



UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



MEMOIRE

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

M^{elle} ROUAS Oum elkhir

M^{elle} DAOUI Amira

Thème :

*Contribution à l'étude de polysaccharides de
Marrubium deserti De Noé (Lamiaceae) : Activités
biologiques*

Soutenu publiquement

Le : 19/ 06 / 2023

Devant le jury :

Mr. KEMASSI Abdallah

Mme. MIMOUNI Yamina

Mr. OULD EL HADJ Med Didi

Mr. BOUAL Zakaria

Président

Examineur

Encadreur

Co- encadreur

Pr

MCA

Pr

Pr

Univ. Ouargla

Univ. Ouargla

Univ. Ouargla

Univ. Ouargla

Année Universitaire : 2022/2023



Remerciement

*Avant tout, Nous remercier **ALLAH** tout puissant d'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Nous exprimons notre plus vive reconnaissance à Monsieur **OULDELHADJ 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, de bien vouloir accepter de diriger travail.*

*Nous vous remercions aussi pour votre présence et vos conseils précieux. Nous présentons nos remerciements les plus sincères à 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*

*Nous vous remercions aussi Madame **BEN YAHKEM MERIEM** doctorante au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Kasdi Merbah- Ouargla*

*Nous remercions le Laboratoire d'analyse médical « **IBN ROCHD** » Ghardaïa, et en particulier son Directeur, **Dr. AMMI SAÏD Mustapha** de nous avoir accueilli au sein du Laboratoire.*

*Nous remercions le Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico Chimiques «**CARAPC**», en particulier son Directeur, **Mr BELKHALFA Hakim** de nous avoir accueilli au sein du Laboratoire.*



Dédicace

Ma Mère, Mon Père

Vous représentez pour moi le symbole de la beauté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Soyez sûrs que je continuerai mon chemin.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mes sœurs : Sabrina, Fatiha, Lynda, Somia, Nacira, Safia, fatoma

A mes frères : Djamal, Rida, Ammar, Khaled, Habiby 3, Djemoai, Idris, Hammid

A mes amis : Mina, Aya, Fatiha, Salih, Kaltom, Souad, Lamya, Bacha, Taher, Karmocha

A tous les membres de ma famille ROUAS, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon Affection

Makhy

Dédicace

Ma Mère, Mon Père

Vous représentez pour moi le symbole de la beauté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Soyez sûrs que je continuerai mon chemin.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mes sœurs : Ahlam, Asma

A mes frères : Riyad, Mostafa, Younes

A mes amis : Nadjat, Afafe, Khola, Zohra, Lala, Hayat

*A tous les membres de ma famille **DAOUI**, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon Affection*

Amira

Liste des abréviations

Ara	Arabinose
Al	Collaborateur
A. Gal	Acide galacturonique
A. Glc.	Acide glucuronique
CCM	Chromatographie sur couche mince
Glc	Glucose
Gal	Galactose
HPLC	Chromatographie liquide haute performance ("High performance liquid chromatography")
Man	Mannose
Min	Minute
ml	Millilitre
NaOH	Hydroxide de sodium
Nm	Nanomètre
PBS	Tampon phosphate saline
Rha	Rhamnose
Rpm	Rotation par minute
R_f	Rapport frontal
TFA	Acide trifluoacétique
μL	Microlitre
Xyl	Xylose

Listes de photo

N°	Titre	Page
Photo 01	<i>Marrubium deserti</i> de Noé	15
Photo 02	Les graines de <i>Mrrubium deserti</i> de Noé	16
Photo 03	Observation microscopique de la phagocytose de <i>Candida albicans</i> par les leucocytes isolés du sang humain et activés par les extraits de polysaccharides bruts (x 1000)	34

Listes des figures

N°	Titre	Page
01	Protocol de l'extraction des polysaccharides brute du l'espèce <i>Marrubium deserti</i> De Noé	18
02	Chromatogramme d'hydroiysat de polysaccharide des graines de <i>Marrubium</i> du système I et système II par CCM.	32
03	Capacité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique de <i>Marrubium deserti</i>	33
04	Activité phagocytaire d'extrait de polysaccharides hydrosoluble de <i>Marrubium deserti</i>	33

Liste de tableaux

N°	Titre	Page
01	Aire de répartition générale et distribution en Algérie des espèces du genre <i>Marrubium</i>	14
02	Composition de PBS	23
03	Composition de solution Hanks	24
04	Test de phagocytose	26
05	Rapports frontaux (Rf) des oses étalons dans les deux systèmes de CCM	31
06	Temps de rétention des différents témoins polysaccharide de <i>Marrubium deserti</i> obtenus après séparation par HPLC	32

Liste des annexes

Annexe 01	Chromatogramme des polysaccharides des graines <i>M. deserti</i> , hydrolysé au TFA, analysés par HPLC	48
Annexe 02	Courbe d'étalonnage de le xylose par HPLC	49
Annexe 03	Courbe d'étalonnage de l'arabinose par HPLC	49

Sommaire

Introduction.....	2
-------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les Polysaccharides.....	5
I.2. Classification des polysaccharides	5
I.2.1. Composition chimique.....	5
I.2.2. Sources	6
I.2.2.1. Polysaccharides végétaux	6
I.2.2.1.1. Polysaccharides de structure.....	6
I.2.2.1.1. Cellulose	6
I.2.2.1.2. Hémicelluloses	6
I.2.2.1.3. Xylanes	7
I.2.2.1.4. Pectines.....	7
I.2.2.2. Polysaccharides de réserve	7
I.2.2.2.1. Amidon	7
I.2.2.2.2. Inuline.....	8
I.2.2.3. Polysaccharides extraits d'algue	8
I.2.2.3.1. Carraghénanes	8
I.2.2.3.2. Agar - Agar.....	8
I.2.2.3.3. Alginate	8
I.2.3. Polysaccharides animaux.....	9
I.2.3.1. Glycogène.....	9
I.2.3.2. Chitosane	9
I.2.3.3. Glycosaminoglycanes	9
I.2.4. Polysaccharides bactériens et Fongiques.....	9
I.2.4.1. Dextrane	9
I.2.4.2. Xanthane.....	10
I.2.4.3. Pullulane	10

I.3. Les Activités Biologique des polysaccharides	10
I.3.1. Activité antioxydante.....	10
I.3.2. L'activité anti-inflammatoire.....	11

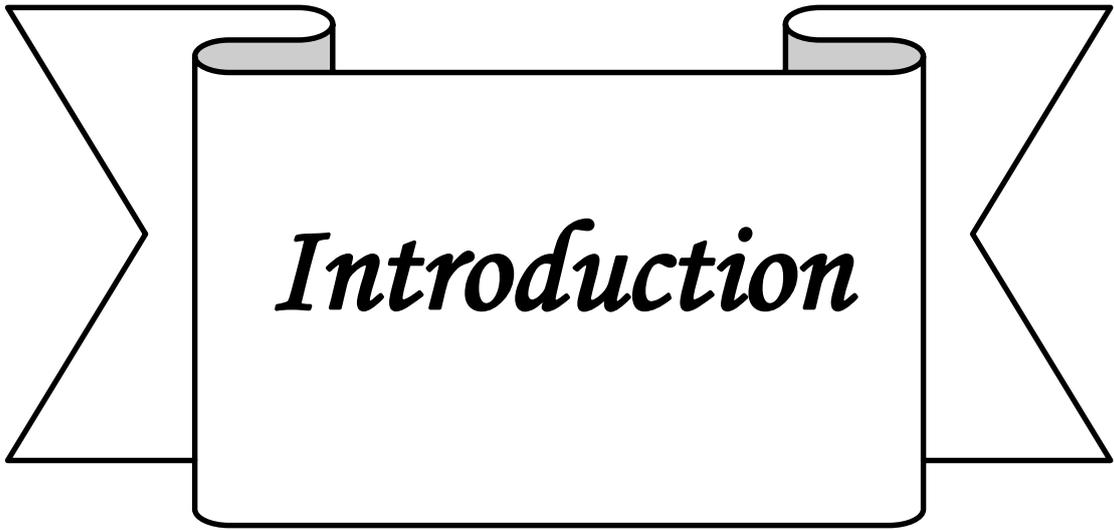
Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Principe d'étude	13
II.2. Choix de plante	13
II.3. Matériel d'étude	14
II .3.1. Description de l'espèce M. deserti	15
II .3.2. Classification botanique	15
II .3. 3. Localisation géographique de M. deserti	16
II.3.3. Récolte et parties étudiées	16
II.4. Etude des polysaccharides.....	16
II.4.1. Extraction des polysaccharides hydrosoluble	17
II.4.2. Calcul du rendement d'extraction	17
II.4.3. Caractérisation des polysaccharides.....	19
II.4.3.1. Hydrolyse acide des extraits bruts.....	19
II.4.3.1.1. Principe	19
II.4.3.1.2. Mode opératoire	19
II.4.3.2. Chromatographie sur couche mince.....	19
II.4.3.2.1. Principe	19
II.4.3.2.2. Mode opératoire	19
II.4.3.3. Détermination des monosaccharides constitutifs par (HPLC)	21
II.4.5. Activité phagocytaire	22
II.4.5.1. Principe du test.....	22
II.4.5.2. Prélèvement de sang.....	22
II.4.5.3. Préparation de C. albicans	22
II.4.5.4. Préparation des solutions tampons-tampon Phosphate Saline (PBS)	23
II.4.5.5.Préparation de polysaccharides	25
II.4.5.6. Préparation de Zymosan.....	25
II.4.5.7. Exploration de la phagocytose et récupération des cellules phagocytaires (protocole modifié).....	25
II.4.5.8. Lyse des érythrocytes	26
II.4.5.9. Préparation de frottis sur lame	26

II.4.5.10. Fixation par le méthanol.....	26
II.4.5.11. Coloration de MGG.....	26
II.4.5.11.1. Principe de coloration	26
II.4.5.11.2. Préparation de la coloration MGG	27
II.4.5.11.3. Procédure de la coloration May-Grünwald-Giemsa	27
II.4.5.12. Lecture du frottis sous microscope	27
II.4.5.11.4. Calcul de capacité phagocytaire	28
II.4.5.11.5. Calcul de l'activité phagocytaire.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles	30
III.2. Analyse des résidus glycosidiques par chromatographie sur couche mince des polysaccharides (CCM)	30
III.3. Analyse des résidus glycosidiques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	32
III.4. Etude de l'activité phagocytaire	33
Conclusion	36
Perspectives	36
Références bibliographiques	38
Annexes	48
Résumé	49



Introduction

Introduction

Les ressources végétales spontanées constituent jusqu'à ce jour une source d'intérêt primordial pour l'Homme et ses besoins. Elles représentent aussi un phytomédicament appréciable par la population de certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement en Afrique, la médecine traditionnelle contribue à la satisfaction des besoins en matière de santé de plus de la majorité de sa population (**BOUALLALA et al., 2014**).

Les plantes sont une source et l'origine importante de polysaccharides naturels (**YIN et al., 2019**). Les polysaccharides sont macromolécules carbohydrates constituées par l'enchaînement linéaire ou ramifié d'oses (monosaccharides) tels que le glucose, le mannose, le fructose...etc, connectés par des liaisons de nature glycosidique. Ils présentent une grande diversité dans leur structure et propriété à partir de nature chimique d'enchaînement, de longueur des chaînes, de taux de ramification dans le cas d'un polysaccharide ramifié (**MIHAI et al., 2001**).

Les polysaccharides extraits de plantes médicinales suscitent un intérêt grandissant du fait de leur potentiels actifs, Ils sont capables d'assurer différentes fonctions et activités biologiques, telles l'activité anti-oxydants, immunomodulatrices, antiviraux, antimicrobiens, anti-tumoraux et anti-inflammatoires (**PETERA et al., 2015**). Des études pharmacologiques et cliniques ont montré que les polysaccharides végétaux peuvent affecter les macrophages et d'autres cellules immunitaires pour améliorer et/ou activer les réponses immunitaires des corps (**YIN et al., 2019**).

Le genre *Marrubium* comprend six espèces et un hybride en Algérie. De nombreuses espèces de *Marrubium* et leurs composants ont été étudiés pour l'analgésie, antimicrobien, hypoglycémiant, anti-schistosomique, antioxydant, hypotenseur, antimicrobien, antinociceptif et antioedématogène. Cette espèce est appelée localement "Djaïda", et pousse à l'état sauvage sur les pâturages du désert d'Algérie (**LAOUER et al., 2009**).

Les études effectuées sur les huiles essentielles des feuilles et fleurs du *Marrubium deserti* de région Ghardaïa (**CHEBROUK et al., 2011**), d'autre part, **SAAD (2017)** a fait une étude sur les composés phénoliques contenus dans les feuilles du *Marrubium deserti* de région Biskra et Tamanrasset, et évaluer l'activité anti-inflammatoire

Cependant, aucune étude n'a été signalée sur les polysaccharides et leurs effets biologiques issus des graines de *Marrubium deserti* qui est plante médicinale de la famille Lamiaceae du Sahara septentrional.

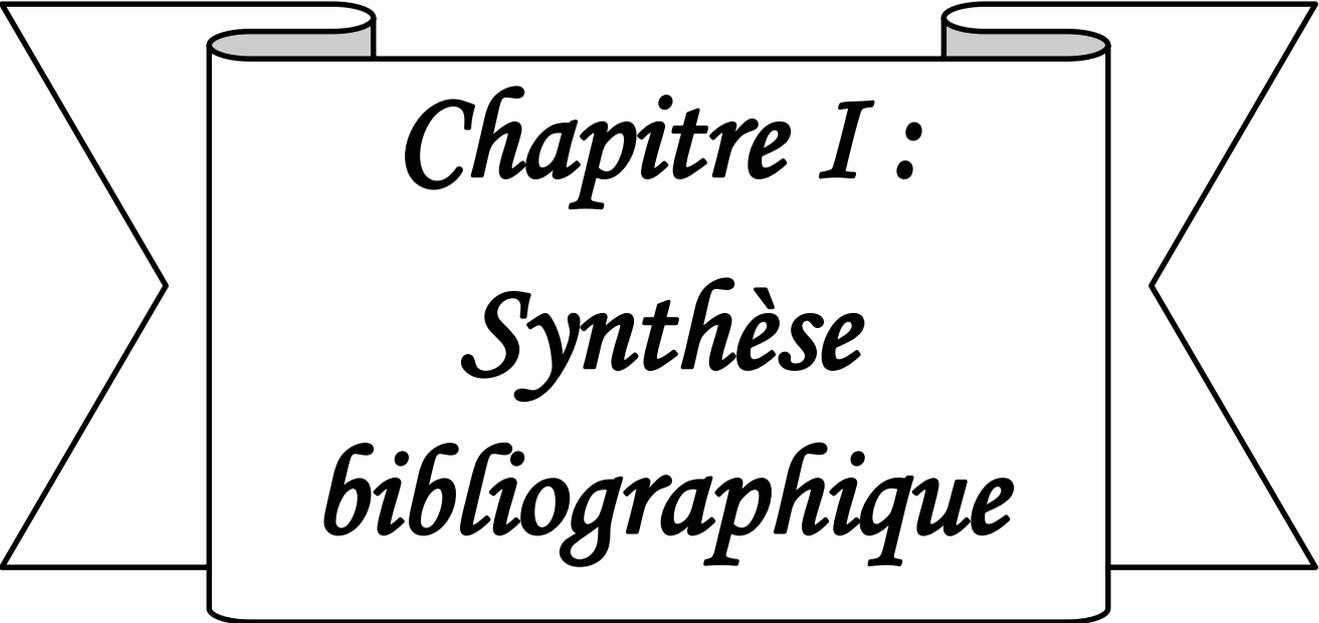
Face à ce constat, la présente étude recherche les polysaccharides hydrosolubles de plante spontanée à caractère médicinal connues dans le Sahara septentrional pour leurs effets officinaux. Il s'agit de *Marrubium deserti*. L'étude porte sur la caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles et leur effet immunomodulateur. L'objectif de ce travail est rechercher vise à caractériser les polysaccharides et de tester leur activité phagocytaire.

Ce travail est structuré en trois chapitres :

Le premier chapitre est adressé à une synthèse bibliographique, représente une généralité sur les polysaccharides et les activités biologiques des polysaccharides.

Le deuxième chapitre ensuite aborde l'étape expérimentale, en citant l'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des graines de *Marrubium deserti*, en déterminant les résidus glycosidiques par chromatographie sur couche mince (CCM) et par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), une activité biologique de l'extrait polysaccharidique a été entretenue. Il s'agit de l'activité phagocytaire. Alors que le troisième chapitre renferme les résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats.

