



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle

Spécialité : **Analyses Biochimiques**

Présentée par M^{lle} **BOUZIANE Ghania**

Caractérisation et potentiel biologique des polysaccharides issus d'*Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae)

Soutenue publiquement : Le 22/01/2025

Devant le jury composé de :

BOUAL Zakaria	Pr.	Univ. Ouargla	Président
OULD EL HADJ Mohamed Didi	Pr.	Univ. Ouargla	Promoteur
MICHAUD Philippe	Pr.	Univ. Clermont Auvergne	Co-promoteur
HADJADJ Soumia	Pr.	Univ. Ouargla	Rapporteur
CHOUANA Toufik	Pr.	Univ. Ouargla	Rapporteur
HAMID OUDJANA Aicha	MCA	Univ. Ghardaïa	Rapporteur
HENNI Abdellah	Pr.	Univ. Ouargla	Invité

Année Universitaire : 2024-2025

Remerciement

Avant tout, louange à Allah qui m'a permis de réaliser cette thèse. Je remercie Allah tout-puissant de m'avoir donné la patience, la détermination, le défi, la force et la confiance nécessaires pour mener à bien ce travail. Sans son aide et son soutien, je n'aurais pas atteint ce que j'ai accompli.

Je remercie chaleureusement mon directeur de thèse, le professeur OULD ELHADJ Mohamed Didi, pour son encadrement, ses conseils avisés et son soutien tout au long de ces années de doctorat. Ses connaissances approfondies et son expertise ont été essentielles à la réussite de ce travail. Je tiens à exprimer ma gratitude pour votre écoute, vos conseils, votre soutien et votre disponibilité. Les connaissances et l'expérience que j'ai acquises de vous ont été inestimables.

Je remercie le professeur MICHAUD Philippe pour la codirection de ce travail et pour la discussion et les échanges scientifiques que nous avons eu à avoir.

Je voudrais également exprimer ma gratitude au professeur HENNI Abdellah, grâce à votre contribution, j'ai pu acquérir beaucoup de connaissances dans le domaine de la nanotechnologie et de la recherche scientifique. Je vous remercie pour vos conseils, votre intérêt, votre soutien, votre entière disponibilité et votre aide précieuse lors de la rédaction de mon article. Les connaissances et l'expérience que j'ai acquises de vous ont été inestimables.

Je remercie également les membres du jury, Monsieur BOUAL Zakaria, Madame HADJADJ Soumia, Monsieur CHOUBANA Toufik et Madame HAMID OUDJANA Aicha pour avoir accepté d'évaluer mon travail et pour leurs remarques constructives qui m'ont permis d'améliorer la qualité de cette thèse.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble de l'équipe de Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico Chimique (CRAPC) pour leur accueil, leur bienveillance et les nombreuses discussions scientifiques que nous avons eues. Merci en particulier à Monsieur

BELKHALFA Hakim, directeur de CRAPC Ouargla, pour m'avoir accueilli au sein de leur centre et leur aide précieuse sur différents aspects de ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur BOURICHA M'Hamed pour m'avoir accueilli au sein de laboratoire de microbiologie au niveau de CRAPC. Merci pour votre soutien indéfectible, votre intérêt, votre disponibilité et vos conseils, et je chérirai les souvenirs dans et hors du laboratoire.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers mes enseignants : HAMMOUDI Roukja, ABBAS Amel, BOUAL Zakaria, LADJEL Segni et BACHA Oussama pour leur soutien et leur aide tout au long de mon doctorat.

Je tiens à remercier mes amis et tous ceux qui ont pris soin de moi, m'ont soutenu, m'ont conseillé, m'ont aidé, et qui m'ont souhaité bonne chance et réussite.

Finalement, je voudrais exprimer ma gratitude à mes parents, qui m'ont appris à respecter et aimer la science et à être patient dans sa poursuite. Sans leurs sacrifices et leurs efforts, je n'aurais pas atteint mes objectifs. Le soutien, la compréhension, la patience et l'aide de ma famille ont joué un rôle crucial dans mon succès, merci, ma belle-famille.

Je ne peux pas exprimer toute ma gratitude en ces quelques mots.

