UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

Melles MAYOU Nacira Samira et MEDJOURI Messaouda

Thème :

Activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles *d'Ammodaucus leucotrichus* (Sahara septentrional Algérien)

Devant le jury : 24 / 06 / 2018

Présidente	HADJADJ Soumia	MCB	UK.M Ouargla
Examinatrice	BOUAZIZ Sabrina	MCB	U.K.M Ouargla
Encadreur	OULD EL HADJ Mohammed Didi	Professeur	U.K.M Ouargla
Co-encadreur	YOUMBAI Asma	Magister	U.K.M Ouargla

Année Universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant de nous avoir aidées à réaliser ce modeste travail.

Ce travail a été effectué sous la direction de OULD EL HADJ Mohamed Didi, Professeur au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, et de Mme YOUMBAI Asma Maître assistante au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, qu'il nous soit permis de vous exprimer nos vifs sentiments de gratitude, pour avoir dirigé ce travail, pour l'aide, le suivi et l'attention constante que vous avez apporté à notre égard, lors de l'élaboration de ce projet. Malgré votre emploi du temps chargé, vous avez su vous montrer disponible.

Nous désirons aussi remercier notre président HADJADJ Soumia *Maître de Conférences B au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla et notre examinateur* BOUAZIZ Sabrina *Maitre de Conférences B au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de participer au jury et de contribuer à examiner ce travail. C'est avec plaisir et spontanéité que vous avez accepté de noter notre thème. C'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous «Soyez profondément remercié».*

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

J'exprime ma profonde gratitude au responsable des laboratoires pédagogiques du Département des Sciences biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla Monsieur BEGARI pour votre aide.

Nous souhaitons remercier tous les enseignants et enseignantes qui nous ont fait former durant ces 5 années, en nous préparant pour cette dernière année de Master II.

La clarté de votre enseignement nous a profondément marqué, vive reconnaissance et sentiment respectueux. Nous tenons à exprimer nos respectueux et sincères remerciements aux personnels de la bibliothèque de l'ITAS, de nous avoir accueilli en mettant à notre disposition tous les livres et les revues nécessaire à la réalisation de cette recherche Bibliographique.

Nous tenons plus largement à exprimer notre reconnaissance à toutes celles et à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement au bon déroulement de ce travail.

A nos parents : «merci, ce mémoire est le vôtre».

Enfin nous garderons un excellent souvenir de nos séjours tans sur nos études que sur le plan personnel.

Dédicace

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le plus puissant pour m'avoir donné la force et la patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie particulièrement à:

Ma chère mère adorée qui s'est sacrifiée pour mon éducation et ma réussite et de vous dire que vous avez été pour moi, ma meilleure école et mon meilleur professeur.

Mon père comme témoignage de ma reconnaissance pour vos efforts dont je serais toujours redevable et l'intérêt que vous n'avez jamais cessé de porter à mes études.

" MERCI" pour toutes les valeurs que vous m'avez inculquées,

Mes adorables frères (Abed Alhakim, Amer et Fares).

Mes adorables sœurs (Malika, Souad, Oum Al khir, Hanan, Abla, Djaouher).

Son mon fiancé Kamel Battahr

A tous ceux qui m'ont soutenu et aidé pour la réalisation de ce modeste travail et tous ceux qui me sont chers.

Nacira Samira

Dédicace

Merci

Allah (mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire " Ya Hakim "

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse,

Qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère Yamina et mon Père Larouci,

Alors je profite cette occasion pour vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi,

A la mémoire de mes cousines Chafika, Hadjer, Radia, Kaouther, Sara et Raihana.

Je dédie ce travaille aux mes adorables sœurs Fatima Zohra, Rahima et ma petite sœur Aicha,

Sans oubliées mes chères frères Mohammed Omar et Ahmed Outhmen

Ma famille et ma grande mère Gania.

Mes amies Zohra, Aicha, Nacira,Nafissa, Zaineb, Sara et Hana.

Mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université Enfin, à tous ceux qui m'aime.

Messaouda

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
DS	Sulfate de dermatane
F	Ferula
F.A	Ferula assa-foetida
FOS	Fructanes – fructo-oligosaccharides
GAG	Glycosaminoglycanes
GOS	Oligosides de galactose
HS	sulfate d'héparane
INR	International normalized ratio
M-HDP	Méta-hydroxydiphenyl
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
TCA	Temps de céphaline activé
TFA	Acide trifluoroacétique
TOS	Transgalactose
TP	Taux de prothrombine
TQ	Temps de Quick

Liste des tableaux

N° de Tableau	Titres	Page
01	Composants de la famille Apiaceae en Algérie	**9**
02	Origines et caractéristiques physico-chimiques des produits utilisés au cours de l'expérimentation	**19**
03	Origines et types d'appareils utilisés au cours de l'expérimentation	**20**
04	Préparation des dilutions des polysaccharides	**32**
05	Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique *d'Ammodaucus leucotrichus*	**37**
06	Rapports frontaux (Rf) des oses étalons dans les trois systèmes pour CCM	**38**

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
01	Répartition géographique des Apiaceae dans le monde	**9**
02	Différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles	**24**
03	Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus* [(système I : d'acétate d'éthyle- pyridinel- n butanol-eau distillée -Acide acétique, 5-4-10-4-2]	**40**
04	Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus* [(système II : chloroforme: n-butanol: méthanol: eau et d'acide acétique, 4.5/12.5/5/1.5/1.5 (v/v)]	**40**
05	Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus* [(système III : acétonitrile, acétate d'ethyle, propanol, eau distillée ; 8,5-2-2-1,5 (v/v)]	**41**
06	Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de l'acide ascorbique	**42**
07	Pouvoir inhibiteur des polysaccharides du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus* sur l'enzyme α-D-glucosidase	**43**

Liste des photos

N° de photo	Titre	Page
01	Fruit d'*Ammodaucus leucotrichus*	**22**
02	Extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de fruit d'*Ammodaucus leucotrichus*	**36**

Table des matières

Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Table des matières	
Introduction	**1**
Chapitre I. Synthèse bibliographique	
I. Généralité sur les plantes médicinales	**4**
I.1. Définition des principes actifs	**4**
I.1.1. Polysaccharides	**5**
I.1.1.1. Polysaccharides végétaux	**6**
I.1.1.2. Polysaccharides animaux	**6**
I.1.1.3. Polysaccharides fongiques	**7**
I.1.1.4. Polysaccharides des bactéries	**7**
I.1.1.5. Polysaccharides extraits d'algues	**7**
I.2. Généralité sur la famille des Apiaceae	**8**
I.2.1. Quelques espèces et intérêts des plantes médicinales de la famille des Apiaceae	**10**
I.2.2. Généralité sur la plante *Ammodaucus leucotrichus*	**11**
I.2.2.1. Description botanique *d'Ammodaucus leucotrichus*	**11**
I.2.2.2. Les sous-espèces *d'Ammodaucus leucotrichus*	**11**
I.2.2.3. Utilisation traditionnelle *d'Ammodaucus leucotrichus*	**11**
I.3. Activités biologiques	**12**
I.3.1. Activité antioxydante	**12**
I.3.2. Activité antidiabétique	**14**
I.3.3. Activité anticoagulante	**15**
I.3.4. Activité prébiotique	**16**
Chapitre II. Méthodologie de travail	
II.1. Principe d'étude	**19**
II.2.Matériel d'étude	**19**

II.2.1. Matériel biologique	**21**
II.2.1.1. Choix de la plante	**21**
II.2.1.2.Répartition géographique *d'Ammodaucus leucotrichus*	**22**
II.2.1.3.Classification botanique *d'Ammodaucus leucotrichus*	**22**
II.2.1.4.Technique de séchage et de broyage	**23**
II.3.Etude des polysaccharides	**23**
II.3.1. Extraction des polysaccharides hydrosolubles	**23**
II.3.2.Composition des extrais des polysaccharides hydrosolubles	**25**
II.3.2.1.Dosages des oses totaux	**25**
II.3.2.1.1.Principe	**25**
II.3.2.1.2. Préparation des réactifs et des solutions	**25**
II.3.2.2.Dosages des oses neutres	**26**
II.3.2.2.1.Principe	**26**
II.3.2.2.2. Préparation des réactifs et des solutions	**26**
II.3.2.3.Dosages des oses acides	**26**
II.3.2.3.1. Principe	**26**
II.3.2.3.2.Préparation des réactifs et des solutions	**26**
II.3.2.4.Dosage des polyphénoles	**27**
II.3.2.5.Dosage des protéines	**27**
II.3.2.5.1. Principe	**27**
II.3.2.5.2. Préparation des réactifs et des solutions	**27**
II.3.2.6.2.Dosages des sucres réducteurs à l'acide bicinchoninique	**28**
II.3.2.6.1.Principe	**28**
II.3.2.6.2.Préparation de solution	**28**
II.3.3.Caractérisation partial des polysaccharides	**28**
II.3.3.1. Identification des résidus glycosidiques	**28**
II.3.3.2.Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques	**28**
II.3.3.2.1.Principe	**28**
II.3.3.3.Chromatographie sur couche mince	**29**
II.3.3.3.1. Principe	**29**
II.3.3.3.2.Mode opératoire	**30**
II.4.1.Activité antidiabétique	**31**

II.4.1.1.Principe	**32**
II.4.1.2.Préparation des solutions et des réactifs	**32**
II.4.1.3. Mode opératoire	**33**
II.4.2. Activité antioxydant	**33**
II.4.2.1.Préparation des réactifs	**33**
II.4.2.2.Principe du test	**34**
II.4.2.3. Mode opératoire	**34**
Chapitre III. Résultats et discussion	
III.1. Rendement d'extraction	**36**
III.2. Composition des extraits bruts des polysaccharides	**37**
III.3. Caractérisation par chromatographie sur couche mince des polysaccharides	**38**
III.4. Activité biologique de polysaccharide	**41**
III.4.1. Activité antioxydante	**41**
III.4.2. Activité antidiabétique	**43**
Conclusion	**46**
Références bibliographiques	**48**
Annexes	**60**
Résumés	

Introduction

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

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

Les polysaccharides ainsi que les poly-nucléotides, les protéines et les lipides constituent les quatre bio-macromolécules les plus important en sciences de la vie (LUI *et al*., 2015). Ils ont attiré beaucoup l'attention des chercheurs dans les domaines alimentaires et biomédicales, en raison de leurs activités biologiques et physiologiques diverses (XIE *et al*., 2015).

Les polysaccharides sont des macromolécules biologiques largement répondues dans la nature. Ils peuvent être extraits des micro-organismes (xanthane, scléroglucane,…), des algues (alginate, carraghénane,…), des crustacés (chitine), des mammifères (héparine, chondroïtine sulfate,…) et des végétaux supérieurs (JOSEPH *et al*., 2013). Ils sont constitués de chaines de monosaccharides ave une diversité structurale énorme, concerne l'isomérie, l'ordre et le nombre de monosaccharides reliés dans la macromolécule, l'anomérie en carbone 1 (α ou β) de chaque monosaccharide, la configuration absolue des monosaccharides (D ou L), le type de liaisons glycosidiques à des chaînes ramifiées ou non ramifiées, ainsi les groupes fonctionnels adaptés aux différents rôles biologiques (COURTOIS, 2009).

Des membres académiques universitaires de la recherche et de l'industrie dans le réseau de polysaccharide européen d'excellence (EPNOE) sont convaincus que les polysaccharides seront au point central du monde de demain pour les combustibles durables, la nourriture, les matériaux et la production de médicaments. Une telle vision, soutenue par la plupart des forces

politiques, sociales et économiques, est à l'origine de la relance de la recherche dans ce domaine au cours des dernières décennies (PERSIN *et al*., 2011).

Cependant, aucune étude n'a été signalée sur les polysaccharides et leurs effets biologiques issus des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus* (Apiaceae).

Le décocté des fruits de *l'Ammodaucus leucotrichus* est utilisé traditionnellement dans le cas d'indigestion, de diarrhées, d'anorexies, d'allergies, et de vomissements (OULD EL HADJ *et al*., 2003).

Dans notre travail la présente étude recherche sur les polysaccharides hydrosolubles de plantes spontanées à caractère médicinal connue dans le Sahara septentrional pour leurs effets officinaux. Il s'agit des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus Coss et Dur*. L'étude porte sur la caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles et leurs effets anticoagulants, antioxydant, antidiabétique.

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

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I.-Généralité sur les plantes médicinales

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (DELILLE,2007).Une Plante médicinale définie par la pharmacopée par une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, également appelée « drogue végétale » (GAZENGEL et ORECCHIONI, 2013).

Une plante dite « médicinale » est une plante qui a des propriétés thérapeutique. L'utilisation des plantes est très ancienne et pendant très long temps, elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme (LACHI et GUETTICHE, 2015). Les plantes médicinales regroupent l'ensemble des plantes dont un ou plusieurs de leurs organes sont utilisés pour leurs vertus thérapeutiques. Il peut s'agir de la tige des feuilles de l'écorce ou encore des racines qui soit employées à des fins curatives (PIERRICK, 2014). De nos jours, il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (DELILLE, 2007).

I.1.Définition des principes actifs

Le principe actif, c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (PELT, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale. Elle est issue de plantes fraîches ou des séchées. Il faut citer comme parties utilisées: racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore graines (BENGHANOU, 2012).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température …)

(SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

Les polyphénoles ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui se trouvent dans les plantes au niveau des tissus superficielles. Ils sont des composés photochimiques poly hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classes principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

Le terme saponoside est dérivé du mot savon. Ce sont des terpènes glycolyses comme ils peuvent aussi se trouver sous forme aglycones. Ils ont un goût amer et acre (HOPKINS, 2003). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (ISERIN *et al*., 2001).

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme: «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (GARNERO, 1996). Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (ISERIN *et al*., 2001). Ils ont un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs (DUNSTAN *et al*., 2013).

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W.MEISNER au début du XIXème siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (BRUNETON, 2009). Il n'existe pas de définition simple des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels (ZENK et JUENGER, 2007).

I.1.1. Polysaccharides

Les polymères naturels peuvent être généralement divisés en différentes catégories, y compris les polysaccharides, les protéines et les acides nucléiques (YANG *et al*., 2015).

Les polysaccharides ou polyosides ou encore polyholosides sont des polymères constitués d'un enchaînement de molécules dont les unités structurales de base sont des monomères des sucres (BRUNETON, 1999 ; WASSER, 2002 ; VOET, 2005 ; ABOUGHE, 2010 ; CERQUEIRA *et al* ., 2012 ; FARJANEL *et al.*, 2012). Le nombre d'oses est compris

entre quelques dizaines et plusieurs centaines de milliers (BRUNETON, 1999 ; MARGHAME, 2009 ; WEIL *et al*., 2009 ; FARJANEL *et al*., 2012).

Les polysaccharides peuvent être classés de plusieurs manières possibles, sur la base de la structure, la composition chimique, la solubilité, les sources et les applications (ZONG *et al*., 2012 ; LIU *et al*., 2015). En ce qui concerne la composition chimique, les polysaccharides sont divisés en deux classes ; homo-polysaccharides, qui sont des homo-glycanes constitués d'un seul type de monosaccharide, par exemple, cellulose et glycogène qui sont des polymères de glucose; des hétéro-polysaccharides ou des hétéro-glycanes, constitués de plusieurs stérioisomères de monosaccharide, tel que l'héparine, qui est constituée de, l'acide L-iduronique-2-O-sulfate (90% de ses composants) et D-glucosamine-N-sulfate, 6-O-sulfate (10% de ces composants) (YANG et ZHANG, 2009).

Les polysaccharides peuvent être classés selon leur source : les polysaccharides se trouvent dans les bactéries, les algues, les champignons, les animaux et les végétaux (FLORIAN *et al*., 2005 ; VOET, 2005).

I.1.1.1.Polysaccharides végétaux

Les polysaccharides végétaux appartiennent à trois groupes principaux; les polysaccharides de structures (propriétés biomécaniques) qui composent la paroi pectocellulosique des cellules (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon, caroube, inuline) constituant des formes de stockage de carbone, les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages. Les polysaccharides végétaux sont utilisés dans de nombreux domaines industriels comme l'agro-alimentaire, l'industrie cosmétique ainsi que les industries pharmaceutique, papetière et textile.… (DELATTRE, 2005; BOUAL, 2009).