A decorative banner with a central rectangular box containing text. The banner has a ribbon-like shape with pointed ends on the left and right sides. The central box is white with a black border and contains the text "Chapitre I : Synthèse bibliographique" in a black, italicized serif font.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

I.1. Généralités sur les Polysaccharides

Les polysaccharides (ou polyosides, ou glycanes) sont arbitrairement définis comme des polymères de haut poids moléculaire résultant de la condensation d'un grand nombre de molécules d'oses. Chaque ose est lié à son voisin par l'intermédiaire d'une liaison osidique formée par élimination d'une molécule d'eau entre l'hydroxyle hémiacétalique en C-1 d'un ose et l'un quelconque des hydroxyles de l'autre molécule osidique (**BRUNETON, 2009**). Il existe dans la nature de nombreuses variétés de polysaccharides qui peuvent être d'origine végétale (amidon, cellulose, pectines, alginates ou l'agar), animale (héparine) ou microbienne (dextranes, xanthanes) (**JOSEPH et al., 2013**).

Les sources de polysaccharides végétaux sont multiples. Ainsi, on distingue les polysaccharides de structure (cellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon), les gommés et les exsudats comme (gomme arabique), et enfin les mucilages. Ces deux dernières classes ou catégories, sont des mélanges de polysaccharides hétérogènes qui forment en contact de l'eau des gels. Elles sont très proches et difficilement dissociables (**WARRANT, 2004 ; STEPHEN et CHURMS, 1995**).

Les polysaccharides assurent une grande diversité de rôles allant de la capacité de stockage du carbone (amidon, glycogène, etc.), au soutien structurel des parois cellulaires (cellulose, pectine, chitine. etc.) et à l'adaptation aux changements environnementaux (exopolysaccharides) à la régulation et à la communication cellulaires (glycosaminoglycanes) (**ANTONY et al., 2021**).

Les polysaccharides natifs sont non toxiques, biocompatibles, biodégradables, hydrosolubles et, ont la capacité élevée de gonflement. Ceux-ci ont des propriétés qui les rendent extrêmement adaptées pour des applications biomédicales, pharmaceutiques et cosmétiques. Une large gamme de polysaccharides ont déjà trouvé des applications dans la santé humaine, à savoir le chitosane, la cellulose, les alginates, le dextrane, l'amidon, l'acide hyaluronique, l'héparine, le κ -carraghénane, les pectines et la gomme de guar (**PERSIN et al., 2011**).

I.2. Classification des polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères glucidiques très diversifié et peuvent être classés selon :

I.2.1. Composition chimique

- Homopolysaccharides ou homoglycans ; qui sont constitués d'un seul type de monosaccharide, par exemple la cellulose, le glycogène et l'amidon ; sont des polymères de glucose (**MOUSSARD, 2006**).
- Hétéropolysaccharides ou hétéroglycanes ; sont constitués de plus d'un type de monosaccharides, les galactomanannes (galactose + mannose), hémicellulose (xylose + arabinose) (**KOUADRI- BOUDJELTIA, 2006**).

I.2.2. Sources

I.2.2.1. Polysaccharides végétaux

Les polysaccharides végétaux appartiennent à trois groupes principaux ; les polysaccharides de structures (propriétés biomécaniques) qui composent la paroi pectocellulosique des cellules (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon, caroube, inuline) constituant des formes de stockage de carbone, les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages. La paroi des cellules végétales contient un grand nombre de ces polysaccharides, appelés hémicelluloses et dont la composition en sucres est très variée. Les modalités du pontage des fibres de $\beta(1-3)$ glucane, de chitine et de cellulose de la paroi des cellules de levures et de champignons sont moins bien connues (**SMITH et WOOD, 1996**).

I.2.2.1.1. Polysaccharides de structure

Les polysaccharides de structure sont des molécules qui protègent et soutiennent les structures biologiques. La fonction de soutien est particulièrement importante dans les organismes microbiens et végétaux. Les polysaccharides en question tissent un réseau moléculaire autour de la fragile membrane plasmique contenant le cytoplasme (**SMITH et WOOD, 1996**).

I.2.2.1.1.1. Cellulose

La cellulose est un composant essentiel de la paroi cellulaire des plantes ainsi que de certains champignons (**SMITH et WOOD, 1996**).

Il représente une part très significative de leur masse sèche pouvant aller jusqu'à 99% dans le coton. La cellulose est un homopolymère linéaire formé d'unités D-glucopyranoses liées par des liaisons glycosidiques de type $\beta(1,4)$ (**PETERA, 2006**). Les chaînes de $\beta(1,4)$ -glucane forment une hélice composée approximativement de deux résidus par tour. Elles sont synthétisées par le complexe enzymatique « cellulose synthase » intégré à la membrane plasmique (**BEGUIN, 1996 ; PEREZ, 2002**).

La cellulose est insoluble dans la plupart des solvants. Sa structure cristalline en découlant des propriétés mécaniques de résistance, et un arrangement des chaînes de cellulose en fibrilles qui apporte également une grande flexibilité. L'ensemble de ces propriétés physicochimiques et mécaniques, en plus de sa grande abondance et disponibilité, font de la cellulose l'un des polysaccharides le plus étudié (**CLAISSE, 2012**).

I.2.2.1.1.2. Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont formés de polysaccharides non cellulosiques, ils sont associés aux parois cellulaires. Ils se composent uniquement de sucres simples tels que : le glucose, le galactose, le mannose, le xylose et l'arabinose (**SJOSTROM, 1981**).

Les hémicelluloses sont synthétisées par des glycosyle transférases localisées au niveau de l'appareil de Golgi. Elles sont sécrétées dans la membrane grâce à un transport vésiculaire. Par la suite, des substituants aglycones (acides cinnamiques) peuvent être greffés sur les sucres des ramifications secondaires (**COSGROVE, 2005**). Les hémicelluloses sont habituellement ramifiées avec un degré de polymérisation de 100 à 200 unités (**Yu et al., 2008**).

I.2.1.1.3. Xylanes

Les xylanes sont les polysaccharides non-cellulosiques les plus abondants dans la majorité des angiospermes où ils représentent 20 à 30% du poids sec des tissus. Ils sont principalement considérés comme constituants de la paroi secondaire où ils servent de matrice amorphe entre les fibrilles de cellulose (**WHISTLER, 1991**). Il s'agit d'un polymère linéaire formé d'unités D-xylopyranose liées essentiellement β -(1→4), et moins fréquemment β -(1→3), avec des branchements plus ou moins réguliers. Chez les végétaux, les xylanes sont exclusivement liées β -(1→4) et peuvent être classées en xylanes neutres formées uniquement de résidus de sucres neutres, ou xylanes acides renfermant, en plus des oses neutres, des acides uroniques (**HABIBI, 2004**).

I.2.1.1.4. Pectines

Les pectines sont des polysaccharides hétérogènes avec trois domaines principaux : un squelette linéaire homo-galacturonique (HG) lié en α -(1-4) alternant avec deux types de régions rhamno-galacturoniques hautement ramifiées appelées RG-I et RG-II. RG-I est substitué par des chaînes latérales d'unités arabinose et galactose. RG-II a une structure hautement conservée, constituée d'un squelette HG ramifié avec onze monosaccharides différents, dont certains sucres rares tels que le 2-O-méthylxylose, le 2-O-méthylfucose, l'apiose, l'acide acérique, le 2-céto-3-deoxy-d-manno-octulosonic acid et 3-deoxy-d-lyxo-2-heptulosaric acid (**JUN LIUN et al., 2014**).

I.2.1.2. Polysaccharides de réserve

Sont utilisés pour stocker l'énergie sous forme de liaisons chimiques (**SMITH et WOOD, 1996**).

I.2.1.2.1. Amidon

L'amidon est en réalité composé de deux polysaccharides, l'amylose et de l'amylopectine, qui sont constitués principalement d'enchaînements linéaires d'unités glucopyranose liées en α -(1 → 4). L'amylopectine diffère de l'amylose par la présence de ramifications d'unités glucopyranose liées en α -(1 → 6) (**COVIS, 2011**).

L'amylose est un polymère linéaire de résidus de D-glucose attachés par des liaisons α (1-4). L'amylopectine est un polymère ramifié de D-glucose. Les liaisons sont du type α (1-4), sauf au niveau des branchements, où elles sont du type α (1-6) (**CHEFTEL et CHEFTEL, 1976**).

I.2.1.2.2. Inuline

L'inuline est un polysaccharide neutre constitué principalement d'un enchaînement d'unités fructosyle fructose reliées par des liaisons chimiques en β -(2 \rightarrow 1) et d'une unité glucopyranose en fin de chaîne. Des études structurales sur l'inuline de chicorée ou de dahlia montrent que selon la source (chicorée ou dahlia), il existe des branches β -(2 \rightarrow 6) représentant respectivement 1 – 2 % et 4 – 5 % des liaisons chimiques. L'agrégation varie de 2 à 70 unités de fructose selon la source (**COVIS, 2011**). Une molécule de saccharose serait le « noyau initiateur », sur lequel une levane sucrase transfère un résidu de fructose pris à une autre molécule de saccharose (**ALAIS et al., 2008**).

I.2.2. Polysaccharides extraits d'algue

Les polysaccharides d'algues sont probablement les molécules organiques les plus abondantes dans les océans et ont une grande biodiversité moléculaire qui est loin d'être comprise. Au cours des dernières décennies, des études ont révélé le potentiel énorme de ces macromolécules en tant qu'éliciteurs des réponses de défense des plantes. Les aspects et les progrès liés à l'utilisation des polysaccharides de macroalgues les plus étudiés tels que les carraghénanes, les fucanes, les laminarans et les ulvanes pour protéger les plantes seront abordés (**EL KHAOUTRI et al., 2014**).

I.2.2.1. Carraghénanes

Les carraghénanes sont des substances extraites des certaines algues rouges, ou rhodobiontes, 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 (**REIS et al., 2006**). Leur squelette est composé de D-galactopyranoses reliés alternativement par des liaisons α (1-3) et β (1-4) . La structure des motifs disaccharidiques de répétition des carraghénanes varie par la position et le nombre des groupements sulfates. Les carraghénanes ont des structures qui changent suivant les espèces d'algues dont ils sont extraits (**PENSE-LHERITIER, 2014**).

I.2.2.2. Agar - Agar

L'agar (ou agar-agar) est un phycocolloïde, qui est construit à partir de molécules saccharidiques complexes (principalement des unités β -D-galactopyranose et 3,6-anhydro- α -L-galactopyranose) extraites de certaines espèces d'algues rouges (Gelidium, Gelidiella, Presocladia, Gracilaria, Graciliaropsis et Ahfelia) .L'agar est insoluble dans l'eau froide mais soluble dans l'eau bouillante (**LAURIENZO, 2010**).

I.2.2.3. Alginate

Les alginates sont des polysaccharides anioniques qui peuvent être extraits d'algues brunes ou produits par des bactéries du sol. Ce sont des copolymères séquencés linéaires composés de résidus d'acide β -D -mannuronique (M) et d'acide α - L-gulonique (G) liés en 1,4 et peuvent être trouvés avec trois types de blocs : M et G alternés, GG ou MM (**SONG, 2012**).

Ce sont les polymères les plus représentés dans la composition des algues brunes de la famille des Sargassaceae (SANTI *et al.*, 2008).

La gélification et la réticulation de l'alginate sont principalement réalisées par l'échange d'ions sodium des acides glucuroniques avec un cation divalent en solution (SONG, 2012).

I.2.3. Polysaccharides animaux

I.2.3.1. Glycogène

Le physiologiste français Claude Bernard a identifié pour la première fois une substance semblable à l'amidon dans le foie et les muscles et a inventé le terme glycogène, ou "formateur de sucre", dans les années 1850 (CYNTHIA, 2006). Dans les chaînes linéaires, les résidus de D- glucose sont reliés par des liaisons α -1,4-glycosidiques tandis que les liaisons α -1,6-glycosidiques créent les points de ramification tous 20 à 30 résidus chez l'amylopectine (ADEVA-ANDAN *et al.*, 2016).

I.2.3.2. Chitosane

Le chitosane, polysaccharide cationique naturel (SAKURAI *et al.*, 1985). IL est un polysaccharide linéaire formé d'unités D-glucosamines liées entre elles par des liens glycosidiques et de N acétyl D-glucosamine. IL est produit par déacétylation chimique ou enzymatique de la chitine. Il ne diffère de la chitine que par les groupements amino (-NH₂) (HAJJALI, 2015).

I.2.3.3. Glycosaminoglycanes

Les chaînes de glycosaminoglycanes correspondent à des unités répétitives de disaccharides composées d'un acide uronique (acide D-glucuronique ou acide L-iduronique) ou d'un galactose et d'une hexosamine (D-galactosamine ou D-glucosamine). Les GAGs diffèrent donc selon le type d'unité hexosamine, hexose et acide hexuronique qu'ils contiennent, mais également par la configuration (α ou β) de la liaison glycosidique entre ces unités. Ils sont des polysaccharides complexes d'origine animale et fongique (MARQUANT, 2021).

I.2.4. Polysaccharides bactériens et Fongiques

I.2.4.1. Dextrane

Les dextranes sont des polysaccharides bactériens majoritairement linéaires, constitués par l'enchaînement d'unités glucopyranose liées en α -1 \rightarrow 6 ou bien liaisons chimiques et branchements ou ramifications existent en α -(1 \rightarrow 2), α -(1 \rightarrow 3) et α -(1 \rightarrow 4). Ces différentes ramifications du dextrane dépendent de la souche bactérienne utilisée (DUPAYAGE, 2009). En général, les espèces de bactéries sont les plus connues pour former du dextrane et sont du genre *Leuconostoc*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* (NACHER-VAZQUEZ *et al.*, 2015).

I.2.4.2. Xanthane

Le xanthane est un hétéropolysaccharide microbien anionique obtenu par fermentation de sucre en présence de la bactérie *Xanthomonas campestris*. Il est constitué d'un squelette cellulosique linéaire de β -D-glucoses dont une unité sur deux est substituée en C3 par une chaîne latérale tri saccharidique. Cette dernière comporte un α -D-mannose, un acide β -D-glucuronique et un β -D-mannose terminal (ROY, 2015).

Le xanthane comporte également des groupements acétate et pyruvate, situés respectivement sur le carbone 6 du mannose interne et sur les carbones 4 et 6 du mannose terminal (ROY, 2015).

I.2.4.3. Pullulane

Le pullulane est un homopolysaccharide linéaire neutre dans laquelle les unités de glucose sont polymérisées en des unités répétitives maltotriose. Il a été établi que le pullulane est un glucane avec une structure linéaire relativement simple dans lequel les unités de maltotriose (trois unités de α -1,4-molécules de glucose liées) sont polymérisées de manière répétée par l'intermédiaire de liaisons α -1,6 sur les résidus terminaux de glucose (CHETOUANI, 2015).

I.3. Les Activités Biologique des polysaccharides

I.3.1. Activité antioxydante

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'attaque pour ces organismes (EKOUMOU, 2003).

L'effet nocif de l'oxygène qu'il nomme « empoisonnement à l'oxygène ». Ce phénomène est dû à l'apparition de composés dérivés de l'oxygène après l'exposition aux radiations. Les composés qu'ils découvrent sont des radicaux libres (LEGER, 2019).

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. (MUANDA, 2010). Ce sont des atomes ou des molécules ayant des électrons non appariés dans leur orbitale atomique externe. Ils sont très actifs et capables de réagir avec d'autres molécules en leur arrachant un électron. L'oxygène, est à l'origine de la formation de ces radicaux qui comprennent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (CHAMANDY, 2021).

Les ERO peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides, hydrates de carbone), générer de nouveaux produits oxydants, provoquer de la toxicité cellulaire et des mutations génétiques, Ce phénomène de stress oxydant (MASSART, 2011).

Un stress oxydatif qui est défini comme un déséquilibre entre le système antioxydant et la production d'oxydants (ERO) (GUTTERIDGE, 1993 ; DELATTRE et al., 2005).

Les antioxydants vont réduire les radicaux libres si dangereux pour l'organisme en raison de leur pouvoir oxydant très élevé. Ils peuvent agir en supprimant les ROS ou en empêchant leur formation ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci (**BEN RAHAL, 2012**). Par conséquent, l'apport d'antioxydants d'origine végétale est primordial dans la prévention des maladies dégénératives causées par le stress oxydant comme l'Alzheimer, le cancer, le Parkinson et l'athérosclérose (**HADRICH, 2019**).

Les antioxydants sont des molécules qui, lorsqu'elles sont présentes à faible concentration par rapport au substrat oxydable, retardent ou stoppent le processus d'oxydation, et ainsi régulent l'équilibre redox cellulaire. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocopherol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques (**HAMMOUDI, 2015**).