A tous, un grand merci

Dédicace

Avec des sentiments d'amour, de gratitude et de fierté

A la source de mon ambition et qui m'a dessiné ... A la lune qui illumine ma vie

*A ton sourire qui est encore ancré dans mon imagination ... A celui dont ces paroles me font
encore vivre, me guide et me refuge*

*A ton âme pure, mon père **LAKHDAR**, que Dieu te fasse miséricorde*

A ma muse qui me colore... Au soleil qui réchauffe mon âme

*Pour qui ses paroles sont une lampe sur mon chemin... Vers celui qui elle a mes espoirs et sur qui
je peux m'appuyer*

*A ton beau cœur, maman **HOURLIA**, que Dieu te protège et prend soin de toi.*

*Mes chers parents, ce que j'ai accompli et réalisé n'est que le résultat du sacrifice, des efforts et
de la patience de votre part. Que Dieu vous récompense en mon nom avec tout le meilleur*

Il me suffit d'être fier et honorer que tu sois mes parents

Le haut du bras n'est renforcé que par le frère...

*A mon frère courageux et attentionné **Abdel Ghani** et à mon frère créatif et solidaire **Rami***

*Aux sœurs de mon cœur : la patiente et sage **Siham**, la brillante et généreuse **Fatima**, la gentille
et persévérante **Samah**, et en particulier, mon âme sœur et compagne sur mon chemin, la belle et
ambitieuse **Ilhem***

Ma famille bien-aimée, vous avez cru en moi tout au long de mon voyage... Vous êtes ma bannière qui à chaque fois que je me retourne, je la trouve dressée, alors j'ai continué mon chemin

Aux oiseaux de ma vie : Khadija, Mohamed Lakhdar, Chahd Eldjana, Raghade Eldjana, Rawan Houriat Eldjana, Chada El Islam, Juwayriya, Layane, Toqa El Imane et Ahmed

A mes professeurs et amis qui m'ont soulagé de la fatigue, de l'adversité et des difficultés... Aux belles journées et aux nombreux souvenirs qui nous ont rapprochés tout au long de ce chemin

A tous ceux qui m'aiment, qui ont fait de moi une partie de leurs prières, qui ont pris soin de moi par leurs questions, leurs conseils et leurs préoccupations, et qui m'ont soutenu par leurs encouragements

A vous tous, ceci est mon travail, mon effort et ma tentative, que je vous dédie... Que Dieu l'accepte sincèrement pour son visage honorable.

Table de matières

Remerciements.....	I
Dédicace.....	III
Table de matières.....	V
Liste des figures.....	X
Liste des tableaux.....	XIII
Liste des abréviations.....	XIV
Introduction.....	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique.....	5
I.1 Aperçu bibliographique sur les polysaccharides.....	5
I.2 Structure et classification des polysaccharides.....	7
I.3 Extraction des polysaccharides : méthodes et approches.....	9
I.4 Analyse structurale des polysaccharides.....	12
I.5 Bioactivités des polysaccharides et relation structure-fonction.....	14
I.5.1 Activité anti-inflammatoire.....	15
I.5.2 Activité antioxydante.....	17
I.5.3 Activité anti-hyperglycémiant.....	19
I.5.4 Activité antitumorale.....	21
I.5.5 Autres activités.....	24
I.6 Aperçu sur les galactomannanes.....	25

I.6.1 Généralités.....	25
I.6.2 Structure et propriétés du galactomannane.....	27
I.6.3 Applications des galactomannanes.....	29
I.7 Nanoparticules d'argent.....	31
I.7.1 Synthèse des nanoparticules d'argent.....	33
I.7.2 Caractérisation des nanoparticules d'argent.....	35
I.7.3 Activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent.....	35
I.7.4 Toxicité des nanoparticules d'argent.....	36
Chapitre II. Méthodologie de travail.....	40
II.1 Principe d'étude.....	40
II.2 Présentation de la région d'étude (wilaya d'Illizi).....	40
II.3 <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	42
II.3.1 Choix de la plante.....	42
II.3.2 Répartition, écologie, description botanique et importance économique.....	42
II.3.3 Position systématique.....	44
II.3.4 Etudes phytochimiques et pharmacologiques réalisées sur <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	44
II.4 Extraction des polysaccharides hydrosolubles des graines d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel..	46
II.5 Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique AGFPG : Dosages colorimétriques.....	47
II.5.1 Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois.....	47