I.1.1.2.Polysaccharides animaux

Hormis le glycogène et la chitine, les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycanes et sont issus des protéoglycanes (association GAG protéine par une séquence saccharidique). Ces polymères sont soit impliqués dans la structure des tissus conjonctifs (hyaluronanes, dermatanes sulfate et chondroïtines), soit dans des mécanismes de communications cellulaires via leurs propriétés fonctionnelles (héparines et héparanes sulfate) (WEINMAN et MEHUL, 2004 ; DELATTRE, 2005).

Les glycosamino-glycanes sulfatés tels que l'héparine, le sulfate d'héparane (HS), le sulfate de chondroïtine (CS), le sulfate de dermatane (DS), et la kératine sulfate représentent un autre groupe de polysaccharides bioactifs qui sont principalement issues d'animaux. Ces polymères sont constitués de résidus neutres (glycosamine) et acides (acide glucuronique et/ou acide iduronique) plus ou moins sulfatés, unis par des liaisons glycosidiques de type α-(1→4), β-(1→4) ou β-(1→3) (Vives, 2011). L'héparine est utilisé dans le traitement curatif et préventif des maladies thromboemboliques (MURRAY *et al.*, 1999). L'activité anticoagulante de l'héparine est liée fortement de sa structure spécifique, dans lequel le site de fixation de l'antithrombine III est crucial pour que l'héparine empêche la génération d'un caillot de fibrine qui est formée par l'action de la thrombine.

I.1.1.3.Polysaccharides fongiques

Les polysaccharides représentent un pourcentage majeur de la biomasse fongique (jusqu'à environ 75 %). Ces bio polymères assurent un rôle de soutien où forment une gaine protectrice autour du mycélium. Le principal représentant de ces polymères fongiques est la chitine (DELATTRE, 2005; SINGH *et al.*, 2015).

La chitine, c'est le principal composant des parois cellulaires des champignons ainsi que l'enveloppe externe relativement dure. La chitine est un polymère nom ramifié de N-acétyle glucosamine liée par des liaisons osidique de type bita (1→4) (KARP, 2010).

I.1.1.4.Polysaccharides des bactéries

Les bactéries synthétisent plusieurs types de polysaccharides qui peuvent être classés en trois grands groupes selon leur localisation dans la cellule: le premier groupe rassemble les polysaccharides du cytosol, ils servent de source de carbone et d'énergie à la cellule ; le second groupe concerne les constituants de la paroi tels que les acides téichoïques et les peptidoglycanes; le troisième groupe qui, réunit les polysaccharides élaborés par la cellule et secrétés dans le milieu (DELATTRE, 2005).

I.1.1.5.Polysaccharides extraits d'algues

Les polysaccharides dans les algues et les lichens ont un intérêt croissant en raison de leurs excellentes propriétés physiques, comme épaississant, gélifiant et stabilisant (BRUNETON, 2009). Egalement en raison de leurs activités biologiques bénéfiques, tels que anticoagulante, anti thrombotique, anti oxydantes, antivirales, anti inflammatoire, anti

tumorale, et immuno-modulatrice (OLAFSDOTTIR et INGOLFSDOTTIR, 2001; WIJESEKARA *et al.*, 2011). Les algues marines sont considérées comme des sources précieuses de composés bioactifs de structures diverses (NGOA et KIMA, 2013). Les trois grandes classes d'algues auxquelles appartiennent les espèces actuellement utilisées ont chacune leurs polysaccharides caractéristiques, sont essentiellement riche en polysaccharides sulfatés : acide alginique, laminaranes et fucanes des Phaeophyceae, galactanes sulfatés, carraghénane, et agar agar des Rhodophyceae, des polysaccharides complexes, souvent sulfatés comme l'ulvanes des Chlorophyceae (BRUNETON, 2009; LIU *et al*., 2015).

I.2. Généralité sur la famille des Apiaceae

Les Apiaceae représentent, une famille de plantes appartenant à la classe des Magnoliopsida (Dicotylédones). Cette famille renferme 3000-3700 espèces regroupées en 300-450 genres (CONSTANCE, 1971; PIMENOV et KLJUYKOV, 1987 ; STEPHEN *et al*., 2000). Selon QUEZEL et SANTA en 1963 les Apiaceae anciennement appelés Ombellifères, sont distribués dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord. En Algérie 55 genres regroupant 117 espèces, dont 24 endémiques, sont répertoriés.

C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Les plantes de la famille des Apiaceae sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles, ou le plus souvent vivaces. L'appareil végétatif souterrain pérennant est très varié : racine pivotante, rhizome ou tubercule (OZENDA, 1983). Les Apiaceae contiennent des plantes alimentaires (la carotte, *Daucus carota*), des condiments (le cumin, *Cuminum cyminum*), des plantes médicinales (la khella, *Ammi visnaga* et le fenouil, *Foeniculum vulgare*) ainsi que des plantes toxiques (la grande ciguë, *Conium maculatum*) (BRUNETON, 2009).

Figure01.Répartition géographique des Apiaceae dans le monde (HEYWOOD, 1996)

Tableau 01. Composants de la famille Apiaceae en Algérie (QUEZEL, SANTA, 1963)

Genre	**Nombre d'espèces**	**Genre**	**Nombre d'espèces**
Ammi	2	*Heracleum*	1
Ammiopsis	1	*Hippomarathrum*	1
Ammodaucus	1	*Hohenackeria*	2
Ammoides	2	*Hydrocotyle*	1
Anethum	1	*Kundmannia*	1
Anthriscus	2	*Magydaris*	2
Apium	1	*Malabaila*	1
Balansaea	1	*Margotia*	1
Bifora	1	*Oenanthe*	6
Brachyapium	2	*Orlaya*	3
Bunium	7	*Peucedanum*	3
Bupleurum	14	*Petroselinum*	1
Capnophyllum	1	*Physocaulos*	1
Carum	2	*Pimpinella*	2
Caucalis	4	*Pituranthos*	4
Chaerophyllum	1	*Reutera*	1
Conium	1	*Ridolfia*	1
Conopodium	1	*Sanicula*	1

Coriandrum	1	*Scandix*	3
Crithmum	1	*Seseli*	4
Cuminum	1	*Smyrnium*	2
Daucus	11	*Sison*	1
Echinophora	1	*Thapsia*	3
Elaeoselinum	2	*Tinguarra*	1
Eryngium	7	*Tordylium*	1
Ferula	2	*Torilis*	5
Foeniculum	1	*Turgenia*	1
Helosciadium	3		

I.2.1.Quelques espèces et intérêts des plantes médicinales de la famille des Apiaceae

Les Apiaceae sahariens sont bien différents les uns des autres et leur détermination n'offre pas de grandes difficultés sauf la distinction entre les espèces du genre *Pituranthos.* Pour toute identification il est très important de cueillir des échantillons portant des fruits mûrs (OZENDA, 1983). Les plantes de la famille des Apiaceae tels que *Anethum graveolens* L (aneth.), *P. anisum* L (anis), *Angelica archangelica* L (angélique.), *Carum carvi* L (carvi.), *Coriandrum sativum* L (coriandre.), *Cuminum cyminum* (cumin), *Petroselinum sativum* (persil), et *F. vulgare* Mill (fenouil.) ont une importante activité antispasmodique (BRUNETON, 1999).

Certaines espèces de la famille des Apiaceae peuvent être utilisées comme aliments. Les racines de *Daucus carota* L (carotte.),du *Pastinaca sativa* L (panais.), du *Smyrnium olusatrum* L (maceron.) et du *Apium graveolens* L(céleri.) peuvent être consommées ainsi que les feuilles de persil (*Petroselinum crispum* L.) et de céleri. Anthriscus *cerefolium* L (cerfeuil.) est utilisé en tant que condiment. Les souches et le pétiole d'angélique (*Angelica archangelica* L.) sont utilisés en confiserie (sous forme confite) car riches en glucides. Selon BOTINEAU en 2010. Les espèces des Apiaceae, sont riches en plusieurs principes actifs tels que *Ammi visnaga* L (khella.) q u i contient des furanochromones ainsi que des pyranocoumarines et la chromone, les fruits d'anis vert (*Pimpinella anisum* L.) e t d e *Foeniculum vulgare* Mill var. *dulce* (fenouil doux) contiennent de l'huile essentielle qui est riche en anéthole (90%), (80%) respectivement et de l'estragole. Les fruits d'Anethum *graveolens* L (l'aneth.) renferment une huile essentielle riche en carvone (50 à 60%) et en

limonène, l'huile essentielle des fruits du *Cuminum cyminum* L (cumin.) riche en aldéhyde cuminique (25 à 35%).

Les Apiaceae ont aussi la capacité de stimuler physiologiquement les sécrétions enzymatiques des glandes salivaires, les sécrétions gastriques, pancréatiques, intestinales ainsi que l'excrétion biliaire. Cela se traduit globalement par un effet stimulant sur la digestion. Plusieurs études scientifiques ont confirmé l'intérêt pharmacologique d'un grand nombre d'espèces de la famille des Apiaceae (TEUSCHER *et al*., 2005).

I.2.2.Généralité sur la plante *Ammodaucus leucotrichus*

Ammodaucus leucotrichus est une petite plante médicinale et aromatique, de la famille des Apiaceae, elle est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle.

I.2.2.1.Description botanique *d'Ammodaucus leucotrichus*

Ammodaucus *leucotrichus* Coss et Dur est une plante glabre, annuelle; tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues; ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très velus, portant de longs poils crépus, jaune roux à la base, puis blancs, et longs de 8-10 mm, plante à très forte odeur d'anis. Elle est localisée dans tous le Sahara (OZENDA, 1963).

I.2.2.2. Sous-espèces *d'Ammodaucus leucotrichus*

L'espèce *Ammodaucus leucotrichus* se distingue en deux sous-espèces, qui se trouvent à des endroits différents: *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu subsp. *leucotrichus*, pousse au Sahara et Sub-Sahara de l'Afrique du nord (JOULAIN et KÖNIG, 1998) A. et *Ammodaucus leucotrichus* Cosson et Durieu subsp. *nanocarpus* E. Beltranpousse dans l'archipel macaron sien (BRAMWEL et BRANWELL, 2001). Selon VELASCO-NEGUERUELA, (2006), il ya plusieurs noms pour *Ammodaucus leucotrichus*, nom français : Cumin chevelu, nom anglais : Hairy cumin, nom arabe: Kûmun-Sûfi; Akaman, nom latin : *Ammodaucus leucotrichus* et nom vernaculaire : Nessoufa-Moudrayga.

I.2.2.3.Utilisation traditionnelle *d'Ammodaucus leucotrichu*

Les fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* ce croquent et parfument l'haleine, en parfume le troisième thé. En Afrique du nord, les fruits sont utilisés comme condiment et en médecine traditionnelle. Ils sont employés dans le traitement des coups du froid, fièvre et troubles digestifs particulièrement pour les enfants (ADAMS, 1995). La plante est

utilisée aussi, sous forme de décoction de fruits, pour le traitement du diabète (ADAMS, 1995). Cette espèce est utilisée pour soigner les troubles gastro-intestinales (BELLAKHDAR, 1997). Les fruits en infusion ou sous forme de poudre sont utilisés contre les vomissements. Cette plante a des propriétés aphrodisiaques (HAMMICHE et MAIZA, 2006).

I.3. Activités biologiques

La diversité structurale des polysaccharides quelle que soit leur origine, qui peut être animale, végétale ou microbienne, confère à ses macromolécules de nombreuses activités biologiques (COLLIEC-JOUAULT *et al*., 2004). Les polysaccharides extraits des plantes médicinales ont récemment attiré une attention croissante de la recherche en raison de leurs activités biologiques très importantes (LIU *et al*., 2015), tels que l'activité immunostimulante, l'activité anti-oxydante, antivirale, l'effet de neuro-protection (THAKUR *et al*., 2012; JIN *et al*., 2013; NIE *et al*., 2013; WANG *et al*., 2016).

I.3.1.Activité antioxydante

En biologie, les premières recherches sur les antioxydants ont porté sur la réduction de l'oxydation des acides gras insaturés. Dans ce cas, l'activité antioxydante a été facilement mesurée en enfermant des corps gras dans des récipients hermétiques avec de l'oxygène, et en vérifiant le taux d'absorption de ces derniers. Cependant, ce n'est qu'avec l'identification des vitamines A, C et E qu'est apparue l'importance des antioxydants dans la biochimie des organismes vivants (POKORNÝ *et al* ., 2001).

En effet, l'action de la vitamine E dans la limitation de l'oxydation des lipides a démontré son rôle dans l'élimination des molécules contenant un atome d'oxygène actif avant qu'elles n'attaquent les cellules (POKORNÝ *et al* ., 2001).

Lors du métabolisme cellulaire normal, il y a formation de substances dites radicaux libres qui peuvent endommager les composants cellulaires importants, tels que l'ADN ou la membrane cellulaire; et l'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement…, augmentent la formation des radicaux libres. Ainsi; les antioxydants permet l'inhibition des radicaux libres (PELLI et LYLY, 2003).

Ce sont des composés réducteurs capables d'interrompre la réaction de péroxydation. En effet, les antioxydants doivent protéger de l'oxydation due à l'air, mais aussi des dégradations

photo-induites, ne pas altérer l'aspect, l'odeur ou la couleur du produit, ne pas être toxiques ou allergisants (MORELLE, 1988).

Dans la nature et en particulier dans le monde végétal, de nombreuses autres substances présentent des propriétés antioxydantes : polyphénols de l'olivier, du chêne, sésamol des graines de sésame, flavonoïdes des plantes (quercétine, myricétine, etc.), huiles essentielles extraites d'épices et d'herbes : thym, carvi, cumin, clou de girofle, romarin, sauge (FARAG *et al* ., 1989). Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (HALLIWELL et GUTTERIDGE, 1990).

Les composés antioxydants peuvent être recyclés dans la cellule ou bien ils sont irréversiblement endommagés, mais leurs produits d'oxydation sont moins nuisibles, ou peuvent être en outre convertis en substances inoffensives (MATKOWSKI, 2008). Il y a une augmentation parallèle de l'intérêt des antioxydants et de l'application des méthodes pour estimer l'efficacité de ces substances (GIOTI *et al*., 2007). Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des polysaccharides sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant (HUSSAIN *et al*., 2008).

Les propriétés antioxydantes des extraits polysaccharidiques peuvent être évaluées in vitro grâce à plusieurs méthodes telles que; ORAC (oxygen radical absorbance capacity), ABTS [(acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6- sulfonique)], FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) (THAIPONG *et al.*, 2006). Récemment, les mesures de l'activité antioxydante peuvent être aussi effectuées grâce aux modèles basés sur les cultures cellulaires (WOLFE *et al.*, 2008).

La réduction de DPPH• sont des méthodes efficaces, simples, reproductibles et rapides pour évaluer les propriétés antioxydantes (MAYACHIEW & DEVAHASTIN, 2008; HUSSAIN, 2009). L'analyse de balayage de DPPH• est la fréquemment utilisée pour la détermination de l'activité antioxydante (GACHKAR *et al*., 2006; HO *et al*., 2008; YEN et CHANG, 2008; HUSSAIN *et al*., 2008; FAYED, 2009; HUSSAIN *et al*.,2010; IMELOUANE *et al*., 2010). Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•) est un radical organique stable, coloré et centré sur l'azote (BLOIS, 1958). Le maximum de son absorption se situe vers 515 nm dans le méthanol et l'éthanol (PORTES, 2008). Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire DPPH•, ce qui conduit au 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R•. Le DPPH• a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux (PRAKASH, 2001;HUBERT, 2006).

