RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie Appliquée

Intitulé :

Contribution à l'étude des polysaccharides de *Balanites aegyptiaca*: Activités biologiques

Présenté et soutenu par M^me^ NIOU Kaouthar

M^lle^ ZERROUD Bouthayna

Devant le jury composé de:

Président du jury: BOUAL Zakaria Professeur Univ Ouargla

Examinateurs: CHOUANA Toufik MCB Univ Ouargla

Promoteur: OULD EL HADJ Mohamed Didi Professeur Univ Ouargla

Co- Promoteur: SEDDIKI Malika MAB Univ Ghardaïa

Année universitaire 2019- 2020

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nos avoir donné la force, le courage, la persistance et nos ont permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nos avoir éclairé le chemin de la réussite.

On exprime nos profonds remerciements

A Monsieur OULD EL HADJ Mohamed Didi, Professeur au Département des Sciences biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire.

A notre Co-encadreur M^{lle} SEDDIKI Malika, maître assistante B au Département des Sciences biologiques de l'Université de Ghardaïa, pour votre aide et vos conseils incessants, vos suggestions, vos orientations tout au long de ce travail.

A Monsieur BOUAL Zakaria, Professeur 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 accepté de présider le jury de ce mémoire.

A Monsieur CHOUANA Toufik, Maître Conférence 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 accepté de juger ce travail.

Dédicace

A mes parents,

En témoignage de leur amour et soutien

Que dieu les préserve en bonne santé

Et leur accorde longue vie,

A mon mari de leur soutien et encouragement

A ma chère fille *Iline,*

A toute ma famille et mes amis,

A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui

existent au fond de mon cœur et de ma pensée.

Kaouthar.

Je dédie cet humble travail à toutes les personnes qui m'ont encouragé à faire de mon mieux et à poursuivre les plus hautes étapes de l'éducation et de la connaissance,

À mon père ***Masoud*** qui m'a toujours poussé à réaliser mes rêves et à croire en mes capacités avec ses encouragements et son soutien, car il a toujours été le rocher de notre famille

À ma mère ***BOUSEBSI Razika*** la femme la plus aimante et la plus attentionnée du monde, toujours souriante et mettant les autres devant elle, vous êtes la lumière de notre maison,

À mes frères: ***Muhammad Ouail*** et ***Muhammad Ouassim*** pour leur soutien et leur amour,

A mes sœurs: ***Asma*** et ***Raouan*** pour toute joie et tous les bons souvenirs,

Pour les familles de ***Zerroud***, ***Bosebessi*** et ***Belkheir,***

A mes amis proches: ***Haouaa*** et ***Basma (Asmaa)*** qui peu importe à quelle distance nous sommes toujours dans les pensées de l'autre,

A tous les collègues que j'ai rencontrés pendant mes années scolaires,

À tous les professeurs et enseignants

Merci

Bouthayna

Liste des abréviations

A: Absorbance

ABTS: 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique

AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens

APR: Pouvoir anti-radicalaire

***B. aegyptiaca*:** *Balanites aegyptiaca*

DPPH: 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl

DT2: Diabète de type 2

EA: Erythrocyte Animale

EC_{50}: Concentration effective à 50%

EOA: Espèces Oxygénées Activées

ERN: Espèces Réactives de l'azote

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène

Glc: Glucose

GVB: Gelatin veronal buffer

$IC_{50:}$ Concentration inhibitrice

IL: Interleukine

kDa: kilo Dalton

LT: lymphocytes B

LB: Lymphocytes T

NADPH: Nicotinamide Adénine Di-nucléotide Phosphate

NHS: Sérum humain normal

NK: Natural Killer

NOS : Nitric Oxide Synthase

pH: potentiel d'hydrogène

p-NPG: p-nitrophényl-α-D-glucopyranoside

PM: Poids moléculaire

PR: Pouvoir Réducteur

SRBC: Sheep Red Blood Cell

tr / min: Tour/minute

VBS: Serum veronal buffer

XG: Xyloglucanes

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Fruits de *Balanites aegyptiaca*	**3**
2	Différentes parties de la plante *Balanites aegyptiaca*	**5**
3	Répartition de la plante *Balanites aegyptiaca* dans l'Afrique	**6**
4	Structure chimique de carraghénanes	**11**
5	Structure chimique d'agar-agar	**12**
6	Structure chimique de l'alginate	**13**
7	Structure chimique de glycogène	**14**
8	Structure chimique de l'héparine	**14**
9	Structure chimique de l'amidon	**15**
10	Structure branchée de l'amylopectine	**16**
11	Structure linéaire de la molécule d'amylose	**16**
12	Structure chimique de la cellulose	**17**
13	Structure d'un arabinoxylane	**18**
14	Structure d'un xylène acide	**18**
15	Représentation schématique des xyloglucans	**19**
16	Galactomannanes	**19**
17	Galactoglucomannanes	**20**
18	Représentation schématique de la structure primaire des pectines	**21**
19	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	**23**
20	Différentes pathologies provoquées par ROS	**24**
21	Physiopathologie du diabète de type 2	**26**
22	Recrutement de cellules immunitaires au cours de l'inflammation	**30**
23	Schéma d'activation et d'amplification de la voie classique de complément	**32**
24	Schéma d'activation et d'amplification de la voie alterne de complement	**32**
25	Voies d'activation du complément	**33**
26	Réduction de radical libre DPPH$^{\cdot}$ par l'agent antioxydant	**40**
27	Schéma illustrant les expériences sur l'activité anti-inflammatoire des extraits	**50**

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Principales espèces réactives de l'oxygène	**22**
II	Matériel et réactifs du test anti-radicalaire DPPH.	**40**
III	Matériel et réactifs de Chélation du fer ferreux	**41**
IV	Matériel et réactifs de Test ABTS	**42**
V	Matériel et réactifs de Test FRAP	**44**
VI	Matériel et réactifs d'inhibition de l'α-glucosidase.	**45**
VII	Matériel et réactifs d'Inhibition de l'activité d'α-amylase	**46**
VII	Matériel et réactifs d'Inhibition de dénaturation des protéines	**49**
IX	Matériel et réactifs de Stabilisation membranaire des globules rouges	**52**
X	Matériel et réactifs d'Activité anti-complément par la voie classique	**54**
XI	Matériel et réactifs d'Activité immunomodulatrice	**56**

Table de matière

Remerciements

Dédicaces

Liste d'abréviations **I**

Liste des tableaux **II**

Liste des figures **III**

Introduction **1**

Chapitre I.- ***Balanites aegyptiaca***

I.1.- Famille **3**

I.2.- Espèce **4**

I.2.1.- Position systématique **4**

I.2.2.- Description botanique **5**

I.2.3.- Répartition géographique **5**

I.4.- Utilisation traditionnel **6**

I.2.5.- Métabolites secondaires **7**

I.2.6.- Activités biologiques **7**

I.2.6.1.- Activité anti-inflammatoire **7**

I.2.6.2.- Activité antidiabétique **7**

I.2.6.3.- Activité antibactérien **8**

I.2.6.4.- Activité anticancéreuse **8**

Chapitre II.- Polysaccharides

II.1.- Définition **9**

II.2.- Structure des polysaccharides **9**

II.3.- Rôle des polysaccharides **9**

II.3.1.- Réserve énergétique **10**

II.3.2.- Rôle structurel **10**

II.4.- Classification des polysaccharides **10**

II.4.1.- Classification selon leur composition osidique **10**

II.4.1.1.- Homopolysaccharides **10**

II.4.1.2.- Hétéropolysaccharides **10**

II.4.2. -Classification selon l'origine **11**

II.4.2.1.- Polysaccharides bactériens et fongiques **11**

II.4.2.1.1.- Galactanes sulfates **11**

II.4.2.1.1.1.- Carraghénanes **11**

II.4.2.1.1.2.- Agar **12**
II.4.2.1.2.- Alginate **12**
II.4.2.2.- Polysaccharides animaux **13**
II.4.2.2.1.- Glycogène **13**
II.4.2.2.2.- Héparine **14**
II.4.2.3.- Polysaccharides végétaux **14**
II.4.2.3.1.- Amidon **15**
II.4.2.3.2.- Amylopectine **15**
II.4.2.3.3.- Amylose **16**
II.4.2.3.4.- Cellulose **16**
II.4.2.3.5.- Hémicellulose **17**
II.4.2.3.5.1.- Xylènes **17**
II.4.2.3.5.2.- Xyloglucane **18**
II.4.2.3.5.3.- Mannane et glucomannane **19**
II.4.2.3.5.4.- Glucane à liaison mixte **20**
II.4.2.3.6.- Pectines **20**
II.4.2.3.7.- Exsudat et mucilage **21**

Chapitre III.- Activités biologiques des polysaccharides

III.1.- Activité anti-oxydante **22**
III.1.1.- Stress oxidant **22**
III.1.2.- Radicaux libres **22**
III.1.3.- Activité antioxydante des polysaccharides **24**
III.2.- Activité anti-diabétique **25**
III.2.1.- Diabète **25**
III.2.2. Physiopathologie du diabète de type 2 **26**
III.2.3.- Diabète et phytothérapie **26**
III.2.4. Enzymes cibles **27**
III.2.4.1.- α-amylase **27**
III.2.4.2.- α-glucosidase **27**
III.2.5.- Activité antidiabétique des polysaccharides **28**
III.3.- Activité anti-inflammatoire **28**
III.3.1.- Inflammation **29**

III.3.2.- Mécanismes de l'inflammation **29**
III.3.2.1.- Stade des réactions vasculo-sanguines **29**
III.3.2.2.- Stade des réactions cellulaires (phase productive) **29**
III.3.2.3.- Stade de cicatrisation **29**
III.3.3.- Anti-inflammatoires **30**
III.3.3.1.- Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) **30**
III.3.3.2.- Anti-inflammatoires hormonaux ou Stéroïdiens (corticoïdes) **30**
III.3.4.- Activité anti-inflammatoire des polysaccharides **30**
III.4.- Activité anti-complément **31**
III.4.1.- Voies 'activation de complément **31**
III.4.2.- Maladies liées au complément **33**
III.4.2.1.- Déficit héréditaire en protéines du complément et infections **33**
III.4.2.2.- Déficits liées avec auto-immune complexes **34**
III.4.3.- Activité anti-complément des polysaccharides **34**
III.5.- Activité immuno-modulatrice **35**
III.5.1.- Immuno-modulation **35**
III.5.2.- Rôle immuno-modulatrice des polysaccharides **36**

Chapitre IV.- Etude de quelques activités biologiques des polysaccharides

IV.1.- Activité anti-oxydante **39**
IV.1.1.- Test anti-radicalaire par le dosage au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) **39**
IV.1.2.- Chélation du fer ferreux **41**
IV.1.3.- Test ABTS **42**
IV.1.4.- Test FRAP (Ferric reducing antioxidant Power) **43**
IV.2.- Activité antidiabétique **44**
IV.2.1.- Inhibition de l'α-glucosidase **44**
IV.2.2.- Inhibition de l'activité d'α-amylase **46**
IV.3.- Activité anti-inflammatoire **48**
IV.3.1.- Inhibition de dénaturation des proteins **48**
IV.3.1.1.- Méthode de l'ovalbumine **49**
IV.3.1.2.- Méthode de la BSA **50**
IV.3.2.- Stabilisation membranaire des globules rouges **51**

Table de matière

IV.4.- Activité anti-complément	**53**
IV.4.1.- Activité anti-complément par la voie classique	**53**
IV.4.2.- Activité anti-complément par la voie alternative	**55**
IV.5.- Activité immunomodulatrice	**55**
Conclusion	**58**
Références bibliographiques	**60**
Résumé	**71**

Introduction

Depuis la dernière décennie, les composés chimiques extraits des plantes et d'algues présentent un intérêt primordial en tant que sources de nouvelles bio-activités potentielles. Une grande variété d'activités biologiques à partir de plantes médicinales ont été récemment rapportées, en plus de leurs effets médicinaux traditionnels. Les médicaments à base de plantes ont suscité un intérêt considérable en tant que remèdes alternatifs contre le cancer en raison de leur faible toxicité et de leur faible coût **(BOUAL *et al.,* 2015).**

De l'antiquité, l'homme essaie de trouver des moyens efficaces contre les maladies à partir son environnement. Les extraits des plantes étaient, déjà, connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales **(DIALLO et DIOUF, 2000).**

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé, autour de 80% de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour le soin de santé **(GOMES *et al.,* 2012).**

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, il existe la famille des zygophyllaceae, cette dernière est largement distribuée dans les régions sahariennes. De nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Balanites aegyptiaca* largement utilisé pour traiter plusieurs maladies.

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, ils accumulent fréquemment des composés bioactifs comme les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoides et les polysaccharides. Ces molécules utilisables par l'homme dans de différents domaines: culinaires, agricole et médicinale **(AMAS, 1997; JEAUN *et al.,* 2005).**

Les polysaccharides sont des composés bioactives qui l'on retrouve dans tous les règnes (végétal, animal et microbien). Ce sont composés d'enchaînements d'unités osidiques reliées par des liaisons glycosidiques pour avoir la configuration α ou β. Ces chaînes peuvent être linéaires ou ramifiées. Ils sont composés de plus de dix monosaccharides pouvant compter plusieurs milliers d'unités et peuvent avoir des poids moléculaires considérables **(MOUSSARD ,2006; BRUNETON, 2009).**

Les polysaccharides ne sont pas seulement utilisés comme réserves énergétiques par les êtres vivants, mais également pour assurer de nombreuses fonctions biologiques (**Yang *et al.*; 2009)**. Ces macromolécules sont fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, pour leurs propriétés technologiques, physiologiques et pharmaceutiques, sont des acteurs importants dans l'économie mondiale **(THEO *et al.;* 2008).**

Les études sur les activités biologiques des polysaccharides ont attire beaucoup l'attention des scientifique dans les dernières décades. En effet les polysaccharides ont été signalés à présenter une multitude d'activités biologiques, une activité antioxydante **(PARASCHOS *et al.,* 2007 ;SCHAICH *et al*., 2015)**, une activité anti-inflammatoire **(KAR *et al.,* 2012 ;GADAMSETTY *et al*.,2013)**, une activité antidiabétique **(DERFOUFI et *al.*,2010)**, une activité immunomodulatrice **(BERRI *et al*., 2015; MAYOUF, 2019),** une activité anti-complément **(PARK et al., 2012; WANG et al., 2016).**

Le présent travail est une étude bibliographique structuré en quatre chapitres. Les trois premiers chapitres portent sur des généralités sur les polysaccharides et leurs activités biologiques. Le quatrième chapitre aborde le protocole adopté pour l'étude de quelques activités biologiques des polysaccharides *in vitro*. Une conclusion achève ce travail.

Chapitre I:

Balanites aegyptiaca

Chapitre I.- *Balanites aegyptiaca*

Balanites aegyptiaca (L.) Delile, communément appelée datte du désert, est une plante ligneuse appartenant à la famille des Zygophyllaceae originaire d'Afrique tropicale. *Balanites aegyptiaca* pousse dans la région du Sahel où il est confronté à de multiples défis environnementaux, en particulier la désertification, et il joue un rôle multifonctionnel dans la vie quotidienne des populations locales **(SAGNA *et al.*, 2014).**

Figure 1.- Fruits de *Balanites aegyptiaca* **(https://africawassa.com)**

I.1.- Famille

Cette famille comprend environ 25 genres et 500 espèces; elle est représentée dans tous les continents mais principalement dans les régions arides: ainsi au Sahara on observe 7 genres et 27 espèces, c'est-à-dire que les Zygophyllacées forment plus de 3% de la flore de notre désert. Parmi ces Zygophyllacées sahariennes, plus du tiers des espèces et de nombreuses variétés sont des endémiques du Sahara; c'est, sous le rapport de l'endémisme, le groupe le plus intéressant de toute la flore nord-africaine. **(OZENDA, 2004).**

Les Zygophylloideaes regroupées en quatre genres :

- Augea (monotypique),
- Tetraena (monotypique),
- Fagonia (30 espèces),
- Zygophyllum (150 espèces)

A coté des quatre autres sous-familles: Larreoideae, Morkillioideae, Seetzenioideae et Tribuloideae **(AYAD, 2008).**

Depuis de nombreuses années, il y a des conflits pour la position familiale des Balanites, alors que certains auteurs ont reconnu les Balanites comme un membre de la famille des Zygophyllaceae, d'autres botanistes ont reconnu les Balanitacées comme une famille monotypique) **(Rojas-Sandoval, 2016).**

Dans la dernière classification révisée et mise à jour des familles d'angiospermes, le genre Balanites est classé dans la famille des Zygophyllaceae, sous-famille des Tribuloideae. Actuellement, le genre Balanites comprend 9 espèces, dont sept se trouvent en Afrique et les deux autres en Asie **(Rojas-Sandoval, 2016).**

I.2.- Espèce

L'espèce de *Balanites aegyptiaca* L a été plantée en Egypte depuis plus 4000 ans. Plusieurs synonymes peuvent aussi être rencontrés pour le désigner [*Ximenia aegyptiaca* L. (*Balanites roxburghii* Planch), *Agialida senegalensis* Van Tiegh., *Agialida barteri* Van Tiegh., *Agialida tombuctensis* Van Tiegh., *Balanites ziziphoides* Milbr et Schlechter, *Balanites latifolia* Van Tiegh.]**(DIEDHIOU, 2017).**

❖ **Noms vernaculaires**

- Dattier du désert, Balanite ou Hagueleg en Français
- Desert date, Soapberry tree, Thorn tree en Anglais
- Soump en Wolof (langue nationale sénégalaise) **(DIEDHIOU, 2017).**
- Hadjilidge; heglig; hejlij; zacon en arabe

I.2.1.- Position systématique

Domaine: Eukaryota

Royaume: Plantae

Embranchement: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Classe: Dicotyledonae

Sous-classe: Geraniales

Famille: Balanitacées

Genre: Balanites

Espèce: *Balanites aegyptiaca* **(Rojas-Sandoval, 2016).**

I.2.2.- Description botanique

Arbre ou arbuste, pouvant atteindre 7 à 8 m, très rameux, à jeunes rameaux allongés, tomenteux, à feuilles alternes composées de deux folioles ovales- lancéolées et portant à leur base des épines qui peuvent atteindre 7 cm **(Ozenda, 2004).**

À 5-8 fleurs subsessiles. Sépales 5, pubescents. Pétales 5, linéaires. Etamines 5 **(Quézel, 1963).**

Figure 2.- Différentes parties de la plante *Balanites aegyptiaca*

(www.plantsforafuture.com)

Le fruit c'est une drupe de la taille d'une prune et légèrement à cinq rainures composée d'épicarpe (5% –9%), mésocarpe (28% –33%), endocarpe (49% –54%) et noyau (8% –12%). Les fruits immatures sont vert et pubescent, devenant jaune à brunâtre et glabre après maturation avec un doux-amer goût **(ABDELAZIZ *et al.*, 2020).**

I.2.3.- Répartition géographique

Balanites aegyptiaca existe spontanément dans les zones arides**.** Cette espèce présente en Afrique depuis le Sénégal, sur la côte atlantique jusqu'aux côtes somaliennes du golfe d'Aden, au sud de la vallée du Jourdain jusqu'au sud du Zimbabwe. Cette plante est considéré comme originaire d'Afrique, du Moyen-Orient **(CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011).**

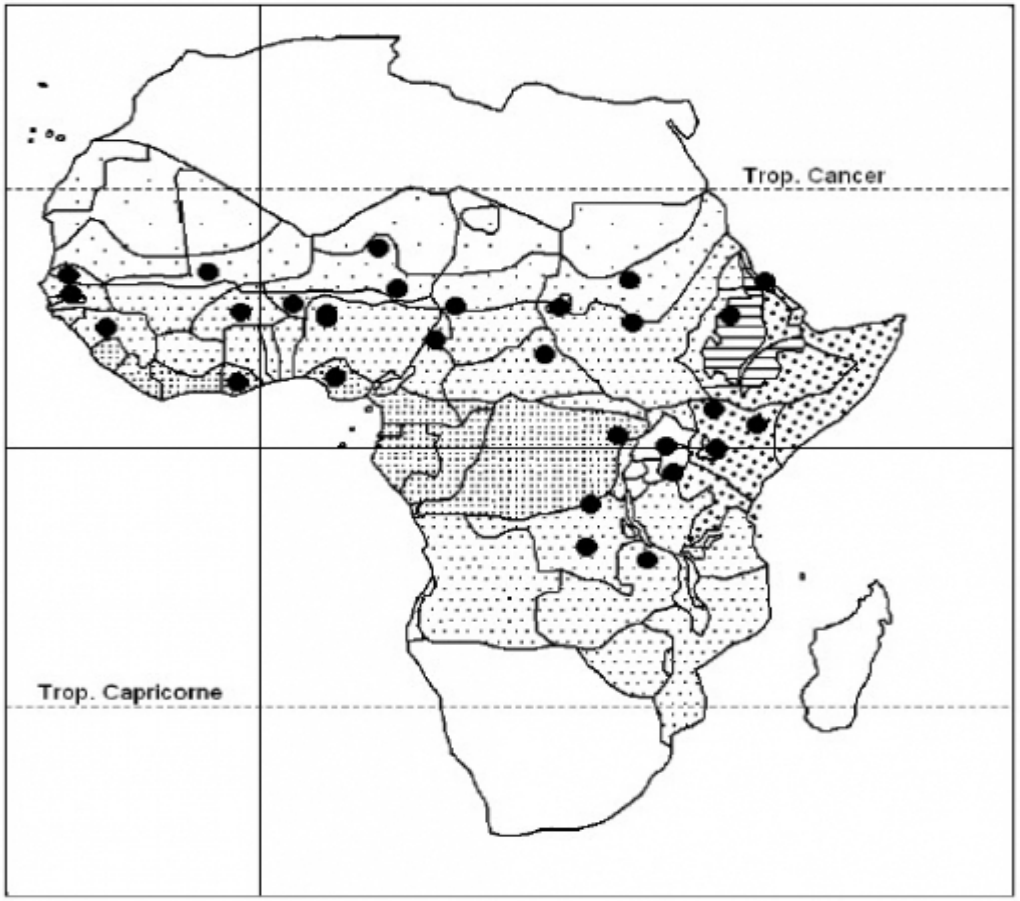


Figure 3.- Répartition de la plante *Balanites aegyptiaca* en Afrique **(https://books.openedition.org)**

I.2.4.- Utilisation traditionnelle

Les utilisations de l'espèce *Balanites aegyptiaca* sont nombreuses dans les pays africains, selon la partie de plante utilisée on distingue:

Les graines: sont utilisées comme expectorant et fébrifuge, antibactérienne et antifongique. L'huile de graines est utilisée pour traiter les tumeurs et les plaies, et pour traiter les maux d'estomac, l'ictère, la fièvre jaune, la syphilis et l'épilepsie **(CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011).**

Les fruits: sont utilisés dans la coqueluche, également dans la leucodermie et d'autres maladies de la peau. En médecine populaire égyptienne, les fruits sont utilisés comme hypoglycémiant oral et antidiabétique. Dans la médecine populaire soudanaise l'extrait aqueux du mésocarpe de fruit est utilisé dans le traitement de l'ictère. Le fruit entre aussi dans les préparations alimentaires et pour traiter la dysenterie et la constipation aussi les maladies du foie **(CHOTHANI et VAGHASIYA, 2011).**

L'arbre est très apprécié dans tout le Sahel et le Sahara régions pour ses bois (propices à la cuisson), ses fruits comestibles (mésocarpe sucré et huile de noyau nutritive), valeur de l'alimentation animale, ombre et abri et nombreuses utilisations ethnomédicinales **(ABDELAZIZ *et al.*, 2020).**

I.2.5.- Métabolites secondaires

Balanites aegyptiaca contient des nombreux métabolites secondaires, tels que: des stéroïdes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des coumarines et en particulier des saponines **(Mohamed *et al.*, 2002).**

Le noyau du fruit contient une quantité considérable de huile nutritive (40% à 51%) composée de 11 acides gras différents comprenant à la fois des acides gras saturés (principalement palmitiques et stéarique) et insaturé (principalement oléique et linoléique). Le noyau du fruit est également riche en protéines (26,1% à 34,3%) et contiendrait une quantité variable de polyphénols (47,8 à 117,5 mg / 100 g).