Des études antérieures signalent que les activités antioxydantes peuvent être étroitement liées aux caractéristiques structurales des polysaccharides (**MEHELLOU, 2015**). Plusieurs molécules à propriétés antioxydantes sont isolées des plantes. Il est donc louable de chercher des antioxydants naturels efficaces sans ou présentant moins d'effets secondaires pour remplacer les synthétiques ou pour plus de choix à partir des plantes alimentaires et médicinales (**KONE, 2009**).

I.3.2. L'activité anti-inflammatoire

L'inflammation est connue comme une réponse immunitaire naturelle de l'organisme qui se développe suite à une lésion tissulaire. Il est une réaction de défense immunitaire de l'organisme qui se met en place suite à une menace ou une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité. Elle est souvent suivie par une dilatation des vaisseaux sanguins permettant la migration de cellules et de certaines molécules du sang vers les tissus où l'agression a été localisée, favorisant ainsi rougeur, chaleur, œdème et douleur. C'est la première ligne de défense de l'organisme (**DIALLO, 2019**).

Il existe deux types d'inflammation, l'inflammation aiguë qui traduit une réponse initiale de l'organisme à une agression extérieure, En général, Ce type d'inflammation court durée après exposition à un corps étrange et guérit rapidement avec ou sans traitement, et l'inflammation chronique qui traduit une réponse inflammatoire disproportionnée conduisant à des dommages corporels (**CHAMANDY, 2021**).

Un anti-inflammatoire est un médicament destiné à lutter contre l'inflammation. Ces médicaments ont des structures chimiques très variées destinées pour traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent (**BETINA-BENCHARIF, 2014**).

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 (**CHEN et al., 2016**).



Chapitre II :
Matériel et
méthodes

La méthodologie du travail porte sur le principe d'étude, le matériel d'étude, l'étude des polysaccharides à savoir l'extraction des polysaccharides bruts, leur caractérisation qualitative par la CCM et HPLC, les tests biologiques dont l'activité phagocytaire.

II.1. Principe d'étude

L'étude porte sur l'extraction d'un polysaccharide hydrosoluble à partir des graines de *Marrubium deserti* de la famille de Lamiaceae récoltée au Sahara septentrional Est Algérien (région de Ghardaïa) puis l'étude de sa caractérisation structurale et physico-chimique, et de son activité phagocytaire. Ce travail vise aussi à rechercher les propriétés biologiques connues de tradipraticien, dont l'activité phagocytaire.

II.2. Choix de plante

La famille des Lamiaceae connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles gamopétale irrégulière à deux lèvres, la supérieure formée de deux pétales, inférieure de trois, quatre étamines dont deux plus longues (**OZENDA, 1983**).

La distribution des plantes de la famille des lamiaceae dans le monde est cosmopolite, on les trouve surtout dans les zones tropicales et tempérées du monde et parfois dans les régions arctiques et en hautes montagnes. Leur diversité est rencontrée dans le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, continent américain, les îles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine (**WALKER et al., 2004**). Les lamiaceae sont surtout des plantes méditerranéennes qui, au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptica* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues et en particulier, les deux 1ères espèces (**OZENDA, 2004**).

Le genre *Marrubium* appartient à la famille des lamiaceae. Il comprend environ 30 espèces indigènes d'Europe, de la région méditerranéenne et d'Asie (**DENDOUGUI et al., 2011**). En Algérie, sept espèces sont répertoriées (**ZAABAT et al., 2010**).

En Algérie, on retrouve 6 espèces différentes au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* et *Marrubium deserti* de Noé (**QUEZEL et SANTA, 1963**).

L'aire de répartition générale, la distribution en Algérie et l'abondance des espèces du genre *Marrubium* sont représentées dans le tableau selon **QUEZEL et SANTA, 1963** :

Tableau 01 : Aire de répartition générale et distribution en Algérie des espèces du genre *Marrubium* (QUEZEL et SANTA, 1963).

Espèce	Abondance	Distribution en Algérie	Aire de repartition générale
<i>M. vulgare</i>	Très commun	Dans toute l'Algérie	Cosmopolite
<i>M. deserti De Noé</i>	Commun	Sahara septentrionale et central	Sahara
<i>M. supinum</i>	Rare	Atlas Saharien oranais et Algérois, hauts plateaux Algérois et Oranais	Ibéro-Maurétanien
<i>M. peregrinum</i>	Très rare	Atlas Tellien	Euro – Méditerranéen
<i>M. alysson</i>	Très commune	Partout sauf sur le littoral Algéro-constantinois	Ibéro-Maurétanien
<i>M. alyssoides Pomel</i>	Rare	Plaines littorale et Atlas Tellien	Endémique

Cette espèce est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des divers maux en fonction des régions :

- ✚ Traitement des troubles digestifs : dans la région d'El Golea
- ✚ Traitement des coliques, helminthiases : dans la région de Beni Abbès
- ✚ Traitement des toux, dysménorrhée, piqûres de scorpion et des allergies : dans la région d'Ouargla.

Les feuilles du *M. deserti De Noé* sont employées sous forme d'infusion en usage interne contre la fièvre et les problèmes respiratoires (HAMMICHE et MAIZA, 2006).

II.3. Matériel d'étude

Le matériel d'étude regroupe les produits chimiques et l'appareillage, ainsi que le matériel biologique présenté par les graines de *Marrubium deserti De Noé*.

II .3.1. Description de l'espèce *M. deserti*

Cet arbrisseau vivace très rameux est recouvert de poils laineux qui lui donnent une teinte blanchâtre. D'ordinaire, il mesure quelques 20 à 30 cm, mais en conditions favorables, il peut en atteindre 60. Ses tiges raides portent des petites feuilles opposées tout à fait particulières par leur aspect nervuré et leur forme spatulée. A la floraison, la plante est constellée de minuscules éclats rose carmin. Les toutes petites fleurs aux corolles pourpres naissent à l'aisselle des feuilles et sont regroupées en glomérules sessiles (BENCHELAH et al., 2011).



Photo 01 : *Marrubium deserti* de Noé (SIADATI et al., 2018)

II .3.2. Classification botanique

Selon QUEZEL et SANTA, (1963) la position systématique de l'espèce *Marrubium deserti* De Noé est comme suit :

- ✓ **Règne :** Plantes.
- ✓ **Sous règne :** Phanérogames.
- ✓ **Embranchement :** Spermaphytes.
- ✓ **Sous-embranchement :** Angiospermes.
- ✓ **Classe :** Dicotylédones.
- ✓ **Ordre :** Lamiales.
- ✓ **Famille :** Lamiacées.
- ✓ **Genre :** *Marrubium*
- ✓ **Espèce :** *Marrubium deserti* De Noé
- ✓ **Noms vernaculaires Algérien :** Djaïda

II .3. 3. Localisation géographique de *M. deserti*

M. deserti est une espèce endémique en milieu désertique se trouvent dans la totalité du Sahara central, réponsus beaucoup plus dans les wilayas de Ghardaïa : Sebseb, Ouargla, El-Goléa et Bechar (CHEBROUK et HADJ MAHAMED, 2009 ; DENDOUGUI et *al.*, 2011). Cette plante pousse également au Sahara du Maroc (BELLAKHDAR, 1997).et dans les régions arides en Tunisie (EDZIRI et *al.*, 2012).

II.3.3. Récolte et parties étudiées

M.deserti est une plante spontanée très utilisé dans la médecine traditionnelle par la population de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérien). Elle est située à environ 600 km au sud de la capitale Alger, et s'intègre dans la partie septentrionale de la plateforme saharienne à 32°30' de latitude Nord et à 3°45' de longitude (KEMASSI et *al.*, 2014).

II.4. Etude des polysaccharides

Pour le présent travail, les graines de *M. deserti* (Photo 02), sont utilisées pour l'extraction et l'étude des polysaccharides hydrosolubles.



Photo 02 : les graines de *Marrubium deserti* de Noé

II.4.1. Extraction des polysaccharides hydrosoluble

Les polysaccharides hydrosolubles de *M. deserti* sont extraits par macération des graines non broyées (50 g) dans de l'eau distillée (2L) pendant 2 heures à 80°C et sous agitation à l'aide d'un agitateur à pales (YOUMBAI, 2017). Le mélange est filtré à travers une gaze. Le filtrat est concentré à 60°C jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial, dans un évaporateur rotatif. Les polysaccharides du concentrât sont précipitées à l'aide de 3 volumes d'éthanol à 96% pendant 24 heures à une température de 4°C (BOUAL, 2011). Après centrifugation à 4000g pendant 15 min (DIALLO et al., 2004). Le mélange est ensuite refroidi à 4°C dans un bain de glace puis le surnageant a été concentrée au tiers du volume initial sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif pendant 2 h à une température de 60°C (WANG et al., 2017). Le culot obtenu, après une centrifugation à 4000 rpm pendant 15 min (ZHANG et al., 2010), puis lavé trois fois par l'acétone et séché à l'air (LI et al., 2018). L'extrait est séché à 45°C pendant 24 heures dans une étuve puis broyé dans un mortier en une fine poudre blanche.

II.4.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement des polysaccharides obtenu est calculé selon la formule suivante (CHOUANA, 2017) :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{\text{Masse du polysaccharide extrait (g)}}{\text{Masse du matériel végétal initial (g)}} \times 100$$

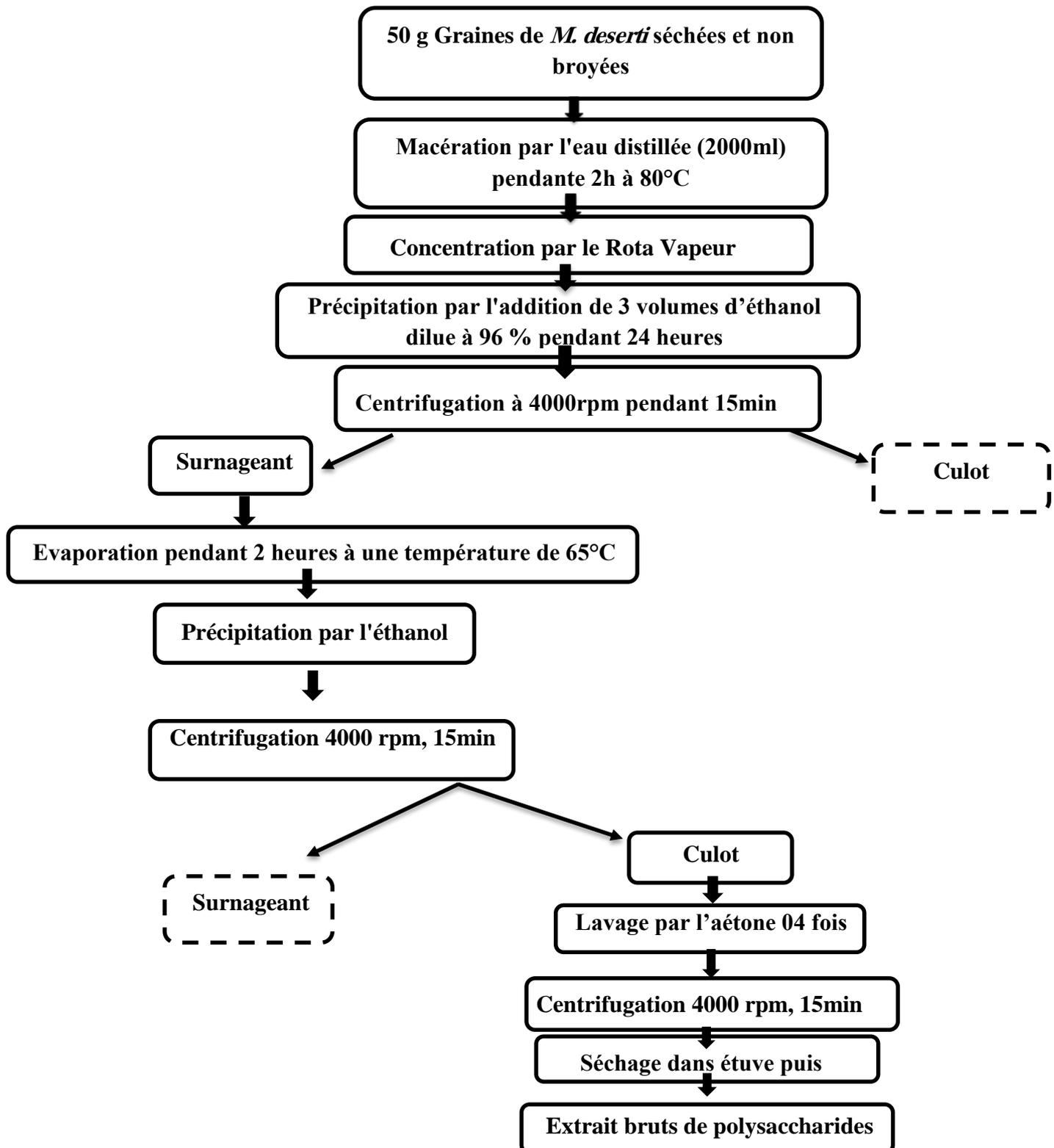


Figure 1 : Protocol de l'extraction des polysaccharides brute du l'espèce *Marrubium deserti* De Noé (DIALLO et al., 2004 ; ZHANG et al., 2010 ; BOUAL, 2011 ; WANG et al., 2017 ; YOUMBAI, 2017 ; LI et al., 2018).

II.4.3. Caractérisation des polysaccharides

D'après **DELATTRE (2005)**, La détermination de la composition monosaccharidique de l'extrait polysaccharidique brut se fait par une hydrolyse acide suivie par chromatographie sur couche mince (CCM).

II.4.3.1. Hydrolyse acide des extraits bruts

II.4.3.1.1. Principe

L'hydrolyse des polysaccharides par le TFA permet l'analyse de la composition en monosaccharides par CCM. Le TFA hydrolyse les liaisons glycosidiques sans causer des destructions massives des composants de monosaccharides résultants (**MORRISON, 1988**).

II.4.3.1.2. Mode opératoire

Dans des flacons de petit volume 20 mg de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles est mélangé avec 1ml d'acide Trifluoroacétique (TFA) de 2M (**GHANIA, 2015**). Le mélange est chauffé à 120°C à l'étuve pendant 90 min (**CHOUANA, 2017**). puis refroidis et récupéré dans des boîtes de Pétri de petit volume, quelques gouttes de méthanol sont ajoutées. Les boîtes de Pétri sont déposées dans un dessiccateur sous vide pendant 24h. Après évaporation et séchage total, les hydrolysats sont dissous dans 1 ml d'eau distillée et conservés pour l'analyse par CCM (**XU et al., 2008**).

II.4.3.2. Chromatographie sur couche mince

II.4.3.2.1. Principe

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse qualitative et quantitative utilisée dans la présente étude pour l'identification des différents oses constitutifs des polysaccharides hydrosolubles. L'analyse qualitative en oses des polysaccharides pariétaux a été réalisée par CCM selon **RANDERATH (1971)**. L'identification est rendue possible grâce à des témoins, solutions de sucres connus déposés dans les mêmes conditions que le mélange à analyser. Chaque sucre est caractérisé par son R_f, rapport de la distance de migration du spot à la distance de migration du front du solvant (**AUDIGIE et al., 1980**). De plus, étant donné que la CCM indique le nombre de composants d'un mélange, semble employer pour suivre la progression d'une réaction comme, c'est le cas de l'hydrolyse de polysaccharides (**DELATTRE, 2005**). Les spots sont révélés par une réaction colorée le Nigrum après migration, la révélation est basée sur les réactions furfuraliques des sucres. Après chauffage à l'étuve à 105°C pendant 10 à 15mn les aldohexoses donnent une coloration bleuâtre, les aldopentoses donnent une coloration verdâtre, les cétooses donnent une coloration rougeâtre (**PAULSEN et al., 2002**).

II.4.3.2.2. Mode opératoire

Le choix du système de phase mobile est en fonction de la nature des oses à séparer et les rapports frontaux obtenus. Deux systèmes sont utilisés pour des plaques en gel de silice (**HOTON-DORGE, 1976 ; CHENG et al., 2010**).

➤ **Préparation des phases mobiles**

L'analyse chromatographique est réalisée avec deux phases mobiles représentées par deux systèmes différents.

- Système 1 : la phase mobile est constituée d'acétate d'éthyle, pyridine, eau, n-butanol, acide acétique dans les proportions 5-4-4-10-2 (HOTON, 1976).
- Système 2 : la phase mobile est constituée de chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique, eau (4,5-12,5-5-1,5-1,5) (CHENG *et al.*, 2010).

➤ **Préparation de la phase stationnaire**

Des plaques en gel de silice prêtes à l'emploi, sont utilisées comme phase stationnaire, sont de type Silica gel 60 F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium (WANG et FANG, 2004).