I.3.2. Activité antidiabétique

En Afrique 185 espèces de la famille des Apiaceae sont aujourd'hui utilisées par la population contre le diabète sucré (MOHAMMED *et al*., 2014). Dans la région de l'ouest Algérien, il est recensé 60 espèces, qui appartiennent à 32 familles (AZZI *et al*., 2012). Les plantes les plus citées sont : Trigonella foenum-graecum (56 citations), *Rosmarinus officinalis* (27 citations), *Citrullus colocynthis* (22 citations), *Tetralinis articulata* (21 citations), *Artemesia herba alba* (20 citations), *Origanum compactum* (16 citations), *Punica granatum*(16 citations), *Zygophyllum album* (15 citations) et *Artemisia absinthium* (12 citations) (AZZI *et al*., 2012). D'après AZZI et ses collègues, l'utilisation fréquente de ces plantes, peut être expliquée par leur faible coût, leur disponibilité mais aussi par leur efficacité.

Le diabète, communément appelé le diabète sucré, c'est une maladie métabolique dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (AZZIZ, 2013). Le diabète sucré a suscité des inquiétudes dans le monde entier, ce qui nuit gravement à la qualité de vie des gens et est attribué à plusieurs complications mortelles (WANG *et al.* ,2016; GBEKLE *et al*., 2017). Les traitements couramment utilisés par voie orale peut être subdivisée en deux types : les médicaments hypoglycémiants (sulfonylurées et dérivés de l'acide benzoïque) et les agents anti-hyperglycémiques (biguanides, les inhibiteurs de l'enzyme α-D-glucosidases et thiazolidinediones) (BISHT *et al*., 2013). Lorsque les règles hygiénodiététiques; l'activité physique ne sont pas suivies ou insuffisantes, un traitement médicamenteux peut devenir nécessaire. Ces médicaments agissent par différents mécanismes d'action : augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline, diminution de l'absorption de glucose ou augmentation de la sécrétion de l'insuline. Plusieurs classes d'enzymes d'antidiabétiques sont utilisées (BECHIRI, 2016).

L' α- D-glucosidase des mammifères, situés au niveau de bordure en brosse à la surface de la membrane des cellules intestinales, est l'enzyme clé catalysant la dernière étape dans le processus digestif des glucides (ZHANG et LI, 2015). Par conséquent, des inhibiteurs de l'α –D-glucosidase peuvent retarder la libération du glucose à partir des glucides complexes alimentaires et retarder son absorption, ce qui entraîne une réduction du taux de glucose sanguin postprandial plasmatique et suppression de l'hyperglycémie postprandiale (ZHANG et LI, 2015). Parmi ces inhibiteurs: l'Acarbose, Miglitol et Voglibose qui sont des inhibiteurs compétitifs de la

α-D glucosidase intestinale, réduisent la glycémie postprandial en retardant la digestion et l'absorption de l'amidon et disaccharides dans le diabète sucré de type 2(BISHT *et al*., 2013).

La recherche d'un nouvel inhibiteur d'alpha glucosidase avec un faible effet inhibiteur sur l'alpha-amylase est très attendue (YEA *et al*., 2015).

I.3.3.Activité anticoagulante

Les anticoagulants sont utilisés pour la prévention et le traitement d'événements thrombotiques sévères. Les plus utilisés sont jusqu'a` présent l'héparine et ses dérivés et les antivitamines K(AVK). De nombreuses études cliniques ont démontré leur action dans la prévention et le traitement de complications thromboemboliques (KORTCHINSKY *et al*., 2013). L'effet anticoagulant est défini comme l'inhibition de la formation de thrombine active dans le plasma , alors que l'effet anti thrombotique est défini comme l'inhibition de la formation de la thrombose et /ou de sa croissance (COLLIEC *et al* ., 1990). La thrombose (maladies vasculaires les plus fréquentes qui résultent d'une interaction complexe entre les protéines circulantes de la coagulation, les plaquettes et la paroi vasculaire) est l'une des principales causes des troubles thromboemboliques affectant des milliers de personnes dans le monde (MANSOOR, 2013). Elle cause aussi la maladie cardiaque ischémique, les accidents vasculo-cérébraux (AVC) et les lésions traumatiques (LANCE, 2015). La thrombose veineuse se produit dans le monde entier à une incidence annuelle de 1 par 1000 adultes. Le traitement de la thrombose utilise des agents thrombolytiques à activités anticoagulantes et antiplaquettaires (SOUZA *et al*., 2015).

Quatre classes distinctes de polysaccharides sulfatés (héparine, Dermatane-sulfate,chondroitine sulfate fucosylé et fucoidane des algues) ont toutes une activité anticoagulante , due à leur interaction avec les enzymes et les inhibiteurs du système de la coagulation . Leurs effets anticoagulants dépendent d'un modèle exact de substitution sulfurique. Une petite modification dans la structure conduit à une perte presque complète de l'activité anticoagulante (MULLOY *et al* ., 2000).

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

de polysaccharides de plantes, associée à la présence de résidus d'acide uronique, sont signalées (SOUZA *et al.*,2015).

L'héparine est un polysaccharide linéaire hautement sulfaté contenant principalement une unité disaccharidique répétée (α-D-glucosamine en alternance avec de l'acide α-L-iduronique).C'est le polysaccharide le plus largement utilisé cliniquement comme anticoagulant et antithrombotique, et des polysaccharides sulfatés isolés à partir d'algues marines et les invertébrés constituent un groupe complexe de macromolécules qui sont largement étudiés comme anticoagulants et anti-thrombotiques (SOUZA *et al*., 2015).

I.3.4.Activité prébiotique

Les prébiotiques sont des ingrédients alimentaires non digestibles qui stimulent de manière sélective, au niveau du côlon, la multiplication ou l'activité d'un ou d'un nombre limité de groupes bactériens susceptibles d'améliorer la physiologie de l'hôte. À ce jour, les groupes bactériens concernés sont essentiellement les bifidobactéries (on parle alors d'effet bifidogène) et les autres bactéries lactiques (RAMBAUD *et al*., 2004).

Les prébiotiques exercent plusieurs activités biologiques. Leurs effets sont un changement dans la composition des AGCC (acide gras court chaine) produits au niveau intestinal, une augmentation du poids fécal, une réduction du pH et une modulation de système immunitaire de l'hôte (SAAD *et al*., 2013). Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (FAO/WHO, 2002), les probiotiques sont des micro-organismes apportés par l'alimentation qui doivent survivre au passage du tractus digestif qu'ils colonisent. Cela signifie qu'ils doivent avoir la capacité de résister au suc gastrique et à l'exposition à la bile. Les probiotiques sont stimulés en termes de croissance par les prébiotiques qu'ils catabolisent en AGCC. Les micro-organismes les plus généralement utilisés comme probiotiques appartiennent au groupe hétérogène des bactéries lactiques (Lactobacille, Entérocoque,…) et au genre Bifidobacterium (HOLZAPFEL *et al*., 2001 ;FAO/WHO, 2001).

Les symbiotiques se définissent comme l'association d'un probiotique et d'un prébiotique dont l'ingestion concomitante pourrait favoriser la multiplication du premier dans le tractus digestif (par exemple, une association de bifidobactérium ou de lactobacillus et fructo-oligosaccharides) (RAMBAUD *et al*., 2004).

Les prébiotiques les plus connus et déjà utilisés sont les fructanes – fructo-oligosaccharides (FOS), oligofructose, inuline – et d'autres oligosides de galactose et

transgalactose (GOS et TOS). De nombreux autres glucides pourraient revendiquer l'appellation de prébiotiques (xylo-oligosaccharides, isomalto-oligosaccharides, gluco- oligosaccharides, etc.). Des sucres alcools pourraient aussi avoir des propriétés prébiotiques (RAMBAUD *et al*., 2004).

Chapitre II
Matériel et méthodes

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

II.1. Principe d'étude

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des produits naturels issus des plantes médicinales sahariennes. Il a porté sur l'extraction des polysaccharides hydrosolubles, pour à une meilleure connaissance relative aux activités biologiques et à la composition (effectuée par une série de dosage colorimétriques et par chromatographie sur couche mince) d'une espèce végétale spontanée très peu connue jusqu'à présent, à caractère médicinal traditionnelle du Sahara septentrional de l'Est Algérien.

II.2.Matériel d'étude

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

Produits et appareils

Tableau 02. Origines et caractéristiques physico-chimiques des produits utilisés au cours de l'expérimentation.

.!Produit	Forme	Formule Chimique	Caractéristiques Massse molaire (g/mol)	Densité (g/cm^3)	Pureté (%)
Acétone	**Liquide**	**C_3H_6O**	**58.08**	**0.792**	**100**
Acideacétique	**Liquide**	**CH_3COOH**	**60,05**	**1.048-1.051**	**99.5**
Acidechloro- hydrique	**Liquide**	**HCl**	**36.46**	**1.19**	**37**
Acideortho-phosphorique	**Liquide**	**H_3PO_4**	**98**	**1,69**	**85-88**
Acétone	**Liquide**	**C_3H_6O**	**58.08**	**/**	**99.5**
Aniline	**Liquide**	**$C_6H_5NH_2$**	**93.13**	**1,02-1,03**	**98,5**

Acideacétique	**Liquide**	**CH_3COOH**	**60,05**	**/**	**99.5**
Acide acétique	**Liquide**	**CH_3 COOH**	**60,04**	**1,0480-1,051**	**99,5**
Méthanol	**Liquide**	**CH_3OH**	**32.04**	**0.79**	**99.9**
Ethanol	**Liquide**	**C_2H_6O**	**46.07**		**99.5**
Ether de pétrole	**Liquide**	**/**	**/**	**/**	**95**
SérumAlbumine Bovine (BSA)	**Solide**	**/**			**96**
Méthanol	**Liquide**	**CH_4O**	**32.04**	**/**	**99**
Pyridine	**Liquide**	**C_5H_5N**	**79.10**	**/**	**99.5**
Acétated'éthyle	**Liquide**	**$C_4H_8O_2$**	**88.11**	**/**	
Butanol	**Liquide**	**C_4H_9OH**	**74.12**	**0.81**	**99.9**
Chloroforme	**Liquide**	**$CHCl_3$**	**119.38**	**1,47**	**99**
DPPH (2,2-Diphenyl-1picrylhydrazyl)	**Poudre**	**$C_{18}H_{12}N_5O_6$**	**394**	**/**	**/**
Ethanol	**Liquide**	**C_2H_6O**	**46,07**	**0,805-0,811**	**95**
Acide tri-fluoro-acétique	**Liquide**	**CF_3COOH**	**114 ,02**	**1,49**	**99,8**

Tableau 03. Origines et types d'appareils utilisés au cours de l'expérimentation

Appareil	Type	Lieu de fabrication
Agitateur magnétique	**F20520162**	**EUROPE**
Bain marie	**MEMMERTGMBH. WB 7. NENNTEMP; 1000C**	**GERMANY**
Balance	**DISOVERY DV 215CD OHAUS.**	**USA.**
Centrifugeuse	**SIGMA. 15PK, 14000 RPM**	**GERMANY**
Etuve	**MELAG815.220V, 50HZ, 12.3A, 2700w.**	**GERMANY**
Micropipette	**ACURA 821. 200-1000ML**	**SWIS**

Spectrophotomètre	**UV- MINI-1240.UV-VIS SPECTROPHOTOMETRE**	**CHINA**
Spectrophotomètre	**UV Visible type LNICAMYEAR, 2000**	**JAPAN**
Mixeur	**R11**	**CHINE**
Bain Marie	**BAE-4, N° série 66513**	**Cє**
Balance	**EX324, N° série B240381179**	**SWITZERLAND**
Etuve	**D-6072**	**Allemagne**
Micropipette	**ACURA 825 (autoclavable) 20-200 µl, N° série 24021951**	**SWISS**
Macropipette	**ACURA 835 (autoclavable) 0,5-5 ml, N° série 24011259**	**SWISS**
Balance	**ALS220-4N, N° série WL085590**	**Allemagne**

II.2.1. Matériel biologique

Le matériel végétal, constitué de fruits d'*Ammodaucus leucotrichus*, récoltés en avril 2017 dans la wilaya de Djelfa. Il a été séché à l'ombre avant d'être broyé.

II.2.1.1. Choix de la plante

La plante ayant fait l'objet de l'étude a été choisi sur la base d'une recherche bibliographique méticuleuse qui a montré que ces espèces végétales sont très peu ou pas étudiées.

Le choix de telle ou telle partie à traiter de la plante dépend de l'espèce de la plante utilisée. Généralement, les polysaccharides des plantes sont concentrés dans des parties spécifiques. Le choix de la plante, est basé sur des données ethnopharmacologiques indiquant. A la recherche de nouvelles polysaccharides et leurs activités biologiques, d'espèces végétales spontanées à caractère médicinal du Sahara septentrional Est Algérien, sont retenues.

Pour la présente étude, le choix est porté sur une plante spontanée à caractère médicinal du Sahara septentrional Est Algérien (Djelfa). Il s'agit d'*Ammodaucus leucotrichus* Coss et Dur.

II.2.1.2.Répartition géographique *d'Ammodaucus leucotrichus*

La distribution entière est basée au nord de l'Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye,….), elle s'étend jusqu'en l'Egypte et l'Afrique tropicale) (BELTRAN et TEJERA et CANDOLLEA, 1983).

Elle est assez commune dans tout le pâturage désertique (QUEZEL et SANTA, 1963) :

- Secteurs du Sahara septentrional et occidental, elle est rare dans le secteur du Sahara central.

II.2.1.3.Classification botanique *d'Ammodaucus leucotrichus*: (APGII, 2005 ; GUIGNARD et DUPONT, 2007)

Embranchement : Spermaphytes
Sous Embranchement : Angiospermes
Classe : Eudicots
Sous Classe : Astéridées
Ordre : Apiales
Famille : Apiacées
Genre : *Ammodaucus*
Espèce : *Ammodaucus leucotrichus Coss. & Dur*

Photo 01. Fruit *d'Ammodaucus leucotrichus Coss et Dur*.

II.2.1.4.Technique de séchage et de broyage

Les fruits, une fois séparées des rameaux, sont séchées à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à la température ambiante (DIALLO *et al*., 2004); durant trois semaines. Les fruits ainsi séchées sont conservées dans des boites dans un milieu sec à l'abri de la lumière jusqu'à leur étude.

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

II.3. Etude des polysaccharides

L'étude s'intéresse à l'extraction des polysaccharides hydrosolubles, la composition globale de l'extrait polysaccharidiques, l'identification des résidus glycosidiques et enfin leur activité biologique.

II.3.1.Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Vingt 20 g de poudre sèche *d'Ammodaucus leucotrichus* est prétraitée 3 fois par 2 volumes d'éther de pétrole, pendant 24 heures sous agitation douce pour éliminer les composés lipidiques (WANG *et al*., 2013). Après une filtration, le résidu est séché à la température ambiante à l'abri de la lumière. Le fruit séché est macéré 2 fois dans d'eau distillée pendant 2 heures à 80°C sous agitation (CHIDOUH *et al*., 2014). Puis on fait une centrifugation à 3500 rpm pendant 15mn (CHEN *et al*., 2010). Puis précipité à l'aide de 3 volumes d'éthanol pendant 24 heures à 4°C (BOUAL,2014). Après une centrifugation à 3500rpm pendant 15mn, le culot est récupéré puis lavé trois fois par l'acétone (YAN *et al*., 2008) pour obtenir l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles.