II.5.1.1 Principe.....	47
II.5.1.2 Mode opératoire.....	48
II.5.2 Dosage des oses neutres par la méthode de Monsigny.....	48
II.5.2.1 Principe.....	48
II.5.2.2 Mode opératoire.....	48
II.5.3 Dosage des oses acides par la méthode de Blumenkrantz et Asboe-Hansen.....	48
II.5.3.1 Principe.....	48
II.5.3.2 Mode opératoire.....	49
II.5.4 Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	49
II.5.4.1 Principe.....	49
II.5.4.2 Mode opératoire.....	49
II.5.5 Dosage des composés phénoliques par la méthode de Singleton.....	49
II.5.5.1 Principe.....	49
II.5.5.2 Mode opératoire.....	50
II.6 Caractérisation de l'AGFPG par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec réflectance totale atténuée (FTIR-ATR).....	50
II.6.1 Principe.....	50
II.6.2 Mode opératoire.....	50
II.7 Composition en monosaccharides de l'AGFPG par chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	51
II.7.1 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	51

II.7.1.1 Principe.....	51
II.7.1.2 Mode opératoire.....	52
II.7.2 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	52
II.7.2.1 Principe.....	52
II.7.2.2 Mode opératoire.....	53
II.8 Analyse par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) de l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	54
II.8.1 Principe.....	54
II.8.2 Mode opératoire.....	55
II.9 Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) par l'AGFPG.....	55
II.10 Caractérisation des AgNPs biosynthétisés et de l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	56
II.10.1 Spectrophotométrie UV-Visible (UV-vis).....	56
II.10.1.1 Principe.....	56
II.10.1.2 Mode opératoire.....	56
II.10.2 Diffraction des rayons X (DRX).....	56
II.10.2.1 Principe.....	56
II.10.2.2 Mode opératoire.....	56
II.10.3 Microscope électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X (MEB-EDX).....	57
II.10.3.1 Principe.....	57
II.10.3.2 Mode opératoire.....	57

II.10.4 Potentiel zêta et diffusion dynamique de la lumière.....	58
II.10.4.1 Principe.....	58
II.10.4.2 Mode opératoire.....	58
II.11 Activité antimicrobienne des AgNPs et d'AGFPG.....	58
II.12 Activités antioxydantes des AgNPs et d'AGFPG.....	59
II.12.1 Test de piégeage de radical libre DPPH.....	59
II.12.2 Test de piégeage de radical libre ABTS.....	60
II.12.3 Test de pouvoir réducteur ferrique.....	60
II.13 Activité anti-inflammatoire d'AGFPG.....	61
Chapitre III. Résultats et discussion.....	63
Conclusion et perspectives.....	89
Références bibliographiques.....	92
Annexes.....	142
Résumés.....	146

Liste des figures

Figure I.1: Nombre annuel de publications relatives au terme de recherche « polysaccharides végétaux » en anglais (Scopus, 2000-2023).....	7
Figure I.2: Classification des polysaccharides [4].....	9
Figure I.3: Quelques méthodes d'extraction des polysaccharides : 1)- Extraction à l'eau chaude/alcaline ; 2)- Extraction assisté par enzymes ; 3)- Extraction assistée par ultrasons ; 4)- Extraction assistée par micro-ondes et 5)- Extraction par fluide supercritique (www.biorender.com).....	10
Figure I.4: Nombre annuel de publications relatives au terme de recherche « nanoparticules d'argent » en anglais (Scopus, 2000-2023).....	32
Figure II.1: Situation géographique de la région d'étude « wilaya d'Illizi » (d-maps.com, avec modification).....	41
Figure II.2: Différents types de gousses de quelques plantes de genre Astragalus dans l'Algérie [249].....	42
Figure II.3: <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	43
Figure III.1: Spectre infrarouge (FTIR-ATR) de l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	65
Figure III.2: Chromatogrammes par CCM des hydrolysats de l'extrait polysaccharidique AGFPG, a)- Système I : acide acétique, pyridine, eau, acétate d'éthyle et n-butanol (2:4:4:5:10, v/v/v/v/v) ; b)- Système II : acide acétique, eau, chloroforme, méthanol et n-butanol (1.5:1.5:4.5:5:12.5,v/v/v/v/v).....	66
Figure III.3: Chromatogramme par HPLC de l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	68
Figure III.4: Spectres RMN de l'extrait polysaccharidique AGFPG, a)- Spectre ^1H ; b)- Spectre ^{13}C (G : $\alpha\text{-D-Galp}$ ($1 \rightarrow / \text{M} : \rightarrow 4$)- $\beta\text{-D-Manp}$ -($1 \rightarrow / \text{M}' : \rightarrow 4,6$)- $\beta\text{-D-Manp}$ -($1 \rightarrow$)).....	69