➤ **Préparation de révélateur (NIGRUM)**

La révélation des spots est réalisée par le NIGRUM qui est préparé par le mélange de deux solutions :

- ✚ A ; 4g diphenylamine dans 100 ml d'acétone
- ✚ B ; 96 ml d'acétone complété jusqu'à 100 ml par l'aniline

Après le mélange de les solutions A et B, 20 ml d'acide Orthophosphorique à 85% (PAULSEN *et al.*, 2002).

➤ **Préparation des cuves et suivi de la CCM**

La préparation des cuves est réalisée selon la méthode d'AUDIGIE *et al.* (1995), modifiée. La phase mobile est versée dans la cuve à une hauteur de 0,5 cm d'environ. La cuve est laissée fermée hermétiquement pendant 24h pour assurer une saturation maximale en vapeur de la phase mobile.

➤ **Dépôt des hydrolysats et étalons**

Une quantité de 25 mg de chaque ose dont le galactose, l'arabinose, le glucose, le xylose, le mannose, rhamnose, acide glucuronique et l'acide galacturonique, est dissous dans 2,5 ml d'eau distillée (BOUAL *et al.*, 2013).

Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur des plaques, puis les solutions sont déposées à l'aide d'un applicateur, en utilisant une micropipette de 10 µl (AUDIGIE *et al.*, 1995; BOUAL, 2011).

➤ **Développement des plaques**

Les plaques sont placées dans les cuves de sorte que la ligne de dépôt soit au-dessus de la phase mobile. La cuve est ensuite fermée pour laisser les plaques se développer avec le

temps, en évitant tout déplacement ou vibration des cuves pendant l'élution. Quand le solvant arrivera à 1cm du bord supérieur, les plaques sont retirées doucement et le front du solvant est marqué avec un crayon (DELATTRE, 2005).

Elles sont ensuite séchées à l'air libre et révélées par le NIGRUM à l'aide d'un pulvérisateur. Les plaques sont incubées à l'étuve à 100°C jusqu'à l'apparition des spots colorés (ou taches) environ 5mn (BOUAL, 2011).

➤ **Calcul du rapport frontal**

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son R_f (Rate factor ou rapport frontal) qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant)

$$R_f = \frac{\text{La distance parcourue par la substance}}{\text{La distance parcourue par le solvant}} \quad (\text{RANDERATH, 1971}).$$

II.4.3.3. Détermination des monosaccharides constitutifs par (HPLC)

➤ **Principe**

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) repose sur le principe de la séparation des composants d'un mélange en solution, en utilisant une colonne de chromatographie remplie de particules stationnaires hautement poreuses, comme la silice ou l'octadécylsilyl. Les composants se séparent en fonction de leur affinité relative pour la phase mobile et la phase stationnaire, ce qui entraîne des différences de temps de rétention et de distribution des composants dans la colonne (ANDERSON *et al.*, 2015). Le processus de séparation est réalisé par l'écoulement continu de la phase mobile à travers la colonne, qui entraîne les composants du mélange à travers la phase stationnaire. Les composants se séparent en fonction de leur affinité relative pour la phase mobile et la phase stationnaire, ce qui entraîne des différences de temps de rétention et de distribution des composants dans la colonne. Les composants émergent de la colonne à des instants différents et sont détectés par un détecteur approprié (MEYER, 2010). L'échantillon est dissous dans la phase mobile et injecté dans la colonne de chromatographie. La phase mobile peut être composée d'un solvant simple ou d'un mélange de solvants qui est spécifiquement choisi en fonction de la nature du composé à séparer. Des paramètres tels que le pH, la concentration en sel et la température peuvent également être ajustés pour optimiser la séparation (MEYER, 2010). Le détecteur utilisé pour l'HPLC peut être un détecteur UV, un détecteur à fluorescence ou un détecteur de masse, en fonction de la nature des composés recherchés et de la sensibilité nécessaire pour leur détection (ANDERSON *et al.*, 2015).

✓ Matériels et réactifs

Eau ultra pure. Acide acétique (Sigma-Aldrich). Acétonitrile (Honeywell). L-arabinose (Sigma-Aldrich, 13256). D-galactose (Sigma-Aldrich, G0750). D-glucose (Sigma-Aldrich, G8270). D-mannose (Sigma-Aldrich, M6020). L-rhamnose (Sigma-Aldrich, W373011). D-xylose (Sigma-Aldrich, X1500). L'hydrolysate polysaccharidique de *M. deserti* SM (C= 40 mg/mL).

➤ Mode opératoire

L'hydrolysate polysaccharidique de *M. deserti* est analysé par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Pour cela, une colonne NH₂ (250 mm x 4,6 mm de diamètre interne x 5 µm) a été utilisée et maintenue à une température de 35°C. L'élution a été réalisée à un débit constant de 1 mL/min en utilisant une phase mobile constituée d'un mélange d'eau ultra pure (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B) dans un ratio de 80:20 (v/v), en mode isocratique. La détection des composés a été effectuée à l'aide d'un détecteur réfractométrique.

Des standards des monosaccharides tels que l'arabinose et le xylose ont été dissous dans de l'eau ultra pure et utilisés pour l'identification des monosaccharides constitutifs présents dans l'extrait. L'identification des pics dans l'analyse HPLC a été réalisée en comparant les temps de rétention des standards de référence avec ceux des pics observés dans l'extrait.

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

II.4.5. Activité phagocytaire

L'une des activités biologiques testées *in vitro* dans cette étude pour évaluer l'effet des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles obtenus, est l'activité phagocytaire.

II.4.5.1. Principe du test

Le test de phagocytose est basé sur l'activation des cellules phagocytaires par les polysaccharides. Il est utilisé pour déterminer l'activité phagocytaire des leucocytes à ingérer les levures *Candida albicans* après stimulation par des extraits polysaccharidiques (HARUN *et al.*, 2015).

II.4.5.2. Prélèvement de sang

Le sang humain est obtenu par une ponction veineuse aseptique réalisée sur des volontaires sains, de sexe masculin, âgé de 25 à 38 ans (KOKO *et al.*, 2008) le même jour de son utilisation au niveau de laboratoire IBN ROCHD Ghardaïa.

Le sang total est recueilli dans un tube contenant le sodium héparine comme anticoagulant (MAQBOOL *et al.*, 2011).

II.4.5.3. Préparation de *C. albicans*

Candida albicans est inoculé dans un milieu liquide de Sabouraud à partir d'une culture mère maintenue sur la gélose inclinée de Sabouraud. Puis, elle est laissée pendant une nuit à

30°C Cette technique permet d'obtenir le *C. albicans* sous forme de blastoconidies. La culture est centrifugée à 400g pendant 10mn (**GHONEUM et GOLLAPUDI, 2004**).

Le culot est lavé deux fois avec 1ml de tampon PBS stérile et centrifugé à 460g à 4°C pendant 10mn, puis l'incubation est effectuée pendant 1h à 90°C pour tuer les *C. albicans* (**GHONEUM et GOLLAPUDI, 2004**). Les levures mortes sont lavés deux fois dans 1ml de PBS et centrifugé (**RAGSDALE et GRASSO, 1989**). La mesure de l'absorbance à 540nm permet l'estimation de concentration de cellules dans le PBS. L'absorbance est ajustée à 1,0 qui correspond à 1×10^7 blastoconidies de *C. albicans*/ml, approximativement (**Ghoneum et Gollapudi, 2004 ; Tavanti et al., 2006**).

II.4.5.4. Préparation des solutions tampons-tampon Phosphate Saline (PBS)

PBS est une solution saline à des concentrations ioniques correspondent à celles du corps humain. C'est un milieu isotonique et non toxique pour les cellules vivantes (**HEAKAL et al., 2014**).

❖ Composition de PBS

Le tampon est préparé à pH 7,4 (**HEAKAL et al., 2014**), dans 1000 ml d'eau bidistillée. La température de la solution est maintenue à 37°C (**DALMAU et al., 2015; GUIÑÓN et al., 2015**).

Tableau 02 : Composition de PBS selon **BURNAT et al. (2013)**

Composants	Quantité (g.l ⁻¹)
Nacl	8
Kcl	0,2
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	2,9
KH ₂ PO ₄	0,2

❖ Préparation de PBS

Les composants sont ajoutés à l'eau distillée et le volume est amené jusqu'à 1000 ml. Après une bonne agitation, le pH est ajusté à 7,4. Le tampon est stérilisé à l'autoclave pendant 15 mn à une pression de 1 bar, à une température de 121°C et conservé à 25°C (**ATLAS, 2010**).

❖ **Solution de HANKS**

La solution de HANKS connu sous le nom de HBSS (Hank's buffered salt solution) qu'est une solution très délicate à fabriquer. Les étapes décrites pour la préparation de Hanks sont exécutées minutieusement (NAOUN, 2014).

❖ **Composition de la solution de HANKS**

La solution saline de Hanks est préparée à pH 7,4 dans 1000 ml d'eau distillée (HANKS, 1975).

Tableau 03 : Composition de solution Hanks selon HANKS (1975).

Composants	Quantité (g.l ⁻¹)
CaCl ₂	1,4
NaCl	80
KCl	4,0
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,6
MgSO ₄ .7H ₂ O	2,0
KH ₂ PO ₄	0,6
Glucose	10
Rouge dephénol 0,2 %	0,4
NaHCO ₃	3,5

❖ **Préparation de la solution de HANKS (HANKS, 1975)**

Trois solutions sont préparées

- **Solution A**

Dans un bécher, 1,4g de CaCl₂ est dissous dans un 200ml d'eau distillée glacée et dans un autre bécher de 1000ml contenant 800ml d'eau distillée glacée, les ingrédients restant sont ajoutées à l'exception de NaHCO₃, puis une agitation est effectuée jusqu'à dissolution. Les deux solutions sont mélangées et une quantité d'eau distillée est ajouté jusqu'à rendre le volume total égale à 1100ml en fournissant 10% d'excès d'eau pour compenser les pertes durant l'autoclavage.

- **Solution B**

Afin de préparer une solution de rouge de phénol à 0,2%, 200ml d'eau distillée glacée est ajoutés à 0,4g de rouge phénol. Puis, la solution ainsi préparée est autoclavée.

- **Solution C**

Une solution isotonique de 1,4% de NaHCO_3 est préparée par dissolution de 3,5g de NaHCO_3 dans 250ml d'eau distillée glacée puis autoclave. Cette solution est utilisée pour l'ajustement de pH.

II.4.5.5. Préparation de polysaccharides

La fraction polysaccharidique de *M. deserti* est testée pour leurs capacités d'activer la phagocytose de *C. albicans* par les leucocytes humains (POPOV *et al.*, 1999).

L'extrait polysaccharidique est préparé dans la solution de Hanks pour une concentration de $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ (NERGARD *et al.*, 2005).

II.4.5.6. Préparation de Zymosan

Le zymosan est un dérivé de la membrane des cellules de *saccharomyces cerevisiae*, il s'agit d'un complexe des protéines et des glucides notamment du β -D glucane. Un β -glucane est constitué de résidus glucose liés par des liaisons osidiques β -1,3 (SATO *et al.*, 2003). FREIRE-GARABAL *et al.*, (1993) ont utilisé le test au zymosan pour mesurer la phagocytose *in vitro*.

Une concentration de $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ est préparée de zymosan considéré comme contrôle positive (EDVARD *et al.*, 1978).

II.4.5.7. Exploration de la phagocytose et récupération des cellules phagocytaires (protocole modifié)

L'extrait polysaccharidique $40\mu\text{l}$ est mélangé avec $200\mu\text{l}$ du sang hépariné et incubé dans un incubateur avec agitation 60 rpm à 37°C pendant 30 min. Puis, les tubes sont mis sur la glace pour arrêter la réaction (HARUN *et al.*, 2015). Les cellules stimulées sont lavées deux fois par 1 ml de PBS (CHEN *et al.*, 2015). froide 4°C , puis centrifugé à 250g pendant 5 min à 4°C (ROSSI *et al.*, 2013). Au mélange des échantillons, $40\mu\text{l}$ de solution de *Candida albicans* est ajoutée à 0°C . Les échantillons sont incubés dans un incubateur avec agitation à 37°C pendant 10 min. Tandis que, pour le contrôle négatif les échantillons sont placés sur la glace (HARUN *et al.*, 2015).

Après l'incubation, la phagocytose est arrêtée par l'addition de 2 ml de PBS froide, et les cellules sont ensuite lavées trois fois par 1ml de PBS froide (CHENA *et al.*, 2014). puis centrifugées à 100g pendant 5 min à 4°C , trois fois (CZUPRYNSKI *et al.*, 1991).

II.4.5.8. Lyse des érythrocytes

MAQBOOL *et al.*, (2011) ont lysé les érythrocytes par 2 ml d'une solution de lyse pour obtenir une population pure de granulocytes. La lyse des hématies est effectuée une fois pendant 20s (le temps est strictement contrôlé en utilisant un chronomètre) par la solution HSi d'hémolyse et de lavage. Le processus de lyse est arrêté en utilisant 2 ml d'un tampon HBSS suivi d'une centrifugation à 400g pendant 10 min et les échantillons sont ensuite lavés par 3 ml de PBS, deux fois (HARUN *et al.*, 2015).

Tableau 04 : Test de phagocytose

Concentration		1 mg.ml ⁻¹
Contrôle positif	Sang total (µl)	200
	Zymosan (µl)	40
<i>M. deserti</i>	Sang total (µl)	200
	Polysaccharides (µl)	40
Contrôle négatif	Sang total (µl)	200
	Solution de Hanks (µl)	40
	<i>Candida albicans</i> (µl)	40

II.4.5.9. Préparation de frottis sur lame

La préparation des frottis se fait selon la méthode de ROUËSSE (2002).

- Prélever 5µl de chaque culot cellulaire à l'aide du compte-goutte
- Déposer la goutte à l'extrémité d'une lame en verre propre
- Etaler à l'aide d'une autre lame, immédiatement et régulièrement
- Sécher le frottis à l'air libre (MOINFAR *et al.*, 2012).

II.4.5.10. Fixation par le méthanol

La fixation des cellules étalées est faite en versant quelques gouttes de méthanol sur la lame pour une durée de 2 min (NORUM *et al.*, 2005 ; PONTE *et al.*, 2012).

II.4.5.11. Coloration de MGG

La coloration de May-Grünwald-Giemsa repose sur un mélange de colorants (éosine, bleu de méthylène et azur). Il s'agit en fait d'une coloration en deux temps, en milieu alcoolique puis aqueux (SEBAHOUN, 2005).

II.4.5.11.1. Principe de coloration

Une coloration standard utilise la méthode de May-Grünwald-Giemsa (WILDEMANN et OSCHMANN, 2011) repose sur l'interaction entre l'éosine G et un complexe ADN azur B. Les deux colorants forment un complexe (MERCK, 2008).

Les noyaux apparaissent en différents degrés de coloration mauve et le cytoplasme en différents degrés en bleu, ce qui permet de différencier les structures individuelles (WILDEMANN et OSCHMANN, 2011). L'intensité de la coloration dépend de la teneur en azur B et du rapport azur B- éosine G. Le résultat de la coloration peut être influencé par divers facteurs comme le pH de la solution et de la solution tampon, les substances tampons, le temps de coloration et de fixation (MERCK, 2008).

II.4.5.11.2. Préparation de la coloration MGG (Merck, 2008)

✓ Préparation de la solution d'éosine-bleu de méthylène à partir de colorant selon May-Grünwald

Dans 100 ml de méthanol, 0,25g d'éosine-bleu de méthylène de May-Grünwald est dissous suivi d'un léger chauffage dans un bain Marie à 60°C. Après agitation durant 1h, la solution est laissée reposer 24h puis filtrer.

La dilution de la solution de May-Grünwald est s'effectuée pour la coloration manuelle, en mixant 30 ml de solution éosine-bleu de méthylène de May-Grünwald avec 150 ml d'eau distillée et 20 ml de solution tampon.

✓ Solution de Giemsa diluée pour la coloration manuelle

Une dilution de 10ml de solution azur-éosine-bleu de méthylène de Giemsa se fait dans 190ml de solution tampon. Après mélange, la solution est laissée reposer 10min et filtrée si nécessaire.

II.4.5.11.3. Procédure de la coloration May-Grünwald-Giemsa (NORUM et al., 2005 ; WILDEMANN et OSCHMANN, 2011)

- Sécher la préparation cellulaire à l'air
- Couvrir le frottis pendant 3 mn par une solution de May-Grünwald-Giemsa (éosine avec bleu de méthylène)
- Eliminer l'excès de colorant en rinçant avec l'eau du robinet
- Couvrir le frottis de 15 à 20 mn avec une solution fraîche de Giemsa filtré (la solution standard dilué à 1:10 avec l'eau du robinet)
- Laver rapidement avec l'eau du robinet
- Sécher le frottis à l'air.