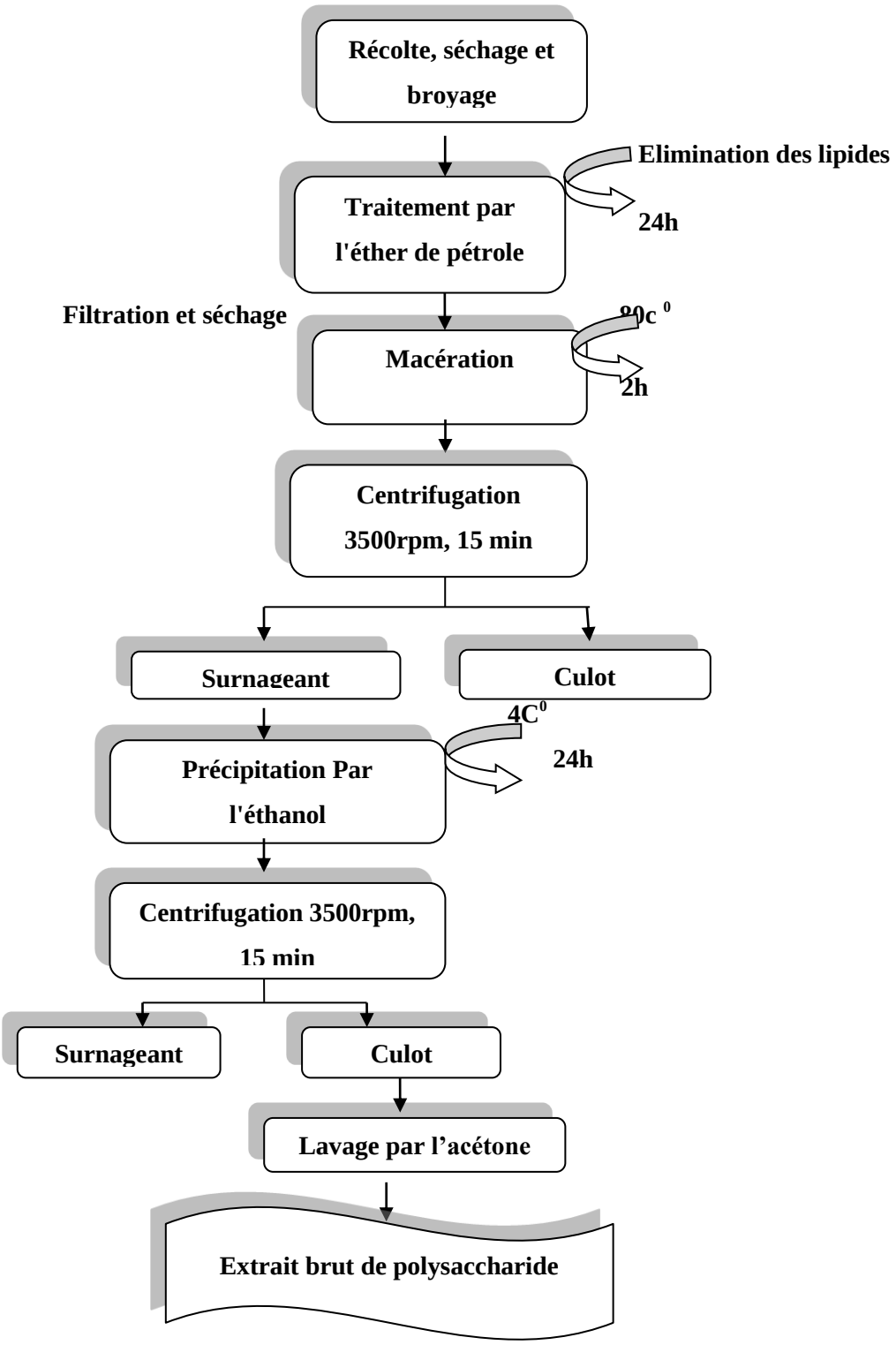


Figure02. Différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles (YAN *et al*., 2008; CHEN *et al*., 2010; WANG *et al*., 2013; BOUAL, 2014; CHIDOUH *et al*., 2014; HE *et al*., 2014; ZHAUYNBAEVA *et al*., 2010; ZHU *et al* ., 2014).

II.3.2.Composition des extrais des polysaccharides hydrosolubles

La composition des extraits de polysaccharides hydrosolubles concerne le dosage des oses totaux, neutres, acides et les protéines. Les analyses sont répétées trois fois.

II.3.2.1.Dosages des oses totaux

La quantification des sucres est réalisée par la méthode au phénol sulfurique (DUBOIS, 1956) pour les oses totaux.

II.3.2.1.1.Principe

L'appréciation de la quantité de sucres totaux, mesurée selon la méthode de DUBOIS (1956), utilise le phénol plus sensible à la détermination quantitative des oses que des chromogènes tels que le naphtol ou l'anthrone et l'acide sulfurique concentré, en présence de ces deux réactifs, les oses donnent une couleur jaune-orange (RUIZ, 2005). Le principe de dosage colorimétrique repose sur la condensation, par estérification, d'un chromogène (phénol) avec les produits de déshydratation des pentoses, hexoses. En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent en des dérivés du furfural. Les chromophores ainsi formés absorbent dans le domaine du visible entre 450 à 550 nm proportionnellement avec la quantité de sucres présents (WARRAND, 2004).

II.3.2.1.2. Préparation des réactifs et des solutions

- ✓ **Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique 0,01%**

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique dans 10ml d'eau distillée puis dilue jusqu' à 0.01$^{0}/_{0}$.

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

La préparation est effectuée par 0,01g du glucose dans 50ml d'eau distillée.

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

La solution est préparée avec 2,5g du phénol dans 50ml d'eau distillée selon la méthode de DUBOIS *et al*., (1956) modifiée.

II.3.2.2.Dosages des oses neutres

Les oses neutres sont dosés par la méthode de MONSIGNY *et al.* , (1988).

II.3.2.2.1.Principe

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

II.3.2.2.2.Préparation des réactifs et des solutions

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

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

II.3.2.3.Dosages des oses acides

La quantification des sucres acides est réalisée par la méthode au méta - hydroxydiphényl (m-HDP) pour les oses acides (BLUMENKRANTZ et ASBOE-HANSEN, 1973).

II.3.2.3.1.Principe

Le méta-hydroxydiphényle en présence de tétraborate de sodium a été utilisé comme chromophores sélectifs lors du dosage des acides uroniques (RUIZ, 2005). En milieu acide, les uroniques se transforment en dérivés furfuraux qui forment, en se complexant avec le m-hydroxybiphenyl (mHBP), des composés de couleur rose-rouge absorbant à 540 nm (BLUMENKRANTZ, 1973).

II.3.2.3.2.Préparation des réactifs et des solutions

- ✓ **Préparations des solutions tétraborate de sodium**

Dans un bain de glace et avec agitation magnétique, une quantité de 0,095g de tétraborate de sodium (Na2B4O7, 10H2O) à 0,0125M est ajouté à 20 ml d'acide sulfurique.

Cette solution est conservée à 4°C à labri de la lumière pendant 24h.

- ✓ **Préparations des solutions m-hydroxybiphenyl (mHBP)**

Une quantité de 40mg de NaOH est dissous dans 8ml d'eau distillée, puis 12 mg de m-HBP est ajouté. Cette solution est conservée à 4°C.

II.3.2.4.Dosage des polyphénoles

Les composés phénoliques, sont estimés par la méthode de Folin ciocalteu (ADESEGUN *et al*., 2010). Cette méthode est utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et des aliments (ABDEL-HAMEED, 2009). Il est additionné à 100µl d'extrait dilué à l'eau distillée (1/10), 500µl du réactif de Folin Ciocalteu. Après 2 minutes, une quantité de 2ml de carbonate de sodium Na^{+2} CO_3 à 20% (m/v), est ajoutée. Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environs 30mn à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 725nm (SINGLETOUR et ROSS, 1965).

II.3.2.5. Dosage des protéines

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de BRADFORD. C'est un dosage colorimétrique rapide et plus sensible que la méthode de LOWRY (BRADFORD, 1976).

II.3.2.5.1.Principe

Dans un milieu acide, le réactif de Coomassie se lie aux protéines provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue qui absorbe entre 465 et 595nm. L'intensité de la coloration est quantifiable et permet de déterminer indirectement et de manière proportionnelle la quantité de protéines présentes. La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine, après coloration au bleu de Coomassie (WARRAND, 2004; PIERRE, 2010), par interactions non covalentes avec les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines (AUTRAN, 1991).

II.3.2.5.2.Préparation des réactifs et des solutions

- ✓ **Préparation de la solution de bleu de Coomassie d'après BRADFORD, (1976)**

- Dissoudre 25mg du Bleu de Coomassie dans 12,5 ml d'éthanol (95%).
- Ajouter 25ml d'acide phosphorique (85%).
- Diluer la solution obtenue à un volume finale de 250ml.

- ✓ **Préparation de la solution mère de sérum albumine bovine (BSA) 0,01%**

La solution est préparée avec 0,01g de BSA dans 100 ml d'eau distillée.

II.3.2.6.Dosages des sucres réducteurs à l'acide bicinchoninique

II.3.2.6.1. Principe

Ce test colorimétrique est basé sur la réduction du cuivre. Le couple L-sérine/Cu^{+2} en présence d'une extrémité réductrice est réduit en L-sérine/Cu^{+}. La détection des ions Cu^{+} est réalisé à l'aide de l'acide bicinchoninique (4,4dicarboxy-2,2'biquinoline) qui forme un complexe coloré avec le couple L-sérine/Cu^{+} (NADOUR, 2015).

II.3.2.6.2.Préparation de solution

Réactif A

Na HCO3 =1,58 g et Na2co3=0,605 g et 2,2'biquinoline = 48,55 mg et eau distillé 25ml.

Réactif B

CuSo4, 5H2O = 31,2mg et L-Sérine = 31,55mg et Eau distillé = 25 ml

Pour le dosage faire un mélange des 2 réactifs à 1h avant l'expérience.

II.3.3.Caractérisation partielle des polysaccharides

L'étude porte de l'identification des résidus glycosidiques des polysaccharides.

II.3.3.1.Identification des résidus glycosidiques

Afin de déterminer la composition osidique d'un polysaccharide, on procède à son hydrolyse. Les monosaccharides libérés sont ensuite analysés aussi bien par chromatographie sur couche mince (RUIZ, 2005; RUTHES *et al*., 2015).

II.3.3.2.Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques

II.3.3.2.1.Principe

Le clivage des liaisons glycosidiques est réalisé à haute température (de 50 à 100 °C) dans des acides forts dilués (hydrolyse ménagée) ou concentrés (2 M) (DELATTRE, 2005).

L'acide trifluoroacétique est préféré à l'acide sulfurique. Il présente de plus l'avantage d'être simplement éliminé par Co-évaporation avec du méthanol (TALAGA *et al*., 2002; DONG *et al*., 2011)et leur efficacité à hydrolyser les liaisons glycosidiques sans causant la destruction des monosaccharides résultants (WANG *et al*.,2004).

En effet, les déférents types de liaisons osidiques présentent de taux d'hydrolyse variables en fonction de la stabilité relative des liaisons (1,6' > 1,4' > 1,3' > 1,2'). De même, la nature des liaisons glycosidiques entre deux unités osidiques contiguë présente une différence de stabilité par rapport au cas usuel de deux unités glucosidiques liée en 1,4'.Les liaisons glycosidiques entre une unité osidique et une autre unité portant un groupement carboxylique ou amine seront plus difficiles rompre que des liaisons entre un ose et un autre sous la forme furanose, anhydro ou deox (RUIZ, 2005).

II.3.3.3.Chromatographie sur couche mince

II.3.3.3.1.Principe

La chromatographie sur couche mince a été utilisée pour suivre le degré de dépolymérisation des différents échantillons saccharidiques (PIERRE, 2010). C'est une méthode d'analyse couramment utilisée pour l'identification de composés organiques, repose principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse au long d'une phase stationnaire (DELATTRE, 2005).

La phase mobile monte le long de la plaque par capillarité. Lorsque le développement est achevé, on sort le chromatogramme, on le sèche et on le révèle, c’est-à-dire que l’on fait apparaitre par un procédé approprie, sous forme de taches, les diverses molécules qui ont été séparées (HAINQUE *et al*., 2008), étant donné que la CCM indique le nombre de composants d'un mélange (DELATTRE, 2005).

La chromatographie sur couche mince est une application particulière de la chromatographie en général. Elle est basée sur le fait que les constituants d’un mélange peuvent avoir des affinités différentes pour un adsorbant donné (MOROT-SIR, 1991).

Pour identifier un produit, le chromatogramme obtenu avec la solution du produit à examiner est comparé avec celui obtenu avec la solution étalon du même produit. Il est supposé qu’il s’agit de la même substance il y a un même tracé dans les deux cas, le calcul de Rf,

permet d'identifier les composés qui ont été séparés, la mesure s'effectuant à partir du point de dépôt (BALLEREAU *et al*., 1993 ;GALY et FRAYSSE, 2012).

II.3.3.3.2.Mode opératoire

✓ **Préparation de révélateur**

La chromatographie n'étant qu'une méthode de séparation, il faut lui adjoindre une méthode de détection afin de permettre une identification des produits séparés (BALLEREAU *et al*., 1993). La révélation des spots est réalisée par le NIGRUM qui est préparé par le mélange de deux solutions :

A : 4g de diphénylamine dans 100ml d'acétone.

B : 96ml d'acétone complété jusqu'à 100ml par l'aniline.

Après le mélange des deux solutions A et B, 20ml d'acide orthophosphorique à 85% est ajouté (PAULSEN *et al*., 2002).

✓ **Préparation des phases mobiles**

Trois phases mobiles sont utilisées pour la séparation:

- La phase mobile A est constituée d'acétate d'éthyle- pyridine- n butanol-eau distillée -Acide acétique dans un rapport de 5/4/10/4/2 respectivement (GHEBREGZABEIER *et al.*, 1976).
- La phase mobile B est constituée de chloroforme-n butanol-M-éthanol-eau distillée-a. acétique avec les proportions suivantes 4,5/12,5/5/1,5/1,5 (YANG *et al.*, 2010).
- La phase mobile C est constituée d'acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau distillée avec la proportion suivantes 8,5/2/2/1,5 (HAN et ROBYT, 1998).

✓ **Préparation des plaques chromatographiques**

Pour chaque type de systèmes; les phases stationnaires sont des plaques en gel de silice prêtes à l'emploi de type Silica gel 60F254 de 0,25mm d'épaisseur, étalée sur une feuille d'aluminium. Les plaques sont entièrement utilisées. Une ligne de dépôt est tracée à1, 05cm du bord inferieur de la plaque, puis activée dans l'étuve à 100C^0 pendant 10mn.une fois activée, la plaque est prête pour le dépôt des échantillons (BOUAL *et al*., 2013).

- ✓ **Préparation des cuves et suivi de la CCM**

Après l'hydrolyse acide des fractions, les hydrolysats sont déposés sous forme de spot en bas des plaques à l'aide d'un applicateur (quelques microlitres). Puis les plaques sont placées verticalement dans des cuves contenant de la phase mobile de façon à ce que les plaques trempent sur une hauteur d'environ 1cm. Le solvant est laissé monter le long des plaques par capillarité. Au cours de son ascension, il va entrainer les différents constituants du mélange déposé en bas des plaques, les constituants les moins retenus par l'adsorbant étant entrainés le plus facilement. Le solvant est migré jusqu'au front, puis les plaques sont séchées et révélées (MOROT-SIR, 1991 modifié).

- ✓ **Calcul du rapport frontal des spots**

Le rapport frontal est calculé pour chaque spot obtenu des hydrolysats et des étalons (les dépôts est obtenue a chaque 10mg de l'échantillon ou d'étalons est ajouté 1 ml d'eau distillées) (BOUAL *et al* ., 2013), pour but de comparer les Rf, et déterminer les différents types d'oses constitutifs des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles obtenus.

$$\mathbf{Rf} = D_{\text{échantillon}} / D_{\text{phase mobile}}$$

$D_{\text{échantillon}}$: Distance parcourue par l'échantillon ou le témoin.

$D_{\text{phase mobile}}$: Distance parcourue par le solvant (phase mobile).

II.4.1.Activité antidiabétique

Cette partie expérimentale concerne la recherche de m'activité antidiabétique de plante étudiée, elle consiste en :

-l'évaluation de l'effet inhibiteur de leur extrait vis-à-vis des enzymes hydrolysant les glucides dans le tube digestif, (alpha-D-glucosidase) in vitro. Cette méthode consiste à évaluer l'effet inhibiteur potentiel des extraits de plantes étudiée sur l'activité de l'alpha amylase pancréatique. L'amidon étant utilisé comme substrat et l'acarbose, molécule de référence; agent inhibiteur de l'alpha amylase (BECHIRI, 2016).

L'α-glucosidase (EC 3.2.1.20), est l'enzyme clé pour la digestion de thérapeutique pour la modulation de l'hyperglycémie post prandiale, qui est la première anomalie métabolique se produire dans le diabète de type 2 (KEBIECHE, 2009). Il est trouvé que certains types des

polysaccharides ont un effet inhibiteur sur l'enzyme α-glucosidase et stimulent l'incorporation cellulaire du glucose (QIAN *et al*., 2015).

