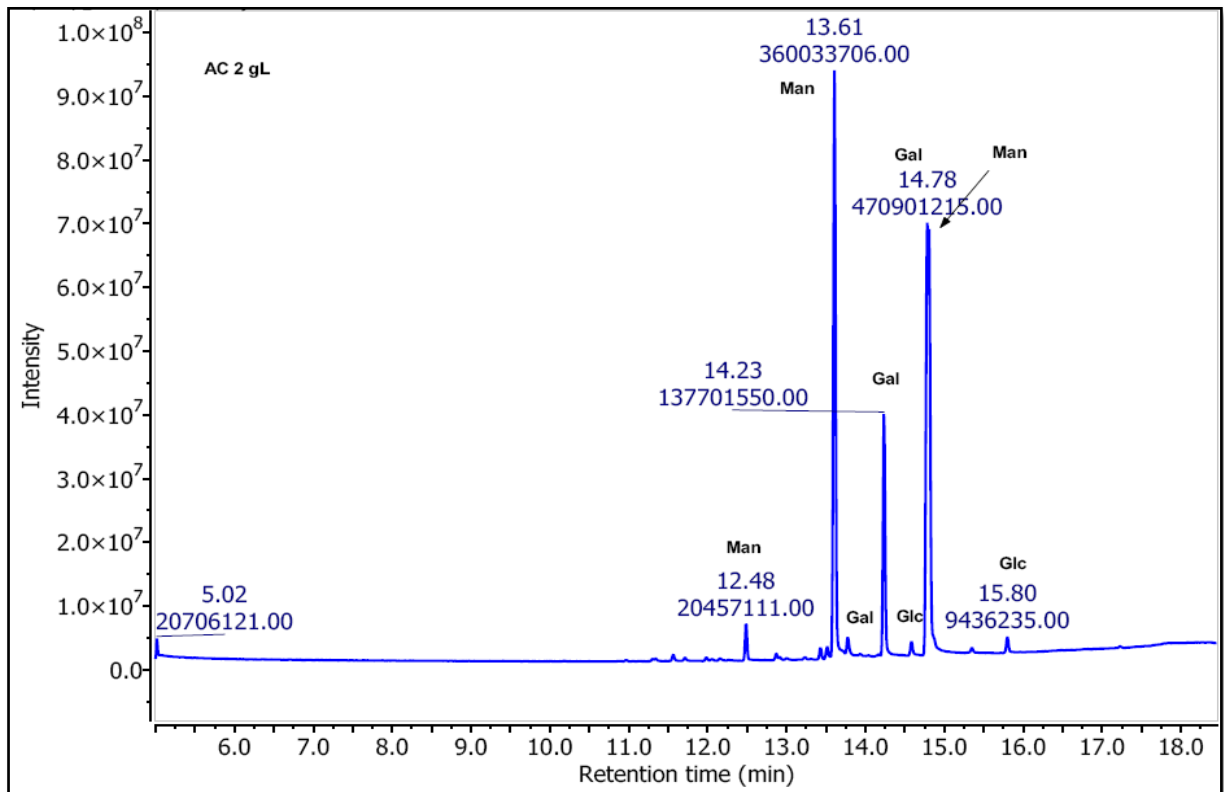


Figure 42 : Profil GC/MS-EI après triméthylsilyl-O-glycosides issus des polysaccharides d'*A. cruciatus*.

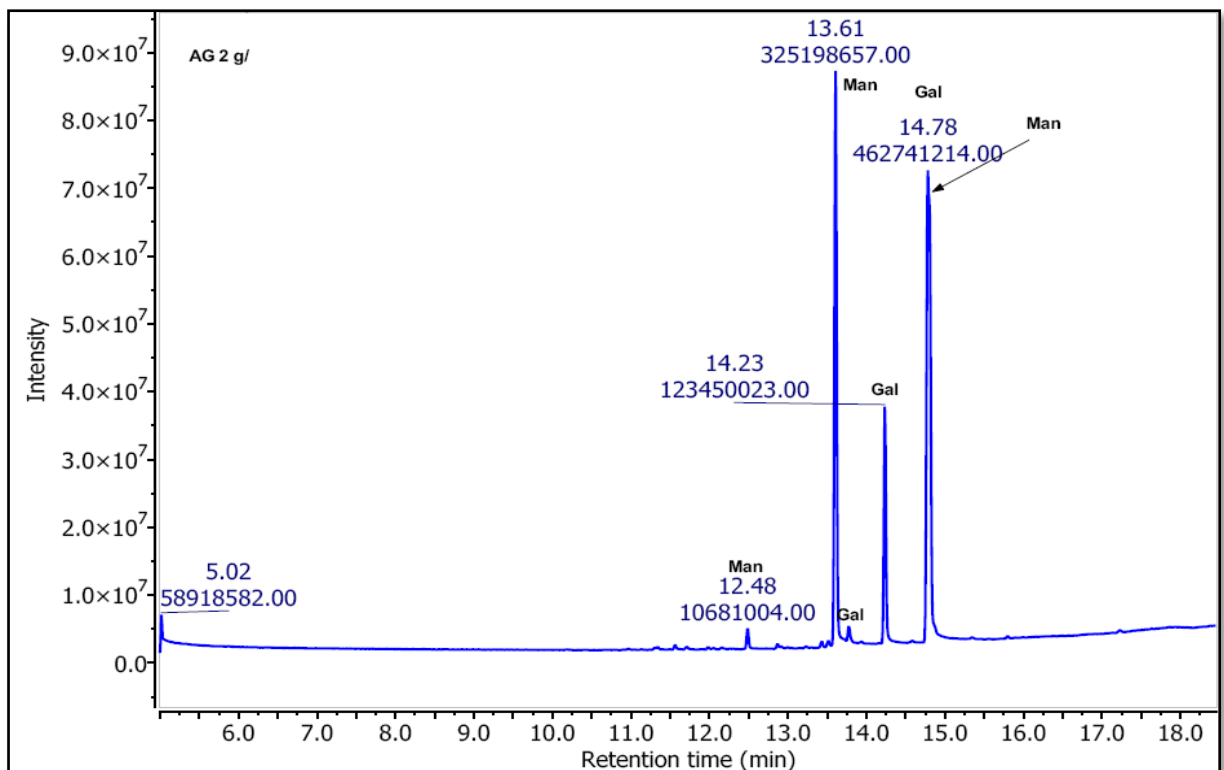


Figure 43 : Profil GC/MS-EI après triméthylsilyl-O-glycosides issus des polysaccharides d'*A. gyzensis*.

Tableau 25 : Composition des deux extraits polysaccharides PGAC et PGAG par GC-MS-EI.

	PGAC	PGAG
Man (%)	74.22±2.82	73.09±1.74
Gal (%)	24.37±2.76	26.90±1.74
Purté (%)	71.18	65.07
Le rapport (M/G)	3.04	2.71

Ce résultat s'avère conforme avec les galactomannanes hydrosolubles retrouvés dans des extraits polysaccharidiques provenant de graines des *Fabaceae*. La composition monosaccharidique des polysaccharides des graines d'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge. Ainsi que le rapport entre le galactose et le mannose, sont caractéristiques des galactomannanes des *Fabaceae*. La similitude de la composition monosaccharidique enregistrée entre les polysaccharides des graines d'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge. et les polysaccharides des graines des *Fabaceae* suggère que l'étape d'extraction préserve l'intégrité des structures.

Le rapport Man/Gal des galactomannanes des graines d'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge. sont proche à le galactomannanes de la gomme de tara Comparé à d'autres galactomannanes extraits des graines de différentes plantes légumineuses, le rapport Man/Gal d'*Astragalus cruciatus* Link. et d'*Astragalus gyzensis* Bunge. était supérieur à ceux estimés pour *Astragalus gombo* Bunge. (1,7) (**Chouana et al., 2017**), *Astragalus armatus* (1,6) (**Boual et al., 2015**) et d'*Alhagi maurorum* Medik. (2.2) (**Chakou et al., 2021**).

Il y a peu d'informations documentées disponibles concernant les propriétés physiologiques et les bienfaits pour la santé de la gomme de tara. Une étude antérieure sur un modèle animal a indiqué que les régimes alimentaires contenant des doses élevées de gomme de tara (5 %) ont entraîné des baisses de plus de 10 % de la prise de poids corporel pour les groupes traités par rapport à leurs groupes témoins respectifs (**Biliaderis & Izydorczyk, 2007**). L'inhibition des enzymes digestives par différents galactomannanes peut être due à leur effet direct sur l'enzyme, à la diminution de la liaison enzyme-substrat due à la forte viscosité des GM, à l'altération de la conformation de l'enzyme, aux interactions entre GM et l'enzyme ou à l'interaction entre GM et l'enzyme-substrat. Étant donné que la plupart des GM suivent l'un des mécanismes mentionnés (**Srinivasa & Naidu, 2021**).

Les résultats indiquent qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) dans la composition en monosaccharides entre les deux espèces étudiées. Cela confirme une grande similarité dans la chimiotype des deux espèces en termes de polysaccharides.

IV.4. Evaluation de l'activité biologique des deux extraits polysaccharidiques

Le diabète de type 2 (DT2) est une maladie chronique caractérisée par un trouble du métabolisme du glucose et une hyperglycémie (Nie et al., 2016). Le principal défi de la gestion du diabète est de maintenir la glycémie aussi proche que possible de la normale avec peu de fluctuations majeures (Kwon et al., 2008). Il est géré par la restauration de la production endogène d'insuline, l'amélioration de la sensibilité des récepteurs de l'insuline, l'administration de médicaments antidiabétiques oraux, mais les approches les plus populaires sont l'inhibition des enzymes clés et le retardement de la libération de glucose à partir de l'amidon alimentaire par des enzymes de dégradation des glucides telles que l' α -amylase (EC 3.2.1.1) et l' α -glucosidase (EC 3.2.1.20) (Ahmad et al., 2021).

IV.4.1. Pouvoir inhibiteur de PGAC et PGAG sur l' α -amylase

L' α -amylase est une enzyme salivaire ou pancréatique qui joue un rôle important dans la décomposition précoce des glucides complexes en molécules simples. La modulation de l'activité de l' α -amylase en utilisant les glucides comme source d'énergie est importante, car elle peut conduire à une décomposition plus efficace des glucides complexes. Par conséquent, certains changements dans les essais rapportés pourraient donner des résultats différents pour l'activité inhibitrice de l' α -amylase (Shah et al., 2008).

Les résultats de l'étude de l'effet antihyperglycémiant *in vitro* par les tests d'inhibition de l' α -amylase des deux extraits, en utilisant l'acarbose comme contrôle positif, sont présentés sur la figure 44 et 45. De 0 à 1 mg/mL de PGAC, PGAG et d'acarbose, il y a une augmentation dose-dépendante du pourcentage d'inhibition. Ensuite, de 1 à 2,5 mg/mL, il y a eu une légère augmentation, tandis que de 2,5 à 5 mg/mL, il y a eu une certaine stabilité. Les résultats montrent une différence significative ($p < 0,01$) entre les deux extraits et l'acarbose. De plus, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les deux extraits en termes d'activité antidiabétique. Soit des effets inhibiteurs forts sur l' α -amylase avec une valeur d' IC_{50} de $2,58 \pm 0,56$ mg/mL et une IC_{50} de $0,8 \pm 0,005$ mg/mL, respectivement. Par rapport à l'acarbose comme contrôle positif avec une valeur d' IC_{50} de $0,295 \pm 0,006$ mg/mL, les effets inhibiteurs des polysaccharides extraits des graines des deux plantes étaient significativement meilleurs contre l' α -amylase. Deux fractions de galactomannanes des graines d'*Alhagi maurorum* Medik. ont montré des valeurs d' IC_{50} de 5,43 mg/mL et 6,81 mg/mL (Chakou et al., 2021). Un autre galactomannane de soja, *Glycine max* (L.) Merrill, possède une activité inhibitrice contre certaines amylases pancréatiques associées à la digestion des amidons

(Kashef *et al.*, 2008). Deux fractions polysaccharidiques isolées à partir de blé ont présenté une inhibition compétitive de l' α -amylase (Lv *et al.*, 2020).

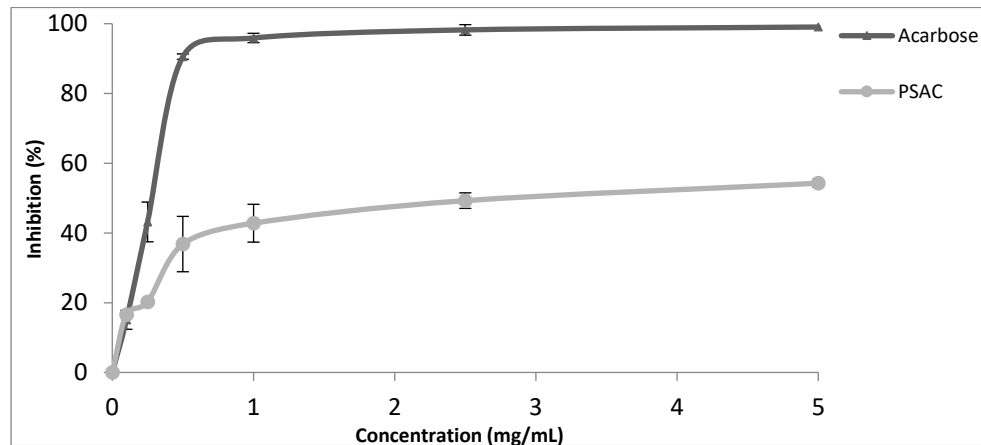


Figure 44 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAC sur l' α -amylase.