Cependant. Les saponines, appelées balanitinis. Autres composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins et les vitamines ont été signalés dans le fruit ainsi que dans les feuilles, les branches et les racines de la datte du désert **(ABDELAZIZ *et al.*, 2020).**

I.2.6.- Activités biologiques

B. aegyptiaca est une espèce avec multiple activités biologique, parmi ces dernières on cite:

I.2.6.1.- Activité anti-inflammatoire

Les extraits des parties aériennes de *B. aegyptiaca* auraient une action anti-inflammatoire importante sur le rat. L'extrait montré des effets anti-inflammatoires plus que les médicaments standards. Il a également indiqué que l'extrait éthanolique de *B. aegyptiaca* présentait une activité plus importante dans le traitement de la douleur et de l'inflammation **(Rojas-Sandoval, 2016).**

I.2.6.2.- Activité antidiabétique

La saponine pure extraite du mésocarpe du fruit de balanites, et l'extrait aqueux ont été rapportés comme agent hypoglycémiant lors de tests sur des rats albinos à différentes doses **(Rojas-Sandoval, 2016).**

Dans la médecine traditionnelle égyptienne, le mésocarpe du fruit de *Balanites aegyptiaca* est couramment utilisé comme médicament antidiabétique oral **(ABOU KHALIL, 2016).**

Les présentes études ont révélé que l'extrait aqueux de *Balanites aegypticea* a des propriétés hypoglycémiques. Il peut diminuer le taux de glucose plasmatique et peut améliorer le poids chez les animaux de laboratoire diabétiques **(BARAGOB *et al.*, 2014).**

I.2.6.3.- Activité antibactérienne

Les extraits aqueux et organiques de feuilles de *B. aegyptiaca* auraient un effet antibactérien contre *Salmonella typhi* isolé de la culture de caillots sanguins par l'utilisation de la méthode de diffusion en disque **(Rojas-Sandoval, 2016).**

I.2.6.4.- Activité anticancéreuse

Un mélange de saponines stéroïdiennes isolées des grains de *B. aegyptiaca*, démontré des effets anticancéreux *in vitro* sur des lignées cellulaires cancéreuses humaines **(Rojas-Sandoval, 2016).**

Chapitre II.-

Polysaccharides

Chapitre II.- Polysaccharides

II.1.- Définition

Les polysaccharides sont des polyosides formés par la polymérisation des monomères saccharidiques (n >10) liées entre eux par des liaisons glycosidiques. Ils peuvent être linéaires ou ramifiées, de configuration α ou β **(KESSOUS, 2011).**

A l'état naturel, la plupart des glucides sont sous la forme de polysaccharides de PM élevés **(KESSOUS, 2011).** Les polysaccharides sont présents dans la plupart des organismes vivants, ils se trouvent dans les micro-organismes, les animaux et principalement dans les végétaux **(MERGHEM, 2009).**

II.2.- Structure des polysaccharides

Les polysaccharides sont composés de nombreux résidus de monosaccharides qui sont joints les uns aux autres par des liaisons O-glycosidiques **(IZYDORCZYK *et al.,* 2005).**

Les structures des polysaccharides contiennent généralement des chaînes latérales linéaires ou ramifiées, et le poids moléculaire est réparti sur une gamme de dizaines de milliers à des millions de polysaccharides à plusieurs groupes fonctionnels (groupes hydroxyle, amino et acide carboxylique). Les polysaccharides sont hautement hydrophiles car leurs structures contiennent un grand nombre de groupes hydroxyles. Les molécules de polysaccharides peuvent former des structures de réseau tridimensionnelles via des liaisons hydrogène, des forces de van der Waals, des liaisons covalentes, etc. De plus, la chaîne de polysaccharides à un grand degré de liberté et de flexibilité, et l'association inter-chaînes est facile. Ces caractéristiques rendent la conformation spatiale des polysaccharides très complexe **(REN *et al.,* 2019).**

La grande diversité des caractéristiques structurelles des polysaccharides, qui provient des différences dans la composition des monosaccharides, les types et

modèles de liaison, les formes de chaîne et le degré de polymérisation, leurs propriétés physiques, notamment la solubilité, le comportement à l'écoulement, le potentiel de gélification et / ou la surface et l'interracial propriétés. La diversité structurelle dicte également les propriétés fonctionnelles uniques présentées par chaque polysaccharide **(IZYDORCZYK *et al.*, 2005).**

II.3.- Rôle des polysaccharides

Les polysaccharides assurent deux principales fonctions; réserves énergétiques et la construction de structure.

II.3.1.- Réserve énergétique

On a principalement l'amidon qui est la réserve hydrocarbonée des végétaux **(MERGHEM, 2009).**

II.3.2.- Rôle structural

Il ya la cellulose qui est la constituant essentiel du bois (avec la lignine), et a une grande résistance mécanique ce qui explique l'emploi de certains fibres végétales comme textiles, et les hémicelluloses qui représentent 25 a 30% du bios chez les conifères **(MERGHEM, 2009).**

Aussi les pectines qui sont surtout abondantes dans les fruits, où elles assurent au départ la rigidité des tissus, elles sont progressivement hydrolysées au cours de la maturation **(MERGHEM, 2009).**

II.4.- Classification des polysaccharides

II.4.1.- Classification selon leur composition osidique

Les polysaccharides sont devisés en deux groupes selon leur composition en monomères, les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides **(MERGHEM, 2009).**

II.4.1.1.- Homopolysaccharides

Les polyosides homogènes sont constitués d'un seul type d'ose. On classe les homopolysaccharides d'après la nature de l'unité osidique qui les compose (TOUITOU, 2005). Par exemple, les glucanes sont des polymères de glucose et les galactanes sont des polymères de galactose **(MERGHEM, 2009).**

II.4.1.1.- Hétéropolysaccharides

Les hétéropolysaccharides sont constitués de plusieurs types d'oses comme leur nom l'indique. Les hétéropolysaccharides sont des molécules de haut poids moléculaire contenant au moins deux types d'unités monosaccharidiques formant un motif de base polymérisé. On classe les hétéopolysaccharides d'après la nature des principales unités osidiques qui les composent. Par exemple, les arabinoxylanes sont des polymères mixtes d'arabinose et de xylose. Le même principe s'applique pour classer les galactoarabanes, les galactomannanes etc **(VOET et VOET, 2005).**

Les hétéropolysaccharides sont généralement formés que de quelques types de monosaccharides qui alternent selon une séquence répétitive. Ces hétéroglycanes renferment deux groupes différents sont: les polysaccharides neutres et polysaccharides acides **(VOET et VOET, 2005).**

II.4.2.- Classification selon l'origine

On peut classer les polysaccharides en quatre groupes selon leurs origines.

II.4.2.1.- Polysaccharides bactériens et fongiques

Certains micro-organismes se développent sous la forme des agrégats. Comme les biofilms. Ce phénomène naturel d'organisation se trouve chez les micro-organismes de type eucaryotes et procaryotes résulte généralement de la fixation des micro-organismes sur un support à l'aide des composés ou substances polymériques extracellulaires, communément appelées en anglais «Extracellular Polymeric Substances» (E.P.S).Où les polysaccharides sont la principale composante. Elles jouent le rôle de l'adhésion des bactéries aux surfaces, l'agrégation des cellules, la reconnaissance et la protection cellulaire, la rétention en eau, la fixation des composés organiques ou bien inorganiques **(GARRIDO et *al.*, 2002).**

II.4.2.1.1.- Galactanes sulfatés

II.4.2.1.1.1.- Carraghénanes

Les carraghénanes sont des substances extraites des certaines algues rouges, ou rhodophyceae, ils sont des constituants des parois cellulaires, localisés dans la matrice amorphe.

On les trouve dans les cellules corticales et médullaires de tous les tissus des thalles **(BRUNETON, 2009).**

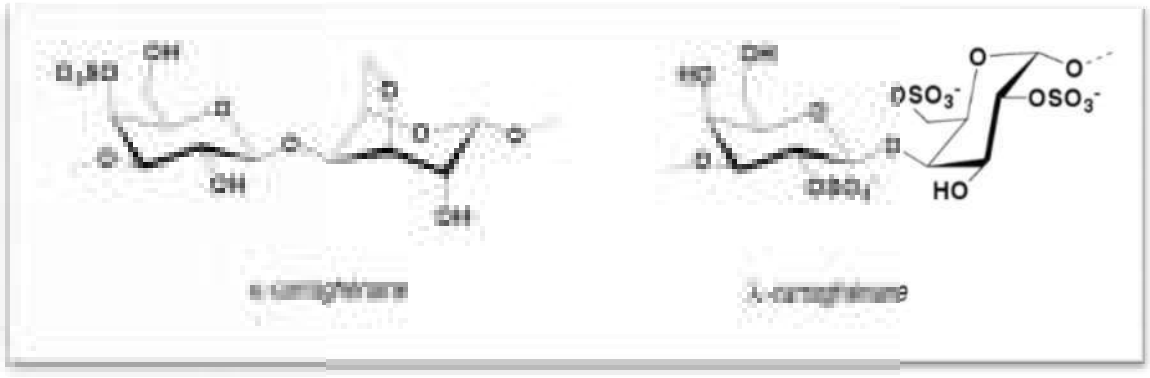


Figure 4.- Structure chimique de carraghénanes **(BRUNETON, 2009)**

II.4.2.1.1.2.- Agar

Agar –agar est un polysaccharide extrait de la matrice extracellulaire de la paroi de rhodophyceae principalement de genre Gelidium, c'est un polymère d'un sucre en C_6, le galactose. L'agar est un mélange de deux fractions agarose et agaropectine. Lorsque l'agar est mélangé à l'eau, la solution devient gélifiant, il suffit de la chauffer à 85-90$_o$ est de la laisser refroidir, l'agar est extrait par traitement des algues à l'eau bouillante, l'extrait est filtré à chaud, puis concentré et desséché **(BRUNETON, 2009).**

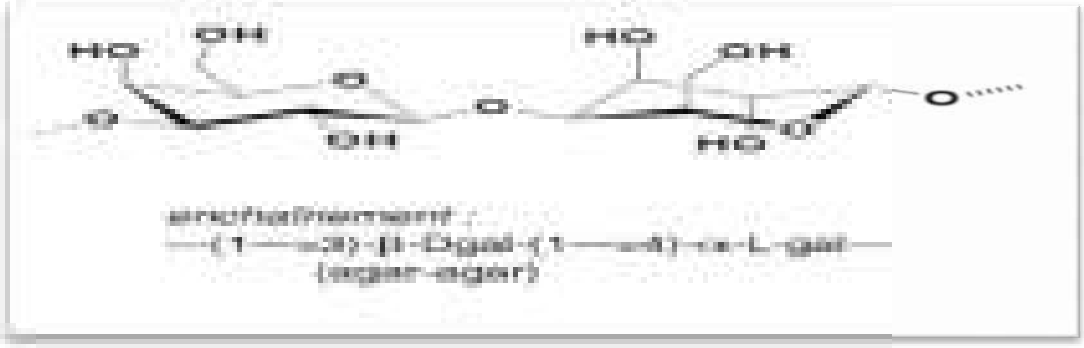


Figure 5.- Structure chimique d'agar-agar **(BRUNETON, 2009)**

II.4.2.1.2.- Alginate

Les alginates forment le principal matériau constitutif des algues brunes. Ils peuvent représenter jusqu'à près de 40% du poids sec de *Laminaria digitata* ou *Fucus serratus*. **(RANARIVELO, 2002; DELATTRE, 2005).**

L'acide alginique est un copolymère linéaire composé de deux unités monomères, l'acide D-mannuronique et l'acide L-guluronique. Le rapport des composants acide D-mannuronique et acide L-guluronique et leur séquence prédéterminer les propriétés observées pour l'alginate extrait de différentes algues sources **(LI ,2000)**.

Figure 6.- Structure chimique de l'alginate **(GARON-LARDIERE; 2004)**

II.4.2.2.- Polysaccharides animaux

Les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycanes (GAG) et sont issus des protéoglycanes **(BOUAL, 2009).** Les glycosaminoglycanes constituants de la substance fondamentale on trouve des molécules formées de 50 à 1000 unités saccharidiques dont les propositions varient selon le tissu et l'espèce. Les plus répandues de ces substances sont données ci-dessous: glycogène, acide hyaluronique kératine sulfate, dermatanes sulfates, chondritines, héparines et héparines sulfate **(VOET et VOET., 2005).**

II.4.2.2.1.- Glycogène

C'est la forme de stockage du glucose chez les animaux et chez certains organismes unicellulaires comme les levures **(WEIL, 2009).** Le glycogène s'accumule temporairement comme réserve énergétique dans les muscles squelettiques et dans le foie **(BLECHER-BARDELETTI *et al.*, 2014).**

La structure ramifiée du glycogène résulte d'une structure linéaire est fixée sur une protéine, et des ramifications apparaissent toutes les 4 à 10 résidus glucose fixées sur la chaine linéaire par des liaisons α (1→6) **(WEINMAN et MEHUL, 2004).**

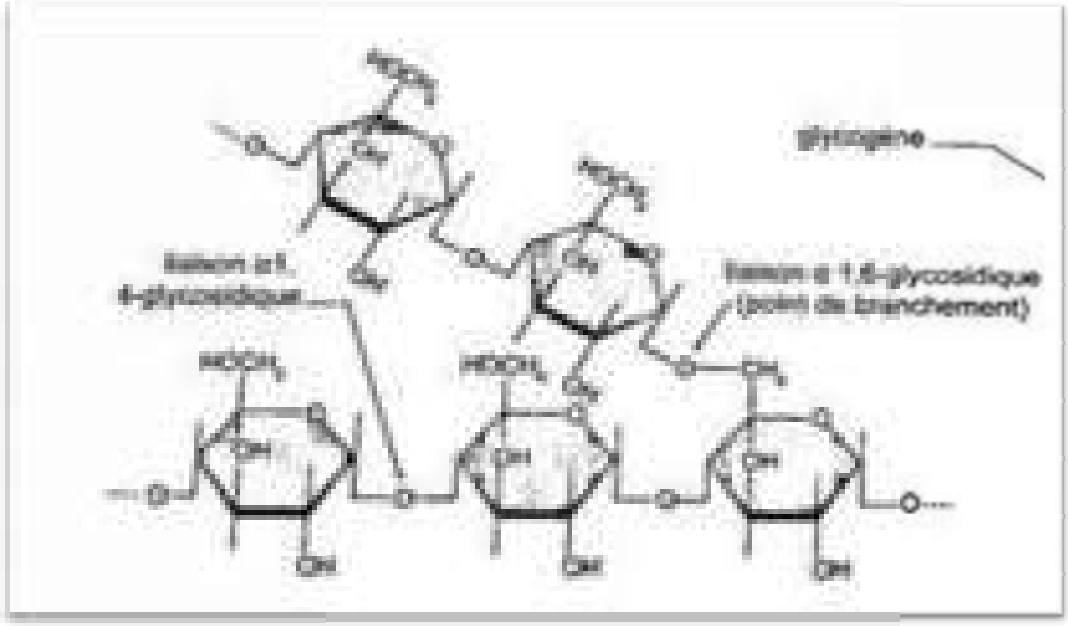


Figure 7.- Structure chimique de glycogène
(BLEICHER-BARDELLETTI *et al.*, 2014)

II.4.2.2.3.- Héparine

L'héparine est un polymère à grande affinité aux protéines formant ainsi un protéoglycanes à l'état natif. Il s'agit d'une molécule à activité anticoagulante immédiate. Il est utilisé dans le traitement curatif et préventif des maladies thromboemboliques **(MURRAY *et al.*, 1999).**

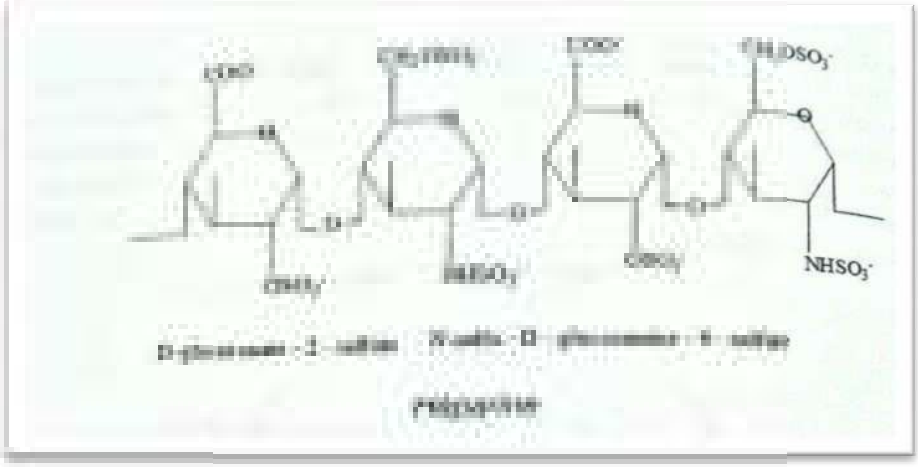


Figure 8.- Structure chimique de l'héparine **(HONS; 2012)**

II.4.2.3.- Polysaccharides végétaux

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. Il se distingue les polysaccharides de réserve (amidon), les polysaccharides de structures (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides exsudats (gommes) et les mucilages **(WARRAND, 2004).**

II.4.2.3.1.- Amidon

L'amidon est la forme principale de réserve carbonée chez les végétaux. Il est stocké en grande quantité sous forme de grains dans les organes de réserve dont la taille et la forme diffèrent selon les espèces végétales considérées. L'amidon est constitué d'amylose et d'amylopectine **(RUIZ, 2005).**

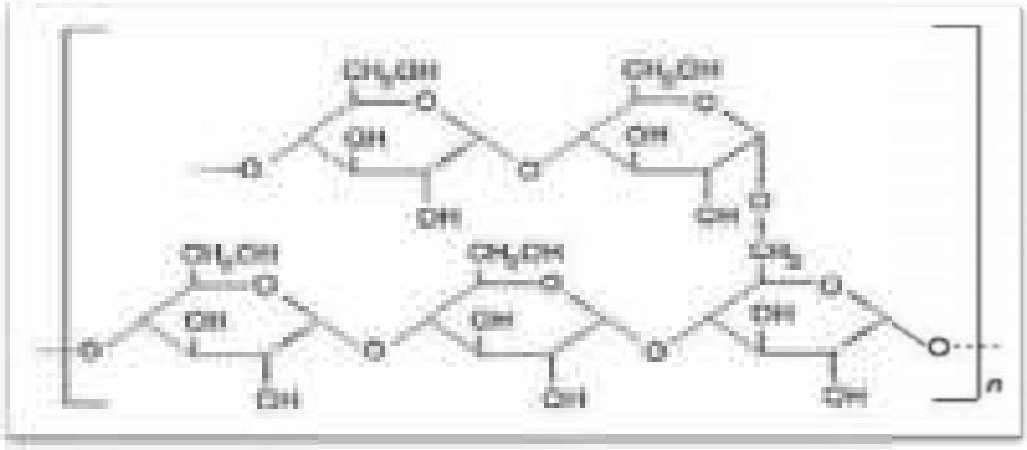


Figure 9.- Structure chimique de l'amidon **(COUTOULY, 2012)**

II.4.2.3.2.- Amylopectine

L'amylopectine, c'est le constituant majore du grain d'amidon (70 à 80 %), est formé de chaînes glucidiques liées en α-1,4 ramifiées en α-1,6 toutes les 12 unités glucidiques environ. La masse moléculaire élevée de ce polymère (107 à 108 Da) dépend de l'origine et des conditions de culture du matériel biologique étudié **(RUIZ, 2005).**