Figure III.5: Structure proposée de l'extrait polysaccharidique AGFPG issu des graines d' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	70
Figure III.6: Spectre UV-vis des AgNPs biosynthétisés par l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	71
Figure III.7: Processus de biosynthèse des AgNPs à partir de l'extrait polysaccharidique AGFPG [226].....	73
Figure III.8: DRX diagramme des AgNPs biosynthétisés par l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	74
Figure III.9: Analyse par MEB-EDX de l'extrait polysaccharidique AGFPG. a-b)- Images de MEB à 50 µm et 1 µm ; c)- Spectre EDX de la composition élémentaire.....	75
Figure III.10: Analyse par MEB-EDX des AgNPs. a-b)- Images de MEB à 1 µm et 500 nm ; c)- spectre EDX de la composition élémentaire.....	76
Figure III.11: Potentiel zêta de l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	76
Figure III.12: Analyse DLS (a) et potentiel zêta (b) des AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG....	77
Figure III. 13: Activité antimicrobienne des AgNPs biosynthétisés par l'extrait polysaccharidique AGFPG à différentes concentrations [ddH ₂ O (1) ; 1 mg/ml AgNPs (2) ; 0.75 mg/ml AgNPs (3) ; 0.5 mg/ml AgNPs (4) ; 0.25 mg/ml AgNPs (5) et 0.1 mg/ml AgNPs (6)]. a)- <i>C. albicans</i> ; b)- <i>B. subtilis</i> ; c)- <i>S. enterica</i> ; d)- <i>M. luteus</i> ; e)- <i>k. pneumoniae</i> ; f)- <i>E. coli</i> ; g)- <i>P. aeruginosa</i> ; h)- <i>S. aureus</i> et i)- <i>L. monocytogenes</i>	80
Figure III.14: Mécanisme de l'activité antimicrobienne des AgNPs biosynthétisés [226].....	82
Figure III.15: Activité de piégeage de radical libre DPPH par l'AGFPG ou l'acide ascorbique.....	83

Figure III.16: Activité de piégeage de radical libre DPPH par des AgNPs ou de l'acide ascorbique.....	83
Figure III.17: Activité de piégeage de radical libre ABTS par l'AGFPG ou l'acide ascorbique.....	84
Figure III.18: Pouvoir réducteur ferrique par des AgNPs ou de l'acide ascorbique.....	85
Figure III.19: Activité anti-inflammatoire (% d'inhibition de la dénaturation du BSA), a) Extrait polysaccharidique AGFPG ; b)- Diclofénac.....	86

Liste des tableaux

Tableau I.1: Diverses méthodes d'extraction des polysaccharides des végétaux, leur mécanisme d'action, leurs avantages et inconvénients [36].....	11
Tableau I.2: Quelques méthodes d'analyse structurale des polysaccharides [54].....	13
Tableau II.1: Etudes antérieures menées sur l' <i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.....	45
Tableau III.1: Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique AGFPG.....	64
Tableau III.2: Zones d'inhibition par des AgNPs, de l'AGFPG, de l'oxacilline et de l'ampicilline sur les neuf souches de micro-organismes testés.....	79