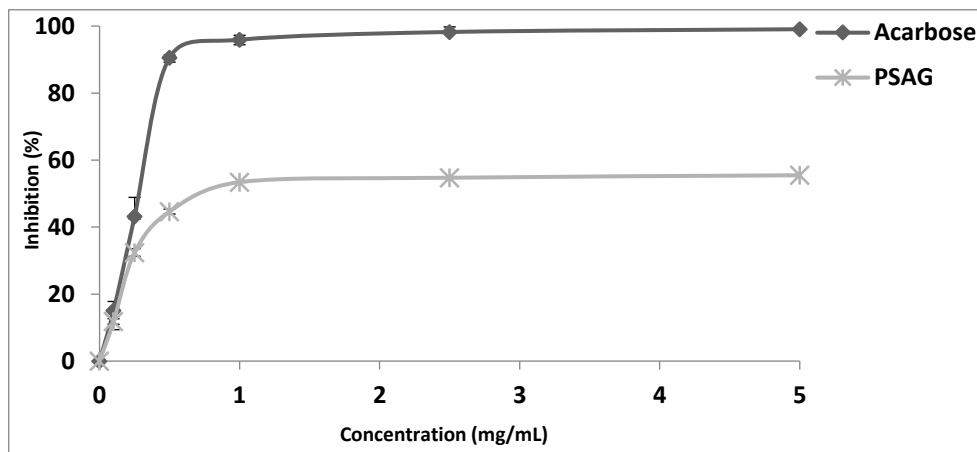


Figure 45 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAG sur l' α -amylase.

IV.4.2. Pouvoir inhibiteur de PGAC et PGAG sur l' α -glucosidase

L' α -glucosidase est une enzyme digestive clé qui participe au métabolisme des glucides de l'organisme en coupant le glucose de l'extrémité non réductrice des polysaccharides, en hydrolysant la liaison α -1,4-glycosidique. L'inhibition de l' α -glucosidase est une stratégie efficace pour réduire l'hyperglycémie post-prandiale (Gong *et al.*, 2020).

L'activité inhibitrice des deux extraits PGAC, PGAG et de l'acarbose sur l' α -glucosidase a été étudiée dans cette étude, et les résultats ont été présentés sur la figure 46 et 47. De 0 à 0,75 mg/mL, le PGAC, le PGAG et l'acarbose ont montré une augmentation dose-dépendante du pourcentage d'inhibition. Ensuite, de 0,75 à 2,5 mg/mL, il y a eu une petite augmentation, tandis que de 2,5 à 5 mg/mL, il y a eu une certaine stabilité. Les résultats montrent une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les deux extraits et l'acarbose. De plus, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les deux extraits en termes d'activité

antidiabétique. Les résultats de l'inhibition de l'activité α -glucosidase ont montré que le PGAC et le PGAG ont des effets inhibiteurs faibles sur l' α -glucosidase, avec des valeurs d'inhibition de 12,38 % à 5 mg/mL et 12,93 % à 5 mg/mL, respectivement. En comparaison, l'acarbose utilisée comme contrôle positif a montré une valeur d'inhibition de 100% à 5 mg/mL. **Zhu et al. (2016)** ont rapporté un bon effet inhibiteur de l' α -glucosidase par un extrait polysaccharidique (APS) de l'*Astragalus Radix* séché. De même, deux fractions polysaccharidiques isolées du blé ont montré une inhibition non compétitive de l' α -glucosidase (**Lv et al., 2020**). Les activités inhibitrices de l' α -glucosidase des polysaccharides étaient étroitement liées à leurs compositions en monosaccharides, à leurs poids moléculaires et au type de liaisons glycosidiques (**Le, et al., 2021**).

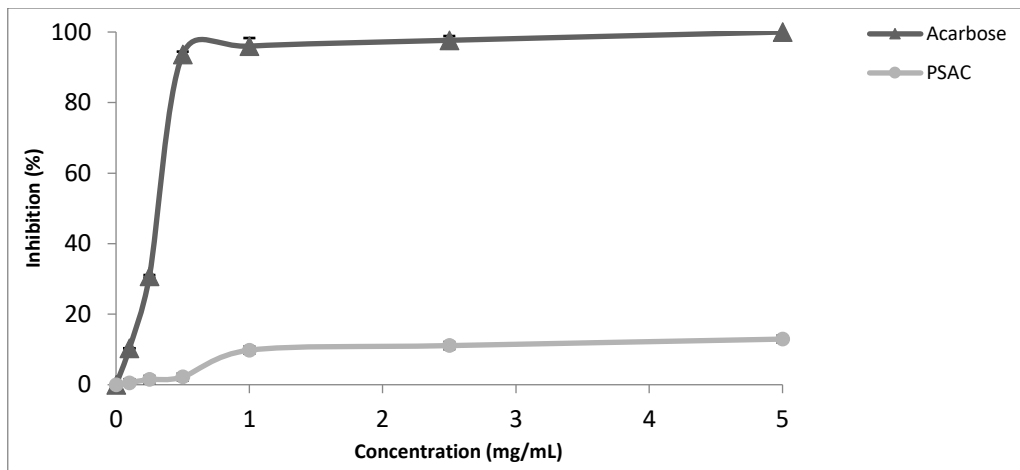


Figure 46 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAC sur l' α - glucosidase.

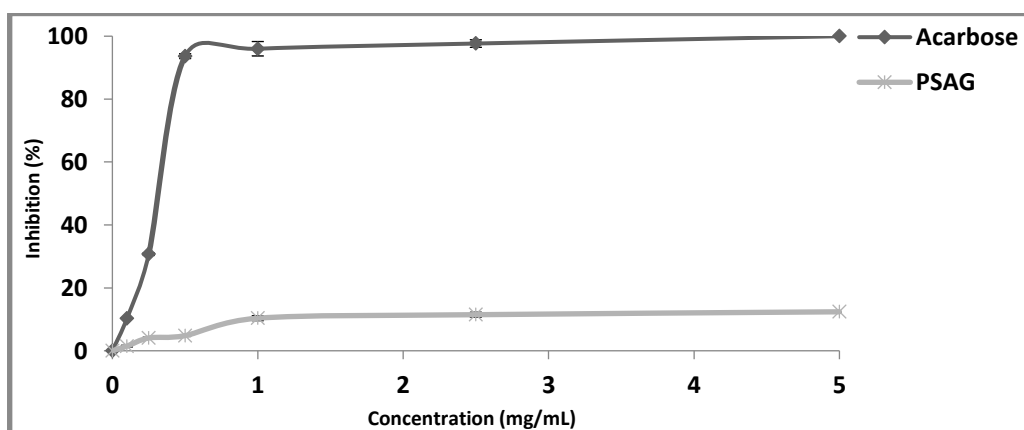


Figure 47 : Effets inhibiteurs de l'acarbose, PGAG sur l' α - glucosidase.

IV.4.2. Evaluation de l'activité antioxydant par le test de piégeage du radical libre DPPH'

Les radicaux libres, également connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS/RNS), peuvent causer un stress oxydatif qui endommage les structures cellulaires de tous les organismes vivants à des concentrations élevées. Ils jouent également un rôle pathologique majeur dans le développement de maladies chroniques chez les humains. Les antioxydants sont donc importants pour prévenir ces affections induites par les ROS/RNS et les radicaux libres. Au cours des vingt dernières années, les antioxydants sont devenus des termes couramment utilisés pour décrire ces mécanismes pathologiques (Xiao *et al.*, 2016).

La mesure de l'effet antioxydant a été effectuée de manière spectrale à partir de la spectroscopie UV-visible pour le test de piégeage de DPPH'. Les courbes d'absorption et les valeurs d'IC₅₀ sont regroupées dans les figures 48 et 49 :

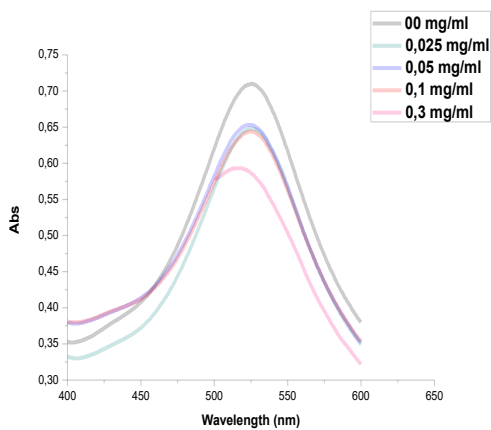


Figure 48 : Spectre d'absorption UV-Vis de DPPH' en absence et en présence de différentes concentrations d'PGAG.

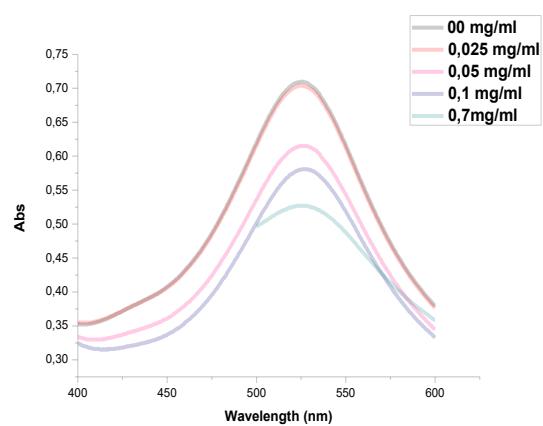


Figure 49 : Spectre d'absorption UV-Vis de DPPH' en absence et en présence de différentes concentrations d'PGAC.

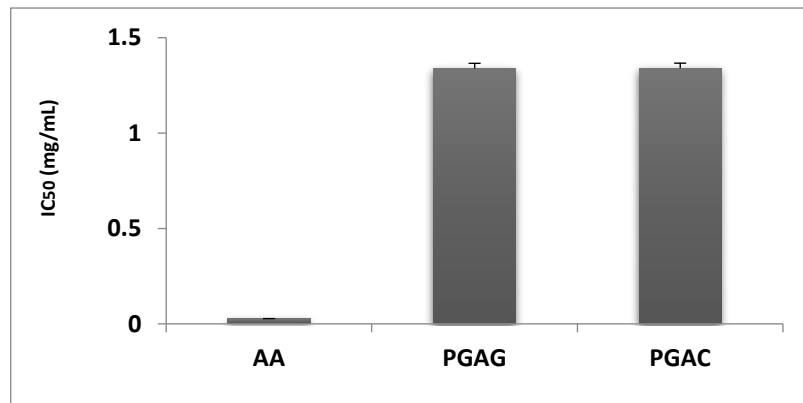


Figure 50 : Les valeurs d'IC₅₀ pour PGAG, PGAC et AA.

Le diabète est étroitement associé au stress oxydatif car l'hyperglycémie provoque un stress oxydatif et produit des radicaux libres qui peuvent induire des complications diabétiques telles que la dysfonction endothéliale et l'athérosclérose (**Kim et al., 2014**). Le mécanisme de l'activité de piégeage du DPPH est basé sur le transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers l'hydrazyl DPP (radical) pour le convertir en hydrazine DPP, afin d'éviter la présence de radicaux libres actifs, qui ont la capacité de dégrader les protéines, les lipides et l'ADN dans le corps humain ou les aliments. Ainsi, ces radicaux peuvent conduire à des maladies dégénératives. Le transfert d'hydrogène se fait par une éventuelle réaction entre le radical et les groupements amine ou amide présents dans l'antioxydant (**Abou El Azm et al., 2019**). Dans ce contexte, la capacité de piégeage du PGAC et PGAG sur le radical DPPH a été étudiée en comparaison avec l'acide ascorbique. Les résultats montrent une différence très hautement significative ($p < 0,000$) entre les deux extraits et l'acide ascorbique. De plus, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les deux extraits en termes d'activité antioxydante. Comme observé sur la figure 50, le PGAC et le PGAG possèdent une faible activité antioxydante sur le radical DPPH, avec une valeur élevée de $IC_{50}=1,34$ et $IC_{50}=1,339$ mg/mL, respectivement. Cette valeur est supérieure à celle obtenue par **Boual et al. (2015)**, une valeur d' $IC_{50}=33$ µg/mL à partir d'un galactomannane extrait d'*Astragalus armatus*, et **Chouana et al. (2017)**, qui ont identifié pour un GM extraite d'*Astragalus gombo* un IC_{50} de 50 µg/mL. De plus, les galactomannanes de fenugrec présentent une faible activité antioxydante en réduisant la peroxydation lipidique et en augmentant les niveaux d'enzymes antioxydantes (**Anwar et al., 2009**).

D'après l'analyse FT-IR, le groupe amide ou amine est absent dans les spectres des PGAC et PGAG, ce qui explique leur faible activité antioxydante. Les activités biologiques des polysaccharides sont étroitement liées à leur structure. Le type de liaison, le nombre et la position des ramifications dans la chaîne polymérique ont un impact majeur sur l'arrangement tridimensionnel, ainsi que sur la taille moléculaire, qui déterminent ensemble le comportement du polysaccharide. Les propriétés physiques, telles que la solubilité, la viscosité et la gélification, peuvent également influencer l'activité biologique en affectant la biodisponibilité. Bien que certaines études aient montré que les poids moléculaires moyens des polysaccharides peuvent varier significativement, des fractions avec des compositions de monosaccharides similaires peuvent afficher la même activité biologique. Ainsi, l'élucidation de la structure moléculaire des polysaccharides présents dans les plantes médicinales est essentielle pour prédire leur comportement biologique (**Tang et al., 2019**).