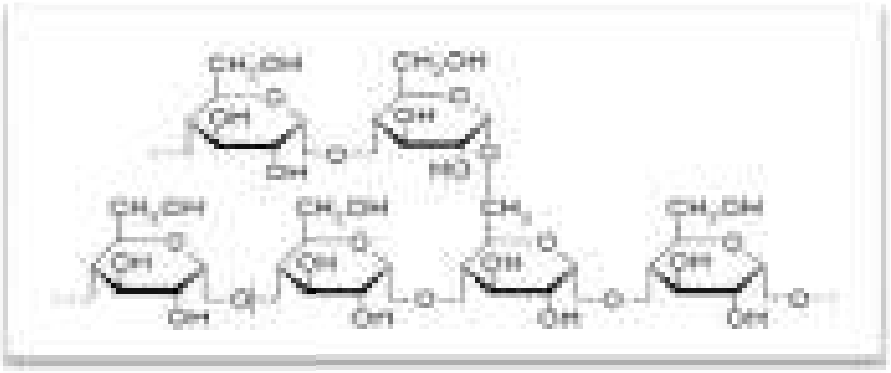


Figure 10.- Structure branchée de l'amylopectine **(RUIZ, 2005).**

II.4.2.3.3.- Amylose

L'amylose constitue une fraction mineure du grain d'amidon (20 à 30 %). Polymère linéaire de glucoses liés en α-1,4 ayant une masse moléculaire comprise entre104et 105 Da, l'amylose a la particularité de présenter une affinité pour l'iode. En effet, le complexe iode-amylose se colore en bleu au contraire l'amylopectine qui se colore en brun acajou en présence d'iode **(RUIZ, 2005).**

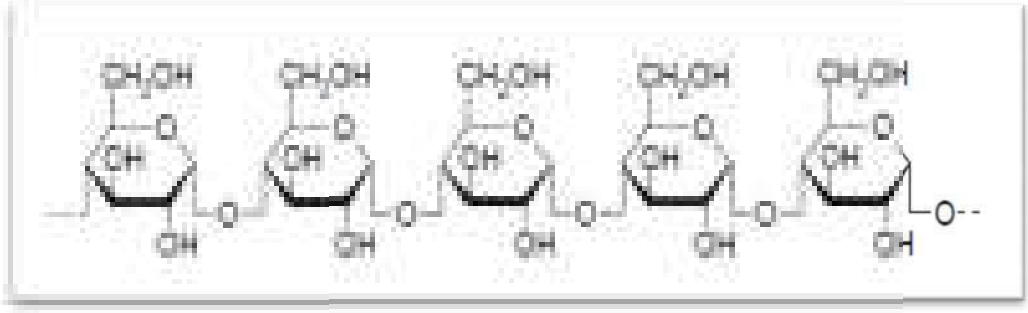


Figure 11.- Structure linéaire de la molécule d'amylose **(RUIZ, 2005)**

II.4.2.3.4.- Celluloses

La cellulose polysaccharides extrêmement abondant dans la nature puisque composant major des parois des cellules végétales, est un polymère du glucose; uniquement linéaire; avec l'enchainement β-D-glucopyranosyl (1→4) β-D-glucopyranose. La cellulose joue un rôle de soutien chez les plantes **(BARDELETTI et *al.*, 2014).**

Chez les plantes supérieures, la cellulose est synthétisée au niveau de la membrane cytoplasmique par des complexes intermembranaires. Il existe 4 états polymorphes de la cellulose (de la cellulose I à la cellulose IV) sur la base de la diffraction aux rayons X. La cellulose I (cellulose native), elle-même constituée de 2 allomorphes (Iα et Iβ (le plus stable)). La cellulose II est issue de la cellulose I après son traitement par de la soude, Cette conversion de la cellulose I en cellulose II est irréversible. La cellulose III est obtenue par traitements chimiques ou thermiques des celluloses I ou II **(PETERA, 2016).**

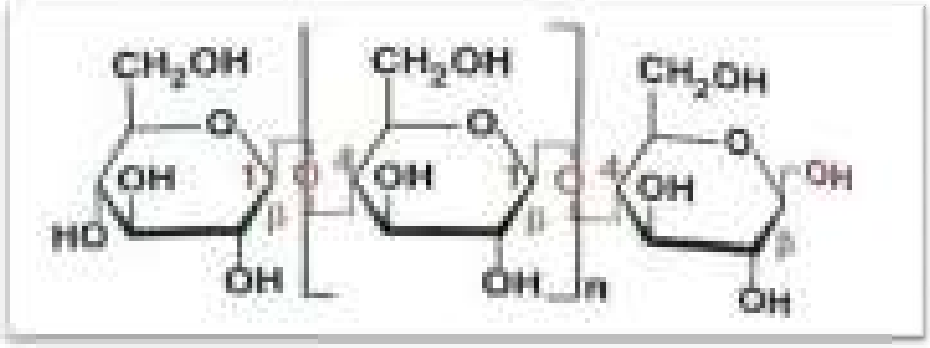


Figure 12.- Structure chimique de la cellulose **(QUENTIN, 2011)**

II.4.2.3.5.- Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont un groupe hétérogène de polysaccharides constituant les parois cellulaires des plantes supérieures; ces polysaccharides sont souvent enchevêtrés physiquement, liés de manière covalente et / ou non cavalière à la cellulose et aux lignines (**IZYDORCZYK *et al.,* 2005).**

Les hémicelluloses sont définies structurellement comme des polysaccharides dont le squelette est composé de résidus β-(1,4)-D-pyranose, où l'O4 est en position équatoriale.2 3 De courtes chaines latérales sont fixées sur le squelette **(WERTZ, 2011).**

Les hémicelluloses peuvent être classées en quatre grands groupes :

II.4.2.3.5.1.- Xylanes

Les xylanes sont un groupe complexe d'hémicelluloses qui présentent la caractéristique commune d'un squelette de résidus xylose reliés en *β*-1,4**(WERTZ, 2011).**

Ils peuvent être ramifiés par de courtes chaînes carbonées et leur variabilité structurale se manifeste par le degré et la nature des substitutions qui peuvent apparaître sur les C_2 et C_3 des unités xylose, tels que des résidus de L-arabinofuranose liés en *α*-1,3.

D'autres substituant sont l'acide glucuronique et son dérivé *O*-méthylé en position 4, liés en *α*-1,2 sur le squelette. Les xylènes porteurs de substituant arabinose, ceux porteurs de substituant acide glucuronique et son dérivé *O*-méthylé, ceux porteurs des deux types de substituant et ceux non substitués sont appelés arabinoxylanes, glucuronoxylanes, glucuronoarabinoxylanes et homoxylanes respectueusement. En outre, certaines unités xylose portent des groupes acétyles en position 2 et 3. Contrairement aux xyloglucans, les xylènes n'ont pas une structure relativement régulière basée sur la répétition de sous-unités oligosaccharidiques. Les glucuronoxylanes et les glucuronoarabinoxylanes ont un degré de polymérisation voisin de 200 et de 50 à 185 respectivement **(WERTZ, 2011).**

Figure 13.- Structure d'un arabinoxylane **(PETERA, 2016)**

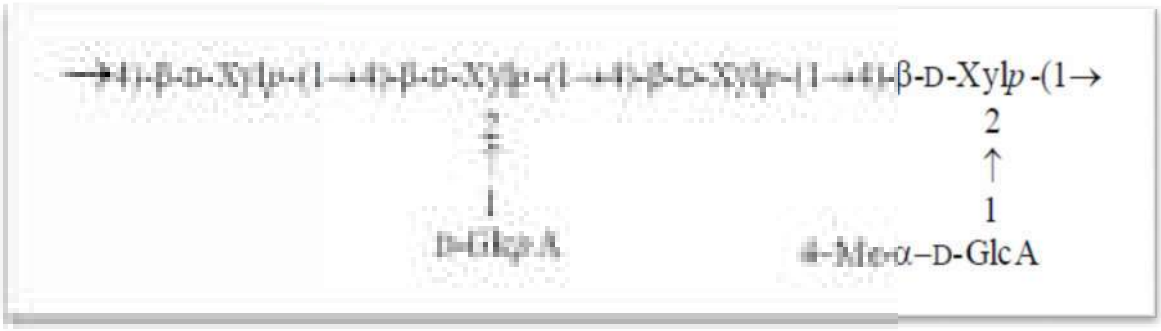


Figure 14.- Structure d'un xylane acide **(PETERA, 2016)**

II.4.2.3.5.2.- Xyloglucanes

Les xyloglucans sont les hémicelluloses prédominantes dans les parois primaires des dicots et des monocots où ils peuvent représenter 20-25% du poids sec de la paroi primaire **(WERTZ, 2011).**

Les xyloglucans sont composés d'un squelette identique à celui de la cellulose formé de résidus glucose liés en *β*-1,4. Par contre, jusqu'à 75% des résidus glucose des xyloglucans sont substitués en position O6 par des chaînes latérales mono-, di- ou trisaccharidiques. Lorsque le résidu glucose est branché, le premier ose qui lui est lié est l'α- D-xylopyranose via une liaison *α*-1,6 **(WERTZ, 2011).**

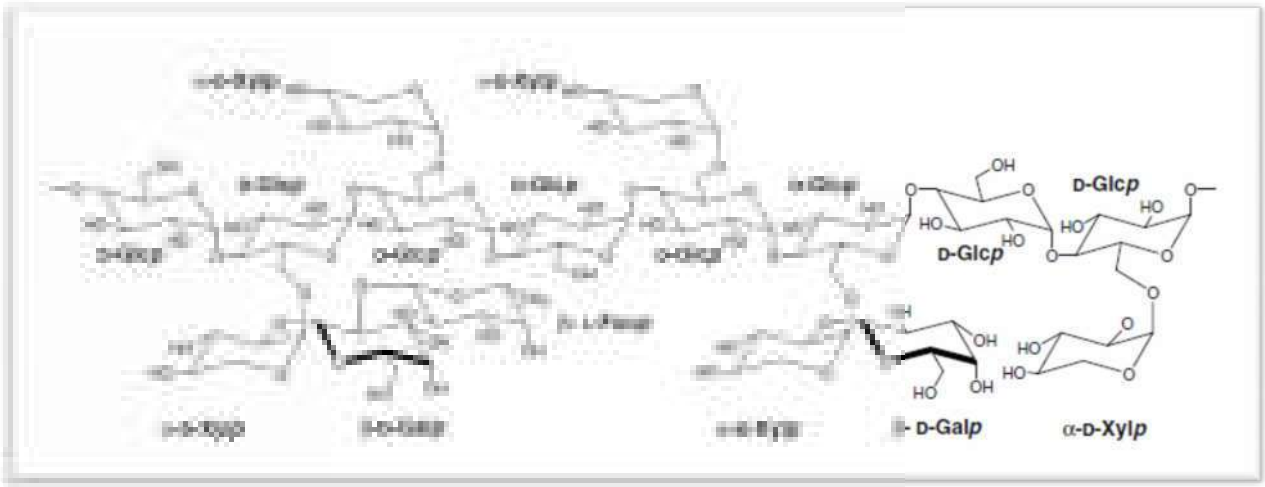


Figure 15.- Représentation schématique des xyloglucans
(IZYDORCZYK *et al.* 2005)

II.4.2.3.5.3.- Mannanes et glucomannanes

Les parois cellulaires des graines sont particulièrement riches en mannans et galactomannans (**IZYDORCZYK *et al.* 2005).**

Les mannanes ont un squelette de résidus D-mannose liés en β-1,4 tandis que les Glucomannanes ont un squelette de résidus D-mannose et D-glucose liés également en β- 1,4. Mannanes et glucomannanes peuvent être substitués en α-1,6 par des résidus D galactose, ils s'appellent alors galactomannanes et galactoglucomannanes. Mannanes et glucomannanes sont souvent acétylés **(WERTZ, 2011).**

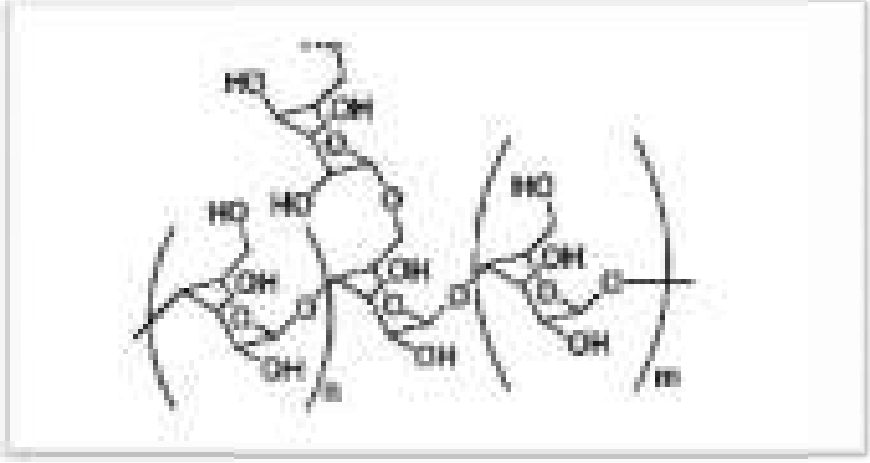


Figure 16.- Galactomannanes**(WERTZ, 2011)**

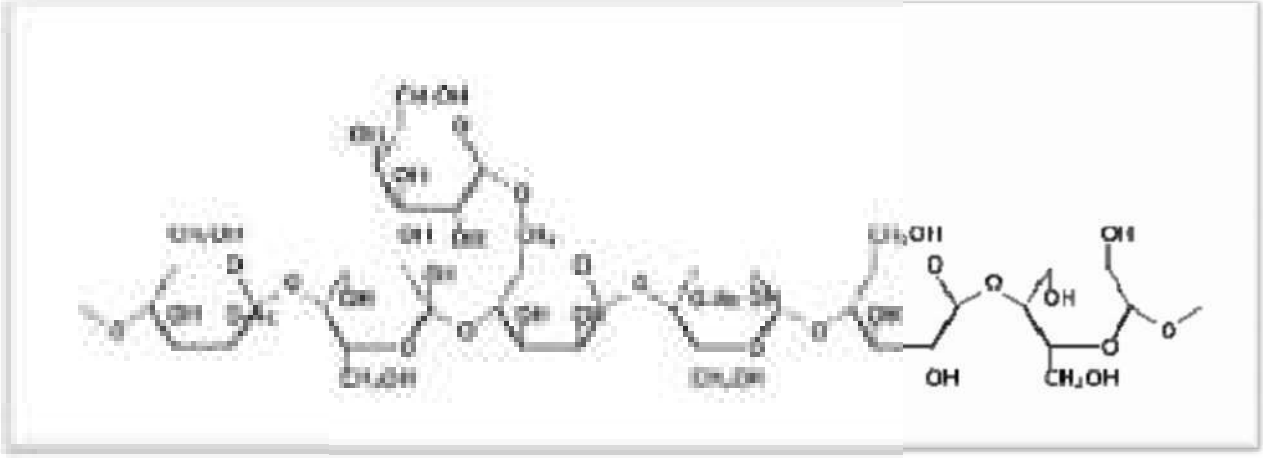


Figure 17.- Galactoglucomannanes **(WERTZ, 2011)**

4.2.3.5.4.- Glucanes à liaisons mixtes

Les β-1,3; 1,4-glucanes sont des chaînes non ramifiées de résidus D-glucose liés par des liaisons qui peuvent être β-1,3, ou β-1,4. Ils sont typiques des herbes et des membres de l'ordre des Poales. Ces glucanes à liaisons mixtes sont composés principalement d'unités cellotriosyl et cellotetrasyl liées par des liaisons β-1,3. Les glucanes à liaisons mixtes des parois primaires jouent un rôle significatif dans l'expansion de la cellule et leur teneur est très dépendante de l'état de croissance **(WERTZ, 2011).**

II.4.2.3.6.- Pectines

Les pectines sont des macromolécules exclusivement végétales de nature glucidique. Chez les végétaux supérieurs, les pectines représentent environ 30% de la masse des parois primaires de dicotylédones. Leurs voies de biosynthèses très complexes et leurs structures peuvent évoluer au cours du développement cellulaire. Ils sont essentiellement composés d'acides galacturoniques. De manière générale, leur nature évolue avec l'âge des tissus: d'abord insolubles elles assurent la rigidité des tissus, elles sont ensuite dégradées en sucres et en acides par voie enzymatique au cours du mûrissement **(PETERA, 2016)**.

On peut les diviser en deux sous-catégories: les substances pectiques acides (homogalacturonane, rhamnogalacturonane de types I et II, et les substances pectiques neutres (arabinanes, galactanes, arabinogalactanes) **(PETERA, 2016)**.

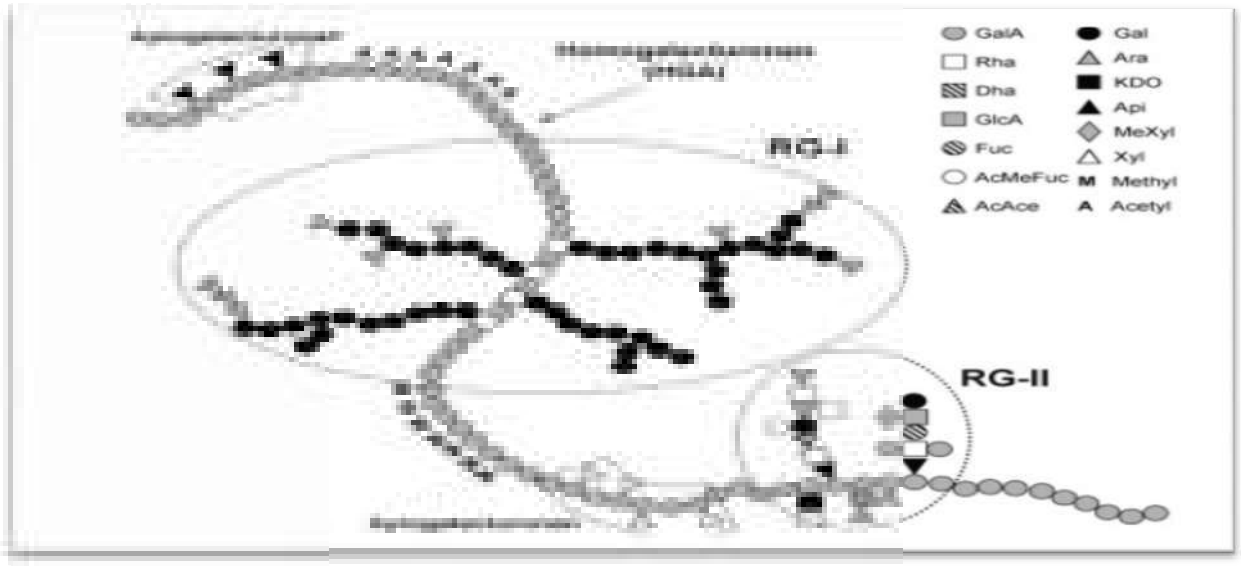


Figure 18.- Représentation schématique de la structure primaire des pectines **(PETERA, 2016)**

II.4.2.3.7.- Exsudats et mucilages

Les exsudats ou les gommes et les mucilages sont des classes de polysaccharides Végétaux très proches et difficilement dissociables **(BOUAL, 2009).**

Les exsudats ne sont pas de vraies gommes, ils n'exsudent pas, ils ont une structure plus simple. On l'extrait à partir des graines broyées en farine.

La caroube provient des graines du caroubier qui est un arbre de la famille des fabacées du bassin méditerranéen **(ALAIS *et al.*, 2008).**

Le mucilage tend à s'appliquer aux extraits provenant de graines ou aux substances qui coulent d'écorce ou de tissus souples (feuilles, tiges, racine) **(BOUAL, 2014).**

Chapitre III.-

Activités biologiques des polysaccharides

Chapitre III.- Activités biologiques des polysaccharides

Les polysaccharides issus de produits naturels possèdent des propriétés thérapeutiques et bénéfiques pour la santé. Ils sont largement distribués dans le domaine d'application biomédical et biologique par exemple, l'ingénierie tissulaire, l'administration de médicaments, la cicatrisation des plaies en raison de leur biocompatibilité et disponibilité **(WANG *et al.*, 2015).**

III.1.- Activité anti-oxydante

III.1.1.- Stress oxydant

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la production des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer le dommage oxydatif **(BOUBEKEUR, 2018).**

En situation normale, la balance antioxydant/pro-oxydant est équilibrée. Mais l'organisme peut être confronté à une surexposition à des composés oxydants, lorsque la production endogène d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) devient excessive ou suite à l'exposition à un phénomène toxique exogène **(BENNAMARA, 2017).**

III.1.2.- Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules chimiques instables et réactives, qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés). Il existe différents types d'espèces radicalaires, dont les principales sont les espèces réactives de l'oxygène (ERO), et les espèces réactives de l'azote (ERN) **(KOUASSI, 2017).**

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces oxygénées activées (EOA), comme l'oxygène singulet l'O_2, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH) peuvent être des précurseurs de radicaux **(BOUBEKEUR, 2018).**

Tableau I.- Principales espèces réactives de l'oxygène **(BENNAMARA, 2017)**

Radicaux libres (RL)	Espèces réactives non radicalaires
• Anion superoxyde($O_2^{\cdot -}$) • Hydroxyle ($OH^{\cdot}$) • Hydroperoxyle ($HO_2^{\cdot}$) • Peroxyle ($RO_2^{\cdot}$) • Alkoxyle ($RO^{\cdot}$) • Dioxyde de carbone ($CO_2^{\cdot -}$)	• Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) • Acide hypochlorique (HOCl) • Ozone (O_3) • Oxygène singulet ($^1O_2$) • Hydroperoxyde (ROOH) • Peroxynitrite ($ONOO^-$)

Toutes ces substances sont produites au moyen de divers métabolismes physiologiques à l'intérieur de l'organisme (source endogène), précisément dans les cellules. Leur synthèse est réalisée essentiellement de manière enzymatique. L'oxydase NADPH (forme réduite du Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate), ainsi que l'oxydase xanthine et également la Nitric Oxide Synthase (NOS) sont les principales sources des radicaux libres d'origine endogène **(KOUASSI, 2017).**