Liste des abréviations

AGF : *Astragalus gombiformis* Pomel

AGFPG : polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel

AMPK : adénosine 5'-monophosphate kinase

ATR : réflexion totale atténuée

CAT : catalase

COX : cyclooxygénase

D : taille moyenne des cristallites

D₂O : oxyde de deutérium ou eau lourde

ddH₂O : eau bidistillée

D_E : distance de migration de l'éluant

DLS : diffusion dynamique de la lumière

DP : degré de polymérisation

D_x : distance de migration de l'échantillon

FWHM : full width at half maximum = largeur à mi-hauteur

GLP-1 : hormone glucagon-like peptide 1

GLUT2 : transporteur de glucose 2

GSH-Px : hydroperoxyde de phospholipide glutathion peroxydase

IL : interleukine

iNOS : oxyde nitrique synthase inductible

IR : infrarouge

I κ B : inhibiteur kappa B

M/G : rapport mannose/galactose

m/m : masse/masse

m/v : masse/volume

MAPK : protéines kinases activées par le mitogène

MEB : microscope électronique à balayage

MET : microscope électronique à transmission

MFA : microscope à force atomique

m-HBP : méta-hydroxybiphényle

MW : masse moléculaire

NB : bouillon nutritif

NF- κ B : facteur nucléaire kappa B

NP : nanoparticules

Θ : angle de diffraction

PI3K/Akt/PKB : phosphoinositide-3-kinase/Akt/protéine kinase B

ppm : partie par million

RID : détecteur d'indice de réfraction

rpm : rotation par minute

SGLT-1 : cotransporteur sodium-glucose 1

SOD : superoxyde dismutase

SPR : résonance plasmonique de surface

STAT3 : transducteurs de signal et activateurs de transcription 3

TGF- β : facteur de croissance transformant bêta

TLR : récepteurs de type Toll

TMS : tétraméthylsilane

TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha

UFC/ml : unités formant de colonies par millilitre

v/v : volume/volume

Introduction

Les polysaccharides représentent l'un des biopolymères les plus répandus dans la nature et l'une des quatre macromolécules biologiques les plus essentielles de l'organisme. Ils jouent un rôle crucial dans le maintien d'un bon fonctionnement des activités vitales et ont des fonctions biologiques variées, notamment le stockage de l'énergie, la résistance structurelle et mécanique, la protection, la communication, la reconnaissance cellulaire et l'immunité cellulaire [1,2]. Les polysaccharides sont un sujet d'intérêt considérable dans divers domaines de recherche. Plusieurs propriétés contribuent à leur excellente réputation. Ils sont non toxiques, hydrophiles, stables, biocompatibles, biodégradables et économiques. Ces hydrates de carbone comprenant plus de 10 monosaccharides reliés par des liaisons glycosidiques dans une configuration ramifiée ou linéaire et sont présents dans différentes sources naturelles (les plantes, les animaux, les bactéries, les champignons et les algues) [3].

Les polysaccharides végétaux suscitent un intérêt grandissant en raison de leur facilité de culture et de récolte, de leur stable source de matières premières végétales et de leur capacité à être produits de manière durable à l'aide de méthodes d'extraction simples et rentables [4].

Les polysaccharides présentent de nombreuses activités pharmacologiques, notamment l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoires, anticoagulante, hépatoprotectrice, antidiabétique, prébiotique, anti-obésité, anti-complément, immunomodulatrice et anticancéreuse [5]. La relation structure-activité des polysaccharides fait principalement référence à l'effet de la structure primaire, de la structure avancée et des propriétés physicochimiques sur l'activité des polysaccharides. Cela est lié au poids moléculaire des polysaccharides, à la composition en monosaccharides, au type de liaison glycosidique et au degré de ramification [6]. Suite à une compréhension approfondie de la structure et de la fonction des polysaccharides, il est à noter que les polysaccharides de structures différentes possèdent de nombreuses bioactivités [7].

Les plantes du genre *Astragalus* (Fabaceae) sont largement répandues dans le monde, y compris dans le Sahara algérien [8]. Dans les régions semi-arides et arides, les stress abiotiques sont plus intenses et plus fréquents, notamment la sécheresse, la salinité, la chaleur et la toxicité par les métaux lourds. Les plantes de ces régions doivent faire face à des modifications environnementales drastiques ainsi qu'à une variété de facteurs de stress abiotiques. En général, les plantes adoptent des stratégies d'évitement du stress ou de tolérance afin de faire face aux stress

abiotiques. L'accumulation de sucres et d'autres solutés compatibles est une réaction fréquente au stress [9,10].