IV.4.3. Evaluation du potentiel toxique par l'activité hémolytique des deux extraits polysaccharidiques vis-à-vis les globules rouges humains

Compte tenu de l'utilisation de ce composé en médecine, il est nécessaire d'étudier ses propriétés hémolytiques en tenant compte de la sensibilité de l'être humain à l'hémolyse provoquée par certaines substances (Devecioglu et al., 2001). Le modèle érythrocytaire a été largement utilisé car il permet de déterminer la toxicité des formulations injectables et donne une indication générale de la toxicité membranaire. L'hémolyse est due à la destruction des globules rouges, qui résulte de la lyse de la bicouche lipidique membranaire. Cette hémolyse dépend de la concentration et de la puissance de l'extrait. De plus, l'activité hémolytique de chaque extrait est liée à sa composition chimique (Mohammedi & Atik, 2014). Les métabolites secondaires qui endommagent directement l'intégrité membranaire, provoquant la lyse cellulaire, sont considérés comme des composés ayant des effets cytotoxiques potentiels (Mouffouka et al., 2020).

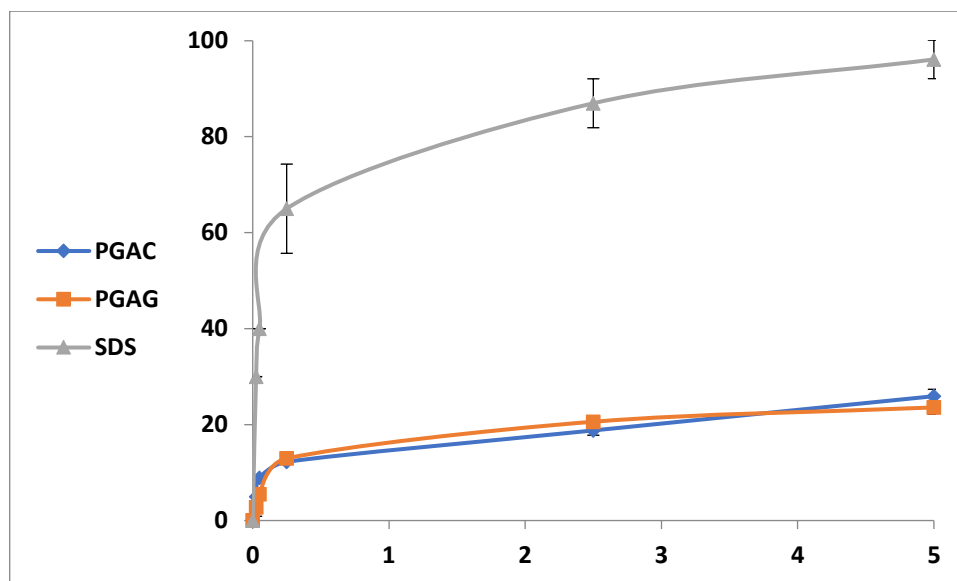


Figure 51 : Effets hémolytiques de SDS, PGAC et PGAG.

Dans cette étude, l'activité hémolytique des polysaccharides des PGAC et PGAG a été explorée (Figure 51). Les résultats ont montré que le SDS présente un taux d'hémolyse de 97,85 % à une concentration de 5 mg/ml, tandis que le PGAC et le PGAG présentent respectivement des taux d'hémolyse de 26,06 % et 23,58 % à la même concentration. Ces résultats montrent une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les deux extraits et le SDS. De plus, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$) entre les deux extraits en termes d'activité hémolytique ce qui indique leur faible toxicité. Des résultats similaires ont été obtenus par Ktari et al. (2016) pour les polysaccharides des graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*). L'échantillon a été dosé à différentes concentrations (1-1000

$\mu\text{g/mL}$), et aucune hémolyse n'a été observée pour toutes les concentrations. Ces données suggèrent que l'extrait est non toxique et qu'il convient donc à la préparation de médicaments destinés au traitement de diverses maladies. Contrairement au polysaccharide brut extrait de *Sorghum bicolor* principalement constitué d'acide 2-hydroxybenzoïque et de glucose, la fraction testée a présenté une faible activité hémolytique envers les globules rouges humains des groupes ABO. L'activité hémolytique limite était comprise entre 27 et 110 μg de glucides par test pour chacune des quatre cellules de groupe sanguin (Neucere et al. 1986). Les données suggèrent que le PGAC et PGAG présente un faible niveau de toxicité, indiquant ainsi son potentiel pour la formulation de médicaments destinés au traitement du diabète.

Conclusion générale

Conclusion Générale

L'objectif associé à cette thèse visait à identifier, caractériser et déterminer les propriétés biologiques des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines des deux plantes spontanées appartenant au genre *Astragalus*, dont l'*Astragalus cruciatus* Link. et l'*Astragalus gyzensis* Bunge. récoltée dans le Sahara septentrional Algérien (région d'El-Oued). Ce travail a été initié par une étude ethnobotanique qui avait examiné l'importance relative des deux plantes dans la région. Les connaissances traditionnelles obtenues à partir d'entretiens avec la population locale ont révélé que ces plantes sont principalement utilisées comme source de nourriture pour les humains et les bétails, l'*A. cruciatus* étant souvent utilisé pour traiter les problèmes liés à l'estomac, les flatulences, comme agent antidiabétique et anti-inflammatoire, tandis que l'*A. gyzensis* était principalement utilisé pour traiter les morsures de serpent et de scorpion, les maladies digestives et la jaunisse. Dans la région d'El Hamraya/Douar el ma, les deux espèces avaient un indice de similarité Rahaman de 100% pour leurs propriétés antidiabétiques, leurs feuilles étaient généralement préparées par décoction. Cette étude souligne des connaissances traditionnelles de la population d'El-Oued, qui ont été peu documentées jusqu'à présent et vise à explorer le potentiel pharmacologique de ces plantes.

Pour établir les relations entre les utilisations traditionnelles de ces plantes et leurs compositions chimiques, une étude phytochimique ont été effectuées sur les fractions mucilagineuses, qui ont été obtenues après une extraction aqueuse des graines de deux plantes. Elles ont été partiellement purifiées par précipitation éthanolique et finalement lavées plusieurs fois à l'acétone. Les deux fractions ont donné des bons rendements d'extraction. Elles ont été caractérisées pour leur composition chimique en oses totaux, oses neutres, oses acides, protéines et polyphénols par les méthodes colorimétriques et leur structure a été analysée par les techniques : UV-visible, FT-IR, DRX, CCM, HPLC et GC/MS-EI. L'UV-visible a indiqué une présence réduite d'impuretés de protéines. FT-IR a révélé des bandes caractéristiques correspondant aux galactomannanes. Le DRX a démontré son arrangement structurale amorphe. Les résultats obtenus par les techniques chromatographiques ont révélé la présence des galactomannanes. Ce biopolymère est constitué de ratio molaire mannose/galactose (M/G) de 3.04 pour PGAC et 2.71 pour PGAG avec un pureté égale 71,18% pour PGAC et 65,07% pour PGAG.

L'étude des propriétés biologiques des polysaccharides extraits a été entreprise en vue de leur attribuer certains usages thérapeutiques traditionnels. Les deux extraits issus des graines des deux plantes ont montré une activité antihyperglycémiant remarquable vis-à-vis de l' α -

amylase et une faible inhibition vis-à-vis de l' α -glucosidase, tandis que l'étude de l'activité antioxydante par le teste de piégeage du radical libre DPPH• montre une faible activité. L'étude du potentiel toxique des polysaccharides vis-à-vis de HRBc a indiqué une faible toxicité. Ces facteurs le rendent approprié pour l'application industrielle de fibres alimentaires pour les personnes diabétiques.

Ces travaux ont permis d'améliorer le niveau de connaissances sur les polysaccharides présents chez l'AC et l'AG notamment en termes de caractérisation structurale et physico-chimique des deux polysaccharides présents dans les graines de ces plantes. La propriété antihyperglycémiant identifiée doit faire l'objet d'autres investigations *in silico*, *In vitro* et *in vivo* mais ouvrent la voie à une possible exploitation de ces plantes bien adaptées au climat désertique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abou El Azm, N., Fleita, D., Rifaat, D., Mpingirika, E. Z., Amleh, A & El-Sayed M. M. H. (2019). Production of Bioactive Compounds from the Sulfated Polysaccharides Extracts of *Ulva lactuca*: Post-extraction Enzymatic Hydrolysis Followed by Ion-exchange Chromatographic Fractionation. *Molecules*, 24 (2132): 1-17.
- Abouri, M., El Mousadik, A., Msanda, F., Boubaker, H., Saadi, B. & Cherifi, K, (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. *International Journal of Medicinal Plants Research*. 1:7, 99-123.
- Acikgoz, C. (2010). Extraction and Characterization of Pectin Obtained from Quince Fruits (*Cydonia vulgaris pers*) Grown in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 23: 1, 149-152
- Agyemang, K., Han, L., Liu, E., Zhang, Y., Wang, T. & Gao, X. (2013). Recent advances in *Astragalus membranaceus* anti-diabetic research: pharmacological effects of its phytochemical constituents. *Evidence-Based Medicinal Plants for Modern Chronic Diseases*, 1-9.
- Ahmad, J.B., Ajani, E.O. & Sabiu, S., (2021). Chemical group profiling, *in vitro* and *in silico* evaluation of aristolochia ringens on α -amylase and α -glucosidase activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-12.
- Albuquerquea, P.B.S., Barros, W., Santos, G.R.C., Correia, T.S., Mouroc, P.A.S., Teixeira, J.A. & Carneiro-da-Cunha, M.G. (2014). Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. *Carbohydrate Polymers*, 104 (127– 134).
- Amiri, M.S., Joharchi, M.R., Nadaf, M., & Nasseh, Y. (2020). Ethnobotanical knowledge of *Astragalus* spp.: The world's largest genus of vascular plants. *Avicenna J Phytomed*, 10:2, 128-142.
- Anderson, T.A., Malaviya, P. & Osmar, E. (2015). Using Conventional HPLC to Study the Interaction of Pharmaceuticals and Personal Care Products (Ppcps) with Plants. *Pharm Anal Acta*, 6: 414. doi:10.4172/21532435.1000414.
- Andrade-Cetto, A. & Heinrich, M. (2011). From the field into labor: Useful approach to selecting species based on local knowledge. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 1–5. doi:10.3389/fphar.2011.00020.
- Angone, S.A., Nguema-Ona, E. & Driouich, A. (2010). La thérapie par les plantes en Afrique : activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. *Phytothérapie*, (1-8). DOI 10.1007/s10298-010-0567-4.

- Anulov, O.V. & Shcherbukhin, V.D. (1996).** Seed galactomannans of some species of Fabaceae family. *Rastitel'nye Resursy*, 32(3): 102-105.
- Anwar, S., Desai, S & Mandlik, R. (2009).** Exploring Antidiabetic Mechanisms of Action of Galactomannan: A Carbohydrate Isolated from Fenugreek Seeds. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 6(1):(1-10).
- Athukorala, Y., Jung, W., Vasanthan, T. & Jeon, Y. (2006).** An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of *Ecklonia cava*. *Carbohydrate Polymers*, 66 : 184–191. doi: 10.1016/j.carbpol.2006.03.002.
- Audigie, C., Dupont, G. & Zonszain, F. (1995).** Principe des méthodes d'analyse biochimique, 2ème Edition. Ed. Biosciences et Technique, Paris.
- Autran J. C. (1991).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 3ème Ed. Technique et Document, Paris, 115-137.
- Barkat, A., Bouaicha, F., Bouteraa, O., Mester T. Ata, , B., Balla, D., Rahal, Z., & Szabó, G. (2021).** Assessment of complex terminal groundwater aquifer for different use of Oued souf valley (Algeria) using multivariate statistical methods, geostatistical modeling, and water quality index. *Water*, 13, 1-26.
- Barkat, A., Bouaicha, F., Mester, T., Debabeche, M., & Szabó, G. (2022).** Assessment of Spatial Distribution and Temporal Variations of the Phreatic Groundwater Level using Geostatistical Modelling: The Case of Oued Souf Valley-Southern East of Algeria. *Water*, 14: 1415, 1-25. doi: org/10.3390/w14091415.
- Baziz, K. (2015).** Organisation du génome et étude palynologique de quelques espèces algériennes du genre *Astragalus* L. Thèse de Doctorat. Université de Constantine 1. 86P.
- Belhaj, S., Dahmani, J., Belahbib, N. & Zidane, L. (2020).** Ethnopharmacological and Ethnobotanical study of Medicinal plants in the High Atlas Central, Morocco. *Ethnobotany Research & Applications*, 20:18,1-40.
- Belkheiri, A., Forouhar, A., Ursu, A.V., Dubessay, P., Pierre, G., Delattre, C., Djelveh, G., Abdelkafi, S., Hamdami, N., Michaud, P. (2021).** Extraction, Characterization, and Applications of Pectins from Plant By-Products. *Appl. Sci.*, 11, 6596 (1-25). doi.org/ 10.3390/app11146596.
- Bellakhdar, J. (1997).** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources de savoir. Thèse de doctorat. Université de METZ. 628 P.

- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, A., Elouissi, M., Khaldi, A., & Hamimed, A., (2015).** Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *J. Ethnopharmacol*, 175, 626-637.
- Benchadi, W., Haba, H., Lavaud, C., Harakat, D. & Benkhaled, M. (2013).** Secondary metabolites of *Astragalus cruciatus* Link. and their chemotaxonomic significance. *Rec Nat Prod*, 7, 105-113.
- Benjamin, P. (2016).** Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de *Cereus triangularis*. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand. P205.
- Benzahi, K., Benzahi, R., Dadamoussa, B. & Moussaoui, Y. (2016).** Quantitative analysis of different class of flavonoids content in *Cynodon Dactylon* (L) Pers growing at Ouargla region in the South-East of Algeria. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7:2(1951-1961).
- Biliaderis, C.G. & Izydorczyk, M.S. (2007).** Functional Food Carbohydrates. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 570P.
- Binhamad, H. (2018).** Extraction, characterization and properties of polysaccharides from novel sources. Doctoral thesis, University of Huddersfield. 265p.
- Bisht, S., Kant, R. & Kumar V. (2013).** α -glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortilis* gum exudate. *Int J Biol Macromol.*, 59:214-220.
- Blumenkrantz, N. & Asboe-Hansen, G. (1973).** New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, (54):484-489.
- Bmee, D. F. & Verblscar, A. J. (1995).** Effects of plant-derived polysaccharides on murine cytomegalovirus and encephalomyocarditis virus infections in mice. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 6(6), 385-390.
- Boual, Z., Pierre, G., Delattre, C., Benaoun, F., Petit, E., Gardarin, C., et al. (2015).** Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydr Dietary Fibre*, 5 : 10-18.
- Bouallala, M., Bradai, L. & Abid, M. (2014).** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne : cas de la région du Souf. *Revue ElWahat Pour Les Recherches Et Les Etudes*, 7:2,18-26.
- Bouchet, P. & Deysson, G. (1976).** La sécrétion du mucilage chez les végétaux supérieurs : aspects morphologiques et ultrastructuraux. *Bulletin de la Société Botanique de France*. 123 : 133-143.

- Bouhadi, N., Hachemi, N., Kahlouche, A., Djeziri, M., Touabia, M. & Nouani, A., (2018). Valorization of Algerian leguminous: extraction and characterization of galactomannans. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 4, 706-713.
- Bourbon, A.I., Pinheiro, A.C., Ribeiro, C., Miranda, C., Maia, J.M., Teixeira J.A. & Vicente A.A. (2010). Characterization of galactomannans extracted from seeds of *Gleditsia triacanthos* and *Sophora japonica* through shear and extensional rheology: Comparison with guar gum and locust bean gum. *Food Hydrocolloids*, 24, 184–192.
- Bradford, M.M.A. (1976). rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, (72):248–254.
- Bratkov VM, Shkondrov AM, Zdraveva PK, Krasteva IN. (2016). Flavonoids from the genus *Astragalus*: Phytochemistry and biological activity. *Phcog Rev*, 10:11-32.
- Brudieux V., (2007). Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique Thèse de doctorat, Université de Limoge. 223 p.
- Buckeridge, M. S. (2000). Henrique Pessoa dos Santos, Marco Aurélio S. Tiné. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiol. Biochem.*, 38 (141–156).
- Buckeridge, M. S. (2010). Seed Cell Wall Storage Polysaccharides: Models to Understand Cell Wall Biosynthesis and Degradation, Plant Physiology. *American Society of Plant Biologists*, 154, 1017–1023.
- Caunca, E.S. & Balinado, L.O. (2021). Determination of Use-Value, Informant Consensus Factor, and Fidelity Level of Medicinal Plants Used in Cavite, Philippines. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 10:2, 443-453.
- Chaachouay, N., Benkhniq, O., Fadli, M., El Ibaoui, H. & Zidane, L. (2019). Ethnobotanical and ethnopharmacological studies of medicinal and aromatic plants used in the treatment of metabolic diseases in the Moroccan Rif. *Heliyon*, 5:02191, 1-9.
- Chakou, F.Z., Boual, Z., Hadj, M.D.O.E., Belkhalfa, H., Bachari, K., El Alaoui-Talibi, Z., et al. (2021). Pharmacological Investigations in Traditional Utilization of *Alhagi maurorum* Medik. in Saharan Algeria: In Vitro Study of Anti-Inflammatory and Antihyperglycemic Activities of Water-Soluble Polysaccharides Extracted from the Seeds. *Plants*, 10: 2658.
- Chaudhary, L.B. & Srivastava, S. K. (2007). Taxonomic and Distributional Notes on Some *Astragalus* L. (Fabaceae) in India. *Taiwania*, 52(1) : 25-48.

- Chehema, A. (2006).** Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. 141p.
- Chehema, A. & Djebbar, M.R. (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien : distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revue Synthèse*, 17 (36–45).
- Chermat, S. & Gharzouli, R. (2015).** Ethnobotanical Study of Medicinal Flora in the NorthEast of Algeria - An Empirical Knowledge in DjebelZdim (Setif). *Journal of Materials Science and Engineering*, 5, 50-59.
- Chien, R.C., Yen, M.T., Tseng, Y.H. & Mau, J.L. (2015).** Chemical characteristics and anti-proliferation activities of *Ganoderma tsugae* polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 128, 60-98.
- Chopra, C., Abrol, B.K. & Handa, K.L. (1960).** Les Plantes Médicinales Des Régions Arides. Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, place de Fontenoy, Paris-7e Imprimeries Oberthur, Rennes © Unesco 1960 NS.59/III.17/F. Drug Research Laboratory, Jammu (Inde).
- Chouaibi, M., Rezig, L., Lakoud, A., Boussaid, A., Hassouna, M., Ferrari, G., et al. (2019).** Exploring potential new galactomannan source of Retama reatam seeds for food, cosmetic and pharmaceuticals: Characterization and physical, emulsifying and antidiabetic properties. *Int J Biol Macromol.*, 124 : 1167-1176.
- Chouana, T. (2017).** Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. Thèse de Doctorat, Université de Kasdi Merbah Ouargla, 177 p.
- Chouana, T., Pierre, G., Vial, C., Gardarin, C., Wadouachi, A., Cailleu, D., et al. (2015).** Structural characterization and rheological properties of a galactomannan from *Astragalus gombo* Bunge. seeds harvested in Algerian Sahara. *Carbohydrate Polymers*, 1-32.
- Cortés-Herrera, C., Artavia, G., Leiva, A. & Granados-Chinchilla, F. (2018).** Review Liquid Chromatography Analysis of Common Nutritional Components, in Feed and Food. *Foods*, 8, 1; doi:10.3390/foods8010001.
- Daas, P.J.H., Schols, H.A. & de Jongh, H.H.J. (2000).** On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. *Carbohydrate Research*, 329 (609–619). doi: 10.1016/s0008-6215(00)00209-3.

- Dakia, P. A., Wathelet, B. & Paquot, M. (2009).** Influence de la teneur en galactose sur les interactions moléculaires et sur les propriétés physico-chimiques des galactomannanes en solution. *BIOTECHNOLOGIE, AGRONOMIE, SOCIÉTÉ ET ENVIRONNEMENT*. (1-16).
- Dakia, P. A., Wathelet, B. & Paquot, M. (2010).** Influence de la teneur en galactose sur les interactions moléculaires et sur les propriétés physico-chimiques des galactomannanes en solution. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 14 (1): 213-223.
- Daoudi, A., Bachiri, L., Bammou, M., Ibijbijen, J. & Nassiri, L. (2015).** Etude ethnobotanique au moyen atlas central. *European Scientific Journal*, 11:24, 226-242.
- Delattre C. (2005).** Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation Enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat de l'université de Picardie Jules Verne, Valois Santerre.
- Delattre, C., Pierre, G., Gardarin, C., Traikia, M., Elboutachfaiti, R., Isogai, A. & Michaud P. (2015).** Antioxidant activity of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPOmediated oxidation of xanthan. *Carbohydrate Polymers*, 116: 34-41.
- Devecioglu, C., Katar, S., Dogru, O. & Tab, M. A. (2001).** Henna-induced hemolytic anemia and acute renal failure. *Turk. J. Pediatr*, 43 (65-66).
- Dionísio, M. & Grenha, A. (2012).** Locust bean gum: exploring its potential for biopharmaceutical applications. *J Pharm Bioallied Sci*, 4 (3), 75-85.
- Dos Santos, V. R. F., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A., Vicente, A. A., & Cerqueira, M. A. (2015).** Relationship between galactomannan structure and physicochemical properties of films produced thereof. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8292–8299. doi:10.1007/s13197-015-1961-6.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Pebers, P.A. & Smith F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, (28): 350–356.
- Ebrahimzadeh, H., Niknam, V. & Maassoumi, A.A. (1999).** Nitro compounds in Astragalus species from Iran. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, 743-751.
- Echeverría, J., Espinoza, S.M. & Niemeyer, H.M. (2017).** Unusual alkaloids of the highland species *Astragalus cryptanthus* Wedd. (Fabaceae). *Nat Prod Res.*, 31 (1) :89-92. doi: 10.1080/14786419.2016.1207070.
- Elahe, Y., Saeid, Z., Rosa, Z., Mostafa, N., Hassan, J. & Hamidreza, A. (2017).** Fenugreek: A therapeutic complement for patients with borderline hyperlipidemia: A randomised, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Advances in Integrative Medicine*, doi:10.1016/j.aimed.2016.12.002

- EL-Gazzar, A., Abd El-Ghani, M., El-Husseini, N. & Khattab, A. (2013).** Classification of the Leguminosae-Papilionoideae: A Numerical Re-assessment. *Not Sci Biol*, 5(4):499-507.
- Evans, A. J., Hood, R. L., Oakenfull, D. G. & Sidhu, G. S. (1992).** Relationship between structure and function of dietary fibre: a comparative study of the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat. *British Journal of Nutrition*, 68, 21 : 7-229.
- Fadil, M., Farah, A., Haloui, T. & Rachiq, S. (2014).** Etude ethnobotanique des plantes exploitées par les coopératives et les associations de la région Meknès-Tafilalet au Maroc. *Phytothérapie*, 1-12.
- Feng, L., Yin, J., Nie, S., Wan, Y. & Xie, M. (2016).** Fractionation, physicochemical property and immunological activity of polysaccharides from *Cassia obtusifolia*. *Int J Biol Macromol.*, 1-35.
- Fons, F., Gargadenec, A. & Rapior, S., (2008).** Culture of *Plantago* species as bioactive components resources: a 20-year review and recent applications. *Acta Bot Gallica*, 155, 277–300.
- Friedman, J., Yaniv, Z., Dafni, A. & Palewitch, D. (1986).** A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *J. Ethnopharmacol.*, 16, 275–287.
- Gallão, M.I., Normando, L.O., Vieira, Í.G.P., Mendes, F.N.P., Ricardo, N.M.P.S. & Brito, E.S. (2013).** Morphological, chemical and rheological properties of the main seed polysaccharide from *Caesalpinia ferrea* Mart. *Indust Crops Prod*, 47:58-62.
- Gebrelibanos, M., Tesfaye, D., Raghavendra, Y. & Sintayeyu, B. (2013).** Nutritional and health implications of legumes. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4: 4 (1269-1279).
- Ghanem, M.E., Han, R., Classen, B., Quetin-Leclercq, J., Mahy, G., Ruan, C., Qin, P., Pérez-Alfocea, F. & Lutts, S. (2010).** Mucilage and polysaccharides in the halophyte plant species *Kosteletzkya virginica*: localization and composition in relation to salt stress. *J Plant Physiol*, 15; 167 (5) :382-92. doi: 10.1016/j.jplph.2009.10.012.
- Ghebregzabeier, M., Rufini, S., Monaldi, B. & Lato, M. (1976).** Thin-layer chromatography of carbohydrates. *Journal of Chromatography*, 127: 133-162.

- Gillet, S., Blecker, C., Paquot, M. & Richel, A. (2014).** La relation structure chimique– propriétés physiques des galactomannanes extraits de la caroube. *Comptes Rendus Chimie*, 17 (386–401). doi.org/10.1016/j.crci.2013.09.014.
- Gomes, G. S., Silva, G. S., Silva, D. L. S., Oliveira, R. R. & G. M. Conceição. (2018).** Botanical Composition of Fabaceae Family in the Brazilian Northeast, Maranhão, Brazil. *Asian Journal of Environment & Ecology*, 6:4(1-10).
- Gong, L., Feng, D., Wang, T., Ren, Y., Liu, Y. & Wang J. (2020).** Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia. *Food Sci Nutr.*, 2020; 8(12): 6320-6337.
- Grubb, P.J. (1977).** The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews*, 52, 107-145.
- Gülcemal, D., Alankus-Çalışkan, Ö., Perrone, A., Özgökçe, F., Piacente, S. & Bedir, E. (2011).** Cycloartane glycosides from *Astragalus aureus*. *Phytochemistry*, 72 (761–768).
- Gyawali, R. & Ibrahim, S. A. (2014).** Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.047.
- Ha, K.S., Jo, S.H., Mannam, V., Kwon, Y.I. & Apostolidis, E. (2016).** Stimulation of Phenolics, Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities During Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seed Germination. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71: 211- 217.
- Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir S. & Boulemtafes A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 75-81.
- Hammi, K.M., Hammami, M., Rihouey, C., Cerf, D.L., Ksouri, R. & Majdoub, H. (2016).** Optimization extraction of polysaccharide from Tunisian *Zizyphus lotus* fruit by response surface methodology: Composition and antioxidant activity. *Food Chem.*, 1(184): 9-80.
- Hamza, N., Berkea, B., Umarc, A., Chezea, C., Gind, H. & Moorea, N. (2019).** A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 238 (1-28).
- Hassan, H.M.M., Afify, A.S., Ghabbour, S.I., Saleh, N.T. & Kashef, R.K.H. (2009).** Biological activities of soybean galactomannan. *Academic journal of cancer research*, 2:2(78-84).
- He, L., Guo-ying, Z., Jian-ping, X., Jun-ang, L., Huai-yun, Z. & Yimin, T. (2012).** Research progress on polysaccharides from *Ginkgo biloba*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 171-176.

- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C. & Sticher, O. (1998).** Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance. *Social Science & Medicine*, 47(11), 1859–1871. doi:10.1016/s0277-9536(98)00181-6.
- Helisse, Y. (2005).** The botanical encyclopedia of Souf region [in Arabic].
- Hemmami, H., Seghir, B.B., Zeghoud, S., Ben Amor, I., Kouadri, I., Rebiai, A., Zaater, A., Messaoudi, M., Benchikha, N., Sawicka, B. et al. (2023).** Desert Endemic Plants in Algeria: A Review on Traditional Uses, Phytochemistry, Polyphenolic Compounds and Pharmacological Activities. *Molecules*, 28, 1834.
- Cheng, Y., Jia, G., Jiang-Sheng, Z. & Shao-Ping L. (2010).** Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. *J Planar Chromatogr*, 23: 46-49.
- Hlahla, J.M., Mafa, M.S., Van Der Merwe, R., Alexander, O., Duvenhage, M.M., Kemp, G. & Moloi, M.J. (2022).** The photosynthetic efficiency and carbohydrates responses of six edamame (*Glycine max.* L. Merrill) cultivars under drought stress. *Plants*, 11, 1-22.
- Horan, N.J. & Eccles, C.R. (1986).** Purification and characterization of extracellular polysaccharide from activated sludges. *Pergamon Journals Ltd.*, 20(11): 1427-1432.
- Hoton-Dorge, M. (1976).** Separation of aldoses and polysaccharides by thin layer chromatography on cellulose and new spraying reagent allowing their sensitive detection. [in French]. *Chromatography*. 1976; 116: 417-423.
- Hu, D., Cheong, K., Zhao, J. & Li, S. (2013).** Chromatography in characterization of polysaccharides from medicinal plants and fungi. *J. Sep. Sci.*, 36, 1–19.
- Ionkova, I. (1995).** VI Astragalus Species (Milk Vetch): In Vitro Culture and the Production of Saponins, Astragaline, and Other Biologically Active Compounds. *Medicinal and Aromatic Plant*, 33(97-98).
- Jeddi, M., Ouaritini Z.B. & Fikri-Benbrahim, K. (2021).** Ethnobotanical study of medicinal plants in northern Morocco (Taounate): case of Mernissa -Étude ethnobotanique des plantes médicinales au nord du Maroc (Taounate): cas de Mernissa. *Ethnobotany Research & Applications*, 21:35, 01-23.
- Jiang, J., Cristhian, C., Zhang, W. & Sun, R. (2010).** Structural and thermal characterization of galactomannans from genus *Gleditsia* seeds as potential food gum substitutes. *Society of Chemical Industry*, 91: 732–737. doi:10.1002/jsfa.4243.
- Jiang, J., Jian, H., Cristhian, C., Zhang, W. & Sun, R. (2010).** Structural and thermal characterization of galactomannans from genus *Gleditsia* seeds as potential food gum substitutes. *J Sci Food Agric*, 91: 732–737.

- Jin, M. & Ke, Z. (2014).** Structural Features and Biological Activities of the Polysaccharides from *Astragalus Membranaceus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 64, 257–66.
- Kajaria, D., Tripathi, J., Tripathi, Y.B. & Tiwari S. (2013).** In vitro α -amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug-Shirishadi. *J Adv Pharm Technol Res.*, 4: 206-209.
- Kashef, R.K.H., Hassan, H.M.M., Afify, A.S., Ghabbour, S. & Saleh, N.T. (2008).** Effect of Soybean Galactomannan on the Activities of α -Amylase, Trypsin, Lipase and Starch Digestion. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(12):1893-1897.
- Kashef, R.K.H., Hassan, H.M.M., Afify, A.S., Ghabbour, S. & Saleh, N.T. (2008).** Effect of Soybean Galactomannan on the Activities of α -Amylase, Trypsin, Lipase and Starch Digestion. *J Appl Sci Res.*, 4(12): 1893-1897.
- Kashtoh, H. & Baek, K. (2022).** Recent Updates on Phytoconstituent Alpha-Glucosidase Inhibitors: An Approach towards the Treatment of Type Two Diabetes. *Plants*, 11(2722) : 1-25.
- Keirsse, J. (2003).** Spectroscopie infrarouge d'eportee: mise au point d'un biocapteur pour l'imagerie metabolique et la securite microbiologique. Thèse de doctorat, Universite Rennes 1, 2003.Francais. 123P.
- Khalfallah, A., Karioti, A., Berrehal, D., Kabouche, A., Lucci, M., Bilia, A.R. & Kabouche, Z. (2014).** A New Flavonol Triglycoside and Other Flavonol Glycosides from *Astragalus armatus* Willd. (Fabaceae). *Rec.Nat.Prod.*, 8: (1) 12-18.
- Kheloufi, A., Mansouri, L.M., Bouafia, B., Khamari, Y., Kheloufi, H. & Bouguern, Y. (2019).** Morphological characteristics and seed germination improvement of two ecotypes of *Astragalus armatus* Willd. Subsp. *Armatus* in Algeria. *Cercetări Agronomice în Moldova*, 4 (176): 96-107.
- Kim, M., Kim, E., Kwak, H. S & Jeong Y. (2014).** The ingredients in *Saengshik*, a formulated health food, inhibited the activity of α -amylase and α -glucosidase as anti-diabetic function. *Nutr Res Pract.*, 8(5):602-606.
- Kinghorn, A. D. (1992).** Plants as sources of medicinally and pharmaceutically important compounds. *Phytochemical ReSOUTces tor Medicine and Agriculture*, 75-76.
- Kohn, R. & Kovac P. (1977).** Dissociation constants of D-galacturonic and D-glucuronic acid and their O-methyl derivatives. *Chem. Zvesti.*, 32, 478-485.
- Kontogiorgos, V. (2018).** Galactomannans (Guar, Locust Bean, Fenugreek, Tara). 1-5. doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21589-8

- Krsteva, I. & Nikolov, S. (2008).** Flavonoids in *Astragalus corniculatus*. *Quim. Nova*, 31, 1, 59-60.
- Krsteva, I.N. (2013).** Phenolic Compounds in Four *Astragalus* Species. *European Journal of Medicinal Plants*. 3(4): 616-623.
- Krsteva, I., Bratkov, V., Bucar, F., Kunert, O., Kollroser, M., Kondeva-Burdina, M. & Ionkova, I. (2007).** Flavoalkaloids and Flavonoids from *Astragalus monspessulanus*. *Journal of Natural Products*, 29, 1-7. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00502.
- Krsteva, I., Platikanov, S., Nikolov, S. & Kaloga, M. (2007).** Flavonoids from *Astragalus hamosus*. *Natural Product Research*, 21, 5,392–395.
- Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animales : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzes (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouargla activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Doctorat thesis. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS. 346P.
- Ktari, N., Trabelsi, I., Bardaa, S., Triki, M., Bkhairia, I., Ben Slama-Ben Salem, R., Nasri, M. & Ben Salah, R. (2016).** Antioxidant and hemolytic activities, and effects in rat cutaneous wound healing of a novel polysaccharide from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1-39.
- Kumar, A., Lakshman, K., Jayaveera, K., Shekar, S., Swamy, N., Khan, S. et al. (2011).** In vitro α -amylase inhibition and antioxidant activities of methanolic extract of *Amaranthus caudatus* Linn. *Oman Med J.*, 26: 166-170.
- Kumleh, A.A., Asgarpanah, J. & Ziarati, P. (2016).** Chemical Composition and Nutritive Value of *Astragalus podolobus* Seeds Growing Wild in South of Iran. *Biomed Pharmacol J.*, 9:3, 1117-1125.
- Kwon, Y., Apostolidis, E. & Shetty, K. (2008).** Inhibitory potential of wine and tea against α -amylase and α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabet. *Journal of food biochemistry*, 32 (15-31).
- Labeled, A., Ferhat, M., Labeled-Zouad, I., Kaplaner, E., Zerizer, S., Voutquenne-Nazabadioko, L., Magid, A.A., Semra, Z., Kabouche, A., Kabouche, Z. & Öztürk, M. (2016).** Compounds from the pods of *Astragalus armatus* with antioxidant, anticholinesterase, antibacterial and phagocytic activities. *Pharmaceutical Biology*, 1-7.
- Landin, M. & Echezarreta, M. M. (2010).** Galactomannans: old and new pharmaceutical materials. *Polysaccharides: Development, Properties and Applications*. Chapter 21. 1-25.

- Lapasin, R., & Pricl, S. (1995).** Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Applications. *First edition*, 616p. doi:10.1007/978-1-4615-2185-3.
- Lavergne, S., Thuiller, W., Molina, J. & Debussche, M. (2005).** Environmental and human factors influencing rare plant local occurrence, extinction and persistence: a 115 year study in the Mediterranean region. *Journal of Biogeography*, 32, 799-811.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G. & Izydorczyk, M. S. (2000).** Structural characteristics and rheological properties of locust bean galactomannans: a comparison of samples from different carob tree populations. *J Sci Food Agric*, 81: 68-75. Doi: org/10.1002/1097-0010(20010101)81:1<68::AID-JSFA780>3.0.CO;2-G.
- Le Houérou, H. N. (1997).** Climate, flora and fauna changes in the Sahara over the past 500 million years. *Journal of Arid Environments*, 37: (619–647).
- Le, B., Anh, P. & Yang S. (2021).** Polysaccharide Derived from *Nelumbo nucifera* Lotus. Plumule Shows Potential Prebiotic Activity and Ameliorates Insulin Resistance in HepG2 Cells. *Polymers.*, 13(11): 1780.
- Lee, E. J., Yean, M. H., Jung, H. S., Kim, J. S., & Kang, S. S. (2008).** Phytochemical Studies on Astragalus Root – Flavonoids and a Lignan. *Natural Product Sciences*. 14(2): 131-137
- Leeratiwong, C. (2020).** Species diversity of subfamily Papilionoideae (Leguminosae) in southern Thailand. *Thai Journal of Botany*, 12 (1): 45–65.
- Li, K., Li, S., Wang, D., Li, X., Wu, X., Liu, X., Du, G., Li, X., Qin, X., & Du, Y. (2019).** Extraction, Characterization, Antitumor and Immunological Activities of Hemicellulose Polysaccharide from *Astragalus radix* Herb Residue. *Molecules*, 24, 3644. doi: 10.3390/molecules24203644.
- Li, X., Qu, L., Dong, Y., Han, L., Liu, E., Fang, S., Zhang, Y. & Wang, T. (2014).** A Review of Recent Research Progress on the Astragalus Genus. *Molecules*, 19, 18850-18880. doi: 10.3390/molecules191118850.
- Liu, P., Xue, J., Tong, S., Dong, W. & Wu, P. (2018).** Structure characterization and hypoglycaemic activities of two polysaccharides from *Inonotus obliquus*. *Molecules*, 23, 1-15.
- LPWG The Legume Phylogeny Working Group (2017).** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *TAXON*, 66 (1) 44–77.

- Lubbe, C., Klimeš, A., Doležal, J., Jandová, V., Mudrák, O., Janeček, Š., Bartušková A. & Klimešová, J. (2021). Carbohydrate storage in herbs: the forgotten functional dimension of the plant economic spectrum. *Ann Bot.*, 127, 813–825.
- Lv, Q., Cao, J., Liu, R. & Chen H. (2021). Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from wheat bran. *Food Chem.*, 341: 128218.
- Lysiuk, R. & Darmohray R. (2016). Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*, 3, 46-53.
- Mahammad, S., Comfort, D. A., Kelly, R. M. & Khan, S. A. (2007). Rheological Properties of Guar Galactomannan Solutions during Hydrolysis with Galactomannanase and α -Galactosidase Enzyme Mixtures. *Biomacromolecules*, 8, 949-956.
- Maroyi, A. (2011). An ethnobotanical survey of medicinal plants used by the people in Nhema communal area, Zimbabwe. *Journal of Ethnopharmacology*, 136 (347–354). doi: 10.1016/j.jep.2011.05.003.
- Martinez- Avila, G.C.G., Aguilar-Gonzalez, M.A., Chavez-Gonzalez, M. L., Verma, D., Khan, H. & AGUILAR, C. N. (2021). Galactomannan: A Biodegradable Polymer Used for Bio-Based Edible Coating and Film Materials. *Applications of Biodegradable and Bio-Based Polymers for Human Health and a Cleaner Environment*, CHAPTER 9. 223-238.
- Martinez, A., Robles, C. A., Roper, J. M., Gardner, D. R., Neyaz, M. S., Joelson, N. Z. & Cook, D. (2019). Detection of swainsonine-producing endophytes in Patagonian *Astragalus* species. *Toxicon*, (1-6). Doi: org/10.1016/j.toxicon.2019.09.020.
- Mathur, N.K. (2012). Industrial Galactomannan Polysaccharides. *1st Edition*.
- Mathur, V. & Mathur, N.K. (2005). Fenugreek and other lesser known legume galactomannan-polysaccharides: scope for developments. *Journal of scientific and industrial research*, 64: (475-481).
- McChesney, J.D., Venkataraman, S.K. & Henri, J.T. (2007). Plant natural products: Back to the future or into extinction. *Phytochemistry*, 68 (2015–2022).
- McCleary, B.V. & Matheson, N.K. (1976). Galactomannan utilisation in germinating legume seeds. *Phytochemistry*, 15 : 43–47.
- Mehdioui, R. & Kahouadji A. (2007). Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). *Bulletin de l'Institut Scientifique*. Rabat, section Sciences de la Vie, 29, 11-20.