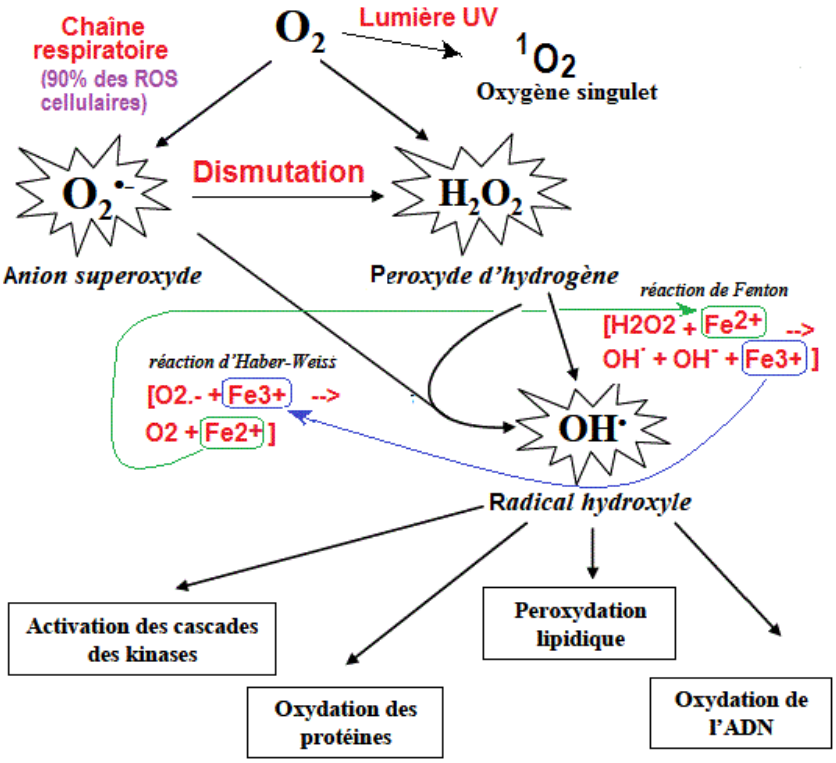


Figure 19.- Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie **(www.biotech-ecolo.net)**

Les sources exogènes sont majoritairement des pro-oxydants environnementaux tels que les pesticides, les métaux lourds, les polluants, la poussière (d'amiante, de silice), et les composés induits par la prise de certains médicaments, par le rayonnement électromagnétique (radiation ionisante, lumière ultraviolette), ou lors d'un coup de chaleur **(BENNAMARA, 2017).**

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs induit des dommages dans l'organisme. On pense généralement que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont impliquées dans l'étiologie de nombreuses maladies **(KAR *et al.*, 2012).**

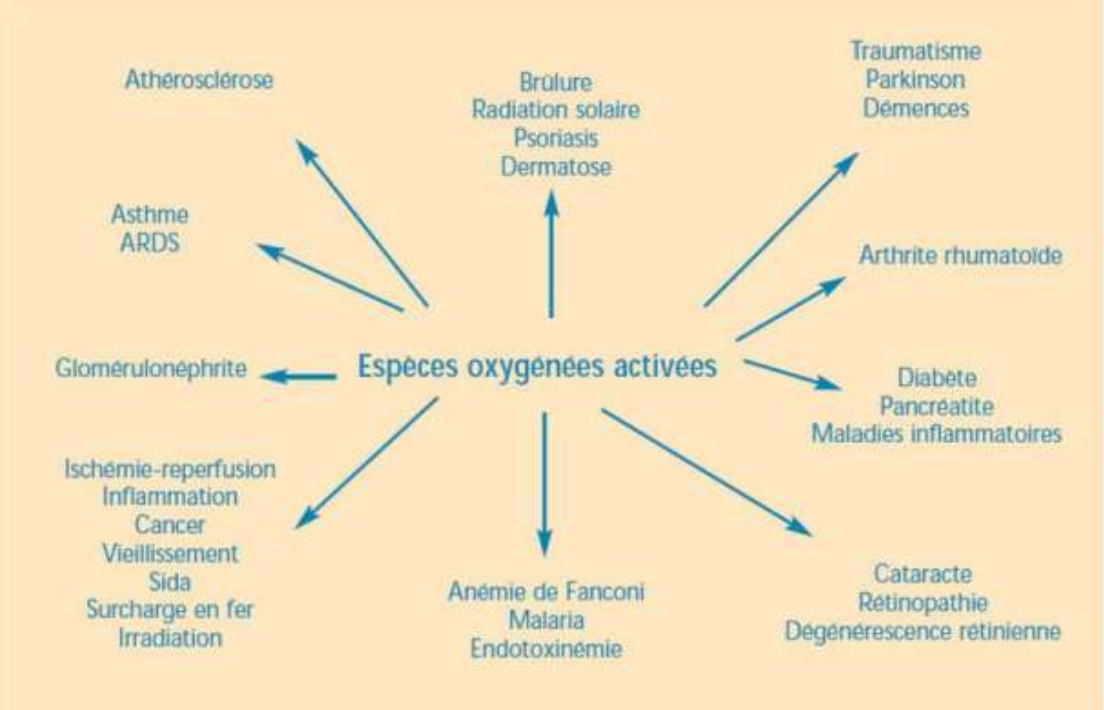


Figure 20.- Différentes pathologies provoquées par ROS **(BOUBEKEUR, 2018)**

III.1.3.- Activité anti-oxydante des polysaccharides

De nombreuses maladies, telles que l'asthme, les maladies pulmonaires chroniques, l'inflammation, le diabète, l'infarctus du myocarde et les maladies cardiovasculaires, seraient associées au stress oxydatif **(WANG *et al.*, 2016).**

Les polysaccharides sont signalés comme une sorte de piégeur de radicaux libres et d'antioxydants efficaces, jouant un rôle essentiel dans la protection contre les dommages d'oxydation dans les organismes vivants **(WANG *et al.*, 2016).**

Les polysaccharides sont capables de récupérer les ROS libres. Chaque unité monosaccharide possède des groupes hydroxyle actifs qui peuvent se combiner avec des radicaux hydroxyles ou sans anion superoxyde radicaux pour former de l'eau **(CHEN *et al.*, 2016).**

Le poids moléculaire affecte la capacité antioxydant des polysaccharides. De plus, la capacité antioxydant optimale variera en fonction du type de polysaccharide. Les études ont rapporté que le polysaccharide de *Ganoderma lucidum* (GLPL1) à faible poids moléculaire (5,2 kDa) a une plus grande capacité à piéger les radicaux libres, les radicaux superoxyde et le peroxyde d'hydrogène que le composant (GLPL2) à poids moléculaire élevé (15,4 kDa). À une concentration de 10 mg/mL, les taux de piégeage de GLPL1 en radical hydroxyle et en anion superoxyde sont respectivement proches de 75% et 90%, alors que la capacité de piégeage de GLPL2 n'est que de 50% et 60%, respectivement **(Wang *et al.*, 2018).**

La plupart des antioxydants naturels sont dérivés de matières végétales, telles que les fruits, les légumes, les herbes et les épices. Ceux-ci sont particulièrement riches en composés phénoliques, vitamines et caroténoïdes et polysaccharides. Halvorsen et Holte ont déclaré que les *Rosacées*, les *Empétracées*, les *Éricacées*, les *Grossulariacées*, les *Juglandacées*, les *Astéracées*, les *Punicacées* et les *Zingibéracées* sont des familles de plantes qui contiennent des composés à haute activité antioxydante, qui comprennent les fruits, tels que les mûres, les fraises, les myrtilles, les cassis, les noix et les grenades. Les huiles essentielles d'épices et d'herbes, telles que l'origan, le thym, la dittany, la marjolaine, la lavande et le romarin, se sont également avérées être d'excellentes sources de molécules antioxydantes naturelles **(LOURENÇO, 2019).**

III.2.- Activité antidiabétique

L'évaluation des effets des polysaccharides aux propriétés antidiabétiques est devenue un domaine de recherche important. Diverses enquêtes ont montré que les

polysaccharides purifiés à partir de champignon, de thé et d'avoine… etc. exercent des effets favorables sur l'homéostasie glucidique, réduisent les complications du diabète grâce au mécanisme défensif contre les lésions de stress oxydatif et améliorent finalement la sensibilité à l'insuline **(GANESAN et XU, 2019).**

III.2.1.- Diabète

Le diabète sucré, l'un des troubles métaboliques les plus courants, toucherait environ 415 millions de personnes dans le monde en 2015 et le nombre de cas devrait atteindre 642 millions en 2040 **(DOAN *et al.,* 2018).**

Le diabète de type 2 n'était observé que chez l'adulte, mais on l'observe désormais aussi chez l'enfant. C'est une maladie hétérogène, où les défauts génétiques de l'effet de la sécrétion de l'insuline, en rapport avec des facteurs acquis, provoquent une détérioration de l'homéostasie glucidique, ainsi que du métabolisme des graisses et des acides aminés. Cette détérioration va provoque une perte progressive de la sensibilité à l'insuline, ou une insulino-résistance de certains tissus, comme le foie, le tissu adipeux ou les muscles **(OUHAIBI-DJELLOULI, 2017).**

III.2.2- Physiopathologie du diabète de type 2:

Le diabète est une maladie chronique d'évolution lente. Sa physiopathologie débute plusieurs années avant que le diagnostic du diabète soit porté. Il existe deux phénomènes distincts, qui expliquent l'apparition d'un diabète de type 2. Ils sont présents à des degrés variables: les troubles de l'insulinosécrétion et la résistance à l'insuline. La part de chacun de ces mécanismes dans l'apparition de la maladie est plus ou moins importante, avec un rôle a priori plus important pour les troubles de l'insulinosécrétion **(OUHAIBI-DJELLOULI, 2017).**

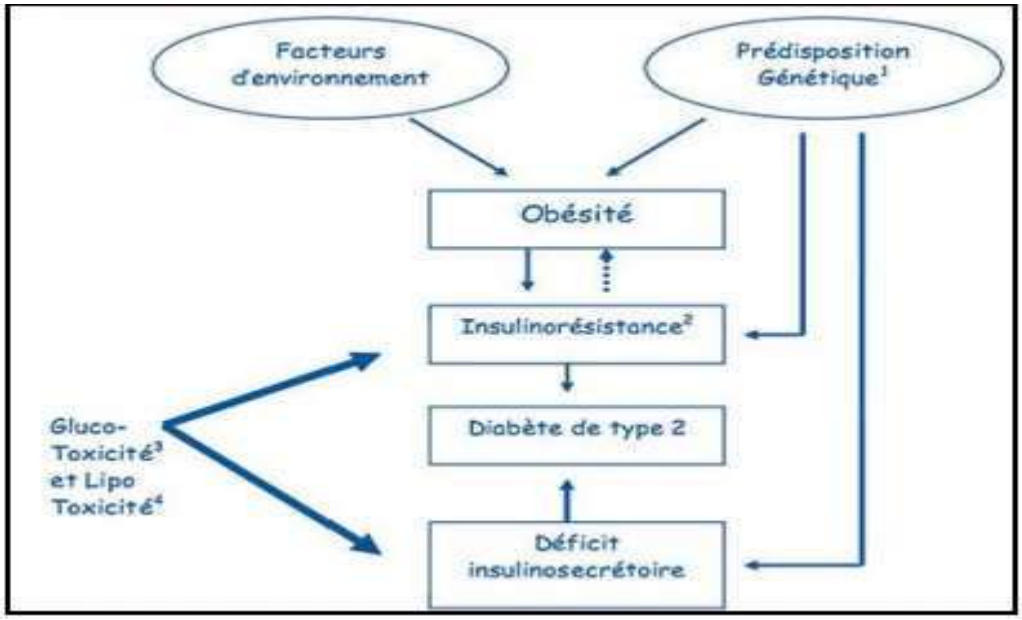


Figure 21.- Physiopathologie du diabète de type 2 **(OUHAIBI-DJELLOULI, 2017)**

III.2.3.- Diabète et phytothérapie

Les traitements actuels de diabète de type 2 permettent de maintenir un taux normal de la glycémie, soit par l'inhibition des α-amylase et α-glucosidase, d'autres agissent comme des inhibiteurs de l'α-glucosidase, des agonistes de l'incrétine et des inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4**.** Soit par la stimulation de pancréas pour sécréter plus d'insuline, ou bien par l'augmentation de la sensibilité des organes périphériques à l'insuline. L'utilisation des hypoglycémiants oraux participent aussi à la diminution des complications graves de cette maladie. Malheureusement, aucun remède n'a pu être trouvé pour le DT2 ou pour prévenir ses complications car la plupart des antidiabétiques oraux actuellement utilisés agissent en réduisant la glycémie à jeun et l'hémoglobine glycosylée (**RASHAD et al.,2017**; **TELLI, 2018**).

L'approche thérapeutique consiste à l'inhibition des enzymes hydrolysant les glucides (α-amylase et α-glucosidase) dans les organes digestifs. En conséquence, ces inhibiteurs pourraient diminuer l'augmentation postprandiale de la concentration de glucose dans le sang **(KUMAR *et al.,* 2013).**

De nombreux extraits de plantes et leurs phyto-constituants ont montré in vitro l'effet d'inhibition de la glucosidase. En outre, le traitement à base de plantes est

privilégié pour le diabète, en raison d'effets secondaires moindres et d'un faible coût **(KUMAR *et al.*, 2013).**

III.2.4.- Enzymes cibles

Les inhibiteurs d'α-amylase et d'α-glucosidase sont des médicaments utilisés pour le traitement du diabète, de l'obésité et de l'hyperlipémie **(KUMAR *et al.*, 2013).**

III.2.4.1.- α-amylase

L'alpha-amylase (α-1,4-alpha-D-glucane glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) est responsable de l'hydrolyse des liaisons glycosidiques α-1,4 dans l'amidon et le glycogène en maltose et enfin en glucose absorbable **(RODRIGUEZ-VIERA *et al.*, 2016)**. La dégradation de l'amidon alimentaire entraîne une hyperglycémie postprandiale élevée **(AKKARACHIYASIT *et al.*, 2011).**

Le retard de l'hydrolyse de l'amidon par inhibition de l'α-amylase est l'une des approches thérapeutiques pour le contrôle de l'hyperglycémie postprandiale dans le prédiabète, le diabète et l'obésité **(AKKARACHIYASIT *et al.*, 2011).**

III.2.4.2.- α-glucosidase

L'α-glucosidase qui est située dans la bordure en brosse des entérocytes du jéjunum, est l'enzyme la plus importante dans l'hydrolyse et de la digestion des glucides, des oligo- et disaccharides non absorbés et les convertit en monosaccharides, à savoir: glucose, qui est absorbé dans le jéjunum supérieur, entraînant une hyperglycémie **(PROENÇA *et al.*, 2017).**

Les inhibiteurs de la α-glucosidase peuvent retarder la libération du glucose provenant des glucides complexes alimentaires et retarder l'absorption du glucose, entraînant une réduction des taux de glucose plasmatique postprandiale et une hyperglycémie postprandiale supprimée **(KUMAR *et al.*, 2013).**

III.2.5.- Activité antidiabétique des polysaccharides

Les polysaccharides sont généralement extraits des matières alimentaires par divers traitements de la digestion physique, chimique ou enzymatique qui peuvent avoir un potentiel antidiabétique. Les études ont montré que, la consommation de polysaccharides pouvait soulager le diabète grâce à des mécanismes d'action sur la viscosité gastro-intestinale, la fermentation du côlon et les anti-gastro-intestinaux **(KUMAR et BAOJUN, 2019).**

Les polysaccharides d'origine alimentaire améliorent la masse pancréatique des cellules β, déclenchent les voies de signalisation de l'insuline par les récepteurs de l'insuline, atténuent le dysfonctionnement des cellules β **(KUMAR et BAOJUN, 2019).**

Plusieurs espèces de plantes médicinales ayant une activité antidiabétique potentielle ont été décrites dans la littérature scientifique. Les produits à base de plantes médicinales et naturelles sont traditionnellement utilisés depuis longtemps dans de nombreux pays pour le traitement du diabète sucré **(NAIR *et al.*., 2013)**.

Les études montrent que les polysaccharides de β-D-(1→6)-glucane peut améliorer le taux d'insuline et l'accumulation hépatique de glycogène. Le polysaccharide purifié de *Lycium barbarum* qui est composé principalement de mannose, de rhamnose et de glucose, peut inhiber l'absorption du glucose de manière dose-dépendante. Les β-d-glucane d'*Agaricus blazei* (PM: 136,05 kDa), *Trametes gibbosa* (PM: 3,872, 2,761, 8,526 et 5,659 kDa), *Saccharina japonica* (PM: 7,28 kDa) et *Lachnum calyculiforme* (PM: 445,363 kDa) a été prouvé des effets hypoglycémique, hypo-triglycéridémique, et des activités hypo-cholestérolémiques chez les rats diabétiques. Un extrait brut de *Talinum triangulare* contient du rhamnose, de l'arabinose, du mannose et du galactose, ce qui a démontré un effet anti-diabétique chez les rats diabétiques **(GANESAN et XU, 2019).**

III.3.- Activité anti-inflammatoire

III.3.1.- Inflammation

L'inflammation est un processus physiologique de défense de l'organisme contre une agression qui entraîne une altération tissulaire. Elle peut être déclenchée par un traumatisme, une brûlure, une irradiation ou par la pénétration d'agents pathogènes extérieurs **(BOUKEMARA, 2017).**

L'inflammation c'est ensemble des réactions, qu'ils sont peut être :

- **Utile:** réaction de défense de l'organisme pour faire face à une agression.
- **Nocive:** inflammation secondaire à un processus auto-immun.

On distingue deux types d'inflammations, l'inflammation localisée ou primaire et l'inflammation généralisée ou secondaire (chronique): c'est le cas dans l'inflammation rhumatismale (**CHEICK TRAORE, 2006**).

III.3.2.- Mécanismes de l'inflammation

Le déroulement du processus inflammatoire est toujours le même. Il évolue en trois stades successifs :

III.3.2.1.- Stade des réactions vasculo-sanguines

Le stade des réactions vasculo-sanguines est caractérisé par l'intervention des différents médiateurs inflammatoires, tels que l'histamine, la sérotonine, et les espèces réactives d'oxygène (ERO) **(MACKENZIE, 2011),**qui entrainent l'activation de l'endothélium, ce qui provoque unevasodilatation une augmentation de la perméabilité capillaire et un ralentissement du courant sanguin, ce qui traduit par les signes suivants: chaleur, rougeur, douleur et œdème **(AOUISSA, 2002).**

III.3.2.2.- Stade des réactions cellulaires (phase productive)

Le stade des réactions cellulaires (phase productive) qui se manifeste par l'activation, mobilisation, différenciation et prolifération de nombreuses cellules telles que: les polynucléaires neutrophiles, les plaquettes, qui infiltrent les tissus lésés ce qui permettre l'élimination du pathogène par la libération d'enzymes protéolytiques qui entretiennent l'inflammation (**FTTIOUNE et FOUNAS, 2015).**

III.3.2.3.- Stade de cicatrisation

Le stade de cicatrisation est la réparation qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé, on assiste à une multiplication des fibroblastes et synthèse des constituants de la matrice cellulaire tel que: collagène et protéoglycanes **(FTTIOUNE et FOUNAS, 2015).**

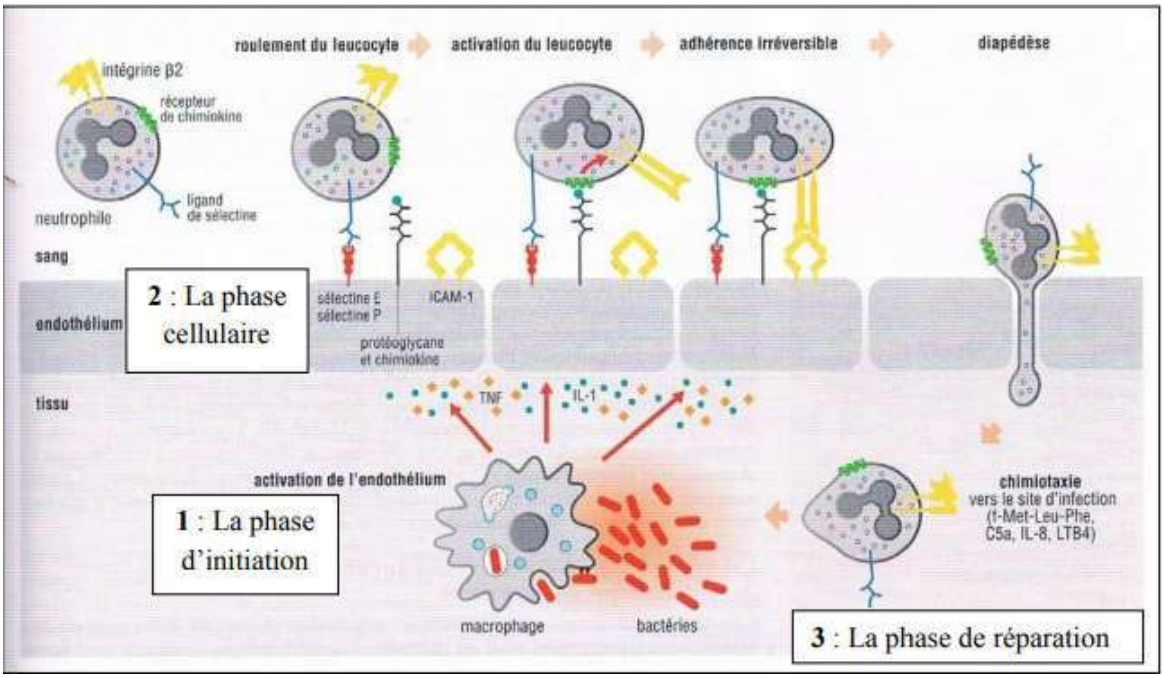


Figure 22.- Recrutement de cellules immunitaires au cours de l'inflammation **(FNIDES *et al.*, 2018)**

III.3.3.- Anti-inflammatoires

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires**,** Les médicaments anti-inflammatoires permettent de suspendre ou de ralentir le processus d'inflammation, d'en effacer ou d'en atténuer les manifestations cliniques, parfois même d'en guérir les lésions mais non d'en traiter la cause. Ils se classent en deux grandes classes: les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens **(CHEICK TRAORE, 2006**)

III.3.3.1.- Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non hormonaux ou non stéroïdiens (AINS) regroupent les substances qui diminuent les réactions inflammatoires de l'organisme et ne sont pas apparentées à des hormones (stéroïdes) **(JACQUES *et al*., 2006).**

III.3.3.2.- Anti-inflammatoires hormonaux ou Stéroïdiens (corticoïdes)

Les corticoïdes sont des dérivés de semi-synthèse des hormones cortico-surrénaliennes (Cortisol). Chimiquement, ce sont des stéroïdes **(JACQUES *et al*., 2006).**