II.4.5.12. Lecture du frottis sous microscope

Après séchage, les lames sont examinées après l'addition de quelques gouttes de l'huile d'immersion (GHONEUM et GOLLAPUDI, 2004). au microscope optique par un grossissement de 1000 fois (GIAIMIS et al., 1992).

II.4.5.11.4. Calcul de capacité phagocytaire

Une centaine de cellules adhérentes sont comptés pour déterminer le pourcentage de la phagocytose à l'aide d'un microscope optique. Les valeurs de phagocytoses représentent le pourcentage de cellules qui contiennent des levures intériorisées (POPOV *et al.*, 1999).

La capacité phagocytaire est représentée comme suit :

$$\text{CP}\% = (\text{Nombre de cellules ingérées} / \text{Nombre totale}) \times 100\%$$

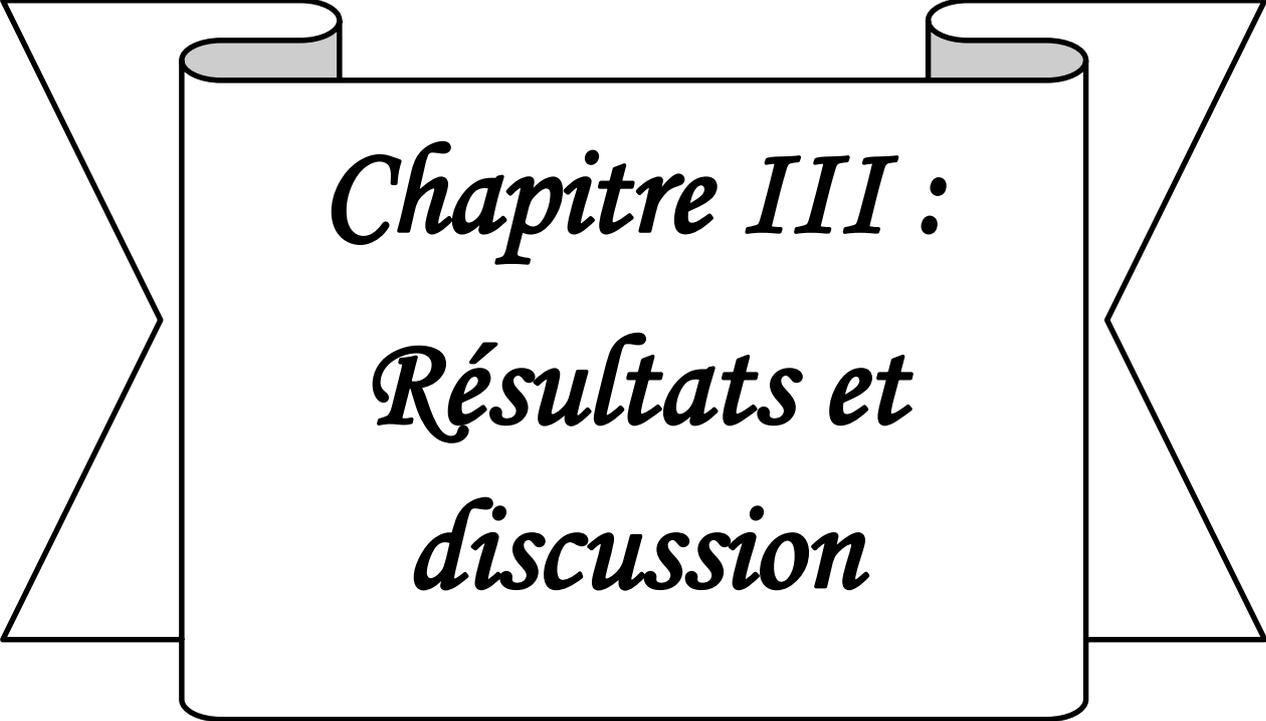
- CP : Capacité de phagocytose.
- Nombre de cellules ingérées : les macrophages phagocytaires de levures ou zymosan.
- Nombre totale : les macrophages choisis pour le calcul.

II.4.5.11.5. Calcul de l'activité phagocytaire

Après calcul du degré de phagocytose du contrôle positive, des polysaccharides et du contrôle négatif. L'activité phagocytaire des polysaccharides et celle de contrôle positive est calculé selon STEVEN *et al.*, (1984) comme suit :

$$\text{PA}\% = \text{CP}_{\text{test}} \% - \text{CP}_{\text{blanc}} \%$$

- PA% : activité phagocytaire catalysé par les polysaccharides et le contrôle positif.
- CP_{test} % : capacité de phagocytose en présence de polysaccharides ou bien de contrôle positif.
- CP_{blanc} % : capacité de phagocytose en absence de polysaccharides ou bien de contrôle négatif.



Chapitre III :
Résultats et
discussion

Les résultats d'analyses et les activités biologiques testées des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles de *Marrubium deserti de Noé* sont développés dans ce chapitre.

III.1. Rendement de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles

Le rendement massique est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction (MOURADI *et al.*, 2006).

D'après le résultat noté, il apparaît que le rendement massique de l'extrait polysaccharidique des graines de *M. deserti de Noé* est de 24,87%, ce rendement est plus élevé par rapport aux rendements d'extraction des polysaccharides des graines de *Plantago ciliata* soit 18,6% (ADDOUN, 2021); de *Plantago notata* (BENAOUN, 2017) et de *Cassia ovata* (BOUAL, 2014) sont, 4,66% et 3,2% respectivement.

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

III.2. Analyse des résidus glycosidiques par chromatographie sur couche mince des polysaccharides (CCM)

Après l'hydrolyse acide de l'extrait polysaccharidique par l'acide trifluoroacétique, l'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince permet d'identifier partiellement les principaux oses constitutifs de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles des graines de *M. deserti*, par comparaison des rapports frontaux des taches apparues avec ceux des étalons.

La lecture de chromatogramme de système I, révèle la présence de deux spots d'ose de Rf : 0,539 et 0,626 qui correspond à l'arabinose et xylose, respectivement. Tandis que le système II donne trois spots d'ose de Rf : 0,163, 0,516 et 0,598 qui correspond à l'acide galacturonique, arabinose et xylose.

Tableau 05 : Rapports frontaux (Rf) des oses étalons dans les deux systèmes de CCM

Type d'ose	Système I	Système II
Acide galacturonique	0,139	0,172
Acide glucuronique	0,173	0,196
Arabinose	0,547	0,532
Galactose	0,426	0,442
Glucose	0,478	0,475
Manose	0,521	0,5
Rhamnose	0,695	0,647
Xylose	0,617	0,606
PS (Echantillon)	0,539	0,163
	0,626	0,516
		0,598

Par comparaison des rapports frontaux des tâches apparues dans l'extrait polysaccharidique avec ceux des étalons, il est appa  t que les polysaccharides des graines de *M. deserti* constituent principalement de xylose, arabinose et d'acide galacturonique.

Donc, l'extrait brut des polysaccharides des graines de *M. deserti* est un hétéro-polysaccharides, constitués majoritairement de xylose, arabinose et acide galacturonique. Ces résultats semblent proches à ceux rapportés par **BOUAL, (2014)** qui ont signalé que un arabinoxylane a été isolé des graines de *Plantago notata* est constituée de l'arabinose et de xylose.

Les analyses chimiques et spectroscopiques de l'extrait aqueux de Marsypianthes chamaedrys ont indiqué que la fraction F2-A contenait de l'homogalacturonane, du rhamnogalacturonane de type I, de l'arabinogalactane de type II et de l'  -glucane. Les spectres UV et FT-IR ont indiqué la présence possible d'acide férulique (**COELHO et al., 2020**).

Les arabinoxylanes représentent le type de xylane le plus étudié à ce jour (**WARRANT, 2004**). Ils peuvent être extraits de différentes sources. Les arabinoxylanes sont présents dans de nombreux tissus des principales céréales commercialisées. Ils constituent une part importante des parois cellulaires des végétaux. Un grand nombre ne peut pas être extrait des parois cellulaires à l'eau. Cette différence de solubilité, est liée au type de substitution ou à la présence de liaisons covalentes (ester) entre des acides uroniques et les groupements hydroxyles des arabinoxylanes. Ils se distinguent essentiellement par leur masse moléculaire et leur degré de substitution par l'arabinose exprimé par leur rapport arabinose/xylose (A/X) (**BOUAL, 2014**).

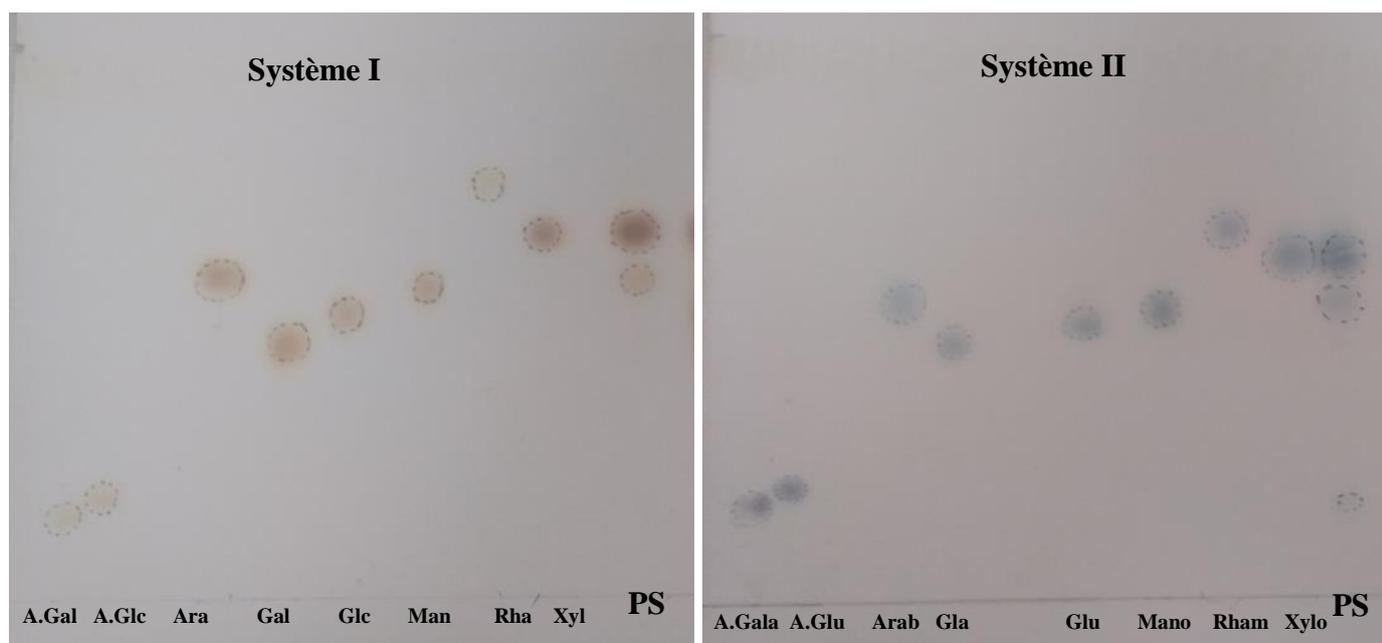


Figure 02 : Chromatogramme d'hydrolysats de polysaccharide des graines de *M. deserti* du système I et système II par CCM.

PS : fraction polysaccharidique /A-gala.: acide D-galacturonique/ A-glu.: acide D-glucuronique/Ara: L-arabinose/ Gal: D-galactose/Glc: D-glucose/Man: D-mannose/ Rha: L-rhamnose

III.3. Analyse des résidus glycosidiques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'analyse de la fraction de polysaccharide de *M. deserti* montre qu'il y a une diversité de produits dans sa composition, révélés par deux pics. Le premier, avec un temps de rétention $Tr = 6,252$ min ; un deuxième, avec un temps de rétention $Tr = 6,720$ min.

Le polysaccharide de *M. deserti* contient de l'arabinose et le xylose avec une proportion 32.02% et 67.97% respectivement, qui représente un rapport 1/2 (A/X).

Tableau 06 : Temps de rétention des différents témoins polysaccharide de Marrubium deserti obtenus après séparation par HPLC.

Standards	Temps de rétention (min)	Equation de la courbe d'étalonnage	Proportion (%)
Xylose	$Tr = 6,252$ min	$f(x) = 16666.3 * x - 16840.2$	67.979
Arabinose	$Tr = 6,720$ min	$f(x) = 21913.8 * x + 65528.3$	32.021

Alors que le polysaccharide de *M. deserti* est constituée de l'arabinoxylane ; ce résultat en accord avec les résultats obtenus par CCM.

III.4. Etude de l'activité phagocytaire

Le présent travail s'intéresse à l'étude de l'activité phagocytaire des cellules immunitaires issues de sang total sur les levures de *Candida albicans*. L'extrait de polysaccharides des graines de *M. deserti* est testé, en considérant le zymosan comme contrôle positif.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentages de la capacité phagocytaire, en calculant aussi l'activité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique des graines de *M. deserti*. La présentation graphique des résultats est figurée en histogramme pour la capacité phagocytaire (Fig 05) et pour l'activité phagocytaire (Fig 06).

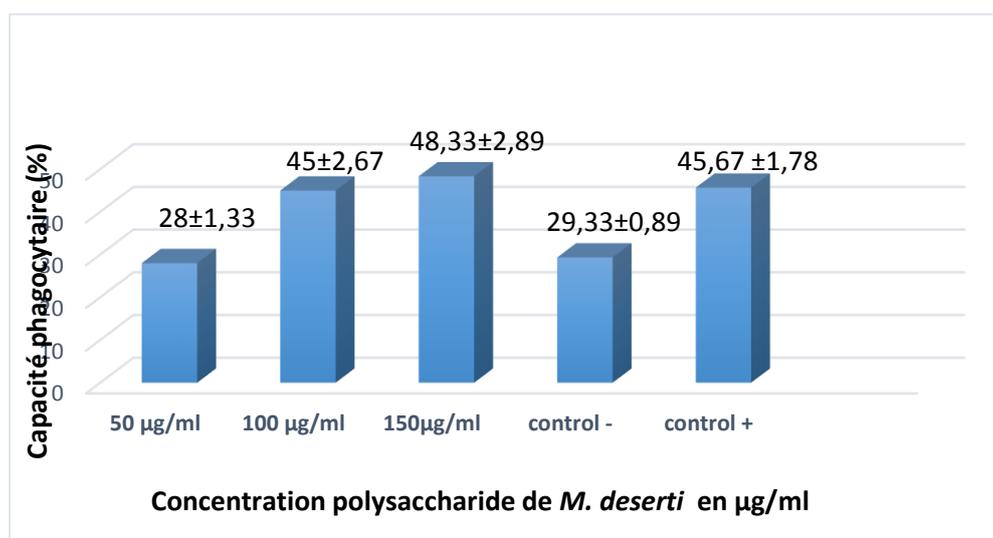


Figure 5 : Capacité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique de *Marrubium deserti*

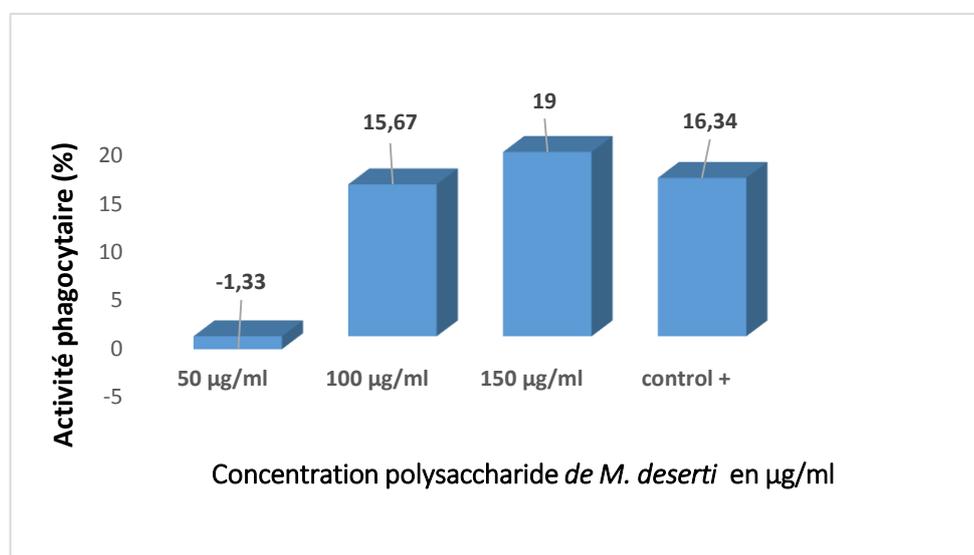


Figure 6 : Activité phagocytaire d'extrait de polysaccharides hydrosoluble de *M. deserti*

Les résultats montrent qu'une augmentation de la capacité phagocytaire dose dépendante a été observée chez des leucocytes traités avec les polysaccharides de *M. deserti* à base de 50-150 µg/ml.