II.4.1.1.Principe

L'inhibition est effectuée selon la méthode de (OKI *et al* ., 1999),en utilisant alpha-nitrophényl alpha-D-glucopyranoside (PNPG) comme substrat (QIAN *et al* ., 2015), qui est hydrolysé par alpha-glucosidase pour libérer le glucose et le alpha-nitrophénol (SCHUMANN *et al* .,2006). Ce dernier est un agent coloré qui peut être mesuré à 405 nm (LAOUINI, 2014). L'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-glucosidase est calculée d'après la formule suivante (ZHANG et LI ,2015).

% inhibition = ((Dilta A contrôle négative- Dilta A échantillon) / Dilta A contrôle négatif) x 100

II.4.1.2.Préparation des solutions et des réactifs

La préparation se fait selon les méthodes de BISHT *et al*., (2013); QIAN *et al*., (2015) modifiées.

- ✓ **Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique (10mg/100µl)**

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

- ✓ **Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique**

Tableau04. Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

	Blanc	**10 $^0/_0$**	**25 $^0/_0$**	**50 $^0/_0$**	**75 $^0/_0$**	**100 $^0/_0$**
Eau distillée (µl)	20	18	15	10	05	0
Solution mère (µl)	0	02	05	10	15	20
Concentration ($mg.ml^{-1}$)	0	10	25	50	75	100

- ✓ **Préparation la solution de l'acarbose**

Pour préparer une solution de l'acarbose de 100mM, 50 mg de l'acarbose est dissout dans 774 µl d'eau distillée.

- ✓ **Préparation des dilutions de l'acarbose**

Une gamme de dilution allant de 0,01 à 100 mM est préparée à partir de la solution mère d'acarbose100mM.

II.4.1.3.Mode opératoire (BISHT *et al*., 2013; QIAN *et al*., 2015)

Dans un tube sec, ajouter un volume de 500µl de la solution de l'α-D-glucosidase ;
- Ajouter 10µl de l'acarbose pour le contrôle positif, de l'extrait polysaccharidique pour le test, ou de l'eau distillée pour le contrôle négatif;

- Incuber le mélange pendant15 min à 37° C;

- Ajouter un volume de125µl de la solution du substrat (*p*-NPG) préalablement incubé à 37° C;

- Faire agiter bien le tube pendant une minute;

- Après 2 min d'incubation, lire l'Absorbance à 405 nm et suivie la cinétique enzymatique de l'α-D-glucosidase en mesurant l'Absorbance chaque 12 sec pendant 3 min de réaction par un spectrophotomètre UV- Visible.

Calcul de pourcentage d'inhibition (XU *et al*., 2014; ZANG et LI, 2015)

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la relation suivante :

Pourcentage d'inhibition (%) = $\Delta A_{\text{Contrôle négatif}} - \Delta A_{\text{échantillon}} / \Delta A_{\text{Contrôle négatif}}$

$\Delta A_{\text{Contrôle négatif}} = A_{1\text{Controle négatif}} - A_{0\text{ contrôle négatif}}$

$\Delta A_{\text{échantillon}} = A_{1\text{ échantillon}} - A_{0\text{ échantillon}}$

II.4.2. Activité antioxydante

II.4.2.1.Préparation des réactifs

Une solution de DPPH* à est préparée en dissous 3,9 mg de DPPH dans 100ml d'éthanol. Cette solution préparée est obtention d'une absorbance à 517 nm.

- ✓ **Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique à 0,5%**

La solution est préparée avec 50 mg de l'extrait brut polysaccharidique dans 10ml d'eau distillée.

II.4.2.2.Principe du test DPPH

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

II.4.2.3.Mode opératoire

Un volume de 1ml de la solution à tester ou le contrôle est mélangé avec 1ml de la solution du DPPH• dans des tubes à hémolyse et à l'obscurité et à la température ambiante (POPOVICI *et al*., 2009). Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à 37°C, l'absorbance est lue à 517 nm (WANG *et al*., 2011).

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé suivant l'équation (LI *et al*., 2015; YUAN *et al*., 2015; KAN *et al*., 2015):

Le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH ($^0/_0$) = $(A_0 – (A_1-A_2)/A_0)$ x100

- A_0: solution de DPPH+ éthanol.

- A_1: solution de DPPH + échantillon.

- A_2: solution d'échantillon + éthanol.

Chapitre III
Résultats et discussion

Le présent chapitre porte sur la composition et la caractérisation des polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus*, mais aussi sur les activités antioxydante et antidiabétique.

III.1.- Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus*, est de 3.5$^0/_0$. Il est proche des rendements de polysaccharides hydrosolubles extraits à partir des graines de quelques espèces de la famille des Apiaceae (ZHAUYNBAEVA *et al.*, 2010; YOUMBAI, 2015). Il est faible par rapport à celui obtenu pour des inflorescences d'*A. leucotrichus* (AL) qui est de 4,051% et inférieur au rendement massique obtenu à partir des gommes des gommes-résines de *F. communis* (FC_1) et une fraction des gommes-résines de *F. communis* (FC_2) soit 43,63% (YOUMBAI, 2015).

Le rendement des polysaccharides peut varier en fonction des facteurs environnementaux et des conditions climatiques (KAEWMANEE, 2014). Par ailleurs, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction comme la décoction, la macération, le type et la quantité de solvant, agissent sur le rendement massique de polysaccharides hydrosolubles (EBRINGEROVA, 2003). De même, KAUSHIK *et al*., (2017) ont signalé que la température d'extraction a un effet significatif sur le rendement polysaccharidique. Ainsi, le temps représente l'un des facteurs affectant le rendement massique de l'extraction (MIAO, 2011).

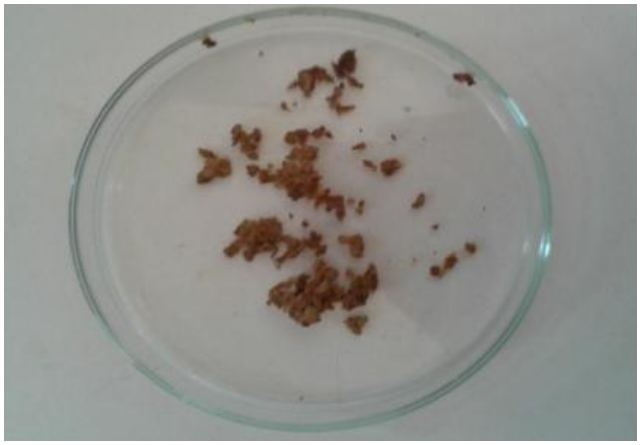


Photo 02. Extrait brut des polysaccharides hydrosolubles de fruit *d'Ammodaucus leucotrichus*

III.2. Composition des extraits bruts des polysaccharides

Après la série des dosages colorimétriques, les concentrations d'oses totaux, d'oses neutres, d'oses uroniques et des protéines sont évaluées dans le tableau 05.

Tableau 05. Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique *d'Ammodaucus leucotrichus*

Oses	Oses totaux	Oses neutres	Oses acides	Oses réducteurs
Pourcentages	**9,72%**	**4,75%**	**0%**	**9,70%**

L'extrait de polysaccharide hydrosoluble *d'Ammodaucus leucotrichus* renferme à 9,72 % d'oses totaux, 4,75% d'oses neutres, les oses acides 0%, les oses réducteurs 9,70 %.

Selon les résultats qui sont obtenus, l'extrait polysaccharidique hydrosoluble renferme des oses totaux avec une teneur de 9,72 % qui est inferieur à celui d'inflorescence d*'Ammodaucus leucotrichus* qui est de 48,31% (YOUMBAI, 2015). De même, les teneurs en oses neutres et en acides sont successivement 31,74%, 3,46% et sont supérieurs à ceux obtenus pour des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus*.

La teneur en protéine dans l'extrait polysaccharidique hydrosoluble des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus* obtenus par la méthode de BRADFORD, (1976). Le pH et la température des milieux d'extraction influent sur la teneur des protéines obtenues. L'augmentation de la température (90°C) et l'abaissement du pH (4) réduit la teneur en protéines dans les extraits des gommes de *F. gumosa* (3,8%), par contre à 50°C et à pH 10, la teneur en protéine est plus élevée (4,4%) (MILANI *et al*., 2007; YOUMBAI,2015).

Les teneurs de dosage de polyphénols étaient résultats négatifs, c'est-à-dire l'extrait de polysaccharide hydrosoluble du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus* est ne contient pas des traces de polyphénols malgré que la plante et riche en métabolites secondaires, ou il ya un effet de climat (températures élevées, exposition au soleil, sécheresse, salinité…) et les

concentrations en composés phénoliques des extraits de polysaccharide, dépendent du solvant d'extraction (BOUAL, 2014).

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

L'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince CCM à permis de déterminer la nature des oses constitutifs de polysaccharides extraits des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus*, par comparaison des rapports frontaux des taches apparues avec ceux des étalons.

Les résultats de chromatographie d'extrait de polysaccharide hydrosoluble des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus* obtenus ainsi que les différents étalons utilisés dans les trois systèmes sont consignés dans le tableau 06.

La lecture de chromatogramme de système I, révèle la présence de deux spots d'oses qui ont des Rf:0,28 ; 0,43. Le système II donne un seul spot d'ose de Rf: 0,57. Le système III montre quatre spots d'ose de Rf:0,51;0,43;0,48;0,56.

Les taches de système I sont semblent homologues au galactose (0,26) et au mannose (0.43). Pour le système II, il est seulement noté un seul tache semble correspondre au arabinose ou mannose (0,56). Le système III qui noté quatre taches correspondre au mannose (0,51), au galactose (0,42), au glucose (0,47), et à l'arabinose (0,54). Le système III contient plus de tache comparativement au système I et II.

Par comparaison des rapports frontaux des taches apparues dans l'extrait polysaccharidique avec ceux des étalons. Il est apparaît que les polysaccharides du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus* sont constitués principalement d'arabinose, du mannose, du galactose et du glucose.

Tableau 06. Rapports frontaux (Rf) des oses étalons dans les trois systèmes de CCM

Type d'ose	Système I	Système II	Système III
Acide D - galacturonique	**0,11**	**0,18**	**0,39**
Acide D- glucuronique		**0,22**	**0,09**
L-arabinose	**0,42**	**0,56**	**0,54**

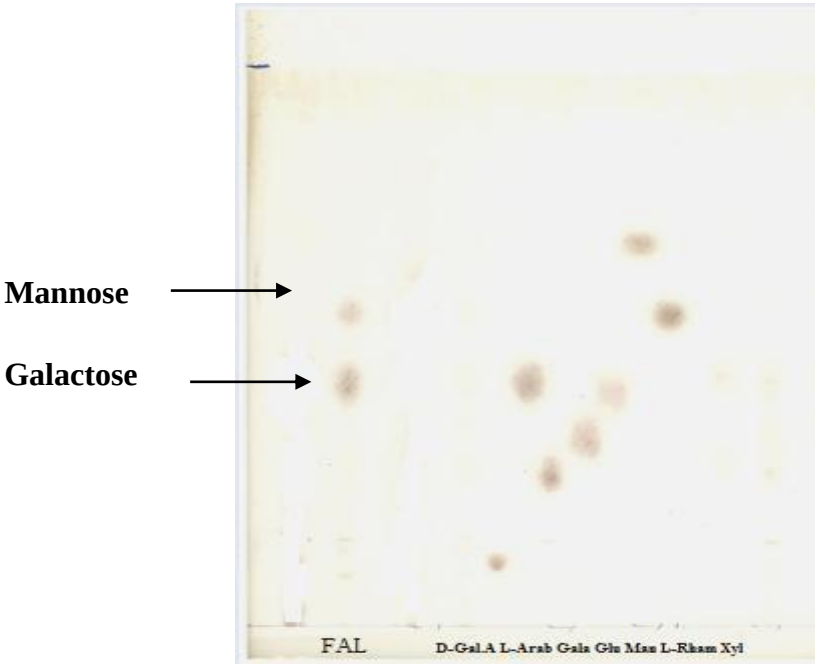
D- galactose **D- glucose** **D-mannose** **L- rhamnose** **D-xylose** **ribose**	**0,26** **0,33** **0,43** **0,66** **0,54** **0,53**	**0,49** **0,54** **0,56** **0,70** **0,63**	**0,42** **0,47** **0,51** **0,72** **0,67**
L'extrait polysaccharidique *d'Ammodaucus leucotrichus*	**0,28** **0,43**	**0,57**	**0,51** **0,43** **0,48** **0,56**

D'après les résultats obtenus, il est remarqué que les deux systèmes I (acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique) et III (Acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau) montrent une bonne migration des étalons par rapport au système II (Chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique, eau).

Ceci peut s'interpréter par la différence de polarité des différents éluants et l'affinité de chaque échantillon aux solvants (AUDIGIE *et al*., 1984).

Donc, l'extrait brut des polysaccharides du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus* renferme un hétéro-polysaccharides; un mélange des oses neutres, pentoses et hexoses qui sont constitués majoritairement d'arabinose, du galactose.

Des études antérieures montrent qu'après l'hydrolyse, les polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae sont constitués majoritairement de deux à cinq oses dont le rhamnose, le glucose, le galactose et l'arabinose. Le rhamnose est présent presque dans toutes les graines étudiées; ce qui indique l'existence de fractions de rhamnoarabinogalactane, de rhamnoxylogalactane, de glucane et de rhamnoglucane (ZHAUYNBAEVA *et al*., 2010).



Figur03. Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus* [(système I : d'acétate d'éthyle- pyridinel- n butanol-eau distillée -Acide acétique, 5-4-10-4-2]

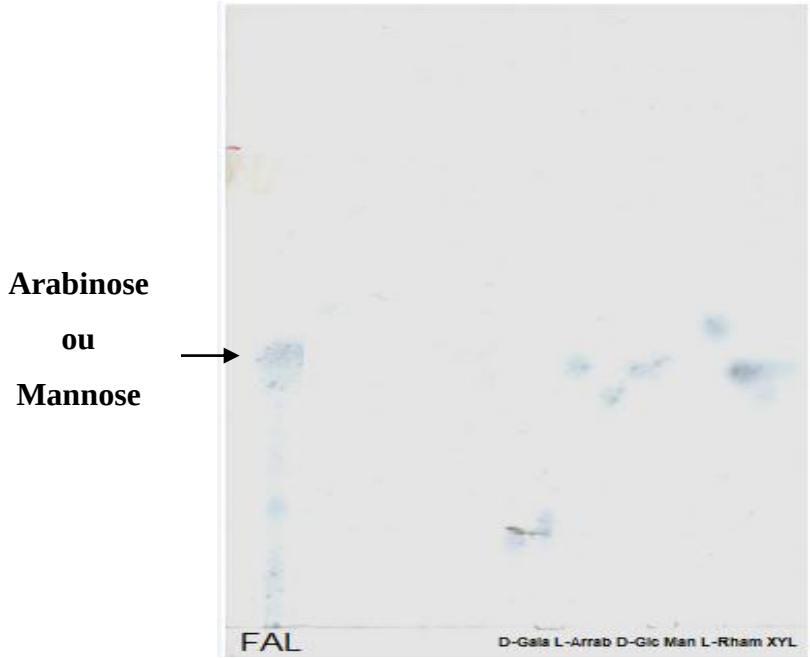


Figure04. Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus* [(système II : chloroforme: n-butanol: méthanol: eau et d'acide acétique, 4.5/12.5/5/1.5/1.5 (v/v)]