III.3.4.- Activité anti-inflammatoire des polysaccharides

L'activité anti-inflammatoire des polysaccharides est principalement due à l'inhibition de l'expression des chimiokines et des facteurs d'adhésion, ainsi qu'à l'activité d'enzymes clés dans le processus inflammatoire **(HADJ AMMAR *et al*., 2015).**

Les effets anti-inflammatoires ont été attribués à la liaison des polysaccharides à L- ou P-selectines, qui sont des molécules d'adhésion cellulaire essentielles pour le processus de recrutement des leucocytes. Nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle sont riches en polysaccharides qui peuvent être responsables des propriétés de cicatrisation des plaies. Des polysaccharides naturels diminuent significativement l'expression des cytokines pro-inflammatoire, comme IL-1β, IL6 et

INF-ɣ, tandis qu'ils augmentent la sécrétion des cytokines anti-inflammatoires, comme IL-10 et MIP-1β (Macrophage inflammatory protein-1β) **(BOUKEMARA, 2017).**

III.4.- Activité anti-complément

Le système immunitaire repose sur un ensemble de cellules, d'organes et de facteurs solubles distribués au travers de l'organisme **(NIAR, 2006).**

Le complément est reconnu comme une branche importante du système immunitaire inné, fournissant la première ligne de défense contre les micro-organismes **(CARPANINI et al., 2019).**

Il est constitué de protéines circulantes capables d'interagir avec certaines membranes. L'activation en cascade de ces protéines est à l'origine de l'apparition d'activités biologiques variées, comme la stimulation de la phagocytose et l'activation lymphocytaire **(NIAR, 2006).**

III.4.1.- Voies 'activation de complément

Il existe trois voies d'activation: classique, lectine et alternative, convergeant vers une voie finale commune **(CARPANINI *et al.,* 2019).**

- **La voie classique:** est initiée par la liaison du complexe C1 aux agrégats anticorps / antigène **(CARPANINI *et al.,* 2019).**

L'activation de la voie classique est divisée en trois étapes: la reconnaissance, la formation de la C3 et de la C5 convertase et l'attaque membranaire **(NIAR, 2006).**

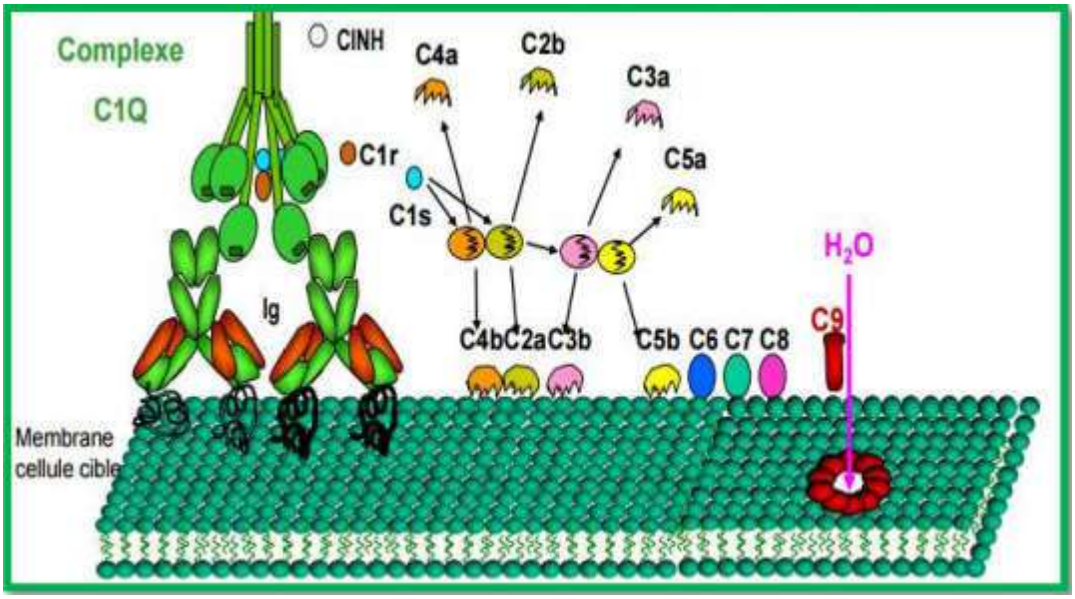


Figure 23.- Schéma d'activation et d'amplification de la voie classique de complément **(BENDERRADJI et MEDJOUDJ, 2019)**

- **la voie alternative:** est mieux considérée comme une boucle d'amplification engagée quel que soit le déclencheur initial. Les voies d'activation convergent au niveau des convertases centrales C3 et C5 **(CARPANINI et al., 2019).**

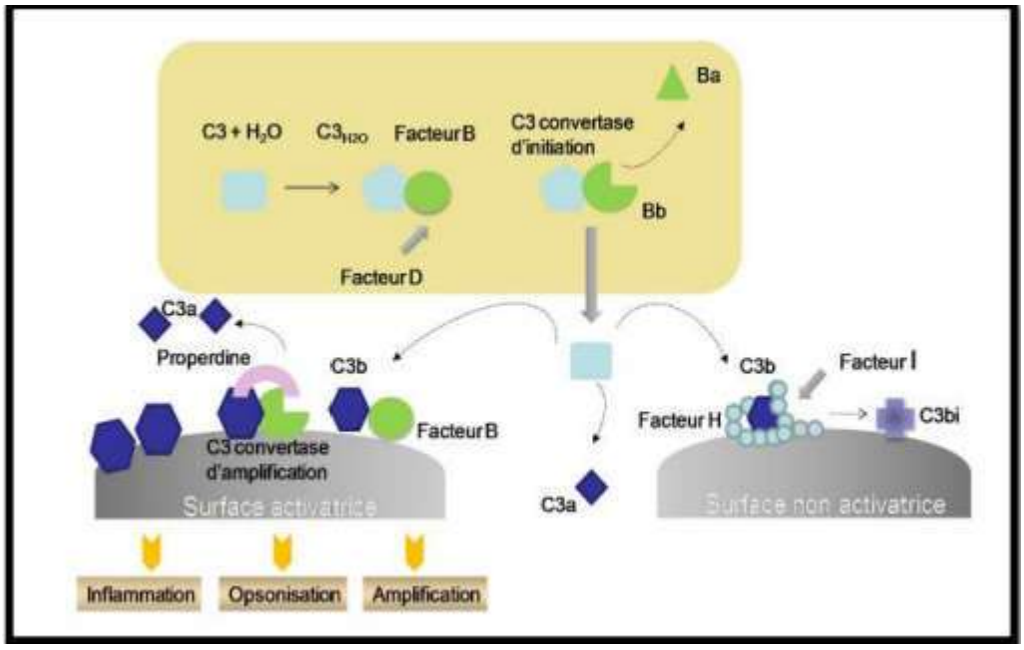


Figure 24.- Schéma d'activation et d'amplification de la voie alterne de complément **(BENDERRADJI et MEDJOUDJ, 2019)**

- **La voie de la lectine:** est déclenchée par la liaison de la lectine de liaison au mannose (MBL) ou des ficolines aux épitopes de glucides sur les cibles **(CARPANINI et al., 2019),** activée par les sucres neutres mannanes **(NIAR, 2006).**

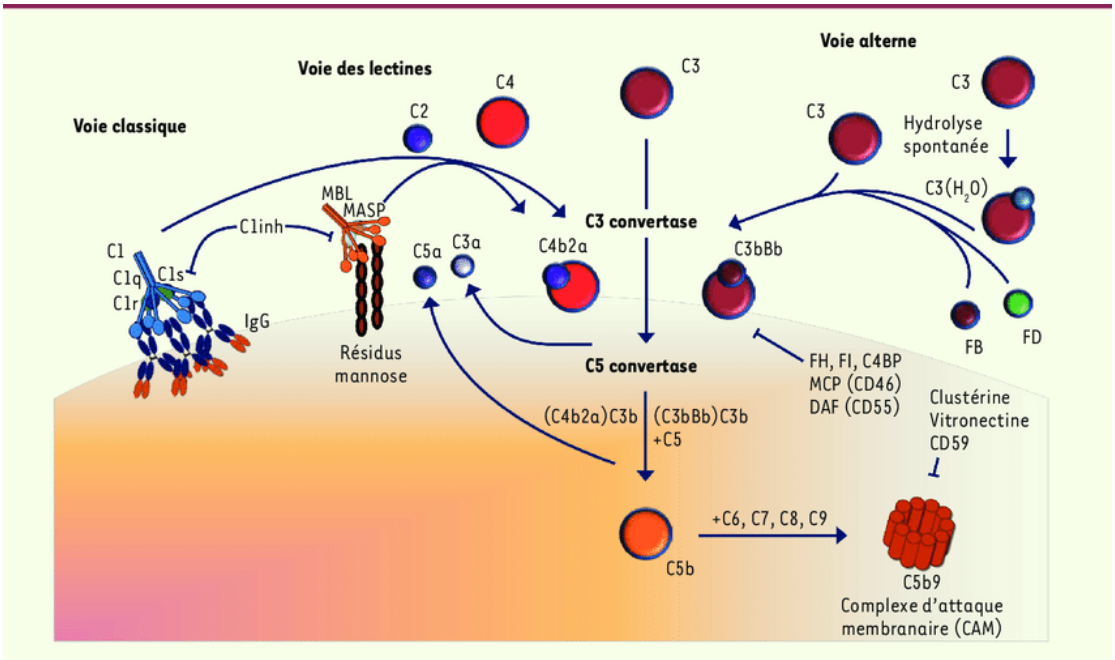


Figure 25.- Voies d'activation du complément **(www.researchgate.net)**

III.4.2.- Maladies liées au complément

Le système complément contribue avant tout à la défense anti- infectieuse, ce dont témoigne la fréquence des infections au cours des déficits congénitaux en facteurs du complément. Donc le dosage du complément a un intérêt diagnostic (déficit héréditaire), mais aussi pronostique dans le suivi de l'évolution des maladies auto-immunes **(AITOUAMAR, 1999).**

III.4.2.1.- Déficit héréditaire en protéines du complément et infections

Le siège de l'infection et le type du germe dépendent de la fraction déficitaire du complément. On citera les plus fréquents:

- Déficit homozygotes en composants terminaux (Il s'agit d'un déficit en C5, C6, C7 et en C8).

- Déficit héréditaire en C3 (Le déficit en C3 se complique d'infection bactérienne à répétition de localisation et pulmonaire, surtout à Hæmophilus influenzae et à pneumocoque**.**
- Déficit héréditaire en properdine (Il est rare et sa transmission génétique est liée à X. Il se complique de méningite gravissime).
- Déficits héréditaires et lupus (Le déficit en C4 est très rare et il se complique dans 87% des cas d'un lupus. Les lupus associés à un déficit complet en C4 ou à un déficit homozygote en C2**) (AITOUAMAR, 1999).**

III.4.2.2.- Déficits liées avec auto-immune complexes

La présence d'auto-anticorps dans la circulation et sur les surfaces internes peut également déclencher une inflammation et des lésions tissulaires par une activation inappropriée du complément. Par exemple: les complexes immuns présents dans le lupus érythémateux systémique (LED) provoquent la consommation de composants du complément dans la circulation et le dépôt de produits d'activation du complément dans le rein (néphrite lupique) et d'autres organes. Des mécanismes similaires sont impliqués dans le syndrome des anticorps antiphospholipides, la myasthénie grave et de nombreuses autres maladies auto-immunes **(RICKLIN, 2017).**

III.4.3.- Activité anti-complément des polysaccharides

L'activité anti-complément des polysaccharides constitue une stratégie thérapeutique potentielle pour le traitement de maladies inflammatoires **(BOUKEMARA, 2017).**

L'activation du système du complément renforce l'immunité. Certains polysaccharides présentent une activation du complément. Polysaccharides de *Vernonia kotschyanaSch* présente de fortes capacités d'activation du complément. Bien que le système du complément soit l'un des systèmes de défense immunitaire importants, une activation excessive peut entraîner une réponse inflammatoire trop forte et des maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde. Les polysaccharides,

comme ceux de la racine de *Bupleurumchinense* et de la tige d'*EphedrasinicaStapf*, présentent des effets anti-complémentaires **(CHEN *et al.*, 2016).**

Des pectines ayant une activité anti-complément ont été isolées à partir de plusieurs plantes telles que les racines de *Glycyrrhiza uralensis* ;*Bupleurum falcatum* et *Angelica acutiloba Kitagawa* qui sont des espèces végétales utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise et japonaise. Une activité anti-complément appréciable est notée par YAMADA et al. (1986), dans un polysaccharide isolé des graines de *Plantago asiatica*. L'écorce de l'arbre Cola cordifolia (Sterculiaceae) est utilisée en médecine traditionnelle malienne comme un remède pour la cicatrisation des blessures, analgésique, et antidiarrhéique. Il contient des polysaccharides ayant des activités anti-complément inhabituelles **(BOUAL, 2014).**

Dès 1989, Yamada et al. Obtenu un polysaccharide possédant un effet anti-complémentaire évident de *Bupleurum falcatum*. Xu et coll. a obtenu un nouveau polysaccharide D3-S1 qui avait également un effet anti-complémentaire remarquable de *Bupleurum*. Le D3-S1 avait une forte inhibition de l'activation de la voie classique du complément et de la voie alternative du complément l'activation, et son effet anti-complément était évidemment plus fort que l'héparine et n'avait aucune action anti-coagulation, indiquant que le polysaccharide de D3-S1 a de bonnes perspectives d'application. De plus, Zhu et al. Obtenu un polysaccharide acide, c'est-à-dire rhamnogalacturonan qui a montré l'activité de fixation du complément du *Panax notoginseng*. Olafsdottir et al. Ont isolé un glucane, qui avait une certaine activité anti-complémentaire. Il est devenu un autre point chaud de la recherche pour rechercher des anti-compléments composés bioactifs de polysaccharides naturels **(SHI, 2016).**

III.5.- Activité immuno-modulatrice

III.5.1.- Immuno-modulation

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

réponse biologique **(MEHELLOU, 2015).** Deux grandes familles constituent les immunomodulateurs: les immunodépresseurs et les immunostimulants **(NIAR, 2006).**

- Les immunodépresseurs sont des médicaments qui diminuent la réponse immunitaire. Cette définition doit être nuancée car dans le système immunitaire il existe plusieurs types de réponses immunitaires **(NIAR, 2006).**

Un immunodépresseur peut avoir un effet prédominant, sinon sélectif sur un aspect particulier de la réponse immunitaire. Ils sont utilisés essentiellement dans la transplantation d'organe et les maladies auto-immunes **(NIAR, 2006).**

- Les immunostimulants sont des médicaments ou des composés qui principalement conduisent à une activation non spécifique des mécanismes de défense immunologiques et spécifique. Ces mécanismes sont liées à la fonction et l'efficacité des macrophages, système du complément, les granulocytes, les cellules Natural killer (NK), les lymphocytes et également à la production de molécules effectrices tels que les cytokines produites par les cellules activées Ces effets non spécifiques devraient fournir une protection contre les agents pathogènes **(AICHOURE, 2017).**

III.5.2.- Rôle immuno-modulatrice des polysaccharides

De nombreuses études ont montré que les polysaccharides végétaux peuvent réguler le système immunitaire de plusieurs manières et à plusieurs niveaux. Ils activent non seulement les cellules immunitaires, y compris les cellules T, les lymphocytes B, les macrophages et les cellules tueuses naturelles, mais ils activent également les compléments et favorisent la production de cytokines, montrant ainsi des effets régulateurs sur le système immunitaire de multiples façons. Les macrophages peuvent collaborer avec d'autres types de cellules (comme les neutrophiles) pour résister aux facteurs indésirables externes). Les effets immunomodulateurs des polysaccharides végétaux sur les macrophages sont principalement obtenus par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), la sécrétion de cytokines, la prolifération cellulaire et l'activité phagocytaire des macrophages **(YIN *et al.*, 2019).**

Chapitre IV.-

Etude de quelques tests des activités biologiques des polysaccharides

Chapitre IV.- Etude de quelques activités biologiques des polysaccharides

IV.1.- Activité anti-oxydante

La plupart des études récentes dans le domaine de la glycobiologie montrent que les extraits des polysaccharides d'origine végétale et en particulier les plantes médicinales possèdent des effets protecteurs contre les espèces réactives de l'oxygène. Leur rôle essentiel est de bloquer l'action des radicaux libres. La capacité des extraits polysaccaridiques diffère d'une plante à l'autre et d'une fraction à l'autre **(YE *et al*., 2008).**

Pour faire mesurer l'activité antioxydant, en utilisant diverses techniques telles que les mesures du pouvoir: anti-radical 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH), anti-radical anion superoxyde ($O2^{-\cdot}$),et anti radical hydroxyle ($HO^{\cdot}$), ou encore; la méthode de FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power) mesurant la réduction des ions ferriques en présence d'antioxydants **(DELATTRE *et al.*,2011; NGO et KIM, 2013).**

IV.1.1.- Test anti-radicalaire par le dosage au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

IV.1.1.1.- Principe de méthode

Le dosage de la réduction des radicaux DPPH est parmi les méthodes les plus fréquemment utilisées et offre la première approche pour l'évaluation de l'activité antioxydante d'une molécule **(CHOUNA, 2017).**

Le radicale $DPPH^{\cdot}$(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) accepte un atome d'hydrogène et réduite en DPPH,H à partir des molécules antioxydants **(BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).** Le DPPH° de couleur violette se réduit en 2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazines incolores, en présence des donneurs des hydrogènes **(SCHAICH *et al*., 2015)**. L'activité antioxydante peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons **(SANCHEZ-MORENO, 2002).**

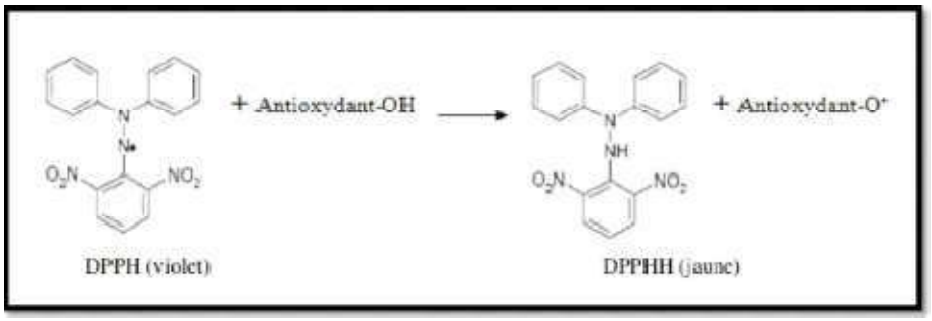


Figure 26.- Réduction de radical libre DPPH·par l'agent antioxydant **(SCHAICH *et al.*, 2015)**

IV.1.1.2.- Matériel et réactifs

Tableau II.- Matériel et réactifs du test anti-radicalaire DPPH

Matériel	Réactifs
• Tubes à essai • Vortex • Spectrophotomètre UV-Visible	• Solution de DPPH • Ethanol à 96° • Vitamine C

IV.1.1.3.- Mode opératoire

Selon un protocole adapté de **Delattre *et al.* (2015)**, la mesure de l'activité anti-radicalaire des polysaccharidesa été réalisée par le dosage au 2,2'-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH). Les fractions polysaccharidiques sont dissoutes à différentes concentrations (de 0 à 10 g/L) dans l'eau.

- déposer dans les tubes 1 ml d'échantillon.
- ajouter 1 ml d'une solution de DPPH (0,1 mm dans l'éthanol à 96°).
- vortexer les tubes pondant (5 secondes).
- laisser reposer à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min ;
- mesurer l'absorbance à 517 nm

On utilise la vitamine C ou bien l'acide ascorbique qui est un anti-oxydant naturel, comme témoin positif.

Le pourcentage d'inhibition de radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

Inhibition du radical DPPH (%) = (1- ($A_{échantillon}/A_{témoin}$)) x 100.

Avec :

- $A_{échantillon}$=Absorbance à 517 nm du mélange: 1 mlde solution polysaccharidique + 1 mlde DPPH (0.1 mM dans l'éthanol à 96°)
- $A_{témoin}$=Absorbance à 517 nm du mélange: 1 ml d'eau distillée + 1 ml de DPPH (0.1mM dans l'éthanol à 96°) **(CHOUANA ,2017).**

Deux autres paramètres sont introduits pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire; la concentration effective à 50% (EC_{50}) et le pouvoir anti-radicalaire ($APR = 1/EC_{50}$) **(PARASCHOS *et al.*, 2007).**

La valeur EC_{50} (aussi appelée IC_{50}) a été déterminée pour chaque extrait, est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH. Les valeurs EC_{50} moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par l'activité antioxydante en pourcentage **(MENSOR *et al.*, 2001).**

IV.1.2.- Chélation du fer ferreux

IV.1.2.1.- Principe de méthode

La capacité chélatrice des extraits des polysaccharides est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de Le et ses collaborateurs **(2007)**.

IV.1.2.2.- Matériel et réactifs

Tableau III.- Matériel et réactifs de Chélation du fer ferreux

Matériel	Réactifs
• Tubes à essai • Spectrophotomètre UV-Visible.	• Ethylène diamine tétra acétique (EDTA). • $FeCl_2$. • Méthanol. • Ferrozine.

IV.1.2.3.- Mode opératoire

Le test a été réalisé en mélangeant 50 µl de $FeCl_2$ (0,6 mm dans l'eau), et 900 µl de méthanol à 500 µl des extraits à différentes concentrations (0,045 - 20 mg/ml) ou de standard de (Ethylène diamine tétra acétique: EDTA). Le mélange est agité vigoureusement et laissé incuber à température ambiante pendant 5 mn. 100 µl de ferrozine (5 mm) sont alors ajouté à cette solution est secoué de nouveau. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance de la solution est mesurée à 562 nm.