- Meier, H. & Reid, J. S. G. (1982). Reserve Polysaccharides Other Than Starch in Higher Plants. *Plant Carbohydrates*, 418-471.
- Mestechkina, N.M., Anulov, O.V., Smirnova, N.I. & Shcherbukhin, V.D. (2000). Composition and structure of a galactomannan macromolecule from seeds of *Astragalus lehmannianus bunge*. *Appl Biochem Microbiol.* 36(5): 502-506.
- Meyer, V. R. (2010). Practical High-Performance Liquid Chromatography. 1st German edition. DOI: 10.1002/9780470688427.
- Mittal, N., Mattu, P. & Kaur, G. (2016). Extraction and derivatization of *Leucaena leucocephala* (Lam.) galactomannan: Optimization and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92 (831–841). doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.046.
- Mohammedi, Z. & Atik, F. (2014). Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 5 (495-500).
- Mohanta, B., Sen, D. J., Mahanti, B. & Nayak, A. K. (2022). Antioxidant potential of herbal polysaccharides: An overview on recent researches. *Sensors International*, 3. 1-16.
- Molares, S. & Ladio, A. (2012). The usefulness of edible and medicinal fabaceae in argentine and chilean patagonia: environmental availability and other sources of supply. *Evid Based Complement Alternat Med*, 1-12.
- Monsigny, M., Petit, C. & Roche, A.C. (1988). Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. *Anal. Biochem*, (175):525–530.
- Mosihuzzman, M., Naheed, S., Hareem, S., Talib, S., Abbas, G., Khan, S.N., Choudhary, M. I., Sener, B., Tareen, R. B. & Israr, M. (2013). Studies on α -glucosidase inhibition and anti-glycation potential of *Iris loczyi* and *Iris unguicularis*. *Life Sci.*, 27, 92 (187-92). doi: 10.1016/j.lfs.2012.11.022.
- Mostefai, A., Hassiba, M. & Bouazza, M. (2015). Therapeutic use of *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiales Lamia- ceae) and description of its medicinal flora cortege in Algeria. *Biodiversity journal*, 6: 3, 761-766.
- Mouffouka, S., Mouffouka, C., Bensoucib, C., & Habaa, H., (2020). In vitro cytotoxic effect, hemolytic and antioxidant activities of the Algerian species *Nonea vesicaria* Rchb. *Current Bioactive Compounds*, 16 (01-09).
- Mrabti, H. N. (2018). Étude Pharmacologique Toxicologique de l'*Arbutus unedo* L. au Maroc. Thèse de doctorat. 157p.
- Mrabti, H. N., Bouyahya, A., Mrabti, N. N., Jaradat, N., Doudach, L. & Faouzi, M. E. (2021). Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants Used by Traditional Healers to Treat

Diabetes in the Taza Region of Morocco. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 16.

-Mulimani, V. H. & Prashanth, S. J. (2002). Investigating Plant Galactomannans. *The International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 30, 101–103.

-Muschin, T. & Yoshida, T. (2012). Structural analysis of galactomannans by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 87 : 1893–1898. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.08.059.

-Na, C. S., Lee, Y. H., Kim, T. W., Murai, Y. & Hong, S. H. (2015). Aliphatic nitro compounds from roots of *Astragalus sikokianus* (Fabaceae) in Korea. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60 (120-122). doi.org/10.1016/j.bse.2015.04.008.

-Nafti, K., Giacinti, G., Marghali, S. & Raynaud, C.D. (2022). Screening for Astragalus hamosus Triterpenoid Saponins Using HPTLC Methods: Prior Identification of Azukisaponin Isomers. *Molecules*, 27:5376, 1-19.

-Nazari, M., Riebeling, S., Banfield, C. C., Akale, A., Crosta, M., Mason-Jones, K., Dippold, M. A., & Ahmed, M. A. (2020). Mucilage Polysaccharide Composition and Exudation in Maize From Contrasting Climatic Regions. *Front. Plant Sci.*, 11:587610 (1-13). doi: 10.3389/fpls.2020.587610.

-Nekhla, H., El Ghadraoui, L., Ousaaid, D., Harrach, A., Tarmoun, K., Squalli, W. & Mansouri, I. (2021). Ethnobotanical survey of *Chamaerops humilis* L. in the rural commune of Sidi Youssef Ben Ahmed, Sefrou Province, Morocco. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5:9, 1586-1590.

-Neucere, J. N., Godshall, M. A., Roberts, E. J., (1986). Hemolytic activity in crude polysaccharide extracted from grain sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Toxicon*, 24, 305–308.

-Neukom, H. (1989). Galactomannans: properties and applications. *Technologie*, 22, 41–45.

-Nie, Z., Xu, L., Li, C., Tian, T., Xie, P., Chen, X. & Li, B. (2016). Association of endothelial progenitor cells and peptic ulcer treatment in patients with type 2 diabetes mellitus. *Experimental and therapeutic medicine*, 11: 1581-1586. doi: 10.3892/etm.2016.3114.

- Niknam, R., Souidi, M.R. & Mousavi, M. (2022).** Rheological and Stability Evaluation of Emulsions Containing Fenugreek Galactomannan—Xanthan Gum Mixtures: Effect of Microwave and Ultrasound Treatments. *Macromol*, 2, 361–373. <https://doi.org/10.3390/macromol2030023>.
- Niknam, V. & Salehi Lisar, Y. (2004).** Chemical composition of Astragalus: Carbohydrates and mucilage content. *Pak J Bot.* 36:2, 381-388.
- Niknam, V., Ebrahimzadeh, H. & Maassoumi, A. A. (2003).** Toxic nitro compounds in Astragalus species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 557–562. doi:10.1016/S0305-1978(02)00179-5
- Nishinari, K., Takemasa, M., Zhang, H. & Takahashi, R. (2007).** Storage Plant Polysaccharides: Xyloglucans, Galactomannans, Glucomannans. 613-652.
- Olennikov, D. N. & Rokhin, A. V. (2008).** Polysaccharides of Fabaceae. I. Galactomannan of *Astragalus sericeocanus* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 44, 6, 685-687.
- Olennikov, D. N. & Rokhin, A. V. (2009).** Polysaccharides of Fabaceae. II. Galactomannan from *Astragalus danicus* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 3, 297-299.
- Olennikov, D. N. & Rokhin, A. V. (2010).** Polysaccharides of Fabaceae. III. Galactomannan from *Astragalus cicer* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 46, 2, 165-168.
- Olennikov, D. N. & Rokhin, A. V. (2011).** Polysaccharides of Fabaceae. VI. Galactomannan from seeds of *Astragalus alpinus* and *A. tibetanus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 3, 343-346.
- Oliveira, L., Mota, E., Moreira, G., Passos, I., Miranda, J., Andrade, I. & Rocha, J. (2020).** Ethnobotanical study of medicinal plants used at extrema neighbourhood, in the city of Grajaú, MA. *Journal of Global Innovation*, 3:9, 1-9.
- OMS, (2003).** Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. *Organisation mondiale de la Santé*, Genève, 1-76.
- Owolabi, J. A. & Adedejit, O. (2016).** Morphology of Some Species in the Subfamily Papilionoideae. *Not Sci Biol*, 8(2): 237-245. DOI : 10.15835/nsb.8.2.9806.
- Ozenda, P. (2004).** Flore du Sahara. (3rd ed.) CNRS. Paris.
- Pan, D & Mei, X. (2010).** Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Carbohydrate Polymers*, 80 (3): 908–914.

- Paulsen, B. S., Olafsdottir, E. S. & Ingolfsdottir, K. (2002). Review Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. *Journal of Chromatography*, 967, 163–171.
- Pawar, H.A. & Lalitha, K.G. (2014). Isolation, purification and characterization of galactomannans as an excipient from *Senna tora* seeds. *Int J Biol Macromol*, 65: 167-175.
- Pereira, A.R.A., Velho, A.P.M. Cortez, D.A.G., Szerwieski, L.L.D. & Cortez, L.E.R. (2016). Traditional use of medicinal plants by elderly. *Rev Rene*. 17:3, 427-434.
- Perera, N., Yang, F., Chang, C., Lu, Y., Zhan, S., Tsai, Y., Hsieh, J., Li, L., Hua, K. & Wu, S., (2017). Galactomannan from *Antrodia cinnamomea* Enhances the Phagocytic Activity of Macrophages. *Org. Lett.*, 19, 3486–3489. DOI: 10.1021/acs.orglett.7b01468.
- Perrone, A., Masullo, M., Plaza, A., Hamed, A. & Piacente, S. (2009). Flavone and Flavonol Glycosides from *Astragalus eremophilus* and *Astragalus vogelii*. *Natural Product Communications*, 4 (1) 77-82.
- Phillips, O.L. & Gentry, A.H. (1993). The useful plants of Tambopata, Peru: Statistical hypotheses test with a new quantitative technique. *Economic Botany.*, 47, 15–32. doi: 10.1007/ BF02862203.
- Pinto Vieira, I.G., Mendes, F.N., da Silva, S.C., Paim, R.T., da Silva, B.B., Benjamin, S.R., Florean, E.P. & Florindo Guedes, M.I. (2018). Antidiabetic effects of galactomannans from *Adenanthera pavonina* L. in streptozotocin-induced diabetic mice. *Asian Pac J Trop Med*, 11: 116-122.
- Pistelli, L. (2002). Secondary metabolites of genus *Astragalus*: structure and biological. *Studies in Natural Products Chemistry*, 27, 443-545.
- Poli, A., Anzelmo, G., Fiorentino, G., Nicolaus, B., Tommonaro, G. & Donato, P. D. (2011). Polysaccharides from Wastes of Vegetable Industrial Processing: New Opportunities for their Eco-Friendly Re-Use. *Biotechnology of Biopolymers*, 33-54. doi: 10.5772/16387
- Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., & Randeria, N. P. (2013a). Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1685–1699.
- Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiyaa, N. G., Randeriaa, N. P., Nagar, B. J., Naikwadi, N. N. & Variyac, B. C. (2013b). Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60 (83–92). doi: org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.017.

- Pysek, P., Richardson, D.M., Pergl, J., Jarosik, V., Sixtova, Z. & Weber, E. (2008).** Geographical and taxonomic biases in invasion ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 23,237-244.
- Qian, J.Y., Bai, Y.Y., Tang, J. & Chen, W. (2015).** Antioxidation and α -glucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation. *LWT-Food Sci Technol.*, 64: 104-111.
- Rahim, N., Li, A. R., Kamarun, D. & Ahmad, M. R. (2017).** Isolation and characterization of galactomannan from seed of *Leucaena leucocephala*. *Polymer Bulletin*, 75(5), 2027–2037. doi:10.1007/s00289-017-2135-7
- Rahimi, E., Asgarpanah, J. & Ziarati, P. (2017).** Nutritive Value and Mineral Elements Open Access of Wild *Astragalus meridionalis sensu auct.* Seeds in South of Iran. *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*,5:2, 121-129.
- Rahman, A. H. M. M. & Parvin, M. I. A. (2014).** Study of Medicinal Uses on Fabaceae Family at Rajshahi, Bangladesh. *Research in Plant Sciences*, 2:1(6-8).
- Rahman, A. H. M. M. & Parvin, M. I. A. (2015).** Taxonomic Studies on the Family Fabaceae (Weeds) at Rajshahi University Campus. *Plant*, 3 (3): 20-25.
- Rahman, I.U., Hart, R., Afzal, A., Iqbal, Z., Ijaz, F., Abd-Allah, E.F., Ali, N., Khan, S.M., Alqarawi, A.A. & Alsubeie, M.S. (2019).** A new ethnobiological similarity index for the evaluation of novel use reports. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 17, 2765-2777.
- Ramesha, V. & Deeksha, R. N. (2019).** Production of secondary metabolites. *The Pharma Innovation Journal*, 8:12 (46-48).
- Ramulu, P., Giridharan, N. V. & Udayasekhararao, P. (2011).** Hypolipidemic effect of soluble dietary fiber (galactomannan) isolated from fenugreek seeds in WNIN (GR-Ob) obese rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4804-4813.
- Rashid, F., Hussain, S. & Ahmed, Z. (2017).** Extraction purification and characterization of galactomannan from fenugreek for industrial utilization. *Carbohydrate Polymers*, 180: 88-95.
- Rather, S. A., Wei, Y., Wang, J., Zhao, L. & Chang, Z. (2021).** Comparative study of floral developments and its systematic importance in the genus *Astragalus* L. and *Oxytropis* DC. (*Fabaceae*, Leguminosae: Papilionoideae). *Biologia*, 76, 865–888.
- Reid, J.S.G. & Edwards, M. (1995).** Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds, in: Stephen M.A. (Ed.), *Food Polysaccharides and their Applications*, 155–186.