La figure 05 montre une capacité phagocytaire des leucocytes soit $28 \pm 1,33\%$ en concentration $50 \mu\text{g/ml}$, $45 \pm 2,67\%$ en concentration $100 \mu\text{g/ml}$ et $48,33 \pm 2,89 \%$ en concentration $150 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait polysaccharidique de *M. deserti*.

La capacité phagocytaire de contrôle négatif est de $29,33 \pm 0,89$, semble inférieure à celle présenté par de **Souza ferreira et al., (2016)** soit 40% pour *Candida albicans*. **El-boshy et al., (2010)** ont ainsi signalé une capacité phagocytaire de $26,8 \pm 1,78\%$ pour le zymosan comme contrôle positif. Cette capacité est inférieure à celle de contrôle positif qu'on a noté. En outre, le zymosan a montré une activité phagocytaire de $16,33\%$ semble inférieure à celle présenté par de **Wang et al., (2014)** soit $20,23 \pm 2,54\%$ pour *Salvia miltiorrhiza Bunge*. Tandis que l'activité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique des graines de *M. deserti* est de $1,33\%$ pour une concentration de $50 \mu\text{g/ml}$, $15,67\%$ pour une concentration de $100 \mu\text{g/ml}$ et 19% pour une concentration de $150 \mu\text{g/ml}$. Ces résultats semblent inférieurs à ceux présentés par **Boual et al., (2020)** qui montre l'activité phagocytaire de l'extrait polysaccharidique des graines de *Plantago notata Lagasca* comme suit : $29,1 \pm 3,42$ pour une concentration de $50 \mu\text{g} / \text{ml}$, $50,1 \pm 4,10$ pour une concentration de $100 \mu\text{g} / \text{ml}$ et $56,3 \pm 4,76$ pour une concentration de $150 \mu\text{g} / \text{ml}$.

Les résultats suggèrent que le L'extrait polysaccharidique de *Marrubium deserti* a contribué à la grande amélioration ou au renforcement de la fonction phagocytaire des polynucléaires

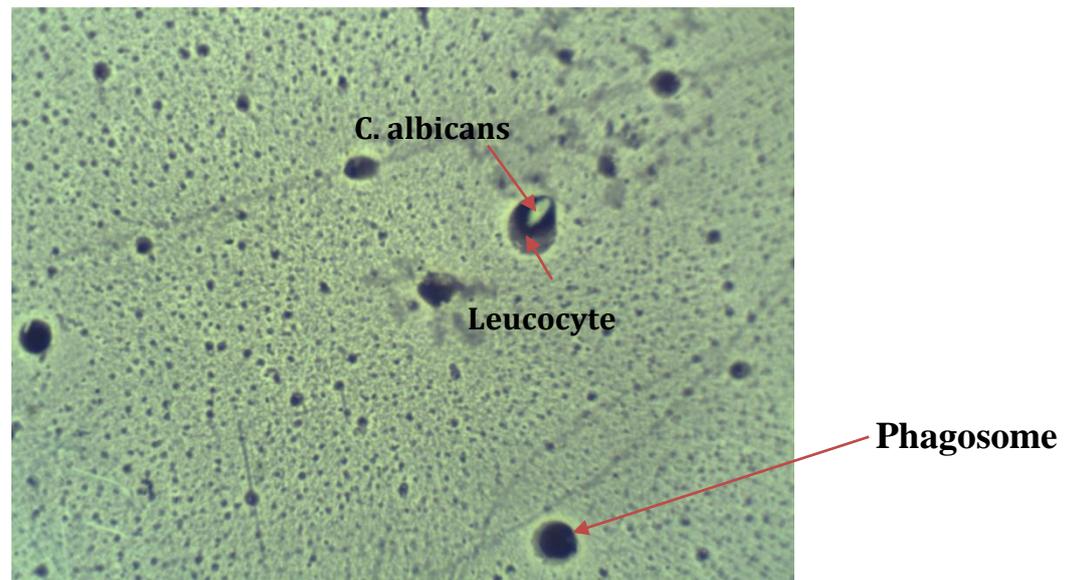


Photo 3 : Observation microscopique de la phagocytose de *Candida albicans* par les leucocytes isolés du sang humain et activés par les extraits de polysaccharides bruts (x 1000).



Conclusion

&

Perspectives

Conclusion

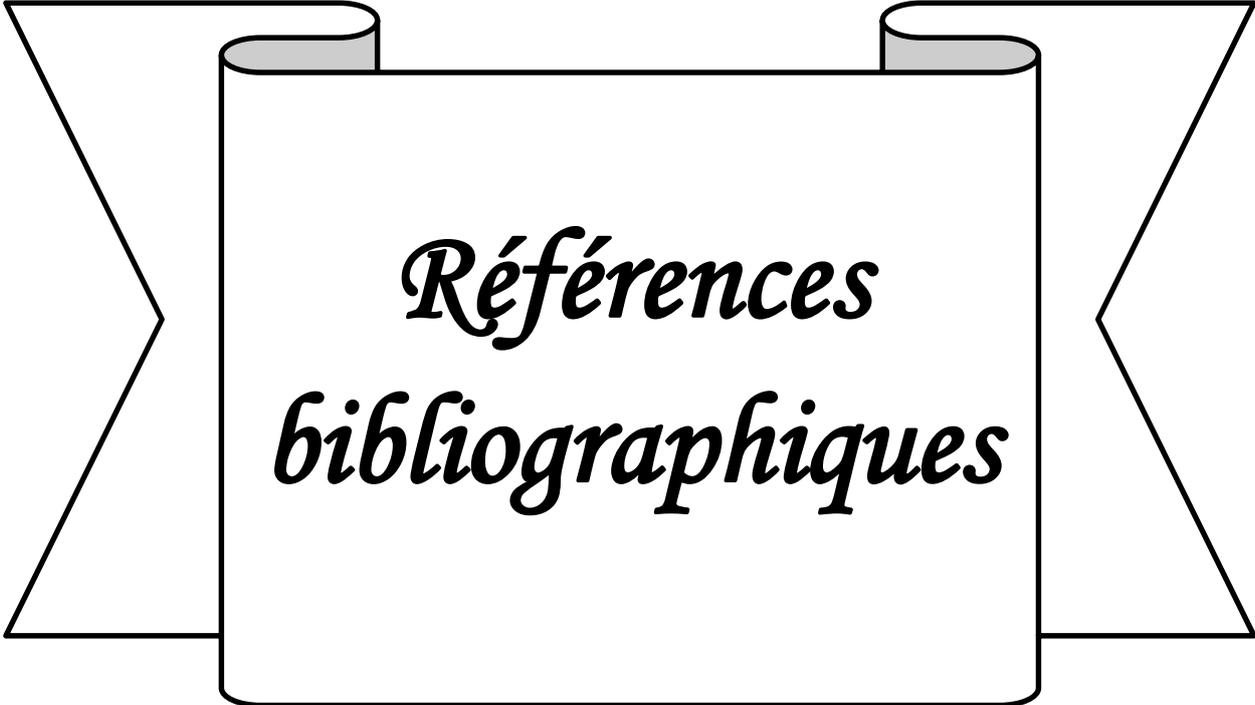
L'étude des polysaccharides hydrosolubles de graines de l'espèce de *Marrubium deserti* végétale appartenant à la famille des *Lamiaceae* récoltée dans la région de Ghardaïa, située au Sahara septentrional Est Algérien. Les graines sont macérées dans l'eau distillée à 80°C pendant 2h. Puis la précipitation des polysaccharides se fait par éthanol. L'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles obtenu, a un rendement massique de 24,87%.

L'analyse qualitative de l'extrait polysaccharidique en oses constitutifs s'est fait par chromatographie sur couche mince (CCM) suivant deux systèmes de séparation après une hydrolyse acide. L'analyse a montré la présence du xylose, arabinose et acide galacturonique. Cette analyse est confirmée par HPLC a montré que Les graines de *M. deserti* semblent renfermer de polysaccharide l'arabinoxylane (rapport A/X de 2,1).

En ce qui concerne l'activité phagocytaire, d'après les résultats obtenus, l'extrait polysaccharidique de *M. deserti* a montré une activité stimulatrice de la phagocytose, en raison de leur capacité d'activer la phagocytose des leucocytes isolés à partir du sang total et ingérer avec les cellules de la levure *Candida albicans*.

Perspectives

Pour une meilleure évaluation de l'activité phagocytaire des polysaccharides, on propose de purifier l'extrait polysaccharidique, afin de préciser les parties responsables des effets remarqués. Afin de confirmer les résultats obtenus par CCM, on suggère de faire appel à des techniques plus avancées comme CG/MS et la HPAEC-PAD pour caractériser précisément les résidus glycosidiques constituant les polysaccharides des graines de *Marrubium deserti*.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- 1- ABID, S., KHAJURI, A., PARVAIZ, Q., SIDIQ, T., BHATIA, A., SINGH, S., AHMAD, S., RANDHAWA, M.K., SATTI, N.K., & DUTT, P. (2012). Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, 12(4), 626-634.
- 2- ADDOUN, N. *Caractérisation, comportement rhéologique et activités biologiques de polysaccharide hydrosoluble issu des graines de Plantago ciliata Desf. récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est Algérien)* (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah Ouargla).
- 3- ADEVA-ANDANY, M. M., GONZALEZ-LUCAN, M., Donapetry-García, C., Fernández-Fernández, C., & Ameneiros-Rodríguez, E. (2016). Glycogen metabolism in humans. *BBA clinical*, 5, 85-100.
- 4- ALAIS C., LINDEN G., et MICLO L. 2008.- Biochimie alimentaire. 6eme Ed : Dunod. P40.
- 5- ANDERSON TA, MALAVIVA P, OSMAN E (2015) Using Conventional HPLC to Study the Interaction of Pharmaceuticals and Personal Care Products (Ppcps) with Plants. *Pharm Anal Acta* 6: 414. doi:10.4172/21532435.1000414.
- 6- ANNE CATHERINE-BENCHELAH, HILDEGARD BOUZIANE, MARIE MAKKA, Colette Ouahés . Fleur de Sahara (voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili).2011. p181.
- 7- ANTONY SARRAF, EMELINE VERTON , NOURA ADDOUN, ZAKARIA BOUAL , MOHAMED DIDI OULD EL HADJH , ZAINABA EL ALAOUI-TALIBI , CHERKAOUI EL MODAFAR, SLIM ABDLKAFI, IMEN FENDRI , CEDRIC DELATTRE, PASCAL DUBESSAY , PHILIPPE MICHAUD , and GUILLAUME PIERRE. Polysaccharides and Derivatives from Africa to Address and Advance Sustainable Development and Economic Growth in the Next Decad . 4 June 2021. p 3
- 8- ATLAS.R. M., 2010.-Handbook of Microbiological Media, 4ème Edition. Ed. CRC Press, USA: 831p.
- 9- BEGUIN, P., ET LEMAIRE, M. 1996. « The cellulosome : An exocellular, multiprotein complex specialized in cellulose degradation ». *Critical Reviews In Biochemistry And Molecular Biology* 31 (3): 201–236.
- 10- BEN RAHAL N.,2012.- Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de silybum marianum.étude de leurs activités antioxydante et antitumorale. Thèse de doctorat, l'Université de Lorraine,p29
- 11- BENAOUN, FATIMA. "Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de *Plantago notata Lagasca* (Plantaginaceae) et *Urginea noctiflora Batt. Trab* (Liliaceae)." PhD diss., 2017.Casu, B. (1982). Structure and conformation of polysaccharides by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Polymer*.
- 12- BETINA-BENCHARIF, S. B.,2014.- Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales cyclamen africanum, zygophyllum cornutum et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat, L'université de constantine,p64

- 13- BOUAL Z., 2014.- Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est algérien) : Activité biologique. Thèse de Doctorat De l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, Algerie: 2p.
- 14- BOUAL Z., KEMASSI A., MICHAUD P. ET OULD EL HADJ M. D., 2011.- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*Asphodelus tenuifolius* (Liliaceae) et l'étude de l'effet prébiotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. Algerian journal of arid environment, vol. 1 (2): 52-60.
- 15- BOUAL, Z., KEMASSI, A., HAMID OUDJANA, A., MICHAUD, P., & OULD EL HADJ, M.D. (2013). Physico-chemical and biochemical characterization of *Urginea noctiflora* bulbes (Liliaceae) harvested from Ghardaïa (Septentrional Sahara Algerian): antioxidant and antimicrobial activities. *PhytoChem & BioSub Journal*, 7(2).
- 16- BRUNETON, J., 2009- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ième Ed. Lavoisier, p39.
- 17- BURNAT B., WALKOMIAK-PRZYBYLO M., BLASZCZYK T., KLIMEK L., 2013.- Corrosion behaviour of polished and sandblasted titanium alloys in PBS solution. Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol.15 (1): 87-95.
- 18- CHAMANDY A.,2021.- Etude des molécules bioactives et de leurs activités chez deux espèces d'astragales utilisées dans la médecine traditionnelle : *Astragalus emarginatus* Labill. et *Astragalus coluteoides* Will. Thèse de doctorat, L'université de Strasbourg,p34, p45
- 19- CHEBROUK FARID1, HAMMOUDI ROKIA, HADJ MAHAMMED MAHFOUD, FERFAD TAHA BACHIR. 2011. COMPOSITION SPÉCIFIQUE DE LA PLANTE *Marrubium desrti* DE LA RÉGION DE GHARDAÏA (SAHARA SEPTENTRIONAL EST ALGÉRIEN). Algerian journal of arid environment. vol. 1, n° 2, Décembre 2011: 82-87.
- 20- CHEFTEL J-C. & CHEFTEL H. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments Volume 1. Tech & Doc Lavoisier, Paris - France. 381p, (1976).
- 21- CHEN J., FUNK J. L., FRYE J. B., OYARZO J. N., ZHANG H and TIMMERMANN B. N., 2016- Anti-inflammatory effects of the essential oils of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in experimental rheumatoid arthritis. *PharmaNutrition*, 4: 123–131
- 22- CHEN R., LI H., LI S., JIN C., LU J., 2015.- Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activity of polysaccharides from figs. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 72: 185-194.
- 23- CHENAM. L., WU S., TSAI T. C., WANG L. K., ET TSAI I F. M., 2014.- Regulation of neutrophil phagocytosis of *Escherichia coli* by antipsychotic drug. *International Immunopharmacology*, vol. 23: 550-557.
- 24- CHENG , Y., JIA , G., JIANG-SHENG , Z., SHAO-PING , L., 2010.- Use of HPTLC to Differentiate Among the Crude Polysaccharides in Six Traditional Chinese Medicines. *Journal of Planar Chromatography*, Vol 23: 46-49.
- 25- CHETOUANI A.,2015.- Elaboration et Bioévaluation de nouvelles classes d'hydrogels à base de pectine avant et après son oxydation par le periodate et/ou par le chlore actif et étude de leurs effets sur les comportements physico-chimiques et biologiques de la gélatine et du chitosane . Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas –Setif,p8