L'effet séquestrant des échantillons vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage de chélation selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Chélation} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

- **Ac:** Absorbance à 562 nm du contrôle
- **At:** Absorbance à 562 nm d'extrait testé **(LE *et al.*, 2007).**

IV.1.3.- Test ABTS

IV.1.3.1.- Principe de méthode

Ce test est basé sur la capacité des composés (polysaccharides) à piéger le radical cationique, $ABTS^{+}$ (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6 sulphonique)), l'ABT Sréagissant avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), pour former le radical $ABTS^{+}$ de couleur bleue à verte. L'ajout d'un antioxydant provoque la réduction de radical $ABTS^{+}$ et la décoloration du mélange. **(MAYOUF, 2019).**

IV.1.3.2.- Matériel et réactifs

Tableau IV.- Matériel et réactifs de Test ABTS

Matériel	Réactifs
• Tubes à essai • Spectrophotomètre UV-Visible • Vortex	• ABTS • Persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) • Méthanol • Vitamine C

IV.1.3.3.- Mode opératoire

La solution mère de l'$ABTS^{\cdot +}$ (ABTS 7 mM, persulfate de potassium 2,45 mM dans le méthanol) est incubée à l'abri de la lumière pendant 16 h. La solution de travail d'$ABTS^{\cdot +}$ est obtenue en diluant la solution mère avec du méthanol jusqu'à obtention d'une absorbance finale de 0,7 ± 0,02 à 734 nm.

Les échantillons (50 µl) à différentes concentrations (0,1 - 20 mg/ml) sont mélangés avec 1 ml de la solution diluée d'ABTS déjà préparée. Le mélange est vortexé, puis incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante.

La lecture de l'absorbance est réalisée à 734 nm. On utilise la Vitamine C est comme standard.

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

% d'inhibition = [(A_0-A_1) / A_0] x 100

Où

A0: absorbance initiale de l'ABTS.

A1: absorbance du mélange ABTS + extrait **(MAYOUF, 2019).**

IV.1.4.- Test FRAP (Ferric reducing antioxidant Power)

1.4.1.- Principe de méthode

Le mécanisme du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) est basé sur le transfert d'électrons plutôt que sur le transfert d'atomes d'hydrogène. Le test FRAP est basé sur la capacité du pH à réduire Fe^{3+} en Fe^{2+}. La réaction FRAP est menée à pH acide 3,6 pour maintenir la solubilité du fer, de sorte que la réaction à pH bas diminue le potentiel d'ionisation qui entraîne le transfert d'atomes d'hydrogène et augmente le potentiel redox, qui est le mécanisme de réaction dominant. Lorsque la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} se produit en présence de 2,4,6-trypyridyl-s-triazine, la réaction s'accompagne de la formation d'un complexe coloré avec Fe2+ qui absorbe à 593 nm.

Le pouvoir réducteur semble être lié au degré d'hydroxylation et à l'étendue de la conjugaison dans le pH. Une variante du test FRAP utilisant Cu au lieu de Fe est connue sous le nom de CUPRAC (test de réduction du cuivre), qui est basée sur la réduction de Cu^{2+} en Cu^{+} par l'action combinée d'agents réducteurs dans l'échantillon. La bathocuproine (2,9-diméthyl-4,7-diphényl-1,10-phénanthroline) ou la néocuproïne (2,9-diméthyl-1,10-phénanthroline) sont utilisées pour former des chromophores avec Cu^{+} qui absorbent à 490 nm ou 450 nm **(CERRETANI et BENDINI., 2010)**.

IV.1.4.2.- Matériel et réactifs

Tableau V.- Matériel et réactifs de Test FRAP.

Matériel	Réactifs
• Incubateur • Centrifugeuse • Spectrophotomètre UV-Visible	• Tampon phosphate • Hexacyanoferrate de potassium K_3Fe • Acide trichloracétique • $FeCl_3$

IV.1.4.3.- Mode opératoire

Un 0,4 ml d'échantillon à différentes concentrations est mélangé avec 1 ml de tampon phosphate (0,2 M; pH=6,6) et 1 ml d'hexacyanoferrate de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ à 1%. Après une incubation du mélange à 50 °C pendant 30 minutes, puis en ajout 1 ml d'acide trichloracétique 10 %, en suite les tubes sont centrifugés à 3000tours/mn pendant 10 minutes. Ainsi, 1 ml du surnageant de chaque tube est mélangé avec 0,2 ml d'une solution de $FeCl_3$ à 0,1% et laissé au repos à l'abri de la lumière pendant 30 minutes avant de mesurer les absorbances à 700 nm.

L'activité antioxydante liée au pouvoir réducteur des extraits est exprimée en Pouvoir Réducteur (PR) à l'aide de la formule suivante :

$$\mathbf{PR = 100(A_a - A_b)/A_a}$$

A_a: absorbance de l'extrait.

A_b: absorbance du blanc (**DIENG *et al.*, 2017).**

IV.2.- Activité antidiabétique

IV.2.1.- Inhibition de l'α-glucosidase

IV.2.1.1.- Principe de méthode

Les inhibiteurs de l'α-glucosidase sont des inhibiteurs de l'enzyme α-glucosidase responsable du clivage des disaccharides et oligosaccharides en monosaccharides **(El NACHAR, 2014).**

Les inhibiteurs de l'alpha glucosidase sont des pseudotetrasaccharides d'origine bactérienne. Ces analogues structuraux des oligosaccharides alimentaires inhibent de façon compétitive et réversible l'alpha glucosidases de la bordure en brosse de l'intestin grêle (glucoamylase, maltase, isomaltase et sucrase). Les inhibiteurs des alphaglucosidases intestinales jouant le rôle de faux substrat retardent l'hydrolyse enzymatique des glucides complexes en mono et disaccharides qui sont alors absorbés dans l'iléon. L'absorption du glucose après un repas est ainsi retardée dans le temps. Les inhibiteurs des alphas glucosidases sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie postprandiale **(DERFOUFI et *al*., 2010)**.

En présence d'inhibiteur, l'activité enzymatique de l'α-D-glucosidase diminue ou inhibé. Cela est exprimé par diminution de la dégradation de substrat p-NPG. Dans ce test, l'acarbose est utilisé comme control positif. Le contrôle négatif représente le milieu réactionnel de l'enzyme α-D-glucosidase sans aucun aditif **(BEN HENDA, 2014; KIM *et al.,* 2014; CUI *et al.,* 2015 et HA *et al.,* 2016).**

IV.2.1.2.- Matériel et réactifs

Tableau VI.- Matériel et réactifs d'inhibition de l'α-glucosidase

Matériel	Réactifs
• Spectrophotomètre • Centrifugeuse réfrigérée	• alpha -glucosidase • Tampon phosphate de potassium

• Incubateurs • Balance électronique • pH mètre • Plaque chauffante	• Acarbose • P-nitrophényl-α-D-glucopyranoside(PNPG) • Na_2CO_3

IV.2.1.3.- Mode opératoire

Un mélange de 10 µl d'α-glucosidase 0,25 U / ml, 50 µl de tampon phosphate de potassium 0,1 M (pH 6,8) et 20 µl de différentes concentrations de l'extrait ou de l'acarbose inhibiteur de l'α-glucosidase, a été incubé à 37 ° C pendant 10 min. Ensuite, 10 µl de p-nitrophényl-α-D-glucopyranoside 5 mM(PNPG) ont été ajoutés et incubés pendant 30 min. Pour terminer la réaction, 50 µl de Na_2CO_3 (0,1 M) ont été ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 405 nm optiquement en utilisant un spectrophotomètre. Les résultats ont été exprimés comme la concentration où l'activité de l'α-glucosidase est inhibée de 50% (IC_{50}) **(DOAN *et al.*, 2018).**

IV.2.2.- Inhibition de l'activité d'α-amylase

IV.2.2.1.- Principe de méthode

Dans cette étude on a utilisé un modèle in vitro d'inhibition d'α-amylase pour cribler les extraits de la plante et évaluer leurs effets hypoglycémiques. Les solutions d'amidon de pomme de terre, d'alpha-amylase et les extraits aqueux ont été préparées dans un tampon en acétate (820,3 mg d'acétate de sodium et 18,7 mg de chlorure de sodium dans 100 ml d'eau distillée) **(BOUBEKEUR, 2019).**

Le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase est calculé par la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs témoin-Abs extrait}}{\text{Abs témoin}} \times 100$$

IV.2.2.2.- Matériel et réactifs

Tableau VII.- Matériel et réactifs d'Inhibition de l'activité d'α-amylase

Matériel	Réactifs
• Spectrophotomètre • Centrifugeuse • Incubateurs. • Balance électronique. • Plaque chauffante	• Amylase salivaire • Tampon phosphate • Tampon d'acétate • Amidon soluble • Solution d'I_2 et de KI • Acarbose • HCl

IV.2.2.3.- Mode opératoire

IV.2.2.3.1.- Solution d'α-amylase

La solution enzymatique a été préparée en mélangeant 27.5g d'amylase salivaire dans 100ml de la solution de tampon phosphate. La salive est recueillie auprès des individus sains le matin, 2 heures après le petit déjeuner après que le volontaire se soit brossé les dents. Pour favoriser la salivation, le volontaire doit boire un verre d'eau 15 minute avant le prélèvement, 20 ml de salive totale sont prélevés dans des tubes stériles. Ces échantillons salivaires sont ensuite centrifugés à 14.000xg pendant 15 minutes à 4°C afin d'éliminer les mucines salivaires(Les mucines sont des glycoprotéines, très riches en sucre, jouant un rôle de protection des muqueuses contre les agressions de nature variée) **(PORCHET et *al.,* 1991),**et les débris cellulaires et alimentaires. Le surnageant est pesé et dilué (x 100) dans solution du tampon d'acétate (0.1M, pH 7) **(BOUBEKEUR, 2018).**

IV.2.2.3.2.- Préparation de la solution d'amidon

Le substrat utilisé est l'amidon soluble. La solution d'amidon est préparée dans la solution tampon phosphate (0.02 M, pH 6.9) à une concentration de 1% afin

de réaliser les tests sur l'alpha amylase. Pour avoir une bonne activité enzymatique, on ajoute NaCl à 6 mM **(BENNACER, 2017).**

IV.2.2.3.3.- Préparation de réactif colorimétrique

Indicateur iodine - iodure est préparé en mélangeant une solution de 5 mm de I_2 et 5mmde KI dans 250 ml de tampon d'acétate. Le réactif iodé obtenue doit être conservé à l'abri de la lumière **(BOUBEKEUR, 2018).**

IV.2.2.3.4.- Préparation des concentrations de l'extrait végétal

Les différentes concentrations de l'extrait aqueux sont préparées dans la solution tampon d'acétate (0.1M, pH 7.2), afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l'α amylase. Les concentrations finales utilisée sont: 0.050; 0.1; 0.250; 0.5; 0.750 et 1 mg/ml **(BOUBEKEUR, 2018).**

IV.2.2.3.5.- Solution d'acarbose

L'acarbose est un pseudo-tétra-saccharide d'origine microbienne. Il est utilisé dans cette expérience comme contrôle positif (molécule de référence) afin de comparer son activité vis-à-vis de l'alpha amylase par rapport à celle des extraits. Un comprimé de 50 mg est solubilisé dans 50 ml de tampon phosphate **(BENNACER, 2017).**

IV.2.2.3.6.- Etapes réactionnelles

1 ml de solution d'essai (extrait aqueux) de concentration allant de 50-1000µg/ml a été jouté à 1 ml de la solution d'α amylase tamponné dans des tubes à essai individuels. Le contenu a été incubé à 37°C pendant une période de 10 minutes. Après incubation, 1ml d'amidon tamponné à 0,1% et 2ml de tampon d'acétate (0.1M, pH 7.2) ont été ajouté, et le mélange a été ré-incubé pendant 1 heure à température ambiante. La réaction enzymatique a été arrêtée en ajoutant du HCl 1M (20µl) et 100µl de réactif iodé. Le changement de couleur a été noté (Une couleur bleu foncé indique la présence d'amidon, une couleur jaune indique l'absence d'amidon et tandis

qu'une couleur brunâtre indique l'amidon partiellement dégradé dans le mélange réactionnel). En présence d'inhibiteurs des extraits, l'amidon ajouté au mélange de dosage enzymatique n'est pas dégradé et donne un complexe de couleurs bleu foncé, alors qu'en l'absence de l'inhibiteur, le complexe de couleur jaune est développé indiquant que l'amidon est complètement hydrolysé par l'α-amylase. L'absorbance a été lue à 565 nm **(BOUBEKEUR, 2018).**

La propriété antidiabétique de l'extrait a été déterminé par l'inhibition de alpha amylase qui a été exprimée en pourcentage d'inhibition et calculer par équation suivante:

(%) Inhibition = (Abs de l'échantillon - Abs de contrôle / Abs de l'échantillon) × 100

L'Abs contrôle est l'absorbance de la réaction du témoin (contenant tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester) et l'Abs échantillon est l'absorbance de l'échantillon à tester La valeur IC_{50} est définie comme la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% de l'activité de l'enzyme, celle-ci a été déterminé graphiquement en utilisant le pourcentage d'inhibition de six concentrations différentes des extraits **(BOUBEKEUR, 2018).**

IV.3.- Activité anti-inflammatoire

L'étude de l'activité anti-inflammatoire, in vitro, de l'extrait des polysaccharides été effectuée selon deux méthodes: l'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, et la stabilisation membranaire des globules rouges.

IV.3.1.- Inhibition de dénaturation des protéines

IV.3.1.1.- Principe de méthode

L'inhibition de dénaturation des protéines a été effectuée selon deux méthodes: l'ovalbumine extraite du blanc d'œuf et celle de l'albumine bovine sérique (BSA).

IV.3.1.2.- Matériel et réactifs

Tableau VIII.- Matériel et réactifs d'Inhibition de dénaturation des protéines

Matériel	Réactifs
• Centrifugeuse réfrigérée. • Incubateurs. • Balance électronique. • Plaque chauffante	• Blancs d'œuf • Acétone, • HCl • L'acide acétylsalicylique • BSA: albumine bovine sérique • Diclofénac du sodium • Tompan phosphate saline

IV.3.1.3.- Mode opératoire

IV.3.1.3.1.- Méthode de l'ovalbumine

Mode opératoire

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait a été évaluée par la méthode de dénaturation des protéines. Le diclofénac sodique, un puissant anti-inflammatoire non stéroïdien, a été utilisé comme médicament standard. Le mélange réactionnel constitué de 2 ml de différentes concentrations de l'extrait (100-500 µg / ml) ou le diclofénac sodique standard (100 et 200 µg / ml) et 2,8 ml de solution saline tamponnée au phosphate (pH 6,4) ont été mélangés avec 2 ml d'albumine d'œuf (d'œuf de poule frais) et incubés à (27; 1) ° C pendant 15 min. La dénaturation a été induite en maintenant le mélange réactionnel à 70 ° C dans un bain d'eau pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660 nm en utilisant de l'eau bidistillée comme blanc. Chaque l'expérience a été faite en triple et la moyenne a été prise **(ALHAKMANI *et al.*, 2013)**

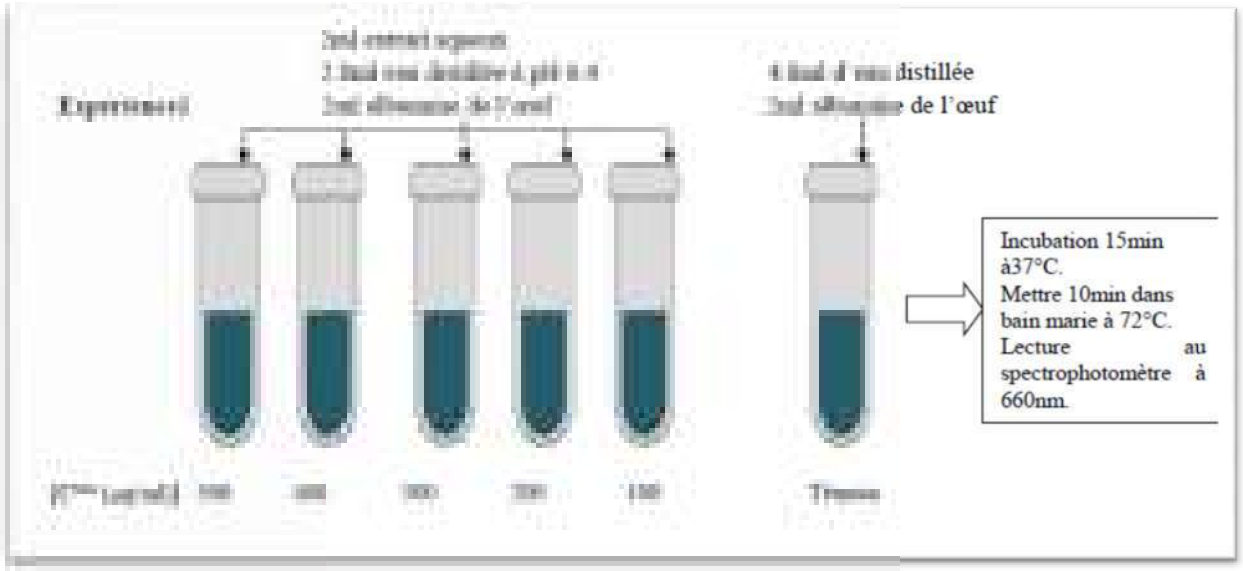
Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

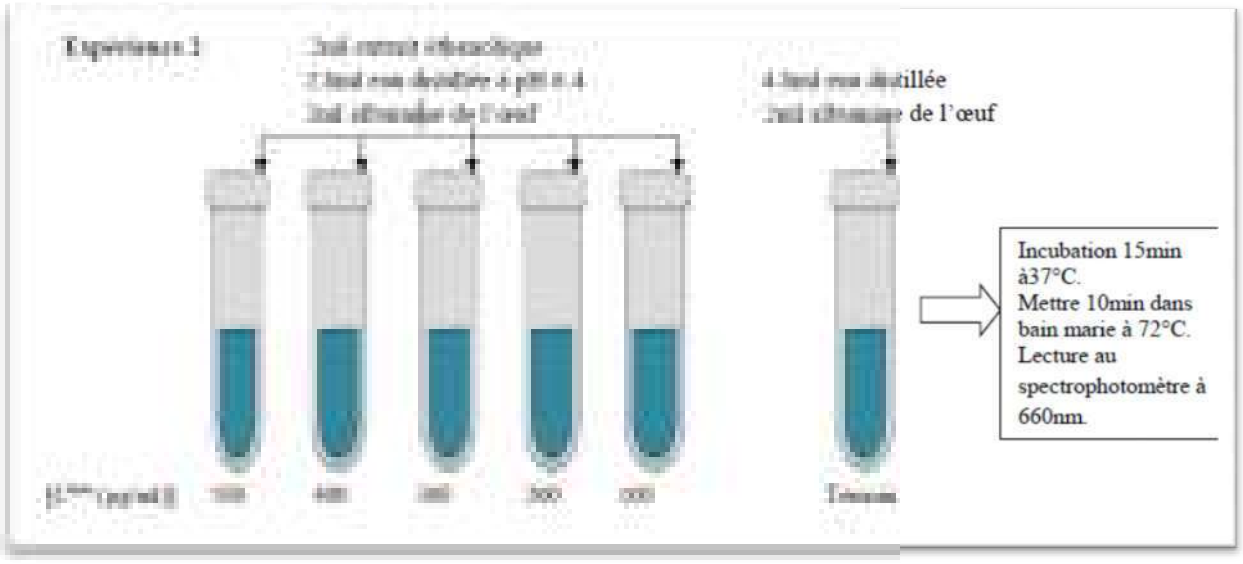
% Inhibition de la dénaturation= (At-Ac/Ac) × 100

Où :

Ac: est l'absorbance de l'échantillon.

At: est l'absorbance sans échantillon (contrôle négatif) **(ALHAKMANI *et al.*, 2013).**





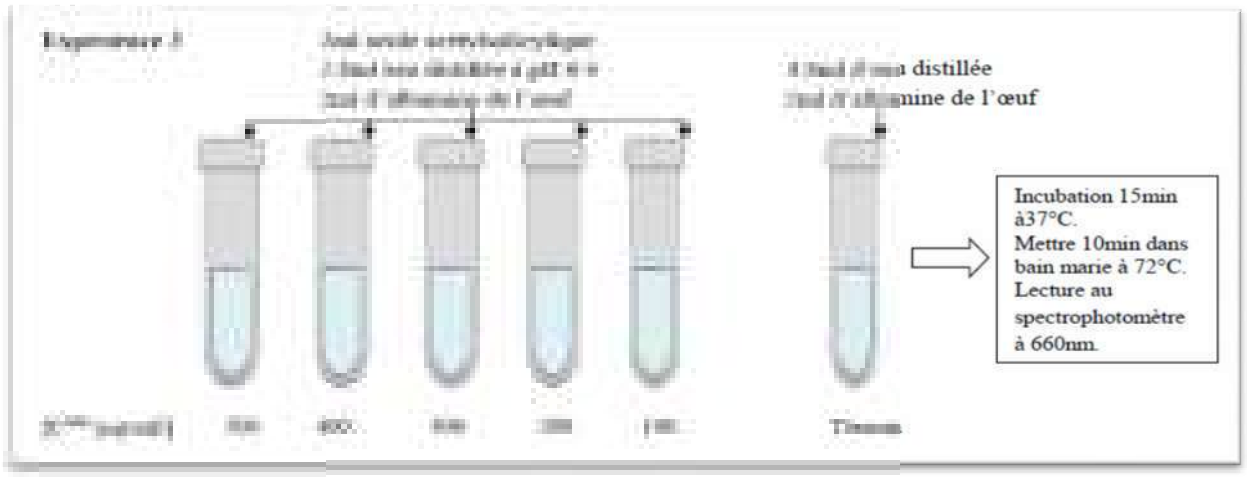


Figure 27.- Schéma illustrant les expériences sur l'activité anti-inflammatoire des extraits **(AMMOURI et KASDI., 2016)**

IV.3.1.3.2.- Méthode de la BSA

L'activité anti-inflammatoire d'extrait de polysaccharidesa été effectuée selon la méthode suivent qui consiste à préparer quatre solutions:

- ✓ La solution d'essai (0,5 ml) composé de 0.45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 5% et 0.05 ml d'extrait aqueux avec une concentration de 250 µg/ml.
- ✓ La solution contrôle test (0.5 ml) composé de 0.45 ml de la solution aqueuse BSA 5% et 0.05 ml d'eau distillé.
- ✓ La solution contrôle produit (0.5 ml) composé de 0.45 ml d'eau distillé et 0.05 ml d'extrait aqueux avec une concentration de 250 µg/ml.
- ✓ La solution standard test (0.5 ml) composé de 0.45 ml de la solution aqueuse BSA 5% et 0.05 ml du solution standard Diclofénac sodiqueavec une concentration de 250 µg/ml **(KAR *et al.*, 2012)**

Tous les solutions au-dessus ont été ajustées à ph6.3 par une solution d'HCl: Acide chloridrique (1N), les échantillons ont été incubés à 37°C pendant 20 min, ensuite la température était augmentée pour garder les échantillons à 57°C pendant 3 min, après refroidissement des tubes, 2.5 ml de la solution dutampon phosphate salin (pH6.3) a été ajoutée aux solutions ci-dessus, l'absorbance a été lue par le spectrophotomètre UV- visible à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - \frac{\text{D.O solution test} - \text{D.O solution contrôle produit}}{\text{D.O solution contrôle test}} \times 100$$

(D.O: Densité optique)

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées; et les résultats sont comparés avec le Diclofénac du sodium (250 µg/ml) **(KAR *et al.*, 2012).**

IV.3.2.- Stabilisation membranaire des globules rouges

IV.3.2.1.- Principe de méthode

La stabilisation membranaire des globules rouges: cette méthode est basée sur la capacité des extraits des polysaccharides à empêcher l'hémolyse des globules rouges, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par GADAMSETTY et al. (2013) **(ABEKHTI et BEN AHMED., 2019).**

IV.3.2.2.- Matériel et réactifs

Tableau IX.- Matériel et réactifs de Stabilisation membranaire des globules rouges.