- Rios, J. L., & Waterman, P. G. (1997).** A Review of the Pharmacology and Toxicology of *Astragalus*. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, 11, 411–418.
- Robbins, P. W., Wright, A. & Dankert, M. (1966).** Polysaccharide Biosynthesis. *The Journal of General Physiology*, 49(6), 331–346. doi:10.1085/jgp.49.6.331
- Rodriguez-Canto, W., Chel-Guerrero, L., Fernandez, V.V.A. & Aguilar-Vega, M. (2018).** *Delonix regia* Galactomannan hydrolysates: Rheological behavior and physicochemical characterization. *Carbohydrate Polymers*, 1-35.
- Rognon, P. (1994).** Biographie d'un désert: le Sahara. *Ed. L'Harmattan*, Paris, 347 p.
- Saadi, B., Msanda, F. & Boubaker, H. (2013).** Contributions of folk medicine knowledge in south-western Morocco: The case of rural communities of Immouzzar Ida Ou Tanane Region. *International Journal of Medicinal Plant Research*, 2 :1, 135-145.
- Sadoud, M., Ziar, H. & Riazi, A. (2022).** Effect of carob galactomannans on starter cultures viability and on textural properties of refrigerated non-fat yoghurt. *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(2): 296-307.
- Sahli, M. (2015).** Synthèse, élaboration et caractérisation des nanocomposites à base de magnésium pour le stockage solide d'hydrogène. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri de Constantine (Algérie). 114P.
- Santander, S. P., Aoki, M., Hernandez, J. F., Pombo, M., Moins-Teisserenc, H., Mooney, N. & Fiorentino, S. (2011).** Galactomannan from *Caesalpinia spinosa* induces phenotypic and functional maturation of human dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 11, 652–660.
- Savran, T., Gülcemal, D., Masullo, M., Karayıldırım1, T., Polat, E., Piacente, S. & Alankuş-Çalışkan, Ö. (2012).** Cycloartane Glycosides from *Astragalus erinaceus*. *Rec. Nat. Prod.* 6 : 3 (230-236).
- Sebaoui, O. (2018).** Modélisation et optimisation de l'extraction de la pectine à partir du zeste de citron et de son utilisation dans l'encapsulation des composés phénoliques des margines de l'industrie oléicole. Université Mouloud Mammeri de TIZI OUZOU. Thèse de doctorat. 120p.
- Semmar, N., Jay, M. & Chemli, R. (2001a).** Chemical diversification trends in *Astragalus caprinus* (Leguminosae), based on the flavonoid pathway. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29 (727–738).
- Semmar, N., Jay, M., Farman, M. & Chemli, R. (2001b).** Chemotaxonomic analysis of *Astragalus caprinus* (Fabaceae) based on the flavonic patterns. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33 (187–200).

- Senouci, F., Ababou, A. & Chouieb, M. (2019).** Ethnobotanical Survey of the Medicinal Plants used in the Southern Mediterranean. Case Study: The Region of Bissa (Northeastern Dahra Mountains, Algeria). *Pharmacog J.*, 11(4):647-59.
- Shah, S.B., Sartaj, L., Ali, F., Shah, S.I.A. & Khan, M.T. (2018).** Plant extracts are the potential inhibitors of α -amylase: a review. *MOJ Bioequiv Availab.*, 5(5): 270-273.
- Sharma, P., Sharma, S., Ramakrishna, G., Srivastava, H. & Gaikwad, K. (2020).** A comprehensive review on leguminous galactomannans: structural analysis, functional properties, biosynthesis process and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-23. DOI: 10.1080/10408398.2020.1819196.
- Shi, L. & Fu, Y. (2011).** Isolation, purification, and immunomodulatory activity in vitro of three polysaccharides from roots of *Cudrania tricuspidata*. *Acta Biochim Biophys Sin*, 43, 5. (418-424).
- Silveira, J.L.M. & Bresolin, T.M.B. (2011).** Pharmaceutical use of galactomannans. *Quim. Nova*, 34, 2, 292-299. DOI: 10.1590/S0100-40422011000200023
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, (16):144–158.
- Sittikijyothin, W., Torres, D. & Gonçalves. M.P. (2005).** Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 59, 3, 339-350. doi: 10.1016/j.carbpol.2004.10.005.
- Skalli, S., Hassikou, R. & Arahou, M. (2019).** An ethnobotanical survey of medicinal plants used for diabetes treatment in Rabat, Morocco. *Heliyon*, 5, 1-24.
- Sors, T. G., Ellis, D. R., Na, G. N., Lahner, B., Lee, S., Leustek, T., Pickering, I. J. & Salt, D. E. (2005).** Analysis of sulfur and selenium assimilation in *Astragalus* plants with varying capacities to accumulate selenium. *The Plant Journal*, 42, 785–797. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02413.x.
- Srinivasa, U. M. & Naidu, M. M. (2021).** Selective extraction of galactomannan from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed husk and its enzyme inhibitory potential associated with hyperglycaemia. *J Sci Food Agric*, 1-6. DOI 10.1002/jsfa.11121
- Srivastava, M. & Kapoor, V.P. (2005).** Seed galactomannans: an overview. *Chem Biodivers*, 2: 295-317.
- Steve, M. I., Cui, W. & Wang, Q. (2005).** Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties, and Applications.
- Synytsya, A. & Novak, M., (2014).** Structural analysis of glucans. *Annals of Translational Medicine*, 2, 1-14.

- Tang, Y., Xiao, Y., Tang, Z., Jin, W., Wang, Y., Chen, H., Yao, H., Shan, Z., Bu, T. & Wang, X. (2019). Extraction of polysaccharides from *Amaranthus hybridus* L. by hot water and analysis of their antioxidant activity. *PeerJ*, 7.
- Tardio, J. & Pardo-De-Santayana, M. (2008). Cultural importance indices: A comparative analysis based on the useful wild plants of southern Cantabria (North Spain). *Economic Botany*. 62:1, 24–39. doi: 10.1007/s12231-007-9004-5.
- Telagari, M. & Hulltti, K. (2015). In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. And *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions. *Ind J Pharmacol.*, 47: 425-429.
- Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja S. S. S. & Vijayakumar, R. (2018). An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. doi.org/10.5772/intechopen.79766.
- Thomas, E. (2008). Quantitative Ethnobotanical Research on Knowledge and Use of Plants for Livelihood Among Quechua, Yuracar_e and Trinitario Communities in the Andes and Amazon Regions of Bolivia (PhD thesis). Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Belgium.
- Thomas, J., El-Sheikh., M.A., Alatar, A.A., Alfarhan, A.H. & Sivadasan, M. (2013). Distribution and abundance of *Astragalus* L. in some of the peripheral population in the central region of Saudi Arabia. *Pak. J. Bot.*, 45(2): 525-534, 2013.
- Thombare, N., Jha, U., Mishra, S. & Siddiqui, M. Z. (2016). Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *Int J Biol Macromol*, 88: 361-72. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001.
- Tihomirova, K., Dalecka, B. & Mezule, L. (2016). Application of conventional HPLC RI technique for sugar analysis in hydrolysed hay. *Agronomy Research*, 14(5), 1713–1719.
- Tiwari, M., Mhatre, S., Vyas, T., Bapna, A. & Raghavan, G. A. (2023). Validated HPLC-RID Method for Quantification and Optimization of Total Sugars: Fructose, Glucose, Sucrose, and Lactose in Eggless Mayonnaise. *Separations*, 10, 199. <https://doi.org/10.3390/separations10030199>.
- Tookey, H. L. & Jones, Q. (1962). New Sources of Water-Soluble Seed Gums. *Economic Botany*, 19(2), 165-174.
- Tosif, M.M., Najda, A., Bains, A., Kaushik, R., Dhull, S.B., Chawla, P. & Walasek-Janusz, M. (2021). A Comprehensive Review on Plant-Derived Mucilage: Characterization, Functional Properties, Applications, and Its Utilization for Nanocarrier Fabrication. *Polymers*, 13, 1066 (1-24). <https://doi.org/10.3390/polym13071066>.

- Trotter, R.T. & Logan, M.H., (1986).** Informant consensus: A new approach for identifying potentially effective medicinal plants. In: N.L. Etkin (Ed.), *Plants in Indigenous Medicine and Diet.*, (Bedford Hills: Redgrave Publishing Company), 91–112.
- Veeresham, C. (2012).** Natural products derived from plants as a source of drugs. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 3(4), 200. DOI: 10.4103/2231-4040.104709.
- Vilaplana, F., Zou, W. & Gilbert, R.G. (2018).** Starch and Plant Storage Polysaccharides. *Bioinspired Materials Science and Engineering.*,8: 149-165.
- Wang, J., Jia, J., Song, L., Gong, X., Xu, J., Yang, M. & Li, M. (2019).** Extraction, Structure, and Pharmacological Activities of Astragalus Polysaccharides. *Appl. Sci.*, 9, 122; doi:10.3390/app9010122 1-16.
- Wang, Q. & Fang, Y. (2005).** Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. *J. Chromatogr.*, 812: 309-324.
- Warburg, O. & Christian, W. (1942).** Isolation and Crystallization of Enolase. *Biochemische Zeitschrift*, 310, 384-421.
- Wu, Y., Ding, W., Jia, L. & He, Q. (2015).** The rheological properties of tara gum (*Caesalpinia spinosa*). *Food Chemistry*, 168, 366–371. doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.083
- Xiao, D.M., Yu, S. & Xiao, J.H. (2016).** Antioxidant activities of alkali-soluble polysaccharides from medicinal mushroom *Cordyceps taii* and its chemical characteristics. *Biomedical Research*. 27, 199-206.
- Yabrir, B., Touati, M., Adli, B., Bezini, E., Ghafoul, M., Khalifa, S. & Guit, B. (2018).** Therapeutic use of spontaneous medicinal flora from an extreme environment (dune cordon) in Djelfa region, Algeria. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 6 (5), 358-373.
- Yadav, J. K. & Prakash, V. (2011).** Stabilization of α -Amylase, the Key Enzyme in Carbohydrates Properties Alterations, at Low pH. *International Journal of Food Properties*, 14, 6: 1182-1196. doi: org/10.1080/10942911003592795
- Yang, L., Shen, J., Xu, W., Li, J., & Jiang, J. (2013).** REVIEW Secondary Metabolites of the Genus Astragalus: Structure and Biological- Activity Update. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY*, 10, 1004-1054.
- Yukiko, Y., Ikuyo, S., Akiko, N., Shigeru, S., Naoki, I. & Shiho, I. (2000).** Improved Hypolipidemic Effects of Xanthan Gum-Galactomannan Mixtures in Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(10) 2165–2171. doi:10.1271/bbb.64.2165

- Zarre, S. & Azani, N. (2013).** Perspectives in taxonomy and phylogeny of the genus *Astragalus* (Fabaceae): a review. *Progress in Biological Sciences*, 3, 1,1-6.
- Zhao, Y., Wu, Y. & Wang, M. (2015).** Bioactive Substances of Plant Origin. *Handbook of Food Chemistry*, 967–1008. doi:10.1007/978-3-642-36605-5_13.
- Zhibankov, R.G., Andrianova, V.M. & Marchewka, M.K. (1997).** Fourier transform IR and Raman spectroscopy and structure of carbohydrates. *Journal of Molecular Structure*, 436-437 (637-654). doi: org/10.1016/S0022-2860(97)00141-5.
- Zheng, Y., Ren, W., Zhang, L., Zhang, Y., Liu, D. & Liu, Y. (2020).** A Review of the Pharmacological Action of *Astragalus* Polysaccharide. *Front. Pharmacol.* 11:349 (1-14). doi: 10.3389/fphar.2020.00349
- Zhou, W., Chen, G., Chen, D., Ye, H. & Zeng, X. (2020).** The antidiabetic effect and potential mechanisms of natural polysaccharides based on the regulation of gut microbiota. *Journal of Functional Foods*, 75: 1-11. doi: org/10.1016/j.jff.2020.104222
- Zhu, Z.Y., Luo, Y., Dong, G.L., Ren, Y.Y., Chen, L.J., Guo, M.Z., et al. (2016).** Effects of the ultra-high pressure on structure and α -glucosidase inhibition of polysaccharide from *Astragalus*. *Int J Biol Macromol.*, 87: 570-576.
- Ziani, B. E. C., Calhelha, R. Barreira, C., J. C.M., Barros, L., Hazzit, M. & Ferreira, I. C. F. R. (2015).** Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora: selecting the species with the highest potential in view of application purposes. *Industrial Crops and Products*, 77 (582–589).
- Zoghi, A., Vedadi, S., Esfahani, Z. H., Gavlighi, H. A. & Khosravi-Darani, K. (2021).** A review on pectin extraction methods using lignocellulosic wastes. *Biomass Conversion and Biorefinery*, doi: org/10.1007/s13399-021-02062-z.

Annexes

Tables des annexes

Annexes 1 : Publication dans une revue à comité de lecture.

Annexes 2 : Participation à des congrès, séminaires nationaux et internationaux.

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7618530>

Antidiabetic potential of mucilage fraction extracted from *Astragalus gyzensis* seeds

Aicha Tedjani ^{1*}, Zakaria Boual ¹, Mohamed Didi Ould El Hadj ¹, Touhami Lanez ², Hakim Belkhalifa ³, Zainab El Alaoui-Talibi ⁴, Cherkaoui El Modafar ⁴, Slim Abdelkafi ⁵, Imen Fendri ⁶, Didier Le Cerf ⁷, Pascal Dubessay ⁷, Cédric Delattre ⁸, Pierre Guillaume ⁸, Philippe Michaud ⁸

¹ Laboratory for the Protection of Ecosystems in Arid and Semi-Arid Zones, Kasdi Merbah-University, Ouargla 30000, Algeria

² Laboratory of Valorisation and Technology of Sahara Resources (VTRS) University Echahid hamma lakhdar, El-Oued 39000, Algeria

³ Scientific and Technical Research Center in Physicochemical Analysis, Tipaza 42000, Algeria

⁴ Faculty of Sciences and Techniques, University of Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Morocco

⁵ Laboratory of Enzymatic Engineering and Microbiology, Algae Biotechnology Team, National Engineering School of Sfax, Sfax University, Sfax 3038, Tunisia

⁶ Laboratory of Plant Biotechnology Applied to the Improvement of Plants, Faculty of Sciences, Sfax University, Sfax 3038, Tunisia

⁷ Department of Chemistry, University of Rouen Normandie, INSA Rouen, CNRS, PBS, 76000 Rouen, France

⁸ Institute of Pascal, University of Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne INP, 63000 Clermont-Ferrand, France

* Corresponding author e-mail: aichated94@gmail.com

Received: 10 October 2022; Revised submission: 02 January 2023; Accepted: 03 February 2023

<https://jbrodka.com/index.php/ejbr>



Copyright: © The Author(s) 2023. Licensee Joanna Brodka, Poland. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

ABSTRACT: The objective of the current work is to extract a new mucilage fraction from *Astragalus gyzensis* Bunge seeds, which are collected from the El-Oued province (septentrional Algerian Sahara) and evaluated for their antidiabetic potential. The mucilage fraction is obtained using hot water extraction followed by alcoholic precipitation of polysaccharides by cold ethanol (96%). The primary investigation was performed by describing the main structural features of the extract through colorimetric assays, Fourier-transform infrared spectroscopy and thin-layer chromatography analysis using two systems. Biological activity was also monitored by antidiabetic activity by testing the inhibition of α -amylase and α -glucosidase enzymes in vitro. The extraction yield was 20.69%. The chemical composition mainly consisted of 78.60±0.29% carbohydrates, among them 63.92±0.67% neutral sugar, 15.78±0.76% uronic acid, 8.08±0.04% proteins and 2.57±0.05% phenolic compounds. The results obtained by thin-layer chromatography analysis showed the dominance of mannose and galactose. Fourier-transform infrared spectrum showed characteristic bands expected galactomannans. The investigations highlighted the antihyperglycemic effect in a dose-dependent manner by the inhibition of the α -amylase enzyme (IC₅₀=0.8±0.005 mg/mL). These factors make it suitable for the industrial application of dietary supplement fiber made for diabetic individuals.