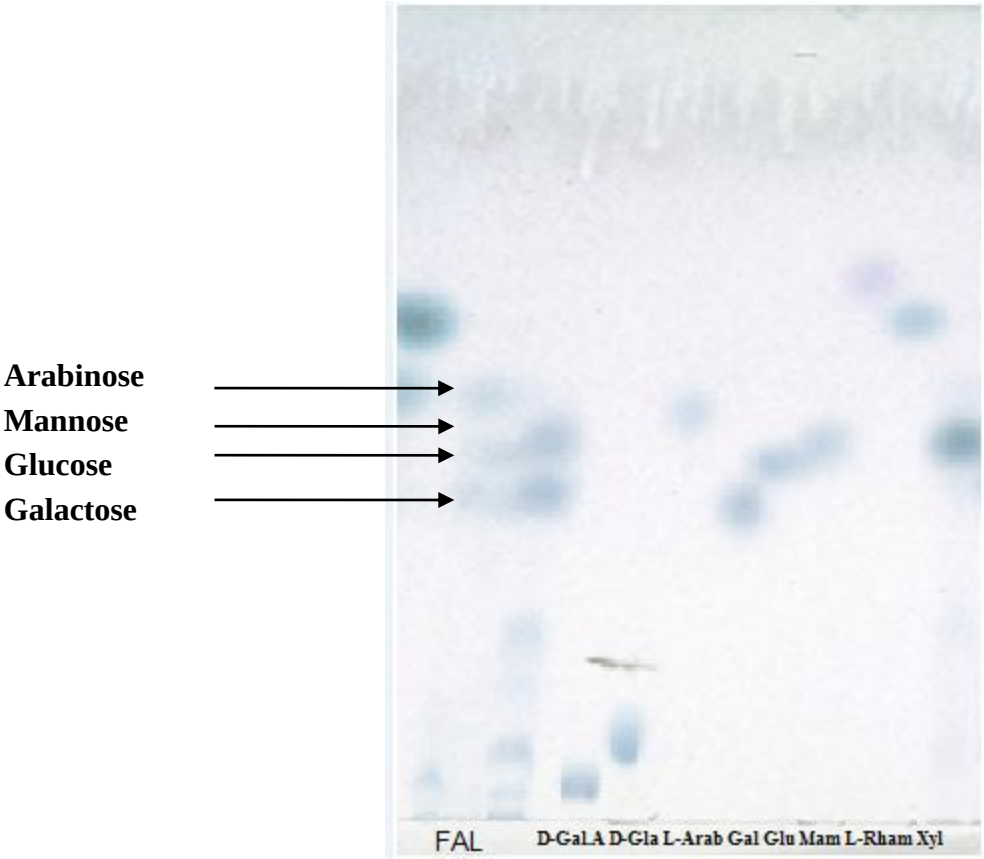


Figure05. Chromatogramme des hydrolysats d'échantillons de polysaccharides *d'Ammodaucus leucotrichus* [(système III : acétonitrile, acétate d'ethyle, propanol, eau distillée ; 8,5-2-2-1,5 (v/v)]

III.4.Activité biologique de polysaccharide

III.4.1.Activité antioxydante

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante des fruits *d'Ammodaucus leucotrichus* sont représentés dans figure 06. Le pourcentage d'inhibition de DPPH en présence de polysaccharides est de 93,31$^{0}/_{0}$ pour une concentration de 0,5% de l'extrait polysaccharidique. Cette valeur est très élevée. Mais selon YOUMBAI en 2015, le pourcentage d'inhibition de DPPH de polysaccharides des inflorescences d'*A. leucotrichus* est de 13,69$^{0}/_{0}$ pour une concentration de 0,01%.

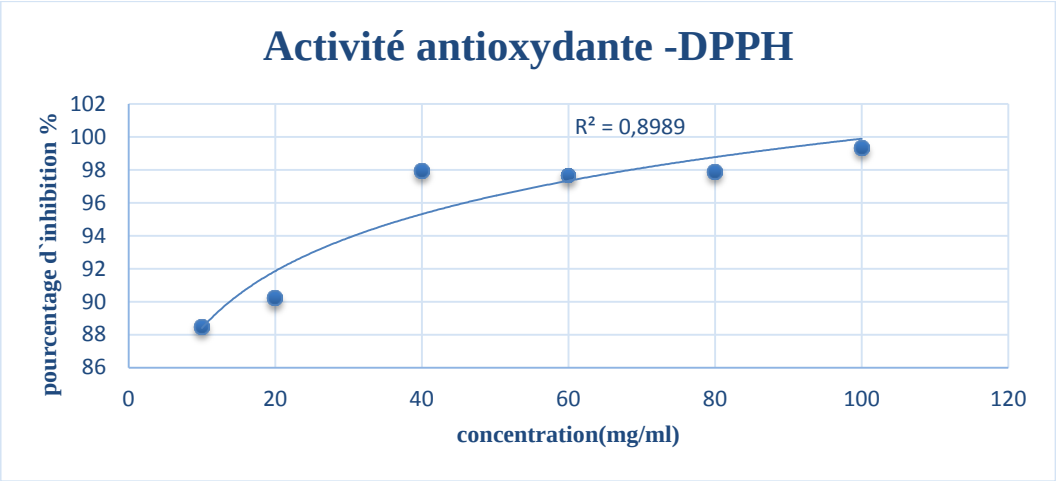


Figure 06. Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de l'acide ascorbique

Selon YOUMBAI, (2015), des fractions polysaccharidiques extraites à partir *Epimedium acuminatum* Franch. (Berberidaceae), ont des activités de piégeage du radical DPPH, de 83,23%, 65,15%, 71,14% et 77,16% pour des fractions EAP-H, EAP-U, EAP-E, et EAP-M respectivement, pour une concentration de 2mg/ml. Ces fractions pourraient agir comme donneurs d'électrons ou d'hydrogène à piéger les radicaux DPPH.

A cet effet, il est constaté que l'activité antioxydante des polysaccharidiques, peut être liée à l'espèce, le poids moléculaire, la composition monosaccharidique , et ainsi la technique d'extraction utilisée pour isoler les polysaccharides (WANG *et al* .,2016). La méthode d'extraction peut affecter l'activité antioxydante l'extraction hydrosoluble à chaud représente la méthode la plus efficace dans la préservation de l'activité antioxydante des polysaccharides (CHEN *et al*., 2008 ;LIU *et al*., 2015).

Il est rapporté que de nombreux facteurs influent l'activité antioxydante des polysaccharides, y compris la composition monosaccharidique, le poids moléculaire, le type de liaison glycosidique et la conformation de la chaîne (ZENG *et al*., 2015). Il est proposé que le mécanisme antioxydant possible des polysaccharides peut impliquer le don d'hydrogène afin de briser la chaîne des réactions et la capacité de piégeage des radicaux libres résultant de l'abstraction de l'hydrogène anomérique des unités monosaccharidiques internes de polysaccharides (HAN *et al*., 2015). En tant que radical libre stable, le DPPH peut être réduit en acceptant un électron ou un atome d'hydrogène, en présence d'un antioxydant. Il est largement utilisé pour évaluer l'activité de piégeage de radicaux libres d'antioxydants (LIU *et al*., 2015).

Ammodaucus leuchotricus Coss et Dur, est une plante connue pour sa richesse en métabolites secondaires dont les polyphénols et les huiles essentielles. Le rendement de cette plante en polysaccharides est très faible et moins pur. Il semble qu'il existe des composés phénoliques qui sont responsables ou qui renforcent cette activité (LI *et al*., 2014).

III.4.2.Activité antidiabétique

L'extrait polysaccharidique du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus*. a un effet inhibiteur remarquable mais il est inférieur à l'effet de l'acarbose de l'α-D-glucosidase. Le pourcentage d'inhibition des polysaccharides est de 42.05% pour une concentration maximale de 75 mg/ml et de 09.33% pour une concentration minimale de 2,5mg/ml. Néanmoins, l'acarbose a un pouvoir inhibiteur de 100% à partir de la concentration de 0.64 mg/ml, et une inhibition de 5.66% à la concentration de 0.0064 mg/ml. Il est remarqué que, pour l'acarbose et l'extrait des polysaccharides, les pourcentages d'inhibitions augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations.

Selon BABAHAMOU, (2017), l'extrait polysaccharidique de la gomme-résine de F. *assa-foetida* a un pouvoir inhibiteur de l'α-D-glucosidase élevé et proche à celui des polysaccharides de la gomme *d'Acacia tortilis*, qui a montré une inhibition maximale de l'α-D-glucosidase de 76,77% à une concentration de 5 mg / ml. Tandis que l'acarbose a donné une inhibition maximale à une concentration 16,14 g/l, soit 74,88%, cette inhibition semble inferieure à celle des polysaccharides *d'Acacia tortilis* aussi a celle d'acarbose qu'on a noté. Selon BISHT *et al*., (2013) les pourcentages d'inhibitions augmentent avec l'augmentation des concentrations à partir de 0,1 g/l à 5mg/l et de 0,645 g/l à 16,14 g/l pour les polysaccharides et l'acarbose, respectivement. BISHT *et al*., (2013) ont noté que l'arabinogalactane de la gomme d'*A. tortilis* est responsable de ce pouvoir d'inhibition.

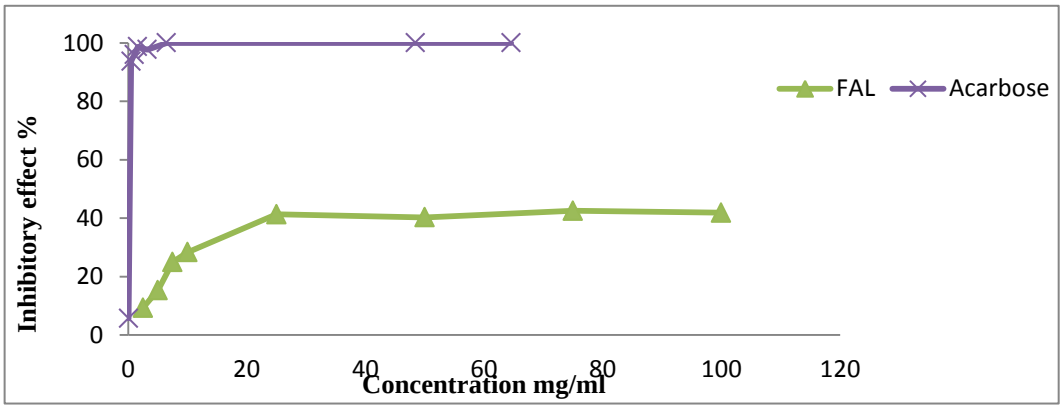


Figure 07. Pouvoir inhibiteur des polysaccharides du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus* sur l'enzyme α-D-glucosidase

Un faible effet inhibiteur de la fraction du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus* sur l'enzyme α-D-glucosidase est noté, malgré l'utilisation traditionnelle de la plante pour le traitement du diabète. C'est peut-être dû au fait que les molécules responsables de l'activité antidiabétique ne sont pas de nature glucidique ou que les molécules polysaccharidiques en question sont inactifs après les différentes étapes expérimentales. Il est aussi possible qu'il y a une synergie entre les différentes métabolites de la plante ce qui rend l'activité des polysaccharides soit liée à la présence des autres molécules.

L'étude d'effet des polysaccharides sur l'activité enzymatique de l'α-D-glucosidase est l'un des méthodes et paramètres pour élucider et identifier l'activité antidiabétique. Il est souhaitable donc de continuer les études sur l'activité antidiabétique mais avec les autres voies métaboliques et hormonales pour confirmer ou infirmer l'activité antidiabétique du fruit *d'Ammodaucus leucotrichus*.

Conclusion

L'étude des polysaccharides hydrosolubles des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* une plante spontanée de la famille des Apiaceae récoltée dans la région de Djelfa, débute par une macération à chaud avec de l'eau distillée à 80°C, puis la précipitation des polysaccharides par l'éthanol. L'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles obtenus, présente un rendement massique soit de 3,5%. L'étude de la composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles donne des valeurs 9,72% d'oses totaux. Parmi les oses, 4,75% sont des oses neutres et 0% sont des oses acides et 9,70% des oses réducteurs. La caractérisation des oses constitutifs de l'extrait de polysaccharides des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* par CCM en utilisant trois systèmes, systèmes I (acétate d'éthyle- pyridine- n butanol-eau distillée -Acide acétique , (5/4/10/4/2 respectivement) , système II (acétate d'éthyle- pyridine- n butanol-eau distillée Acide acétique, (4,5/12,5/5/1,5/1,5) , systèmes III (acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau distillée, 8,5/2/2/1,5). L'analyse a montré la présence du glucose, d'arabinose, du galactose, et du mannose. L'extrait est constitue d'une hétérogénéité et d'une diversité d'oses neutres, de pentoses et d'hexoses. L'étude de certaines activités biologiques, à savoir l'activité antioxydante (test DPPH) et l'activité antidiabétique (mesure de pouvoir inhibitrice de l'enzyme α-D-glucosidase) de l'extrait polysaccharidique du fruit d'*Ammodaucus leucotrichus* résultats de l'activité antidiabétique des polysaccharides donne un pourcentage d'inhibition de l'enzyme α-D-glucosidase 42,5% pour une concentration de 75mg/ml de l'extrait polysaccharidique et le pourcentage d'inhibition de DPPH en présence des polysaccharides est de 93,31$^{0}/_{0}$.

Perspective

Pour une bonne caractérisation des polysaccharides pour déterminer la composition en oses constitutifs de l'extrait polysaccharidique du fruit d'*Ammodaucus leucotrichus*, une analyse structurale par, spectrométrie de masse SM et par la résonance magnétique RMN est recommandée pour établir une relation structure fonction entre l'extrait et les activités biologiques signalées. Pour une meilleure évaluation des activités biologiques: antioxydante, antidiabétique des polysaccharides, on propose de purifier l'extrait polysaccharidique.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

1. **ABDEL-HAMEED E. S., 2009.**Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. Food Chemistry, vol. 114:1271–1277.

2. **ADAMS, R. P., 1995.** *«Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* », Allured Publ., Illinois, IL.

3. **ADESEGUN S. A., ALABI S. O., OLABANJI P.T., et BABATUNDE COKER H. A., 2010.**Evaluation of Antioxidant Potential of Melanthera scandens. J Acupunct Meridian Stud, vol. 3 (4):267−271.

4. **AUDIGIE C. L. FIGARELLA J. ZONSZAIN F., 1984.** Manipulation d'analyse biochimique. Ed Doin, Paris, 84p.

5. **AZMIR J., ZAIDUL I.S.M., RAHMAN M.M., SHARIF K.M., MOHAMED A., SAHENA F., JAHURUL M.H.A., GHAFOOR K., NORULAINI N.A.N. and OMAR A.K.M., 2013.** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering, vol. 117: 426-436.

6. **AZZI, R., DJAZIRI, R., LAHFA, F., SEKKAL, F. Z., BENMEHDI, H. & BELKACEM, N., 2012.** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the north western and south western Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, 6 (2012), 2041–2050.

7. **AZZIZ R ., 2013.** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucé dans l'Ouest Algérien: enquête ethnopharmacologique ; analyse pharmaco-toxicologique de Figuier Ficus carica et de coloquinte Citrullus colocynthis chez le rat Wistar. Thèse de doctorat de l'université d'Abou Berkr Belkaid Tlemcen, 5 p.

8. **BALLEREAU F. V., QUAY L.L., MT LAFLEURIEL, ROZEC D., LEBELLE A.V., MAVOUNGOU L.G., 1993.** Contrôle de qualité des médicaments essentiels dans les pays en développement. Méthodes Standardisées. Edition 3 ème.

9. **BECHIRI A., 2016.** contribution à l'étude de l'effet de plantes médicinales sur l'hyperglycémie postprandiale chez le rat Wistar. Thèse de doctorat de l'université d'Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 37p.

10. **BELTRAN, E., TEJERA, CANDOLLEA., 1983,** 38 131**.**

11. BENGHANOU M., 2012. La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.

12. BISHT S, KANT R, KUMAR S., 2013. α-D-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortilis* gum exudates. Internat J BiolMacromol 59: 214–20.

13. BLUMENKRANTZ N., et ASBOE-HANSEN G., 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. Analytical biochemistry, vol. 54: 484 - 489.

14. BOTINEAU M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec & Doc, Paris, 1335 pp.

15. BOUAL Z., 2009. Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérien). Mémoire Magister Biochimie et Analyse des Bioproduits, université Kasdi Merbah Ouargla 80p.

16. BOUAL Z., 2014. Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est Algérien): Activité biologique. Thèse de doctorat en Biologie, Université Kasdi Merbah Ouargla, 159p.