Matériel	Réactifs
• Centrifugeuse réfrigérée. • Incubateurs. • Balance électronique. • pH mètre/Température. • Plaque chauffante	• Sang humain • Solution d'Alsevers (2% de dextrose, 0,8% de citrate de sodium, 0,5% d'acide citrique et 0,42% de NaCl dans de l'eau distillée**)** • Solution saline hypotonique (0,25% NaCl) • Tampon phosphate de sodium (pH 7,4) • L'extrait testé • HRBC (globules rouges humains)

IV.3.2.3.- Mode opératoire

IV.3.2.3.1.- Préparation de la suspension des globules rouges humains

Le principe de cette méthode est la stabilisation de la membrane des globules rouges humains par lyse membranaire induite par l'hypotonicité. Du sang a été prélevé (2 ml) sur des volontaires sains et mélangé avec un volume égal de solution d'Alsevers (2% de dextrose, 0,8% de citrate de sodium, 0,5% d'acide citrique et 0,42% de NaCl dans de l'eau distillée) et centrifugée à 3000 tr / min. Les cellules emballées ont été lavées avec une solution d'isosaline et une suspension à 10% v/v a été préparée avec une solution saline normale et maintenue à 4 °C **(KAR *et al.,* 2012).**

IV.3.2.3.2.- Etapes réactionnelles

4,5 ml de mélange réactionnel constitué de 2 ml de solution saline hypotonique (0,25% NaCl), 1 ml de tampon phosphate de sodium (pH 7,4) et 1 ml d'extrait ont été dissous dans du sérum physiologique normal. Ensuite, 0.5 ml de HRBC (Human Red Blood Cells) a également été ajouté. Le mélange a été incubé à 56 °C pendant 30 minutes. Les tubes ont été refroidis sous courant de l'eau pendant 20 minutes et le mélange a été centrifugé à 3000 tr / min, les surnageant ont été séparés, et les absorbances sont lus à 560 nm **(GADAMSETTY *et al,* 2013).**

Le diclofénac sodique a été utilisé comme médicament de référence. Dans la solution de contrôle au lieu de hyposaline, 2ml de l'eau distillée a été ajoutée **(ABEKHTI et BEN AHMED., 2019).**

Deuxième protocole

Différentes concentrations d'extrait de polysaccharides (50, 100, 200, 500 et 1 000 µg / 0,5 ml) dans une solution saline normale, le diclofénac sodique en standard (50, 100, 200, 500 et 1 000 µg / 0,5 ml) et le contrôle (eau distillée au lieu d'hypo saline pour produire 100% d'hémolyse) ont été mélangés séparément avec 1 ml de tampon phosphate, 2 ml d'hyposaline et 0,5 ml de suspension de 10% de HRBC a été ajoutée à la préparation. Tous les mélanges d'essai ont été incubés à 37 °C pendant 30

min et centrifugés à 3 000 tr / min pendant 20 min et la teneur en hémoglobine de la solution surnageant a été estimée par spectrophotométrie à 560 nm **(KAR *et al.*, 2012).**

Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = \frac{\text{Absorbance du contrôle-Absorbance du test}}{\text{Absorbance de contrôle}} \times 100$$

(GADAMSETTY *et al.*, 2013).

IV.4.1.- Activité anti-complément par la voie classique

IV.4.1.1.- Principe

L'activité anti-complémentaire a été mesurée par le test de fixation du complément basé sur la consommation de complément et le degré de lyse des globules rouges par le complément résiduel **(PARK *et al.*, 2012).**

On utilise l'héparine comme contrôle positif puisque c'est un inhibiteur du complément **(PARK *et al.*, 2012)**.

IV.4.1.2.- Matériel et réactifs

Tableau X.- Matériel et réactifs d'Activité anti-complément par la voie classique

Matériel	Réactifs
• Spectrophotomètre • Centrifugeuse • Incubateurs.	• $NaBH_4$ • NaCl • Tampons: tampon salin véronal (VBS) contenant 0,1% de gélatine (GVB) • Les érythrocytes de mouton (cellules EA, 1 x 108 cellules

	/ ml) • L'anticorps érythrocytaire Anti-mouton. • NHS (sérum humain normal) • Héparine

IV.4.1.3.- Mode opératoire

Dosages étaient basés sur l'hémolyse des érythrocytes par la membrane générée après l'activation du complément, les échantillons ont été préparés par incubation des érythrocytes de moutons 2% (v / v) avec le même volume anticorps érythrocytaire anti-mouton de lapin dans GVB^{2+}polysaccharides ont été dissous dans GVB^{2+}, En utilise l'héparine comme contrôle positif. Puis les échantillons ont été dilués à diverses concentrations pour le dosage **(WANG *et al.*, 2016).**

Le sérum dilué d'humain normal a été choisi pour donner une lyse sous-maximale en l'absence d'inhibiteurs du complément .Les échantillons (100 µl) ont été pré-incubés avec 100 µl de NHS et 200 µlGVB^{2+} à 37 ° C pendant 10 min. Ensuite, 200 µl EA ont été ajoutés et le mélange a été incubé à 37 ° C pendant 30 minutes. Les différents contrôles de dosage ont été incubés dans les mêmes conditions: (1) tous les blancs, 200 µl EA dans400 µl de GVB^{2+}; (2) 100% de lyse, 200 µl EA dans 400 µl d'eau; (3) échantillon contrôle, 100 µl de dilution de chaque échantillon dans 500 µl de GVB^{2+}; (4) contrôle du complément: 100 µl NHS (1: 3,5, v / v) et 200 µl EA dans 300 ml GVB^{2+}. Le mélange réactionnel a été centrifugé immédiatement.

La densité optique du surnageant a été mesurée à 405 nm avec un spectrophotomètre UV-VIS **(WANG *et al.*, 2016).**

Le pourcentage d'inhibition a été calculé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = \frac{\text{Absorbance du contrôle-Absorbance du test}}{\text{Absorbance de contrôle}} \times 100$$

L'activité anti-complément par la voie classique était déterminé comme une moyenne de triple par concentration et exprimé comme la valeur de concentration inhibitrice à 50% (valeur CI_{50}) de hémolyse du témoin dépendant du complément **(WANG *et al.*, 2016).**

IV.4.2.- Activité anti-complément par la voie alternative

Chaque échantillons a été dissous dans Mg^{2+} -EGTA-GVB, et dont diverses dilutions ont été réalisées. Après pré-incubation des dilutions de chaque échantillon (150 µl) avec 1: 3,5 dilué NHS (150 µl) à 37 °C pendant 10 min, 200 µl érythrocytes de lapin (ER 0,5%, v / v) ont été ajoutés. Après une deuxième étape d'incubation à 37°C pendant 30 min, la lyse cellulaire a été déterminée comme décrit dans la section activité anti-complément à travers la voie classique.

Des contrôles pour tous les blancs, la lyse à 100% et le contrôle des échantillons ont été inclus **(WANG *et al.*, 2016).**

IV.5.- Activité immunomodulatrice

IV.5.1.- Principe de méthode

Le titre des anticorps dirigés contre des globules rouges des moutons (SRBC) déterminé par hémagglutination (HA) est utilisé pour évaluer la réponse immunitaire humorale **(MAYOUF, 2019).**

Les valeurs élevées du titrage d'anticorps hémagglutinants obtenu par les différents extraits indiqué que l'immunostimulation a été obtenue par immunité humorale. Donc, lorsque les lymphocytes B se lient à l'antigène étranger, ils se multiplient par mitose, puis se transforment et se différencient en cellules sécrétrices d'anticorps. Ces anticorps sont impliqués dans les mécanismes d'élimination de l'antigène à savoir; l'activation du complément, l'opsonisation, la neutralisation des toxines, etc. Dans la présente étude, les extraits de la plante peuvent être capables d'influencer l'activation des macrophages et de LT et LB sous-ensembles de lymphocytes impliqués dans la synthèse d'anticorps qui donnent le titre d'agglutination plus élevé contre le SRBC **(MAYOUF, 2019).**

IV.5.2.- Matériel et réactifs

Tableau XI.- Matériel et réactifs d'Activité immunomodulatrice.

Matériel	Réactifs
• Centrifugeuse réfrigérée. • Incubateur	• Sang de mouton • Solution d'Alsèver • Solution physiologique • SRBC sheep red blood cells • Solution saline • NaCl

IV.5.3.- Mode opératoire

IV.5.3.1.- Préparation des globules rouges de mouton

Le sang de mouton est prélevé de la veine jugulaire externe de mouton dans l'abattoir local. Il est mélangé dans la solution d'Alsèver (glucose 2,05 g, chlorure de sodium 0,42 g, citrate de sodium 0,80 g, acide citrique 0,55 g, eau distillée qsp 100 ml). La solution d'Alsèver est une solution saline isotonique, équilibré à pH6,1, habituellement utilisée comme agent de conservation ou anticoagulant du sang. Cette solution permet le stockage du sang pour une durée de dix jours. Une solution physiologique (NaCl 0,9%) est ajoutée de manière à remplir presque complètement le tube (dilution à 1/10), mélangée et centrifugée à 3000 rpm pendant 10 min. Le surnageant est aspiré, et les globules rouges obtenus sont lavés deux fois par le NaCl (0,9%) avec centrifugation à chaque fois. Les globules rouges sont amenés à une concentration de 5 × 109 cellules /ml dans le NaCl (0,9%,) adéquate pour l'immunisation des souris **(MAYOUF, 2019).**

IV.5.3.2.- Évaluation de la réponse humorale

La réponse immunitaire anti-globules rouges de mouton (sheep red blood cells: SRBC) a été évaluée par le test l'hémagglutination (HA) suivant le protocole décrit

par **Aichour *et al.* (2016)**. Les souris sont divisées en quatre groupes de six souris pour chaque extrait avant d'être immunisées par voie intra-péritonéale avec SRBC (1 ml) au jour 0. Différentes concentrations de l'extrait (50, 100 et 200 mg/ml) sont administrées par voie orale pour les trois groupes concernés au jour -2, -1, 0, 1 et 2. Une solution saline normale NaCl a été administrée au quatrième groupe comme témoin. Les échantillons de sang sont prélevés chez les souris par ponction rétro-orbital au jour 8 et centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min pour séparer le sérum. Après inactivation du complément dans le sérum par incubation à 56°C pendant 30 min. Des dilutions en série (en 25 µl d'aliquote) sont réalisées avec le PBS dans des plaques de microtitration. En premier 25 µl du sérum de souris, dilué deux fois par le NaCl 0,9% dans des microplaques, est additionné par 25 µl de 1% (v/v) de la suspension SRBC. Les plaques sont incubées pendant 1 h à 37°C. Le titre des anticorps (inverse de la dilution) est enregistré comme le dernier puits montrant une hémagglutination visible **(MAYOUF, 2019).**

CONCLUSION

Balanites aegyptiaca est un arbre désertique communément appelée datte du désert, est une plante ligneuse appartenant à la famille des Zygophyllaceae originaire d'Afrique tropicale et elle joue un rôle multifonctionnel dans la vie quotidienne des populations locales. De même les polysaccharides isolés à partir des plantes médicinales algues champignons et animaux sont utilisés comme des agents thérapeutiques depuis de nombreuses années, en vue de leurs multiples activités biologiques. Ce sont des macromolécules bioactifs largement répondus dans le monde. Ils se trouvent partout et sous plusieurs formes. Ils sont utilisés dans plusieurs domaines à cause de leurs caractéristiques et leurs propriétés spécifiques. Certains polysaccharides ont de diverses activités biologiques par l'effet de leurs capacités à stimuler, moduler ou inhiber les composantes du système.

Ce travail porte sur quelques activités biologiques des polysaccharides de *Balanites aegyptiaca,* dont l'activité antioxydante, l'activité antidiabétique, l'activité anti-inflammatoire, l'activité anti-compliment et enfin l'activité immunomodulatrice.

Pour explorer l'activité antioxydante des polysaccharides, quatre méthodes sont adoptés; le teste de DPPH, qui est une réaction d'oxydo-réduction à base colorimétrique dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Le test de la Chélation du fer ferreux étudie la capacité des extraits polysaccharidiques a inhibé la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine. Le test de l'ABTS qui est basé sur la capacité de la molécule antioxydant (polysaccharides) à réduire le radical $ABTS^{+}$, ce qui provoque la décoloration de mélange, ainsi que, le test de FRAP, à pH acide 3,6 on aura la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} en présence de 2,4,6-trypyridyl-s-triazine, et la formation d'un complexe coloré avec Fe^{2+}.

Pour explorer l'activité antidiabétique des polysaccharides, il est fait appel à deux méthodes. Les deux provoquent un effet hypoglycémiant par l'inhibition des deux principales enzymes de l'hydrolyse des glucides dans le système digestif. Le premier protocole est l'inhibition des α-glucosidas par les polysaccharides qui consiste à utiliser le $_{P}$NPG comme compétiteur pour l'enzyme concernée afin de créer une compétition entre l'enzyme et le substitut ($_{P}$NPG). Pour le deuxième protocole, nous

avons ciblé l'α-amylase par l'inhibition de son activité en utilisant des polysaccharides d'origine végétale.

La détermination de l'activité anti-inflammatoire repose sur l'étude de deux capacités des polysaccharides: l'inhibition de la dénaturation thermique des protéines et le maintien de la stabilité membranaire des globules rouges. La première méthode nous avons choisi l'albumine du blanc d'œuf pour quantifier la capacité d'inhibition du PS, l'autre consiste à utiliser BSA comme cible.

La deuxième méthode est basée sur la stabilisation de la membrane des globules rouges afin de prévenir l'hémolyse.

L'activité anti-complément des polysaccharides est confirmée par l'utilisation des érythrocytes de mouton et des anticorps anti-érythrocytaires à l'aide d'un sérum humain normal et en présence de tampon (GVB), avec l'héparine comme contrôle positif.

Les polysaccharides ont une capacité à stimuler ou modulé positivement ou bien négativement les médiateurs de la réponse immunitaire. La confirmation de la capacité anti-immunomodulatrice du PS se fait par l'estimation du degré d'hémaglutination provoqué par la formation de complexes anticorps-globules rouges. Les anticorps sont issus de la réponse immunitaire sur l'intégration des globules rouges de mouton (SRBC).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdelaziz S.M, Mohamed Lemine F.M, Ould Tfeil H, Filali-Maltouf A and Salem Boukhary A.O.M. (2020)**.** Phytochemicals, Antioxidant Activity and Ethnobotanical Uses of Balanites aegyptiaca (L.) Del. Fruits from the Arid Zone of Mauritania, Northwest Africa. Plants 2020, 9, 401; doi:10.3390/plants9030401: Pp9-11.
2. Abou Khalil N.S, Abou-Elhamd A.S, Wasfy S.I.A, El Mileegy I.M.H, Hamed M.Y, and Ageely H .M. (2016). Antidiabetic and Antioxidant Impacts of Desert Date (Balanites aegyptiaca) and Parsley (Petroselinum sativum) Aqueous Extracts: Lessons from Experimental Rats. Hindawi Publishing Corporation Journal of Diabetes Research Volume 2016, Article ID 8408326, 10-11 pages.
3. Adjaine Y, Bechata W. (2018). Caractérisation et effet hypoglycémiant de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles issus des feuilles de *Plantago albicans* L. récoltée dans la région du Sahara Septentrional Est Algérien. Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla, Pp 73-76.
4. Aichour R. (2017). Effets immunomodulateurs sur les lymphocytes humains et hépatoprotecteur des extraits de *Capparis spinosa*. Thème doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Pp 80.
5. Aitouamar H, Chkirate B, Jabourik F, Rouichi A, Bentahila A, Belhadj A.M.. (1999). *Les déficits en protéines du complément en pathologie*. Médecine du Maghreb 1999 n°78, Pp22-24.
6. Akkarachiyasit S, Yibchok-anun S, Wacharasindhu S and Adisakwattana S (2011). In Vitro Inhibitory Effects of Cyandin-3-rutinoside on Pancreatic α-Amylase and Its Combined Effect with Acarbose. Journal Molecules 2011, 16, 2075-2083; doi: 10.3390/molecules16032075,Pp 16-18.
7. Alhakmani F, Kumar S, Khan S.A. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and antiinflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera.* The Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine; 3(8): 623-627. Doi: 10.1016/S2221-1691(13)60126-4,Pp 623-627.
8. Alais C, Linden G, et Miclo L. (2008). Biochimie alimentaire. 6eme Ed: Dunod 40p.
9. Amas. (1997). Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius.

10. Ammouri N et Kasdi I. (2016). Analyse phytochimique et evaluation in vitro de l'activite anti-inflammatoire des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* L. Mémoire de master. Universite Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 32p.
11. Angone S.A., Nguema-ona E, Driouich A (2010). La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale, Pp 3-4.
12. Aouissa I, W.R. (2002). Etudes des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de Mengifera Indical (Anacardiaceae). Thèse doctorale université de Bamako, Pp 48.
13. Arvisenet (G.). (2001). Influence des interactions physico-chimiques entre amidons et composés d'arôme sur la libération des arômes et les propriétés rhéologiques dans des matrices aqueuses complexes. Thèse de l'université de Bourgogne, Enesad, Ensbana, Pp 87.
14. Atkin N.J. Cheng S.L. Abeysekera R.M. Robards A.W. (1999). Localisation of amylose and amylopectin in starch granules using enzyme-gold labelling -. Stärke 51, no 5, Pp 163-172.
15. Ayad R. (2008). Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce: *Zygophyllum cornutum* (zygophyllaceae) Mémoire de magister en chimie organique. Université Mentouri de constantine, faculté des sciences exactes, 15 p.
16. Banks W., Greenwood C.T. (1975). Strach and its components. Edinbugh University Press, 13p.
17. Baragob A.E.A, AlMalki W.H, Shahid I, Bakhdhar F.A, Bafhaid H.S, and Izz Eldeen O.M. (2014). The hypoglycemic effect of the aqueous extract of the fruits of *Balanites aegypticea* in Alloxan-induced diabetic rats. Pharmacognosy Research. 2014 Jan-Mar; 6(1): 1–5. doi: 10.4103/0974-8490.122909. Pp1-5.
18. Ben henda Y. (2014).- Bioactivités de cryptides marins: Quels potentiels pour la santé humaine .Thème doctorat, Université de la Rochelle, France, 186p.
19. Bennacer H. (2017). Effet inhibiteur des extraits de *Zygophyllum geslini* sur l'activité d'alpha-amylase.. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, Algérie, 56p.
20. Bennamara F.T. (2017). Stress oxydant Et pathologies humaines.. Thème doctorat. Université Mohammed V-Rabat, Pp 106-113;
21. Berri M, Slugocki C, Olivier M, Holbert S, Helloin E, Jacques I, Salmon H, Nyvall collen P, Le goff M, Demais H. (2015). L'activité antibactérienne et

immun-modulatrice d'un extrait d'algue verte riche en polysaccharides sulfatés. Journées Recherche Porcine, 47:Pp 309-310.

22. Bleicher-bardeletti F, Duclos B, ET Vamecq J. (2014)**.** Biochimie tout le cours en fibres hience. Paces- UE1 –CARES. Dunod, Pp 30-33.
23. Borel, J.P., Randoux A., Maquart F and Gillery P. (1997). Biochimie dynamique. De Boeck, France, 942p.
24. Boubekeur H(2018). Activités biologiques d'*Helichrysum stoechas*. Thème doctorat. Département de biochimie. Université de Sétif 1, Algérie, Pp 46-47.
25. Boual Z, (2009). Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérienne). Mémoire de magister, Universite Kasdi Merbah Ouargla, Algérie, Pp 30-37.
26. 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. Thème doctorat, Universite Kasdi Merbah Ouargla, Algérie, Pp 3-5.
27. Boual, Z., Pierre, G., Delattre., C. (2015). Mediterranean semi-arid plant Astragalus armatus as a source of bioactive galactomannan. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2015, vol. 5, no 1: Pp 10-18.
28. Boukari I. (2010). Définition des critères d'efficacité d'une hémicellulase pour l'hydrolyse de substrats lignocellulosiques complexes et insolubles. Thése de doctorat, Pp 67-70.
29. Boukemara H. (2017). Effet de deux plantes médicinales *Anvillea garcinii* et *Zygophyllum gaetulum* sur le système immunitaire. Thème doctorat, Universite 8 Mai 1945 – Guelma, Algérie, Pp 3-5.
30. Brand-williams W., Cuvelier M. E.et Berset C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm.-Wiss.u.-Technol, Vol. 28: Pp 25-30.
31. Brudieux V, (2007). Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure / activité à la dermocosmétique. thèse de doctorat, Université de Limoges, Pp 44-52.
32. Bruneton J., (2009) .Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4 Ed. Lavoisier, 57p.