Keywords: *Astragalus gyzensis* Bunge; Mucilage; Antidiabetic; Galactomannans; Dietary supplement fiber.

Annexes 2 : Participation à des congrès, séminaires nationaux et internationaux.*** Communications internationales**

1. **Tedjani A., Boual Z., 2022.** Cytotoxic activity of the water-soluble polysaccharides extracted from some medicinal plants. *Cinquième Colloque Maghrébin sur la Chimie Hétérocyclique CMCH 5-2022.*
2. **TEDJANI A., ROUAS K., GASMI F., Boual Z., 2022.**- Extraction of the water-soluble polysaccharides from the seeds of medicinal plant harvested in the Algerian Sahara. *Cinquième Colloque Maghrébin sur la Chimie Hétérocyclique CMCH 5-2022.*
3. **TEDJANI A., ROUAS K., GASMI F., Boual Z., 2022.** Immunomodulatory activity of the water-soluble polysaccharides extracted from *Cassia italica*. *the International Online Conference on Valuation of Alternative Plants, Degraded & Marginal Lands*
4. **Tedjani A., Boual Z., 2022.** Hemolytic study of the water-soluble polysaccharides extracted from two medicinal plants of Astragalus genus. *1st international conference on chemical matters and environment preservation IC-CMEP'22 March 09-10, 2022, Ouargla, Algeria*

*** Communications nationales**

1. **Tedjani A., Boual Z., Ould El Hadj M D., El Alaoui-Talibi Z., El Modafar C., Fendri I., Abdelkafi S., Dubessay P., Gardarin C., Delattre C., Pierre G., Michaud P., 2022.** Biological activity of the water-soluble polysaccharides extracted from two medicinal plants of *Astragalus* genus. *The first national Seminar on Green Chemistry and Natural Products (GCNP'22).*
2. **Tedjani A., Boual Z., Ould El Hadj M D., El Alaoui-Talibi Z., El Modafar C., Fendri I., Abdelkafi S., Dubessay P., Gardarin C., Delattre C., Pierre G., Michaud P., 2022.** Extraction method of the water-soluble polysaccharides from two medicinal plants of *Astragalus* genus. *1st National Seminar: Biotechnology, Health and Agro-Environment-El Oued University-Faculty of Nature and Life Sciences.*

Résumé

L'étude porte sur l'enquête ethnobotanique et les polysaccharides issus des graines de deux plantes spontanées du genre *Astragalus* à caractère médicinale, récoltées dans la région d'El-Oued, située au Sahara septentrional Est-algérien. L'enquête ethnobotanique a été menée à El-Oued, Algérie, entre février et novembre 2022 afin de recueillir des informations sur les utilisations traditionnelles d'*Astragalus cruciatus* Link. et *Astragalus gyzensis* Bunge. Les données ont été collectées en interrogeant 250 individus. Les indices ethnobotaniques ont été calculés et les informations sociodémographiques ont été analysées à l'aide du test du Chi carré (χ^2). Les résultats ont montré que l'*A. cruciatus* avait la fréquence relative la plus élevée de citation et de valeur d'utilisation (RFC = 0,404 et UV = 1,84). Cette espèce a plusieurs usages comme nourriture pour les animaux et les humains, médicinale et cosmétique. Le niveau de fidélité le plus important a été enregistré pour son utilisation dans le traitement du diabète (Fic=0,66). Alternativement, *A.gyzensis* avait un RFC similaire (RFC = 0,4), mais il avait un faible UV (UV = 0,68). Il était également utilisé comme nourriture pour les animaux et les humains et avait quelques usages médicaux. Le traitement des morsures de serpent et de scorpion avait le Fic le plus élevé (Fic=0,66). Dans la région d'El Hamraya/Douar el ma, les deux espèces avaient un indice de similarité Rahaman de 100% pour leurs propriétés antidiabétiques. Les feuilles étaient la partie de plante la plus couramment utilisée pour les deux espèces (AC = 88,9 %, AG = 57,9 %), généralement préparées en décoction (AC = 66,66 %, AG = 63,2 %). Ces plantes sont familières aux hommes âgés de plus de 60 ans sans instruction. Les usages traditionnels des plantes ont été validés par la recherche pharmacologique. L'extraction des mucilages a été réalisée par macération des graines suivie d'une précipitation à l'éthanol. L'analyse structurale primaire a été réalisée à l'aide de la spectroscopie UV-visible, de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, de la diffraction des rayons X, de la chromatographie sur couche mince, la chromatographie liquide à haute performance et par chromatographie gazeuse GC/MS-EI. Les activités biologiques ont été évaluées en mesurant les effets antihyperglycémiques et antioxydants et le potentiel de toxicité a été évalué par l'activité hémolytique. L'efficacité d'extraction était de 12,87 % pour AC et de 20,69 % pour AG. L'UV-visible a indiqué une présence réduite d'impuretés de protéines/acides nucléiques. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a révélé des bandes caractéristiques correspondant aux galactomannanes. Le diagramme de diffraction des rayons X a démontré son arrangement structural amorphe. Les analyses CCM, HPLC et GC/MS-EI ont confirmé que les deux extraits étaient composés de galactomannanes avec un rapport Man/Gal de 3,04 pour le PGAC et de 2,71 pour le PGAG. Les investigations ont révélé un effet antihyperglycémique de manière dose-dépendant par l'inhibition de l' α -amylase $IC_{50} = 2,58$ mg/mL pour le PGAC et $IC_{50} = 0,8$ mg/mL pour le PGAG, avec une faible activité hémolytique observée vis-à-vis des globules rouges humains. Ces résultats similaires des deux extraits suggèrent l'éventuelle aptitude à la préparation de médicaments destinés aux sujets diabétiques.

Mots clés : *Astragalus cruciatus* Link., *Astragalus gyzensis* Bunge., galactomannanes, effet antihyperglycémique, α -amylase.

Abstract

This study focused on the ethnobotanical investigation and the identification of the polysaccharides from the seeds of two spontaneous plants of *Astragalus* genus with a medicinal character, which harvested in the region of El-Oued, located in the Septentrional Algerian Sahara. An ethnobotanical survey was conducted in El-Oued, Algeria between February and November 2022 to document traditional uses of *Astragalus cruciatus* Link. and *Astragalus gyzensis* Bunge. Data was gathered by interviewing 250 individuals in person. Ethnobotanical indices were computed and socio-demographic information was analyzed using Chi-squared (Chi^2) test. The findings showed that *A. cruciatus* had the highest relative frequency of citation and use value (RFC=0.404 and UV=1.84). This specie has several uses as food for animals and humans, medicinal and cosmetic. The most important Fidelity level was recorded for its utilization in the treatment of diabetes (Fic=0.66). Alternatively, *A. gyzensis* had a similar RFC (RFC=0.4), but it had a low UV (UV=0.68). It was also mainly used as food for animals and humans and had some medicinal uses. The treatment of snake and scorpion bites had the highest Fic (Fic=0.66). In El Hamraya/Douar el ma region, both species had a 100% Rahaman similarity index for their antidiabetic properties. Leaves were the most used plant part for both species (AC=88.9%, AG=57.9%), usually prepared as a decoction (AC=66.66%, AG=63.2%). These plants are familiar to elderly, uneducated men over 60. To validation of traditional plants uses through pharmacological research. The isolation of the mucilage fraction was performed by seeds maceration followed by ethanol precipitation. The primary structural analysis was performed using UV-visible spectroscopy, fourier-transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography and gaz chromatography analysis GC-MS-EI. The biological activity was evaluated by measuring the antihyperglycemic and the antioxidant effects and the toxicity potential was assessed using a hemolytic assay. The extraction efficiency was 12.87% for AC and 20.69% for AG. The UV-visible scan indicated a reduced presence of protein/nucleic acid impurities. Fourier-transform infrared spectroscopy revealed characteristic bands corresponding to galactomannans. The X-ray diffraction pattern demonstrated its amorphous structural arrangement. TLC, HPLC and GC/MS-EI analysis confirmed that the two extracts were composed of galactomanans with Man/Gal ratio 3.04 for PGAC and 2.71 for PGAG. The investigations exposed a dose-dependent antihyperglycemic effect through the inhibition of α -amylase $IC_{50}=2.58\text{mg/mL}$ for PGAC and $IC_{50}=0.8\text{mg/mL}$ for PGAG, with low observed hemolytic activity towards human red blood cells. These similar results of the two plant extracts suggest the potential suitability for the preparation of drugs intended for diabetic subjects.

Key words: *Astragalus cruciatus* Link., *Astragalus gyzensis* Bunge., galactomanans, antihyperglycemic effect, α -amylase.

المخلص

يهدف هذا العمل إلى الدراسة العرقية وتشخيص السكريات المستخلصة من بذور نبتتين ذاتي الطبيعة العلاجية من جنس استراغالوس بمنطقة وادي سوف الواقعة في شمال شرق الصحراء الجزائرية. تم إجراء الدراسة العرقية في ولاية الوادي (الجزائر) بين فيفري ونوفمبر 2022 لجرد الاستخدامات التقليدية لنبتتي العقيفة والدليعة عن طريق استبيان لـ 250 شخص. تم حساب مؤشرات الاستخدامات العرقية وتحليل المعلومات باستخدام إختبار (χ^2). أظهرت النتائج أن نبتة العقيفة لديها أعلى مؤشر استشهاد واستخدام (RFC=0.404 و UV= 1.84). لهذا النوع استعمالات عديدة كنبنة رعية، غذائية، طبية وتجميلية. سجلت أعلى نسبة استعمالات طبية في علاج السكري (Fic=0.66). بالمقابل كان لدى نبتة الدليعة مؤشر استشهاد مماثل (RFC=0.4) ولكن كان لديها مؤشر استعمال منخفض (UV=0.68). تستعمل كنبنة رعية، غذائية وطبية. كان لعلاج لدغات الأفاعي والعقارب أعلى نسبة استعمال (Fic=0.66). في منطقة الحمراية/دوار الماء، كان لدى كلا النوعين مؤشر تشابه كبير 100% لخصائصهما المضادة للسكري. أثبتت النتائج بأن الأوراق هي الجزء النباتي الأكثر استعمالا لكلا النوعين (AC=88.9%، AG=57.9%) وعادة ما يتم تحضيرها عن طريق الغلي (% AC=66.66، AG= 63.2%). هذه النباتات شائعة الاستعمال لدى الرجال المسنين غير المتعلمين الذين تزيد أعمارهم عن 60 عامًا. للتحقق من الاستعمال التقليدي للنبتتين من خلال الدراسة الفرمكولوجية تم عزل المستخلص الصمغي عن طريق نقع البذور ثم ترسيبها بالإيثانول ثم تشخيص المستخلص باستخدام التحليل الطيفي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية، التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء، الأشعة السينية X، كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة، الكروماتوجرافيا السائلة عالية الجودة والكروماتوغرافيا الغازية GC/MS-EI. تم تقييم النشاط البيولوجي عن طريق الفعالية المضادة للسكري والفعالية المضادة للأكسدة وتم تقييم سمية المستخلص باستخدام تجربة انحلال الدم. كانت كفاءة الاستخلاص 12.87% بالنسبة للعقيفة و 20.69% للدليعة. أشار الفحص المرئي للأشعة فوق البنفسجية إلى وجود شوائب من البروتينات/الأحماض النووية، كشف التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء عن نطاقات مميزة تتوافق مع سكر الغالاكتومانان. أظهرت الأشعة السينية التركيب الهيكلي العشوائي للمستخلصين. أكد تحليل TLC ، HPLC و GC/MS- EI أن المستخلصين يتكونان من الغالاكتومانان مع نسبة Man/Gal 3.04 لـ PGAC و 2.71 لـ PGAG. أظهرت الفعالية المثبطة للإنزيمات تأثير كبيراً على تثبيط إنزيم الأميلاز $IC_{50} = 2.58\text{mg/mL}$ لـ PGAC و $IC_{50} = 0.8\text{mg/mL}$ لـ PGAG ، مع نشاط انحلاي منخفض ملحوظ تجاه خلايا الدم الحمراء. تشير هذه النتائج المتشابهة لمستخلصي النبتتين إلى ملاءمتها المحتملة لتحضير الأدوية المخصصة لمرضى السكري.

الكلمات المفتاحية: العقيفة، الدليعة، الغالاكتومانان، الفعالية المثبطة للإنزيمات، إنزيم الأميلاز.