17. BOUAL Z, KEMASSI A, HAMID OUDJANA A, MICHAUD P et OULD EL HADJ M D., 2013. Caractérisation physico-chimique et biochimique des bulbes d'Urginea noctiflora (Liliaceae) récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérie): Activités antioxydantes et antibactériennes. PhytoChem & BioSub Journal Vol. 7 (2).

18. BOUAL Z., PIERRE G., DELATTRE C., BENAOUN F., PETIT E., GARDARIN C., MICHAUD P. et OULD EL HADJ M. D., 2015. Mediterranean semi-arid plant Astragalus armatus as a source of bioactive galactomannan. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol. 5: 10–18.

19. BRADFORD M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical biochemistry, vol. 72: 248-254.

20. BRAMWEL, D.L., BRANWELL, Z., 2001. *«Flores Silvestres de las Islas Canarias* », Madrid,

21. BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3ème édition Tec et Doc, Paris**.**

22. **BRUNETON J., 2009.** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4 ème édition de médicales internationales (Tec et Doc), Paris: 1288.
23. **CERQUEIRA A. M ; BARTOLOMEU .W. S. SOUZA ; TEIXEIRA. J. A. & VICENTE. A. A. (2012).** Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films a comparative study. J. *Food Hydrocolloids*. 27. P 175-184.
24. **CHEN H. X., ZHANG M., QU Z., et XIE B., 2008.** Antioxidants activities of different fractions of polysaccharide conjugates from green tea (Camellia sinensis).Food Chemistry, vol. 106 (2): 559-563.
25. **CHIDOUH A., AOUADI S., HEYRAUD A., 2014.** Extraction, fractionation and characterization of water-soluble polysaccharide fractions from myrtle (Myrtuscommunis L.) fruit. Food Hydrocolloids, vol.35: 733-739.
26. **COLLIEC S, BRETAUDIERE J, PATRICK D, FISCHER A.M, JACQUELINE J, BERNARD K, VIDAL C .,1990.** Polysaccharides sulfates, agent anticoagulant et agent anticomplementaire obtenus a partir de fucanes d'algues brunes et leur procède d'obtention.
27. **CONSTANCE L., (1971).** History of the classification of Umbelliferae (Apiaceae). In V. H. Heywood [ed.], the biology and chemistry ofthe Umbelliferae, 1–8. Academic Press, London, UK.
28. **DELATTRE C., 2005.** Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, université de Picardie jules verne, Valois Santerre, 172p.
29. **DELILLE L., (2007).**les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, 122.
30. **Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K. et Maiga, A., 2004.** Étude des constituants des feuilles de Ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. Chimie, 7: 1073–1080.
31. **DONG C.X., HAYASHI K., MIZUKOSHI Y., LEE J. B., HAYASHI T., 2011.** Structures of acidic polysaccharides from Basellarubra L. and their antiviral effects. Carbohydrate Polymers, vol.84: 1084–1092.
32. **DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. D., REBERS P. A., SMITH F., 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chern., vol. 28: 350-356.
33. **DUMAS G. et BEN-AIM R., 2003.**L'indispensable en réactions ioniques en solution aqueuse. Ed. Breal, France : 51-54.

34. **DUNSTAN H., FLORENTINE S. K., CALVIÑO-CANCELA M., WESTBROOKE M. E., PALMER G. C., 2013.** Dietary characteristics of Emus (Dromaius novaehollandiae) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. CSIRO PUBLISHING, 113: 168-176.

35. **EBRINGEROVA A., KARDOSOVA A., HROMADKOVA Z. and HRIBALOVA V., 2003.** Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. Fitoterapia, 74: 52-61.

36. **FAO WHO. (2001).** Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report, 1-34.

37. **FAO WHO. (2002).** Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report, 1-11.

38. **FARAG.R.S. BADEI.A .Z.M.A., 1989 .**et Elbaroty G.S.A, « *Antioxydant Activity of Some Spice Essential Oils* » On Linoleic Acid Oxydation in Aqueous Media. J. Am. OU. Chem. Soc, 66,792.

39. **FARJANEL J; PERRET J et BORG J. (2012).** Chimie médicale. Ed : Ellipes. Marketing .P:221,22-225.

40. **FLORIAN. H; LINDENMEIER. G; MOC. I; BERGHOLD. C; SNEIDER. N; MUNSTER. B & GRILLHOSL. C. Avec la collaboration de KRÜGER. K ; KARAMER .N; HUNISCHER. A ; ACKERNNAN. S ; HOPF. I &WIEDEMANN. U. (2005).** Chapitre 3: Cellule et chimie- Les glucides ou hydrates de carbone. Biochimie Humaine. Ed : Flammarion, Paris –France. P 23-32.

41. **GAO J., ZHANG T., JIN Z. Y., XU X. M., WANG J. H., ZHA X. Q. and CHEN H. Q., 2015.** Structural characterization, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from Lilium lancifolium Thunb. Food Chemistry, vol. 169: 430-438.

42. **GARNERO J., (1996).** Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques .vol. papier n°: K2.

43. **GAZENGEL J-M., ORECCHIONI A-M., 2013.** Le préparateur en pharmacie. 2ème édition. Ed. Lavoisier, Paris.

44. **GBASSI G., 2010.** Aspects physicochimiques de l'encapsulation et de la désencapsulation des probiotiques. Thèse de doctorat de l'université de Strasbourg : 14, 18, 29-35, 70.

45. GBEKLE E. H., AGBODEKA K ., KAROU S. D., ANANI K., ADJRAH Y., TOUDJI G., AMEYAPOH B., SIMPORE J., and GBEASSOR M., 2017. Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique: Revue de littérature /Isolated bioactive plant compounds with anti-diabeticproperty. International Journal of Innovation and Applied Studies, Vol. 19:839-849.

46. GENESTIE B., 2006. Optimisation de la production d'arabinoxylooligosaccharides d'intérêt biologique à partir de sons de céréales : Approches méthodologiques. Thèse de doctorat de l'université de Limoges : 30-50, 167-171, 215, 216, 217.

47. GHEBREGZABEIER M., RUFINI S., MONALDI B. et LATO M., 1976. THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY OF CARBOHYDRATES. Journal of Chromatography, vol.127, 133-162.

48. GUIGNARD, J.L., DUPONT, F. (2007). Botanique: Systématique moléculaire. 14ème édition. Masson.

49. HAINQUE B., BAUDIN B., LEFEBVRE P., 2008. Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. Médecine-Science Flammarion, Paris.122-221p.

50. HAMMICHE, V., MAIZA, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. J. Ethnopharmacol, 105: 358–367.

51. HAN X., SHEN S., LIU T., DUA X., CAO X., FENG H. and ZENG X., 2015. Characterization and antioxidant activities of the polysaccharides from Radix Cyathulae officinalis Kuan. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 544-552.

52. HEYWOOD V. H., (1996). Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale .Nathan. Paris. 335p.

53. HOLZAPFEL W. H., HABERER P., GEISEN R., BJORKROTH J. and SCHILLINGER U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr*., 73, 365S-373S.

54. HOPKINS W. G., 2003. Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.

55. IGNAT C. M., 2012. Compatibilité et Co-structuration dans des systèmes contenant des scléroprotéines et des polysaccharides. Thèse de doctorat en Chimie des polymers de l'université de PAU et des Pays de l'Adour. 79 p.

56. ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J. P., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P.,

DEELESALLE -FEAT T., BIAUJEAUD M., RINGUET J., BLOTH J., BOTREL A., 2001. Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.

57. **JEROME J., PERRY. JAMES T., STALEY. STEPHEN LORY., 2004.**Microbiologie. Ed: DUNOD, Paris, 247-248.

58. **JIAO G., YU G., ZHANG J. and EWART H. S., 2011.** Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. Marine Drugs, vol. 9: 196-223.

59. **JOSEPH M. M., ARAVIND S.R., GEORGE S. K., VARGHESE S. and SREELEKHA T.T., 2013.** A galactomannan polysaccharide from Punica granatum imparts in vitro and in vivo anticancer activity. Carbohydrate Polymers, vol. 98: 1466-1475.

60. **JOULAIN, D., KÖNIG, A. W., 1998.** *«The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpe Hydrocarbons»*, E. B. - Verlag, Hamburg.

61. **KAEWMANEE T., BAGNASCO L., BENJAKUL S., LANTERI S., MORELI C. F., SPERANZA G. and COSULICH M. E., 2014.**Characterization of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. Food chemistry, 148: 60-69.

62. **KAN Y., CHEN T., WU Y., WU J. and WU J., 2015.** Antioxidant activity of polysaccharide extracted from Ganoderma lucidum using response surface methodology. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: 151-157.

63. **KAUSHIK P., DOWLING K., ADHIKARI R., BARROW C. J. and ADHIKARI B., 2017**.Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. Food chemistry, 215: 333-340.

64. **KORTCHINSKY T., VIGUE B. et SAMAMA C., 2013.** Antagonisation des héparines et des nouveaux anticoagulants Reversal for heparins and new anticoagulant treatments ,37-49.DELASSUS M et PASQUIER., 1931.

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

66. **LI C., HUANG Q., FU X., YUE X.J., LIU R. H., YOUL.J., 2015.** Characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from Prunella vulgaris Linn. International Journal of Biological Macromolecules, vol.75: 298–305.

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

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

69. MARGHAM. R. (2009). Chapitre 1 : Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed, Bahaeddine. Constantine. P 13-40.

70. MIAO Y. Z., LIN Q., CAO Y., HE G. H., QIAO D. R. and CAO Y., 2011. Extraction of water-soluble polysaccharides (WSPS) from Chinese truffle and its application in frozen yogurt. Carbohydrate polymers, 86: 566-573.

71. MOHAMMED A., IBRAHIM M. A., ISLAM M. S., 2014. African medicinal plants with antidiabetic potentials: A Review. Planta Medica, 80, 354-377.

72. MONSIGNY M., PETIT C., et ROCHE A.C., 1988. Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acids micromethod. Analytical biochemistry, vol. 175: 525-530.

73. MORELLE.J,. 1988. « *Parfums, cosmétiques, Aromes* », Peroxydes lipidiques, radicaux libres, vieillissement et lipoaminés acides Ire partie, n°79, 71-78. 2e partie, 1988, n°80, 91-104.

74. MOROT-SIR F., 1991.Méthodes rapides d'analyse des huiles usagées. P 29. Ed. technique. Ttp 166.

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

76. OUHSSINE K., OUHSSINE M., et EL YACHIOUI M., 2006. Caractérisation chimique et microbiologique des déchets de *gelidium sesquipedale* avant et après fermentation. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, Vol. 145 : 34, 35, 39.

77. OULD EL HADJ M. D., HADJ-MAHAMMED M. et ZABEIROU H., 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara Septentrional Est).Courrier du savoir vol3 : 47-51.

78. OZENDA, P., *« Flore de Sahara septentrional et central, Centre national de la recherché scientifique* », Paris, **1977.**

79. OZENDA P., 1983. Flore du Sahara. Ed. 2. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS.), Paris : 401**.**

80. PAULSEN B –S., OLAFSDOTTIR E-S., INGOLFSDOTTIR K., 2002. Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides forme lichens .journal of chromatography, 967: 163-171.DJOUDI H., 1992.

81. PELT J. M., 1980. Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.

82. PERRY JJ ; STALEY J T ; LORY S. (2004). Microbiologie**.** Dunod.P: 245,249.

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

84. PIERRE G., 2010. Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliquées dans leur adhésion. Thèse de Doctorat de l'Université de Rochelle, France. 119-120 p.

85. PIMENOV M. G., KLJUYKOV E. V., (1987). Neoconopodium—a newgenus of the Umbelliferae from the Himalaya. Feddes Repetorium 98: 373–378.

86. PRERRICK H. (2014). Plantes médicinales définitions.

87. QIAN J-Y., BAI Y-Y., TANG J., CHEN W., 2015. Antioxidation and aglucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation. LWT- Food Science and Technology, 64:104-111.

88. QUEZEL P., SANTA S., (1991). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris.

89. RAMBAUD J. C., BUTS J. P., CORTHIER G., ET FLOURIE B., 2004. Flore microbien intestinale physiologie et pathologie digestives. John libbey eurotext, paris : 43, 51.

90. REZAIRE A., 2012. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien Oenocarpus bataua (patawa), thèse de Doctorat, Université des Antilles et de la Guyane, 95-98pp.

91. RUIZ G., 2005. Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat, l'université de Limoges, 36-38**,**230p.

92. SAAD N., DELATTRE C., URDACI M., SCHMITTER J.M. and BRESSOLLIER P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Sci. Technol.*, 50, 1-16.

93. SARNI-MANCHADO P., VERONIQUE C., 2006. Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.

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

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

96. **STEPHEN R. D., DEBORAH S. K., KRZYSZTOF S., (2000).**A Phylogeny of Apiaceae tribe Scanadiceae evidancefrom nuclear ribosomaldnainternal transcribed spacer sequences.American Journal of Botany 87(1): 76–95.

97. **TALAGA P., VIALLE S.et MOREAU M., 2002.** Development of a high-performance anion-exchange chromatography with pulsed-amperometric detection based quantification assay for pneumococcal polysaccharides and conjugates. Vaccine, vol. 20: 2474-2484.

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

99. **TEUSCHER E., ANTON R., LOBSTEIN A., 2005.**Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec & Doc, Paris, 522 pp.

100. **VELASCO-NEGUERUELA, A., PEREZ-ALONSO, M.J., PEREZ DE PAZ, P.L., PALA-PAUL, J., SANZ, J., 2006.** «*Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the eruits of Ammodaucus leucotrichus subsp. Leucotrichus and subsp. Nanocarpus grown in North Africa and the Canary Islands, respectively* », Elsevier, Journal of chromatography, n°1108, 273-275.

101. **VOET. D & VOET. J. G. (2005).** Chapitre 11: Sucre de polysaccharides. Biochimie 2^{é} ^{me}. Ed, Paris .P 356-380.

102. **WANG P., ZHAO S., YANG B., WANG Q. H and KUANG H.X., 2016.**Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: Areview of recent research. Carbohydrate polymers, vol.148:86-97.

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

104. **WARRAND J., 2004.** Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (Linumusitassimum). Thèse de Doctorat, Université de Picardie jules verne, 238 p.

105.WASSER. S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl. Microbiol. Biotechnol. 60. P 258 –274.

106.WEIL. H. J AVEC LA COLLABORATION DE : AUWERX. J; BECKER.H; BOULANGER. Y; DALLI-YOUCEF. N; DIVYS; FLORENZ. C; FRITSCH.V; KEDINGER. C; LELONG-REBEL. I; LE MAIRE. M; MONTREUIL. J; MORELLE .W; OFFNER. M; OUDET .P; PFEFFER. S; REBEL. G; ROSSIGNOL. J.M; SOUCIET. J .L; STEVENIN.J; WESTHOF .E. (2009). Chapitre 6 : Structures des glucides et glycoprotéine. Biochimie générale. Ed, Donud. Paris. P 193-216.

107. WEINMAN S. et MEHUL P., 2004. Toute La Biochimie. Ed. Dunod. 466p.

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

109. XU P., WU J., ZHANG Y., CHEN H., WANG Y., 2014. Physicochemical characterization of puerh tea polysaccharides and their antioxidant and α-glucosidase inhibition. Journal of Functional Foods, Vol. 6: 545-554.

110. YAN H., ZHU D., XU D., WU J., BIAN X., 2008. A study on Cordycepsmilitaris polysaccharide purification, composition and activity analysis. African Journal of Biotechnology, vol: 7: 4004-4009.

111. YANG C., GUAN J., ZHANG J. S., et LI S. P., 2010. Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. Journal of Planar Chromatography. Vol. 23 1, 46–49.

112. YOUMBAI A., 2015. Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien). Thèse de Magister, université d'Ouargla. 77 p.

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

114.ZHANG S., LI X-Z., 2015. Inhibition of α-D-glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera Abel*, Carbohydrate Polymers, Vol. 115: 38-43.

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

116. ZHAUYNBAEVA K. S., RAKHIMOV D. A. et NIGMATULLAEV A. A., 2010. Polysaccharides from seeds of higher plants. Water soluble polysaccharides from plant seeds of family Apiaceae. Chemistry of Natural Compounds, vol. 46(5): 783-784.