33. Carpanini S. M, Torvell M and Morgan B.P. (2019). Therapeutic inhibition of the complement system in diseases of the central nervous system. Frontiers in immunology. Published 04 March 2019, Doi:10.3389/fimmu.2019.00362.5-7 p.
34. Cerretani L, Bendini A. (2010).Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Pp 625-635,
35. Cheick traorè M. (2006).Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Université de Bamako, 87p.
36. Chouana T., (2017). Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo* bunge. Thèse de doctorat, Universite Kasdi Merbah d'Ouargla, 203p.
37. Cho C. W., Hanb C. J., Rhee Y. K., Lee Y. C., Shin K. S., Shin J. S., Lee K. T. And Hong H. D., (2015). Polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide-induced immunosuppression. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 72: Pp 519-525.
38. Chothani D.L and Vaghasiya H.U. (2011*).* A review on *Balanites aegyptiaca* Del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity. Pharmacognosy Reviews: Pp 1-3.
39. Coutouly G, Klein E, Barbleri E, Kriat M. (2012).travaux dirigent de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique. Ed. Doin; Pp 37.
40. Covis R. (2011). Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsions directes et inverses. Thèse de doctorat,
41. Coyen Y. 1981. Abrégés de pharmacologie. Ed. Masson, Paris, 355p.
42. Cui J., Gu X., Wang F., Ouyang J et Wang J. (2015*).* Purification and structural characterization of an α-glucosidase inhibitory polysaccharide from apricot (*Armenia casibirica* L. Lam.*)* Pulp. Carbohydrate Polymers, vol. 121:Pp 309–314.
43. Dangoumau D et *al.,* (2006).pharmacologie générale. Université Victor Segal, Bordeaux 2, Pp 299-315.
44. De cherisey H. (2015). Etat de l'art sur la production de molécules chimiques issues du bois en France. Agence de l'environnement et de la Maitrise de l'Environnement, 12-17 p.
45. Delattre C. (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat de l'université de Picardie jules verne, Valois Santerre, Pp 5-10.

46. Derfoufi S, Meddah B, Ramli Y, Cherrah Y(2010). Actualités dans le traitement médicamenteux du diabète de type 2.journal de Formation continue, Pp 4-6.
47. Diallo B. et Diouf A. (2000). Etude de l'activité analgesique du *Pilostigma reticulatum* (Nguiguis*).* Odonto-Stomatologie, Tropicale, N°.92.
48. Diedhiou M.D.(2017). Fractionnement analytique de la graine de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) et de la graine de dattier du désert (*Balanites aegyptiaca* L.) Valorisation des constituants de la graine de neem par bioraffinage. Doctorat de l'université de toulouse, 130p.
49. Doan H.V, Riyajan S, Iyara R et Chudapongse N. (2018). Antidiabetic activity, glucose uptake stimulation and α-glucosidase inhibitory effect of *Chrysophyllum cainito* L. Stem bark extract. BMC Complementary and Alternative Medicine, Pp 18-267.
50. Domiati S., El-mallah A., Ghoneim A., Bekhit A and El razik H. A. (2016*).* Evaluation of anti-inflammatory, analgesic activities, and side effects of some pyrazole derivatives. Inflammopharmacology, vol 24: 163–172p.
51. El nachar el hamaoui A(2014). Évaluation de l'effet antidiabétique de plantes médicinales de la forêt boréale et identification des principes actifs de deux espèces prometteuses. Thème doctorat, Université de Montréal, Canada, 43p.
52. Fnides K, Bensalem I, Khirdin S. (2018). Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait brut du *zingiber officinale* in vitro. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie, 90p.
53. Gael R. (2005). Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. Thèse de doctorat, Pp 16-17.
54. Gadamsetty G, Maru S, Tyagi A, Chakravarthula S.N. (2013). Cytotoxic and antioxidant effects of methanolic extracts of *Drypetes sepiaria* (euphorbiaceae). African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.. Afr J Tradit Complement Altern Med. 10(5): Pp 274-282.
55. Ganesan K and Xu B. (2019). Anti-Diabetic Effects and Mechanisms of Dietary Polysaccharides. Journal of molecule: Pp8-10.
56. Garon-lardiere S,(2004).Etude structural des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopisarmata* (bonnemaisonals).thèse doctorat en biochimie. Université de Bretagne occidentale, 77p.
57. Garrido F, Michel C et Morin D. (2002). Les exopolymères bactériens;(synthèse bibliographique). Bureau de recherche géologique et minière, brgm/rp-51637**:** Pp 01-39p.

58. Gazengel J.M and Arechioui A.M. (2000). Médicaments anti-inflammatoires, le préparateur en pharmacie. dossier 5, pharmacologie, Tec &Doc, paris, P: 51.
59. Gloaguen V, Krausz P, Barrier function and dry skin: Use of rhamnogalacturonans as a new therapeutic strategy, Söwf Journal, 130: Pp 20-26.
60. Gomes C, Lourenc E.L.B, Liuti E.B, Duque A.O, Nihi, F, Lourenc A.C, Mendes T.C, Junior A.G and Dalsenter P.R. (2012*)*. Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology 142: Pp 481-487.
61. Great S, 3rd Edition (1970-1979) Mucilage.
62. Ha K.S., Jo S.H., Mannam V., Kwon Y.I et Apostolidis E. (2016). Stimulation of Phenolics, Antioxidant and α-Glucosidase Inhibitory Activities During Barle *(Hordeum vulgare L.)* Seed Germination. Plant Foods for Human Nutrition, vol. 71: Pp 211-217.
63. Hadj ammar H, Majdoub H, Lajili S, Ben said R, Le cerf D, et Bouraoui A. (2015). Caractérisation physico-chimique et évaluation pharmacologique des polysaccharides sulfatés de trois espèces d'algues brunes méditerranéennes du genre Cystoseira, Vol: Pp 23-25.
64. Hawkey C. J and Langman M. J. S. (2003). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: overall risks and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors. *Gut*, vol 52: Pp 600–608.
65. Hijazi M. (2011). Caractérisation structurale et fonctionnelle, une glycoprotéine atypique de la paroi chez *Arabidopsis thaliana*. Pp 31-34.
66. Hons. (2012).une introduction à la biochimie. Cétal. P: 108-109.
67. Izydorczyk M, Cui S.W, and Wang Q. (2005). Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties, and Applications: Pp 7–9. https://www.researchgate.net/publication/265671939
68. Jeaun J.M, Annie F et Chrystian J.L. (2005). Les composés phénoliques des végétaux, Pp 203- 204.
69. Kamnev A. A., Calce E., Tarantilis P. A., Tugarova A. V. And De luca S. (2015). Pectin functionalised by fatty acids: Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT) spectroscopic characterization. Journal of Molecular Structure, vol (1079): Pp 74-77.
70. Kar B, Kumar RB. S, Karmakar I, Dolai N, Bala A, Mazumder U.K, Haldar P.K(2012*)*. Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine (2012), Pp 976-980.

71. Kessous .C. (2006). Chapitre 2: Glucides. Biochimie strécturale. Ed, Office des publications 1, place centrale de Ben Aknoun, Alger-Algérie, Pp 56- 80.
72. Kim K.T., Rioux L.E and Turgeon S.L. (2014). Alpha-amylase and alphaglucosidase inhibition is differentially modulated by fucoidan obtained from *Fucusvesiculosus* and *Ascophyllumnodosum*. Phytochemistry, vol. 98:Pp 27-33.
73. Kouassi M.C. (2017). Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux propriétés antioxydantes et antibactériennes. Thème de doctorat, Université Normandie, France, Pp 17.
74. Kumar S, Kumar V, and Prakash O. (2013). Enzymes Inhibition and Antidiabetic Effect of Isolated Constituents from *Dillenia indica*. Hindawi Publishing Corporation biomed Research International, Article ID 382063: Pp 7-11.
75. Kumar B.S A, Lakshman K, Jayaveera K.N, Shekar D.S, Swamy V.B N, Khan S, Velumurga C. (2011). In Vitro α-Amylase Inhibition and Antioxidant Activities of Methanolic Extract of *Amaranthus Caudatus* Linn. Oman Medical Journal (2011) Vol. 26, No. 3: 166-170 DOI 10. 5001/omj.2011.40: Pp166-170.
76. Le K, Chiu F and Ng K. (2007*).* Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. Food Chemistry, 105: Pp353-363.
77. Li Y. (2000).Isolation and characterization of alginate from Hong Kong brown seaweed. An evaluation of the potential use of the extracted alginate as food ingrédient.
78. Mackenzie A. (2011). Endothelium-derived vasoactive agents, AT1 receptors and inflammation. Pharmacology & Therapeutics, 131: Pp 187-203.
79. Mayouf N. (2019). Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d'*Asphodelus microcarpus*. Thème doctorat. Université de Ferhat Abbas Sétif1, Algérie: Pp 51-52.
80. Mehellou Z. (2016). Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien. Thème Magister, Universite Kasdi Merbah Ouargla, Algérie: Pp 40-45.
81. Merghem R., (2009) Eléments de biochimie végétale,1èrED 13-39 P.
82. Mohamed A.M, Wolf W. and Spie W. E. L. (2002). Physical, morphological and chemical characteristics, oil recovery and fatty acid composition of *Balanites aegyptiaca* Del. Kernels: 2-4.
83. Plant Foods for Human Nutrition 57: 179–189p.

84. Moussard C. (2006).Biochimie structurale et métabolique 3 éd de Boeck: université de Paris, Pp 57-60.
85. Murray R., Granner D., Mayes P et Rodwell V., 1999- Biochimie.Ed. Mcgraw-Hill, Italie: 641 p.
86. Muster D. (2005). Médicaments de l'inflammation. Edition Elsevier, Pp 21-29.
87. Nair S.S, Kavrekar V, Mishra A. *(*2013). Evaluation of In Vitro Anti diabetic Activity of Selected Plant Extracts. International Journal of Pharmaceutical Science Invention ISSN (Online): 2319 – 6718, ISSN (Print): 2319 – 670X www.ijpsi.org.
88. Niare A. (2006). Etude de la phytochimie et des activites pharmacologiques de *syzygium guineense* willd. (myrtaceae). Thème doctorat. Universite de Bamako, Pp 56-57.
89. Ngo D-H., Kim S-K. (2013). Sulfaed polysaccharides as bioactive agent from marine algae. International Journal of Biological Macromolecules, 62: Pp 70-75.
90. Ouhaibi-djellouli H. (2017). Etude des déterminants génétique et environnementaux du diabète de type 2: implication des gènes *TCF7L2* et *NPPB*. Thème de doctorat. Université D'oran 1, Algérie, 120p.
91. Ozenda P. (2004). Flore et végétation du Sahara. CNRS, Alger, Pp 309-310.
92. Paraschos S, Magiatis P, Mitaku S, Petraki K, Kaliaropoulos A, Maragoudakis P, Mentis A, Sgouras and Skaltsounis. (2007). *In vitro* and *in vivo* activity of chios mastic gum extracts and constituents against Helicobacter pylori. Antimicrobial Agents Chemother, 51: Pp 551-559.
93. Patterson C.A, Ph D, PA G; 2008. Polysaccharides (d'origine végétale) pour la santé de l'intestin. Agriculture et Agroalimentaire, Canada, Pp 52-57.
94. Pérez J; Muñoz D; Muñoz-dorado J.R; Rubia T.D.L; Martínez, J. (2002*)*. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. International Microbiology**,** 5 (2): Pp 53-63.
95. Pérez R. (1997). Feeding pigs in the tropics. FAO Animal Production and Health Paper.
96. Petera B. (2016). Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladodes de *Cereus triangularis*. Thèse de doctorat, Pp 14 -21.
97. Porchet N, Dufosse J, Degand P, Aubert J.P. (1991*)*. Les mucines humaines: pourquoi une telle hétérogénéité peptidique ?. Médecine/sciences 1991; 7: 30: Pp 7-13.

98. Proença C, Freitas M, Ribeiro D, Oliveira E.F.T, Sousa J.L.C, Tome S.M, Ramos M. J, Silvac A.M.S, P.A. Fernandes P. A and Fernandes E. (2017). A-Glucosidase inhibition by flavonoids: an in vitro and in silico structure–activity relationship study. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 2017 Vol. 32, NO. 1: Pp 29-31.

99. Quentin F, Gallet P, Guillolon M, et Quintard B. (2011). Biochimie En 83 fiches. Dunod, Paris, 152p.

100. Quézel P, Santa S et collaboration d'O. Schotter (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition du centre national de la recherche scientifique, Alger, 591p.

101. Ranarivelo Y., 2002- Cours de discipline universitaire à distance. Chimie des produits naturels. Faculté des sciences, université d'Antanarivo, Madagascar, Pp 01-45.

102. Rashad H, Metwally F.M, Ezzat S.M, Salama M.M, Hasheesh A and Abdel Motaalb A. (2017). Randomized double-blinded pilot clinical study of the antidiabetic activity of *Balanites aegyptiaca* and UPLC-ESI-MS/MS identification of its metabolites. Pharmaceutical Biology, 2017 Vol. 55, No. 1: 7-11P.

103. Ren Y, Bai Y, Zhang Z, Cai Z, and Del rio flores A. (2019). The Preparation and Structure Analysis Methods of Natural Polysaccharides of Plants and Fungi: A Review of Recent Development, 24(17): Pp 31-22.

104. Ricklin D, Reis E.S, and Lambris J.D. (2016). Complement in disease: a defence system turning offensive. Nat Rev Nephrol. 2016 July; 12(7): 383–401. Doi:10.1038/nrneph.2016.70-73p.

105. Rodriguez-viera L, Perera E, Martos-sitcha J.A, Perdomo-morales R, Casuso A, Montero-alejo V, Garciagalano T, Martinez-rodriguez G, Mancera J. M. (2016). Molecular, Biochemical, and Dietary Regulation Features of α-Amylase in a Carnivorous Crustacean, the Spiny Lobster *Panulirus argus*. Plos One 11(7): e0158919. Doi:10.1371/journal. Pone.0158919.2-6p.

106. Rojas-Sandoval J. (2016). *Balanites aegyptiaca* (simple-thorned torchwood). Invasive Species Compendium Detailed coverage of invasive species threatening livelihoods and the environment worldwide, Pp 1-4.

107. Sagna M.S, Niang K.S, Guisse A, Goffner D.(2014). Balanites aegyptiaca (L.) Delile: geographical distribution and ethnobotanical knowledge by local populations in the Ferlo (north Senegal). Biotechnol. Agron. Soc. Environ., Pp 1-3.

108. Sanchez-moreno C. **(**2002**)**. Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems, Vol.8: Pp 121-137.

109. Schaich K.M., Tian X., et Xie J., 2015. A critical evaluation of ABTS, DPPH, and efficacy -Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant ORAC assays. Journal of functional foods, vol. 14: Pp 111-125.

110. Scheler HV, Jensen JK, Sorensen SO, Harholt J, Geshi N. (2007) .Biosynthesis of pectin. Physiologia Plantarum, 129: 283-295P.

111. Selvendran R.R., Stevens B.J.H., O'neil M.A. (1985). Developpements in the isolation and analys of cell walls from edible plants. Biochemistry of plant cell walls 28: 39-78.

112. Shi L. (2016). Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. International Journal of Biological Macromolecules 92: 37–48p.

113. Telli A. (2018).Activités anti-oxydante antimicrobienne et antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de ouargla: *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thème doctorat. Département de biologie, Université d'Ouargla, Algérie, 65p.

114. Thi V.V.D. (2011). Matériaux composites fibres naturelles/polymère biodégradables ou non Université des sciences de Hochiminh ville. Université de Grenoble., 189p.

115. TOUITOU Y., 2005-Structure des glucides et lipides, 5-29p.

116. VOET.D.et VOET. J.G. 2005-Chapitre 11: Sucre de polysaccharides. Biochimie 2 éme ed, Paris, Pp 356-380.

117. Wang J, Hu S, Nie S, Yu Q, et Xie M.(2015). Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2016, Article ID 5692852, Pp13-15.

118. Wang S, Shi S, Lian H, Zhu C, Wang H, et al. (2016*).* Structural Features and Anti-Complement Activity of an Acidic Polysaccharide from *Forsythia suspensa*., V: 6-10.

119. Wang J. M, Sun X.Y, and Ouyang J.M. (2018). Structural Characterization, Antioxidant Activity, and Biomedical Application of Astragalus Polysaccharide Degradation Products. Hindawi Publishing Corporation Polysaccharides for Biomedical Applications. Volume 2018: 7-9. |Article ID 5136185 | https://doi.org/10.1155/2018/5136185. Pp 7-9.

120. Warrand J. (2004).Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitassimum*). Thèse de doctorat de l'université de Picardie jules verne, 238 p.

121. Weil J, 2009- Biochimie générale. Ed: Dunod, Pp 213-215.

122. Weill B and Batteux F. (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires de Boeck. France, 312p.

123. Weinman S et Mehul P. (2004). Toute la biochimie. Ed. Dunod. 466p.

124. Whistler R.L., Daniel J. R., R.L. Whistler, J.N. Bemiller and E.F. Paschall. (1984). Molecular structure of starch, starch: chemistry and Technology, Pp 153-182.

125. Wertz J.L. (2011). Les hémicelluloses. Document valbiom – Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège. Document FARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4 Réf.2011. Pp 13-17.

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

127. Ye H; Wang K; Zhou C; Liu J and Zeng X. (2008). *Purification, antitumor and antioxidant activities in vitro of polysaccharides from the brown seaweed Sargassum pallidum*. Food Chemistry A. 111: Pp 428–432.

128. Yin M, Zhang Y and Li H. (2019). Advances in Research on Immunoregulation of Macrophages by Plant Polysaccharides. Front. Immunol. 10: 9-11. doi: 10.3389/fimmu.2019.00145. Pp 9-11.

129. Zhang W, Xu P, et Zhang H. (2015)**.** *Pectin in cancer therapy: A review*. Trends in Food Science & Technology. Article in press: 1-14p.

Résumé

Balanites aegyptiaca est un arbre désertique communément appelée datte du désert. C'est une plante de la famille des Zygophyllaceae originaire d'Afrique tropicale.

Les polysaccharides sont des macromolécules ont de nombreux rôles et origines différents (fongique ou animale ou végétale).

Dans notre étude, nous mettons en évidence chez les polysaccharides de *Balanites aegyptiaca* les activités anti-oxydantes; antidiabétiques; anti-inflammatoires; anti-compléments; anti-immmunomodulatrices.

Pour explorer l'activité antioxydante des polysaccharides, il est adopté quatre méthodes dont le teste de DPPH, le test de la Chélation du fer, le test de l'ABTS, ainsi que le test de FRAP. Pour explorer l'activité antidiabétique des polysaccharides, il est fai appel à deux méthodes: l'inhibition des α-glucosidas et l'inhibition de l'α-amylase. La détermination de l'activité anti-inflammatoire repose sur l'étude de deux méthodes: l'inhibition de la dénaturation des protéines soit par l'utilisation de l'alvabumine ou soit par l'utilisation de BSA et la stabilisation de la membrane des globules rouges. L'activité anti-complément des polysaccharides est confirmée par un test immunologique (érythrocytes de mouton et des anticorps anti-érythrocytaires). La confirmation de la capacité anti-immunomodulatrice du PS se fait par un test d'hémaglutination provoqué par la formation de complexes anticorps-globules rouges.

Mots clés: Activité biologique, Polysaccharides, *Balanites aegyptiaca.*

Abstract

Balanites aegyptiaca is a desert tree commonly known as desert date, is a plant of the Zygophyllaceae family native to tropical Africa.

Polysaccharides are macromolecules have many different roles and origins (fungal or animal or plant).

In our study, we highlight the main biological activities of polysaccharides which are: anti-oxidant; anti-diabetic; anti-inflammatory; anti-complement; and anti-immunomodulatory activities.

To explore the antioxidant activity of polysaccharides, we adopted four methods; the DPPH test, the iron chelation test, the ABTS test. As well as the FRAP test. To explore the antidiabetic activity of polysaccharides, we adopted two methods: inhibition of α-glucosidas and inhibition of α-amylase. The determination of the anti-inflammatory activity is based on the study of two methods: the inhibition of the denaturation of proteins either by the use of alvabumine or by the use of BSA. And the stabilization red blood cell's membrane. The anti-complement activity of the polysaccharides was confirmed by an immunological test (sheep erythrocytes and anti-erythrocyte antibodies). Confirmation of the anti-immunomodulatory capacity of PS is by a haemaglutination test caused by the formation of antibody-red blood cell complexes.

Keywords: Biological activity, Polysaccharides, *Balanites aegyptiaca*.

ملخص

Balanites aegyptiaca هي شجرة صحراوية معروفة باسم تمرة الصحراء ، وهي نبات في عائلةZygophyllaceae موطنها إفريقيا الاستوائية.

متعددات السكر هي جزيئات كبيرة لها العديد من الأدوار والأصول المختلفة (فطرية أو حيوانية أو نباتية).

في دراستنا ، نسلط الضوء على الأنشطة البيولوجية الرئيسية للسكريات وهي: مضاد لمرض السكر. مضاد للالتهاب؛ مكافحة المكمل. والأنشطة المضادة للتأثير المناعي.

لاستكشاف النشاط المضاد للأكسدة لمتعدد السكر اعتمدنا أربع طرق: اختبار DPPH ، اختبار استخلاب الحديد ، اختبار .ABTS وكذلك اختبار FRAP لاستكشاف النشاط المضاد لمرض السكر في متعددات السكر اعتمدنا طريقتين: تثبيط α-glucosidas وتثبيط α-amylase. .يعتمد تحديد النشاط المضاد للالتهابات على دراسة طريقتين: تثبيط تمسخ البروتينات إما عن طريق استخدام alvabumineأو عن طريق استخدام .BSA و تثبيت غشاء خلايا الدم الحمراء. تم تأكيد النشاط المضاد لنظام المتمم لدى متعدد السكر من خلال اختبار مناعي (كريات الدم الحمراء في الأغنام والأجسام المضادة للكريات الحمر). يتم تأكيد القدرة المضادة للتأثير المناعي لمتعدد السكر عن طريق اختبار تجلط الدم الناتج عن تكوين معقدات خلايا الدم الحمراء و الأجسام المضادة.

الكلمات المفتاحية: النشاط البيولوجي ، متعدد السكر ، *Balanites aegyptiaca.*