- 26- CHOUANA, T., 2017.- Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne (2017-2020))
- 27- CLAISSE N., 2012- Préparation et modification d'oligosaccharides de cellulose par chimie douce bio-inspirée. Thème doctorat. Université de GRENOBLE. 285 p
- 28- COELHO, M. N., SOARES, P. A., FRATTANI, F. S., CAMARGO, L. M., TOVAR, A. M., DE AGUIAR, P. F. & COSTA, S. S. (2020). Polysaccharide composition of an anticoagulant fraction from the aqueous extract of *Marsypianthes chamaedrys* (Lamiaceae). *International journal of biological macromolecules*, 145, 668-681.
- 29- COSGROVE, D. J. 2005. « Growth of the plant cell wall ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6 (11): 850–861.
- 30- COVIS, RUDY. 2011. Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsions directes et inverses. - Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine.
- 31- CYNTHIA C., MICHAEL J., JURCZAK, ARPAD M. DANOS ET MATTHEW J. BRADY ,2006.-Le glycogène se ramifie : nouvelles perspectives sur le rôle du glycogène métabolisme dans l'intégration des voies métaboliques, *Journal Physio Endocrinol Métab*, vol 291 : 1–8
- 32- CZUPRYNSKI C. J., NOEL E. J., ET ADLAM C., 1991.- Interaction of bovine alveolar macrophages with *Pasteurella haemolytica* A1 in vitro : modulation by purified capsular polysaccharide. *Veterinary microbiology*, vol. 26: 349-358.
- 33- DALMAU A., GUIÑON PINA V., DEVESA F., AMIGÓ V., ET IGUAL MUÑOZ A., 2015. Electrochemical behavior of near-beta titanium biomedical alloys in phosphate buffer saline solution. *Materials Science and Engineering*, vol. 48: 55-62.
- 34- DELATTRE C., (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse de doctorat, Biochimie, Université de Picardie Jules Verne, 195P.
- 35- DELATTRE J, BEAUDEUX JL, BONNEFONT-ROUSSELOT D., 2005.- Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). Première édition. Ed. Tec et Doc, Paris, p547
- 36- DENDOUGUI, H., SEGHIR, S., BELLOUM, Z., BENAYACHE, F., LEON, F., BROUARD, I., & BENAYACHE, S. (2011). A new labdane diterpene and other constituents from *Marrubium deserti* Noe ex Coss
- 37- DIALLO D., SANOGO R., YASAMBOU H., TRAORE A., COULIBALY K. ET MAIGA A., (2004). «Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali». *Chimie*, 7: 1073-1080.
- 38- DIALLO I, 2019, THSE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER En Sciences des Aliments et Nutrition Préparée au sein de l'école doctorale GAIA Unité de recherche QUALISUD, Potentiels anti -oxydants et anti-inflammatoires de sporophores de *Lentinula edodes* (Shi itake) sous différentes conditions de culture. P49-50

- 39- DUPAYAGE L.,2009.- Elaboration contrôlée de glycopolymères amphiphiles à partir de polysaccharide : synthèse de Dextrane-g-PMMA par polymérisation radicalaire par transfert d'atome. Thèse de doctorat.,L'université de lorraine, p9
- 40- EBRINGEROVA A., KARDOSOVA A., HROMADKOVA Z et HRIBALOVA V., 2003.- Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, vol. 74: 52- 61.
- 41- EDITH ANTONOT ROBERT MARCHAL, 1998. *Chromatographie*, Stage MAFPEN, Lycée Louis Vincent – METZ, 1-5.
- 42- EDVARD C. I. S., HAMMARSTROM L. L. G., ET PERSSON U. C. I., 1978. Macrophage Dependence of Mitogen Responsiveness: Macrophages Exposed to Zymosan Enhance the Response to Polyanions. *Cellular Immunology*, vol: 41 (1): 134-149.
- 43- E-H SONG, J SHANG, AND DM RATNER. *Polysaccharides*, University of Washington, Seattle, WA, USA, 2012. P152
- 44- EKOUMOU C., 2003.- Etudes phytochimiques et pharmacologiques de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse pharmacie, Bamako, 145 p
- 45- FREIRE-GARABAL M., NUNEZ M.J., FERNANDEZ-RIAL J.C., COUCEIRO J., GARCIA-VALLEJO L., REY-MENDEZ M., 1993.- Phagocytic activity in stressed mice: effects of alprazolam. *Resources in Immunology*, Vol. 144: 311-316
- 46- GHONEUM, M., & GOLLAPUDI, S. (2004). Phagocytosis of *Candida albicans* by metastatic and non metastatic human breast cancer cell lines in vitro. *Cancer Detection and Prevention*, 28(1), 17-26.
- 47- GIAIMIS J., LOMBARD Y., MAKAYA-KUMBA M., FONTENEAU P. ET POINDRON P., 1992.- A new and simple method for studying the binding and ingestion steps in the phagocytosis of yeasts. *Journal of Immunological Methods*, vol. 154:185-193.
- 48- GUINON PINA V., DALMAU A., DEVESA F., AMIGO V., IGUAL MUNOZ A., 2015. Tribocorrosion behavior of beta titanium biomedical alloys in phosphate buffer saline solution. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 46: 59-68.
- 49- GUTTERIDGE JM.,1993.- Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Research Communications*,volL :19(3):141—158
- 50- HABIBI, Y., MAHROUZ, M., MARAIS, M.F., & VIGNON, M.R. (2004). An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339(6), 1201-1205.
- 51- HADRICH A.,2019.- Nouveaux hydrogels à base de polysaccharide obtenus par voie biomimétique ou par photo réticulation. Thèse de doctorat, l'Université de Rouen Normandie,p125
- 52- HAJJALI H.,2015.- Assemblage nanoparticules lipidiques solides-polysaccharide : étude des propriétés physico-chimiques pour la vectorisation d'un polyphénol. Thèse de doctorat, L'université de lorraine, 51p

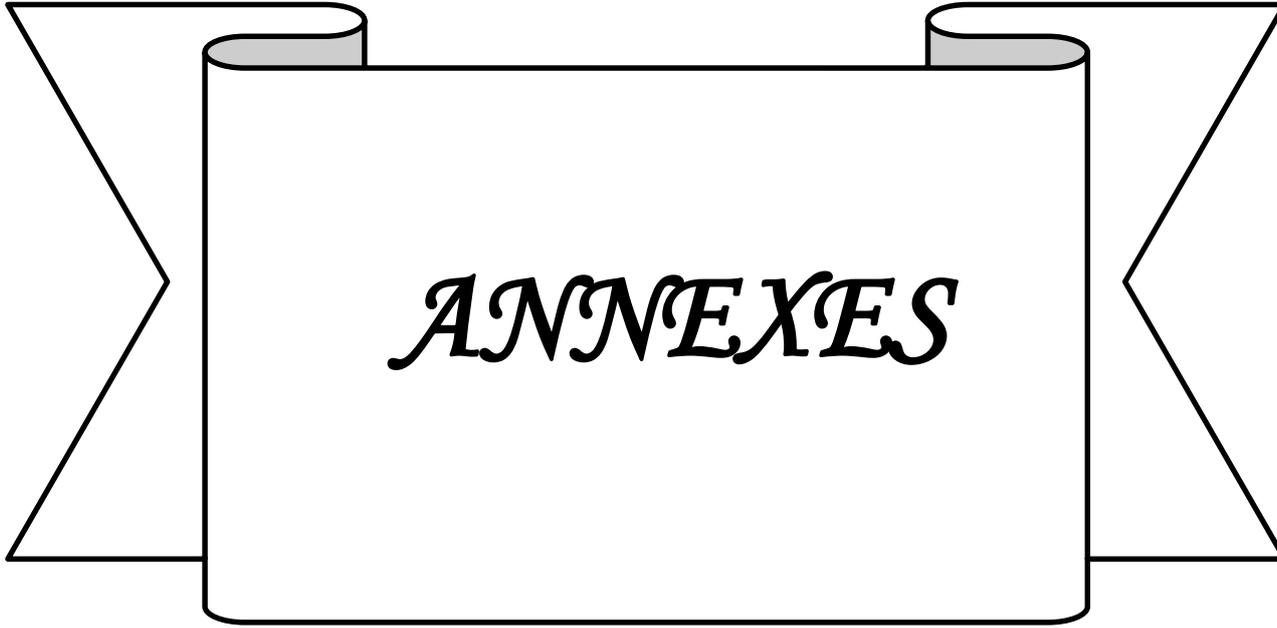
- 53- HAMMICHE, V., & MAIZA, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N°'ajjer Victoria. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 358-367.
- 54- HANKS J. H. 1975. Hanks' balanced salt solution and pH control. Tissue culture association: 3-4.
- 55- HARUN, N.H., SEPTAMA, A.W., & JANTAN, I. (2015). Immunomodulatory effects of selected Malaysian plants on the CD18/11a expression and phagocytosis activities of leukocytes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 48-53.
- 56- HEAKAL F. E., SHEHATA O.S., TANTAWY N.S., 2014. Degradation behaviour of AZ80E magnesium alloy exposed to phosphate buffer saline medium. *Corrosion Science*, Vol. 86: 285-294.
- 57- HOTON-DORGE, M., 1976. - Séparation des aldoses et des polysaccharides par chromatographie sur couche mince de cellulose et nouveau réactif de pulvérisation permettant leur révélation sensible. *Chromatography*, Vol. 116: 417-423.
- 58- JOSEPH M. M., ARAVIND S.R., GEORGE S. K., VARGHESE S. AND SREELEKHA T.T., 2013- A galactomannan polysaccharide from *Punica granatum* imparts in vitro and in vivo anticancer activity. *Carbohydrate Polymers*, vol. 98: 1466-1475.
- 59- JUN LIU , STEFANWILLFOR , CHUNLIN XU . A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. 2014 .P43
- 60- KAEWMANEE T., BAGNASCO L., BENJAKUL S., LANTERI S., CARLOF M., SEPERANZA G., ELISABETTA-COSULICH M., (2014),- Characterization of mucilage extracted from seven Italian cultivars of flax,. *Food Chemistry* 148; 60–69
- 61- KAUSHIK P., DOWLING K., ADHIKARI R., BARROW C.J et ADHIKARI B., 2017.- Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chemistry*, vol. 215: 333–340.
- 62- KEMASSI, A., DAREM S., CHERIF , R., BOUAL , Z., SADINE S.E., AGGOUNE M.S., OULD EL HADJ-KHLIL A AND OULDL EL HADJ M.D., 2014.- Recherché et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, vol. 1: 1-5.7-313.
- 63- KOKO W.S., MESAİK M. A., YOUSAF S., GALAL M., CHOUDHARY M. I., 2008. *In vitro* immunomodulating properties of selected Sudanese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 118: 26-34.
- 64- KOKO W.S., MESAİK M. A., YOUSAF S., GALAL M., CHOUDHARY M. I., 2008. *In vitro* immunomodulating properties of selected Sudanese medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 118: 26-34.
- 65- KONE D., 2009.- Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat, L'université Paul Verlaine de Metz (France), p77

- 66- KOUADRI-BOUDJELTIA ABDERRAHMANE. 2006. Coures de biochimie generale, Glucides : structure et métabolisme. Office des publications universitaires. P27-31.
- 67- LEGER T.,2019.- Influence de l'acide eicosapentaénoïque sur l'activité cardiaque et sa modulation par le stress oxydant – Perspectives pour l'obésité et l'endocardite aigüe humaines. Thèse de doctorat, Université - Clermont-Ferrand,p43
- 68- LI Y. J., LIND D., JIAO B., XU C. T., QIN J. K., YE G. J. AND SU G. F., 2015.- Purification, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharide from *Cissuspteroclada Hayata*. International Journal of Biological Macromolecules, 77
- 69- MACHMUDAH, S., KANDA, H., & GOTO, M. (2017). Hydrolysis of Biopolymers in Near-Critical and Subcritical Water *Water Extraction of Bioactive Compounds* (pp. 69-107): Elsevier.
- 70- MAQBOOL M., VIDYADARAN S., GEORGE E., RAMASAMY R., 2011.- Optimisation of laboratory procedures for isolating human peripheral blood derived neutrophils. Med J Malaysia, Vol. 66 (4): 296-299.
- 71- MARQUANT R.,2021.- Mimes peptidiques de glycosaminoglycanes : synthèses, structures et activités biologiques. Thèse de doctorat , Sorbonne Université ,p19
- 72- MASSART A.,2011.- Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entrainement de judo. Thèse de doctorat, L'université d'Orléans,p17
- 73- MEHELLOU Z.,2015.- Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles issus de deux plantes spontanées récoltées au Sahara septentrional Est algérien. Thème de Magister, L'université Kasdi Merbah ouargla,p20
- 74- MENAD, B., DALIS, S. (2017).Extraction et caractérisation des principaux constituants chimiques des trois plantes aromatiques de la famille des lamiacées .mentha viridis, Rosmarinus officinalis et salivia officinalis, Univ. Mostaganem, p.20.
- 75- MERCK K., 2008.- May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène. Dispositive medical de diagnostic in vitro. Allemagne.
- 76- MEYER, V. R. (2010). The 1000 bar and 24 hour limits of one-dimensional HPLC–graphical representations. Analytical and bioanalytical chemistry, 396(5), 1633-1640.
- 77- MIAO Y.Z., LIN Q., CAO Y., HE G.H., QIAO D.R et CAO Y., 2011.- Extraction of water-soluble polysaccharides (WSPS) from Chinese truffle and its application in
- 78- frozen yogurt. Carbohydrate Polymers, vol. 86: 566-573.
- 79- MIHAI D., MOCANUG., AND CARPOVA.,2001. - Chemical reactions on polysaccharides I. Pullulan sulfation , European Polymer Journal, vol ; 37, 541-546
- 80- MITRE-AGUILAR IB, CABRERA-QUINTERO AJ, ZENTELLA-DEHESA A. Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer. International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2015; 8(1):1—10
- 81- MOINFAR F., SPIELER P., ROSSLE R. 2012. Nongynecologic Cytopathology: A Practical Guide. Ed. Springer Science & Business Media, London: 177p.
- 82- MORRISON I. M. AND STEWART D., 1998.-Plant Cell Wall Fragments Released On Solubilisation In Trifluoroacetic Acid. Phytochemistry, Vol. 49: 1555-1563
- 83- MUANDA N.,2010.- Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat, l'Université Paul Verlaine-Metz,p7

- 84- NACHER-VAZQUEZ M., BALLESTEROS N., CANALES A., RODRIGUEZ SAINTJEAN S., PEREZ-PRIETO S. I., PRIETO A., AZNAR R. and LOPEZ P., 2015.- Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydrate Polymers*, vol. 124: 292-301
- 85- NAOUN N., 2014.- Influence du peroxyde d'hydrogene sur la susceptibilitea la corrosion des aciers inoxydables en milieu salin. Thèse de Doctorat de l'Université Hadj Lakhdar-Batna, Algerie: 44p.
- 86- NAVEEN CHANDRA, A., SUSMITHA, Y., MANJUSHA, O., SREELATHA, A., MANOHARI, V., & VISWESWARA RAO, C. H. (2011). Quantitative evaluation of carbohydrate levels in different natural foodstuffs by UV-visible spectrophometer. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 1, 44-45.
- 87- NERGARD C S., DIALLO D., INNGJERDINGEN K., MICHAELSEN T E., MATSUMOTOT., KIYOHARAI H., YAMADA H., PAULSEN B S., 2005- Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* Mali Anti-ulcer, radical scavenging- and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. *Journal of Ethnopharmacology* 96, Vol: 255-269.
- 88- NORUM M., BOGWALD J., DALMO R. A., 2005.-Isolation and characterisation of spotted wolfish (*Anarhichas minor* Olafsen) macrophages, vol. 18: 381-391.
- 89- NOSE M., TERAWAKI K., OGIHARA Y., 1997.- The role of a crude polysaccharide fraction in the macrophage activation by "Shosaikoto". *Phytomedicine*, Vol. 4 (1): 23-26.
- 90- OZENDA P., 1983.- Flore du sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, p399
- 91- OZENDA P., 2004.- Flore du Sahara. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 622 p
- 92- PAULSEN B. S., OLAFSDOTTIR E. S., INGOLFSDOTTIR K., 2002. Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. *Journal of chromatography*, vol. 967: 163-171
- 93- PENSE LHERITIER A. M. ; «Conception des produits cosmétiques : la formulation». Lavoisier. Paris, (2014), pp. 129
- 94- PEREZ, J., MUÑOZ-DORADO, J., DE LA RUBIA, R., ET MARTINEZ, J. 2002. « Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview ». *International Microbiology* 5 (2): 53–63
- 95- PERSIN Z., STANA-KLEINSCHEK K., FOSTER T. J., VAN DAM J. E. G., BOERIU C. G. AND NAVARD P., 2011- Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*, vol. 84: 22-32.
- 96- PETERA B ; 2010. Option : Nutrition et sciences des aliments valorisation de plantes succulantes au service du developement rurale : cas du genre *Cereus triangularis* thèse doctorale:4.
- 97- PETERA, B. (2016). *Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de Cereus triangularis* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