117. ZHU Y., LI Q., MAO G., ZOU Y., FENG W., ZHENG D., WANG W., ZHOU L., ZHANG T., YANG J., YANG L., et WU X., 2014. Optimization of enzymeassisted extraction and characterization of polysaccharides from Hericiumerinaceus. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 606-613.

Annexes

Annexe 1

La courbe d'étalonnage d'oses totaux, oses neutres et oses acides, est obtenue à partir une solution de glucose ou d'acide glucuronique (0,1 g/l – 1g/l) (DUBOIS, 1956).

Tableau01. Préparation de la courbe d'étalonnage d'oses totaux, d'oses neutres et d'oses acides

	Blanc	0,001$^0/_0$	0,002$^0/_0$	0,005$^0/_0$	0.008$^0/_0$	0,01$^0/_0$
Eau distillé	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
Glucose et A.GLc 0,01$^0/_0$ (ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg/l)	0	10	20	50	80	100

Mode opératoire

Oses totaux

- La procédure employée est celle de la méthode de DUBOIS et *al*., (1956).
- Placer une quantité de 200µL de l'échantillon ou de l'étalon dans un tube à essai.
- Ajouter 200µL d'une solution aqueuse de phénol à 5 %.
- Homogénéiser le mélange.
- Ajouter 1ml d'acide sulfurique concentré est rapidement introduit à la pipette dans le milieu réactionnel.
- Homogénéiser le mélange.
- Porter le mélange au bain-marie à 100°C durant 5 minutes.
- Refroidir les tubes dans un bain de glace.
- Placer les tubes à l'obscurité pendant 30 minutes.
- Mesurer l'absorbance à 490 nm sur un spectrophotomètre UV-visible.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée avec des solutions du glucose de concentrations compris entre 0,001 et 0,01%.

Oses neutres

- Placer une quantité de 200µl de l'échantillon ou de l'étalon dans un tube à essai.
- Ajouter 200 µl de la solution de résorcinol.
- Ajouter 1 ml d'acide sulfurique à 80 %.

- Incuber le mélange au bain-marie à 90°C pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange à température ambiante à l'obscurité pendant 30 minutes.
- Mesurer et l'absorbance à 480 nm sur un spectrophotomètre UV-visible.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée avec des solutions du glucose de concentrations compris entre 0,001 à 0,01%.

Oses acides

La méthode colorimétrique employée est adaptée de BLUMENKRANTZ et ASBOE-HANSEN, (1973) :

- Placer une quantité de 200µl de l'échantillon ou de l'étalon dans un tube à essai.
- Ajouter 1,2 ml d'une solution de tétraborate de sodium (0,0125 M dans l'acide sulfurique concentré).
- Homogénéiser le mélange au vortex.
- Refroidi le mélange dans la glace durant 5 minutes.
- Porter les tubes au bain-marie à 100°C durant 5 minutes.
- Refroidi les tubes dans un bain de glace pendant 10 min.
- Ajoute 20 µl d'une solution de m-HDP (méta-hydroxydiphényle) à 0,15 % dans NaOH0, 5 %.
- Homogénéiser les tubes au vortex,
- Une coloration rose apparaît.
- Mesurer et absorbance à 520 nm sur un spectrophotomètre UV-visible.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée avec des solutions de l'acide glucoronique de concentrations compris entre 0,001 à 0,01%.

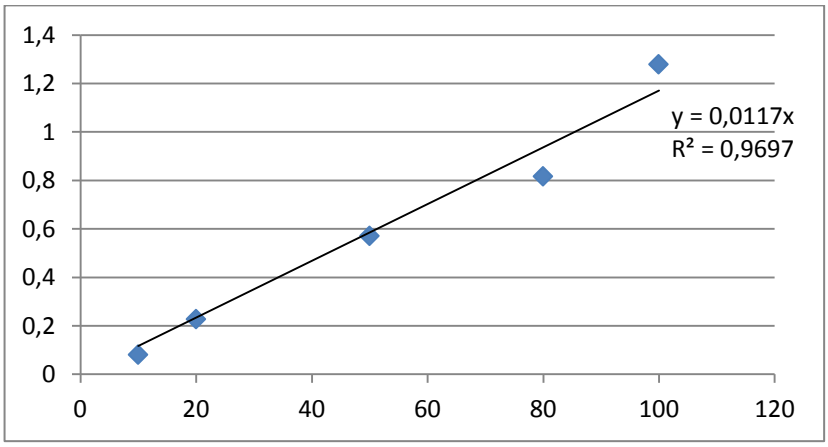


Figure01 . Courbe d'étalonnage des oses totaux (glucose)

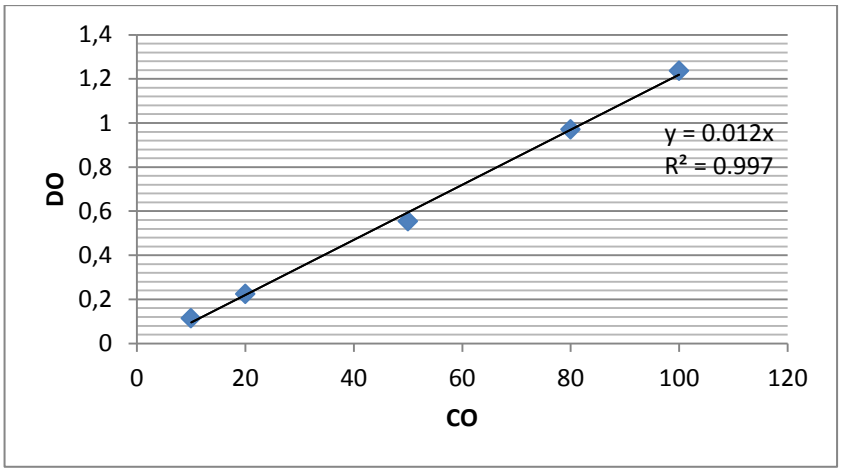


Figure02. Courbe d'étalonnage des oses neutres (glucose)

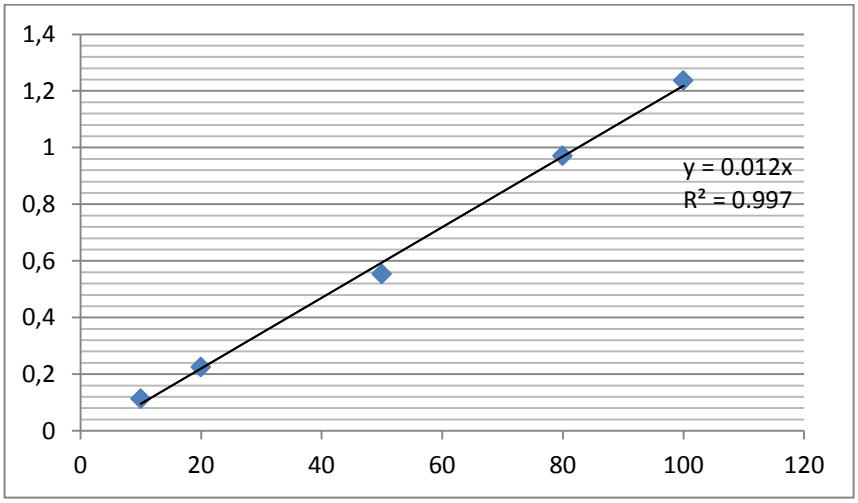


Figure03. Courbe d'étalonnage des oses acides (ac. glucuronique)

Annexe 2

La courbe d'étalonnage des protéines par la méthode de BRADFORD ,(1976), est obtenue à partir une solution de sérum albumine bovine (SAB) à différentes concentrations de 0.1g/l – 0.01g/l.

- ✓ **Préparation de la gamme étalon de BSA 0,001% à 0,01%(BRADFORD, 1976) pour dosage des protéines**

Les standards produits par dilution d'une solution mère de BSA (0,01%) sont représentés sur le tableau.

Tableau02. Gamme d'étalonnage de sérum albumine bovine de protéine

	Blanc	0,001$^0/_0$	0,002$^0/_0$	0,005$^0/_0$	0,008$^0/_0$	0,01$^0/_0$
Eau distillé	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
BSA 0,01$^0/_0$	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg/l)	0	10	20	50	80	100

Mode opératoire

- Placer une quantité de 200µL de l'échantillon ou de l'étalon dans un tube à essai.
- Ajouter 2ml de réactif de BRADFORD (bleu de Coomassie).
- Incuber le mélange à l'obscurité et à température ambiante pendant 30min.
- Mesurer l'absorbance à 595 nm sur un spectrophotomètre UV-visible.
- La bovine Sérum Albumine (BSA) est utilisée comme standard pour la réalisation du courbe étalon avec les concentrations variées entre 0,001 et 0,01 %.

Annexe 3

Oses réducteurs

Tableau 03. Préparation du courbe étalon du Glucose à 0,01 g/L

	Blanc	0,001$^0/_0$	0,002$^0/_0$	0,005$^0/_0$	0.008$^0/_0$	0,01$^0/_0$
Eau distille	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
Glucose 0,01$^0/_0$ (ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg/l)	0	10	20	50	80	100

.Mode opératoire de

- **Placer une quantité de 200µL de l'échantillon ou de l'étalon dans un tube à essai.**
- Ajouter 800 µL d'eau distillée.
- Ajouter 500 µL de réactif A+ B (v/v).

- Incuber le mélange réactionnel à100°C pendant 15min.
- Refroidir le mélange réactionnel dans un bain d'eau à température ambiante pendant 10 min.
- Mesurer l'absorbance à 540 nm sur un spectrophotomètre UV-visible.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée avec des solutions du glucose de concentrations compris entre 0,005 et 0,040.

Annexe 4

Hydrolyse acides des polysaccharides par TAF

Mode opératoire

Dans un flacon à vis de petit volume, 1ml de TFA de 2Mest ajouté à 25mg de polysaccharides lyophilisés, puis on le laisse dans l'étuve à 100°C pendant 4h (NIU *et al*., 2011 ; CAI *et al*., 2016).

Ensuite, le flacon est refroidi au bain de glace et le surnageant est récupéré sur des verres de montre après une centrifugation à 3500g pendant 15min. Par la suite quelques gouttes de méthanol (99,7%) sont additionnées et les verres de montre sont déposés dans un dessiccateur sous vide pendant 24h.

Après évaporation et séchage total de l'hydrolysat, 1ml de l'eau distillée est ajoutée pour solubiliser les oses. Ensuite, l'hydrolysat est récupéré dans des éppendorfs de 1,5 ml (AI *et al*., 2012 ; YAN *et al*., 2015).

Une fois que l'hydrolyse est effectuée, les monosaccharides libérés sont analysés par chromatographie sur couche mince (CCM).

Activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles *d'Ammodaucus leucotrichus* (Sahara Septentrional Algérien)

Résumé :

L'étude porte sur les polysaccharides hydrosolubles issus des extraits d'une plante à caractère médicinal dont *l'Ammodaucus leucotrichus*, récoltée dans la région de Djelfa , située au Sahara Septentrional Algérien, sont obtenus par extraction à l'eau distillée, à chaud pendant 2 heures, puis leur précipitation est faite par l'éthanol . Le rendement des extraits de polysaccharides hydrosolubles est de 3,5%.L'étude de la composition de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles a donné des valeurs moyennes suivantes : oses réducteur 9,70%, et oses totaux 9,72%. Parmi ces derniers, 4,75% sont des oses neutres et 0% sont des oses acides. L'hydrolyse des polysaccharides par TFA (2 M) durant 4 heures à 100°C. Laissent apparaître après analyse par chromatographie sur couche mince (CCM), de l'arabinose, du glucose, du galactose et mannose. La diversité structurale remarquable des polysaccharides, permet d'espérer un large spectre de propriétés biologiques. L'étude de l'activité antidiabétique et antioxydante des polysaccharides hydrosolubles, porte sur la détermination de leur pouvoir inhibitrice de l'enzyme α-D-glucosidase et le radical de DPPH respectivement. L'étude a montré que l'extrait des polysaccharides a un pouvoir inhibiteur remarquable de l'α-D-glucosidase qui est de 42,5% pour une concentration maximale, en comparaison à l'acarbose comme contrôle positif qui a un fort pouvoir inhibiteur de 100% et possède un pouvoir antioxydant fort 93,31%.

Mots clé: Polysaccharide, *Ammodaucus leucotrichus*, Activité antidiabétique, Activité antioxydante, Sahara.

Biological activities of water-soluble polysaccharides of *Ammodaucus leucotrichus (*Northern Algerian Sahara)

Summary:

The study focuses on water-soluble polysaccharides from extracts of a medicinal plant, *Ammodaucus leucotrichus*, harvested in the Djelfa region, located in the northern Algerian Sahara, is obtained by extraction with distilled water, while warm 2 hours, then their precipitation is made by ethanol. The yield of the water-soluble polysaccharide extracts is 3.5%. The study of the composition of the crude extract of the water-soluble polysaccharides gave average values of: reducing oses 9, 70%, and total oses 9, 72%. Of these, 4.75% are neutral oses and 0% are acidic oses. The hydrolysis of the polysaccharides by TFA (2 M) for 4 hours at 100 ° C. after analysis by thin layer chromatography (CCM), arabinose, glucose, galactose and mannose. The remarkable structural diversity of the polysaccharides makes it possible to hope for a broad spectrum of biological properties. The study of the antidiabetic and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides concerns the determination of their inhibitory power of the enzyme α-D-glucosidase and the radical of DPPH respectively. The study showed that the polysaccharide extract has a remarkable inhibitory power of α-D-glucosidase which is 42.5% at a maximum concentration, compared to acarbose as a positive control that has a high potency. 100% inhibitor and has a strong antioxidant power 93, 31%

Keywords: Polysaccharide, *Ammodaucus leucotrichus*, Antidiabetic activity, Antioxidant activity, Sahara.

الأنشطة الحيوية لمتعدد السكريات القابلة للذوبان في الماء في Ammodaucus leucotrichus (شمال الصحراء الجزائرية)

الملخص:

تركز الدراسة على السكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء المستخرجة من النباتات الطبية ، *Ammodaucus leucotrichus*(*أم دريقة*)، التي تم قطفها من منطقة الجلفة ، تقع في شمال الصحراء الجزائري ، ويتم الحصول عليها عن طريق استخراج في الماء المقطر ، في درجة حرارة (80) لمدة 2 ساعة ، ثم يتم ترسيبهم عن طريق إضافة الايثانول. تبلغ نسبة المردود للسكريات القابلة للذوبان في الماء 3.5٪ ، وقد أعطت دراسة تركيبة المستخلص الخام من متعدد السكريات القابلة للذوبان في الماء متوسط قيم:السكريات المرجعة 9،70٪ ، و نسبة السكريات الإجمالية 9،72٪. من هذه ، 4.75 ٪ هي سكريات متعادلة و 0 ٪ هي سكريات حمضية.كسر متعدد السكريات بواسطة TFA 2(م) لمدة 4 ساعات عند 100 درجة مئوية. بعد التحليل بواسطة كروماتوغرافيا ذات الطبقة رقيقة (CCM) ، أرابينوز ، جلوكوز ، جالاكتوز ومانوز. إن تنوع البنية الملاحظة السكريات المتعددة يجعل من الممكن أن نأمل في الحصول على مجموعة واسعة من الخصائص الحيوية. دراسة نشاط المضاد للسكري ومضادات الأكسدة من السكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء تتعلق بتحديد قوتها المثبطة لأنزيم α-D-glycosidase وراديكالي DPPH على التوالي. وأظهرت الدراسة أن مستخلص متعدد السكريات لديه قوة تثبيطية ملحوظة من α-D-glycosidase وهو 42.5٪ عند التركيز الأقصى ، مقارنة مع أكربوز كعامل تحكم إيجابي ذو قوة عالية. مثبط 100 ٪ ولديه قوة مضادة للأكسدة قوية 93،31%

الكلمات الدالة : السكريات المتعددة ، *أم دريقة*، النشاط المضاد للسكري ، نشاط مضادات الأكسدة ، الصحراء.