- 98- PETERA, B., DELATTRE, C., PIERRE, G., WADOUACHI, A., ELBOUTACHFAITI, R., ENGEL, E., POUGHON, L., MICHAUD, P., FENORADOSOA, T.A., 2015.- Carbohydrate Polymers, vol. 127, 372-380.
- 99- PONTE C. B., AL VES É. A. R., ET SAMPAIO R. N. R., 2012.- Miltefosine enhances phagocytosis but decreases nitric oxide production by peritoneal macrophages of C57BL/6 mice. International Immunopharmacology, vol. 13: 114-119.
- 100- POPOVA S. V., POPOVA G. Y., OVODOVA R. G., BUSHNEVA O. A., OVODOV Y.S., 1999.- Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. International Journal of Immunopharmacology, vol. 21: 617-624.
- 101- QUEZEL, F., SANTANA, S. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions Desertiques Meridionales, 1.2, 801-802 Ed CNRS, Paris France 1962-1963.
- 102- RAGSDALE R L., et Grasso. G., 1989.- An improved spectrofluorometric assay for quantitating yeast phagocytosis in cultures of murine peritoneal macrophages. Journal of Immunological Methods, vol. 123: 259-267.
- 103- Journal of Immunological Methods, vol. 123: 259-267.
- 104- RANDERATH K., 1971. Chromatographie sur couches minces -2ed.Ed: Gauthier Villrg, Paris, 6-363.
- 105- REIS D, VIAN B, ET BAJOU C. (2006). Le monde des fibres. Éd : Belin. P: 305. Biochimie alimentaire. 6 eme édition de l'abrégé : Dunod. P : 40
- 106- ROSSI G., CAPITANI L., CECILIANI F., RESTELLI L., PALTRINIERI S., 2013.- Hyposialylated α 1-acid glycoprotein inhibits phagocytosis of feline neutrophils, Research in Veterinary Science, vol. 95:465-471.
- 107- ROUESSE J., 2002.- Cancer du sein : étape pré-thérapeutique. Ed. John Libbey Eurotext, Paris: 42p.
- 108- ROY A., 2015.- Synthèse et caractérisation de dérivés amphiphiles du xanthane. Thèse de doctorat, l'université du havre, p42
- 109- ROY, O. (2015). Le djihadisme est une révolte générationnelle et nihiliste. Le Monde, 24(11), 2015
- 110- SAAD, S. (2017). Analyse de la diversité chimique par les composés phénoliques, *Marrubium deserti* De Noé. Etude ethnobotanique et propriétés médicinales (Doctoral dissertation, Faculté des Sciences Biologiques).
- 111- SAKURAI K., SHIBANO T., KIMURA K., TAKAHASHI T., 1985.- Crystal Structure of Chitosan. II. Molecular Packing in Unit Cell of Crystal, vol. 41(9) :361-368.
- 112- SANTI, C., COPPETTA, D. & SANTORO, S. (2008). NMR analysis of non hydrolyzed samples of sodium alginate. 12 th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry ECSOC 12, 1-10.
- 113- SATOM M., H SANO., ET IWAKI D., 2003-Liaison directe du récepteur Tolllike 2 à zymosane, et zymosane induit l'activation de NF-kappa B et la sécrétion de TNF- alpha sont régulés à la baisse par poumon collectin tensioactif protéine A. J.Immunology, vol : 171.
- 114- SEBAHOUN G., 2005- Hématologie clinique et biologique, 3ème Edition. Ed. Arnette, France: 527p.
- 115- SIADATI S., SALMAKI Y., MEHRVARZ S. S., HEUBL G.& WEIGEND M., 2018. Untangling the generic boundaries in tribe *Marrubieae* (*Lamiaceae*: *Lamioideae*) using nuclear and plastid DNA sequences. Taxon 67 (4) : 770-783

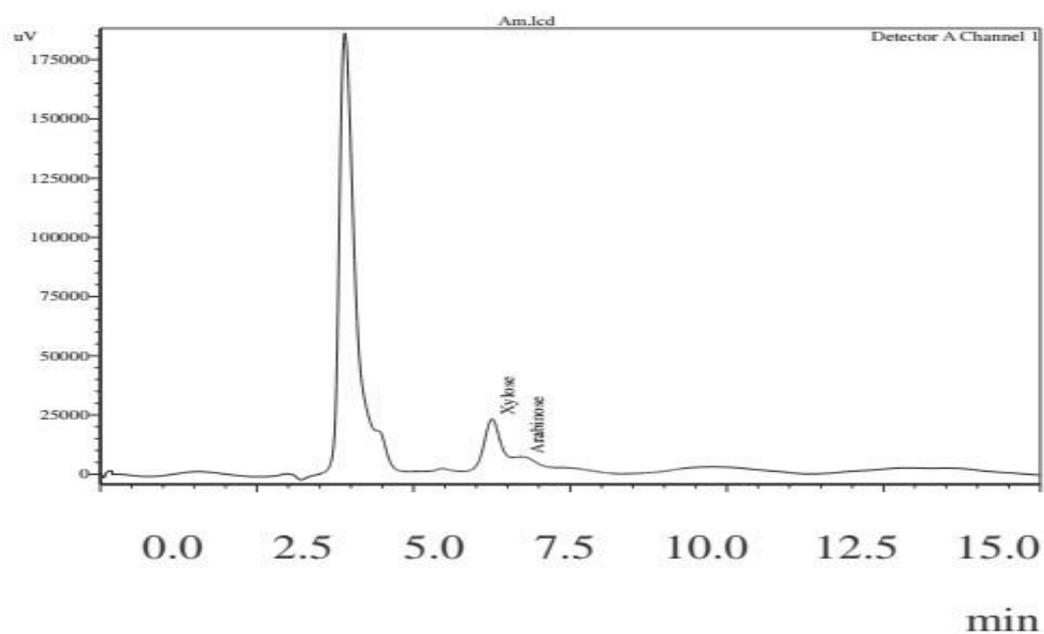
- 116- SJÖSTRÖM, E., 1981. Wood chemistry: Fundamentals and applications. Academic Pressinc., Orlando, 223p.
- 117- SMITH.C.A ET WOOD.E.J.1996. Les biomolécules : protéines, glucides, lipides, acides nucléiques. Masson, paris. P 144-146-159.
- 118- STEPHEN A. M., CHURMUS S. C., 1995. Food polysaccharides and their alications. In Food Science and Technology, vol. 67: 377-440.
- 119- STEVEN M M., LENNIE S E., STURROCK R D., GEMMELL C G., 1984.- Enhanced bacterial phagocytosis by peripheral blood monocytes in rheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases. Vol: 43 (3):435-439.
- 120- TAVANTI A., CAMPA D., BERTOZZI A., PARDINI G., NAGLIKJ. R., BARALE R., SENESI S., 2006.- Candida albicans isolates with different genomic backgrounds displaya differential response to macrophage infection. Microbes and Infection, vol. 8:791-800.
- 121- WANG Q. ET FANG Y., 2004- Analysis of sugars in traditional Chinese drugs. Journal of Chromatography b, vol. 812: 309–324.
- 122- WANG, J., LIU, W., CHEN, Z., &CHEN, H. (2017). Physicochemical characterization of the oolong tea polysaccharides with high molecular weight and their synergistic effects in combination with polyphenols on hepatocellular carcinoma.*Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 160-170.
- 123- WARRAND J., 2004.- Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitassimum*). Thèse de Doctorat, Université de Picardie jules verne, 238 p.
- 124- WHISTLER, R.L.; CHEN, C.C., I. Fiber Sci. Technol., 1991, 11, 287-319.
- 125- WILDEMANN B. OSCHMANN P., 2011.-Laboratory Diagnosis in Neurology. Ed. Thieme, USA.
- 126- XU, D. J., XIA, Q., WANG J. J. AND WANG, P. P., 2008. - Molecular Weight and Monosaccharide Composition of Astragalus Polysaccharides. Molecules, vol. 13: 2408-2415
- 127- XUE B., LI J., CHAI Q., LIU ZX, ET CHEN L. 2008.- Effect of total flavonoid fraction of *Astragalus complanatus* R. Brown on angiotensin II-induced portalvein contraction in hypertensive rats. Phytomedicine, vol. 15:759–762.
- 128- Yin, M., Zhang, Y., & Li, H., 2019.- Advances in research on immunoregulation of macrophages by plant polysaccharides,voL ; 10, 145.
- 129- YU, Y., LOU, X., & WU, H. (2008). Some recent advances in hydrolysis of biomass in hot-compressed water and its comparisons with other hydrolysis methods. *Energy & fuels*, 22(1), 46-60.
- 130- ZAABAT, N., HAY, A. E., MICHALET, S., DARBOUR, N., BAYET, C., SKANDRANI, I., & DIJOUX-FRANCA, M. G. (2011). Antioxidant and antigenotoxic properties of compounds isolated from *Marrubium deserti* de Noé. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3328-3335.



ANNEXES

Annexes

CRAPC Ouargla



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Xylose

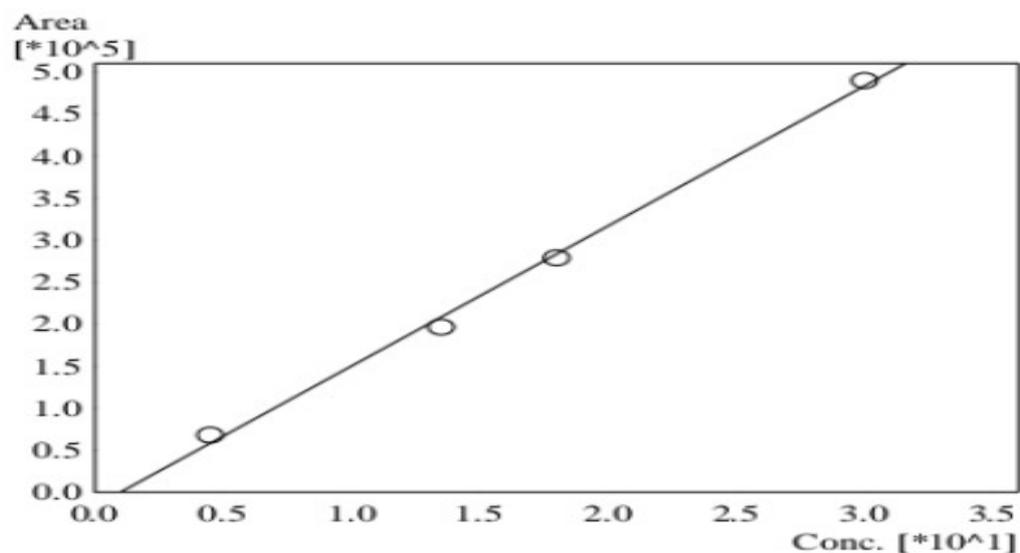
Title	Ret. Time	Area	Height	Area%
Am.lcd	6.252	475036	23418	67.979

ID#2 Compound Name: Arabinose

Title	Ret. Time	Area	Height	Area%
Am.lcd	6.720	223762	7405	32.021

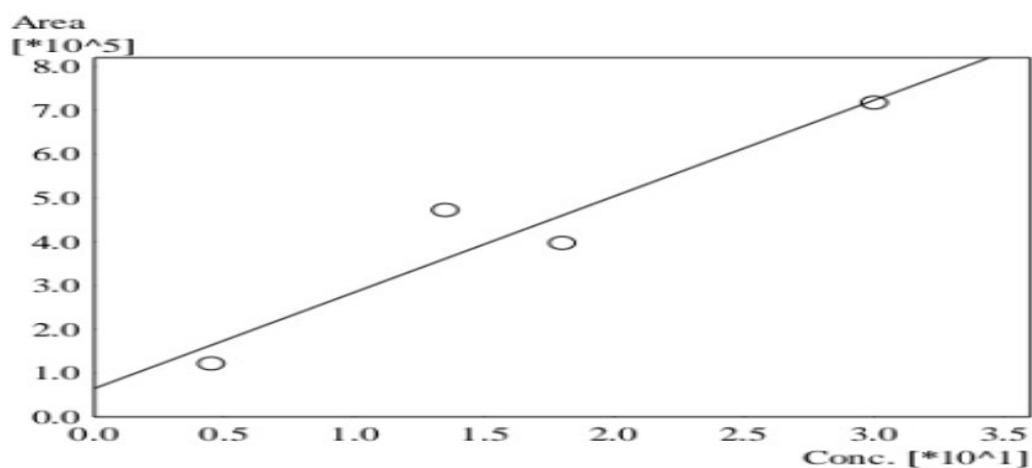
Chromatogramme des polysaccharides des graines *M. deserti*, hydrolysé au TFA, analysés par HPLC.

ID# : 1
Name : Xylose
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x)=16666.3*x-16840.2$
Rr2=0.9968376
RFRSD: 4.884529
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Detector Name : RID



Courbe d'étalonnage de le xylose par HPLC

ID# : 2
Name : Arabinose
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x)=21913.8*x+65528.3$
Rr2=0.8998472
RFRSD: 21.113273
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Detector Name : RID



Courbe d'étalonnage de l'arabinose par HPLC

Résumé :

L'étude porte sur les polysaccharides hydrosolubles issus des graines de *Marrubium deserti de Noé*, récoltée dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est Algérien), plante spontanée à caractère médicinal. Les polysaccharides sont obtenus par macération des graines dans l'eau distillée chaude (80°C/2h), leur précipitation est faite par l'éthanol. Après un séchage à l'air libre le rendement massique d'extraction des polysaccharides hydrosolubles est de 24.87%. L'analyse de l'extrait par la chromatographie sur couche mince après l'hydrolyse acide par TFA 2M durant 90 min à 120 °C suggère la présence du xylose, arabinose et acide galacturonique. Cette analyse est confirmée par HPLC a montré que Les graines de *M. deserti* semblent renfermer de polysaccharide l'arabinoxylane. Dans le but d'étudier l'effet immuno-modulateur des extraits polysaccharidiques, la phagocytose de *Candida albicans*, levure pathogène opportuniste, par des leucocytes humaines opsonisées en présence des polysaccharides, est évaluée. L'étude a montré que l'extrait de polysaccharide a une activité phagocytaire appréciable de 19% pour une concentration de 150µg/ml de l'extrait de polysaccharidique de *Marrubium deserti*. Le contrôle positif montre une activité phagocytaire de 16,33 %. Les résultats de ce travail a confirmé l'effet immuno-modulatrice des polysaccharides en améliorant l'activité phagocytaire des leucocytes .Ce qui peut expliquer l'utilisation de *Marrubium deserti* dans la médecine traditionnelle.

Mots clés : polysaccharides hydrosolubles, Marrubium desert, activité phagocytaire, Sahara.

Abstract:

The study focuses on the water-soluble polysaccharides from extracts of a medicinal plant including *Marrubium deserti de Noé*, harvested in the region of Ghardaïa (eastern Algerian northern Sahara), are obtained by maceration of *Marrubium deserti* seeds in the hot distilled water (80°C/2h), their precipitation is made by ethanol. After drying in the open air, the mass yield of extraction of water-soluble polysaccharides is 24.87%. Analysis of the extract by thin layer chromatography after acid hydrolysis by TFA 2M for 90 min at 120°C suggests the presence of xylose, arabinose and galacturonic acid. This analysis is confirmed by CLHP showed that the seeds of *M. deserti* seem to contain the polysaccharide unarabinoxylan. In order to study the immunomodulatory effect of polysaccharide extracts, the phagocytosis of *Candida albicans*, an opportunistic pathogenic yeast, by human leukocytes opsonized in the presence of polysaccharides, is evaluated. The study showed that the polysaccharide extract has an appreciable phagocytic activity of 19% for a concentration of 150µg/ml of the polysaccharide extract of *Marrubium deserti*. The positive control shows a phagocytic activity of 16.33%. The results of this work confirmed the immuno-modulatory effect of polysaccharides by improving the phagocytic activity of leukocytes. This may explain the use of *Marrubium deserti* in traditional medicine.

Key words: water-soluble polysaccharides, Marrubium desert, phagocytic activity, Sahara.

المخلص:

الدراسة على السكريات القابلة للذوبان في الماء من مستخلصات نبات طبي بما في ذلك الجعيدة المحصودة في منطقة غرداية (شرق الجزائر شمال الصحراء)، والتي يتم الحصول عليها عن طريق نقع بذور الجعيدة في الماء المقطر الساخن (80 درجة مئوية / ساعتين)، يتم ترسيبها بواسطة الإيثانول. بعد التجفيف في الهواء الطلق، يبلغ العائد الكلي لاستخراج السكريات القابلة للذوبان في الماء 24.87%. يشير تحليل المستخلص بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بعد التحلل المائي الحمضي بواسطة حمض ثلاثي فلورواسيتيك (2مول) لمدة 90دقيقة عند 120 درجة مئوية الى اربينوكسيلان. من اجل دراسة التأثير المناعي لمستخلص السكر يد، يتم تقييم البلعمة من المبيضات البيضاء، الخميرة الانتهازية المسببة للأمراض، بواسطة كريات الدم البيضاء في وجود السكريات. اظهرت الدراسة ان مستخلص السكر يد له نشاط بلعم ملموس بنسبة 19% لتركيز 150 ميكروغرام/مل من مستخلص عديد السكر يد من الجعيدة. يظهر التحكم الايجابي نشاط بلعمي 16.33% اكدت نتائج هذا العمل تأثير تعديل المناعة لعدد السكر يد من خلال تحسين النشاط البلعمي للكريات البيضاء، وهذا قد يفسر استخدام الجعيدة في الطب التقليدي.

الكلمات المفتاحية : السكريات القابلة للذوبان/ الجعيدة /النشاط البلعمي/ الصحراء.