Les galactomannanes des graines d'astragales ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leurs propriétés attractives par rapport à d'autres sources de polysaccharides. Ce sont des polysaccharides hydrosolubles constitués d'unités de galactose ramifiées attachées à une chaîne principale de mannose. Leurs utilisations dans différents domaines dépendent de leurs caractéristiques structurales, notamment de la structure fine de la chaîne et du rapport mannose/galactose (Man/Gal) [11].

Cependant, la nanotechnologie a attiré l'attention des chercheurs en tant que nouveau domaine scientifique multidisciplinaire. Dans ce domaine, les chercheurs ont exploré l'utilisation des galactomannanes en raison de leur potentiel en tant qu'agents stabilisants et réducteurs dans la biosynthèse des nanoparticules métalliques [12]. Parmi les différentes nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont particulièrement intéressantes en raison de leurs caractéristiques intrinsèques, notamment leurs propriétés électriques, optiques et catalytiques, ainsi que leur activité antimicrobienne potentielle. C'est pourquoi elles sont largement utilisées dans la recherche biologique et médicale [13].

La synthèse biologique des nanoparticules d'argent (AgNPs) à l'aide d'agents réducteurs naturels extraits de plantes peuvent être une alternative possible aux conséquences nocives potentiellement dangereuses de la synthèse chimique et physique. Les nanoparticules ainsi synthétisées sont biocompatibles, moins cytotoxiques et moins phytotoxiques, plus stables, et peuvent être utilisés dans diverses applications. La synthèse biologique des nanoparticules d'argent est facile, stable, rapide et économique [7,8].

Face à ce constat, la présente étude s'oriente dans la recherche d'une nouvelle source de polysaccharides aux propriétés et potentiels biologiques intéressants. Elle porte sur l'extraction et la caractérisation de polysaccharides hydrosolubles de graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel. Elle vise l'utilisation de l'extrait polysaccharidique ainsi obtenu dans la biosynthèse des nanoparticules. L'étude concerne la caractérisation des nanoparticules synthétisés par les polysaccharides hydrosolubles obtenus, l'évaluation de leurs activités anti-inflammatoires mais aussi leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes.

Le présent travail est divisé en trois chapitres distincts. Le chapitre I présente une analyse globale des polysaccharides, incluant leurs structures, les techniques d'extraction et de caractérisation, leurs activités biologiques, ainsi qu'un aperçu général des galactomannanes. Aussi, il est examiné la définition des nanoparticules d'argent, les différentes méthodes de synthèse, les techniques de caractérisation et leurs propriétés antimicrobiennes. Le chapitre II est une description du matériel étudié et des différentes protocoles et techniques utilisées pour l'extraction et la caractérisation des polysaccharides hydrosolubles d'*Astragalus gombiformis* Pomel, la biosynthèse et la caractérisation des nanoparticules d'argent et les différentes testes biologique. Le chapitre III regroupe les résultats obtenus suivi de leur discussion. Une conclusion suivie de perspectives achève cette étude.

Chapitre I. *Synthèse bibliographique*

Le chapitre I est une revue générale sur les polysaccharides, englobant leurs structures, leurs méthodes d'extraction et de caractérisation, leurs activités biologiques, ainsi qu'un aperçu général sur les galactomannanes. De même, la définition, les diverses méthodes de synthèse et les techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent et leurs activités antimicrobiennes sont abordés.

I.1 Aperçu bibliographique sur les polysaccharides

Les polysaccharides sont des substances biotiques les plus abondantes présentes dans la biosphère [14,15]. Ce sont des bio-macromolécules riches en ressources naturelles, avec une structure complexe et diverses activités fonctionnelles. Le domaine de la recherche sur les polysaccharides a été ouvert par le célèbre scientifique allemand Dr. Fischer. De 1950 à 1960, les principales recherches sur les polysaccharides se sont concentrées sur leur composition chimique et leurs structures primaires. Vers 1970, la combinaison de deux domaines de recherche traditionnels, la chimie des glucides et la biochimie, a permis aux chercheurs d'explorer les influences potentielles des polysaccharides sur la biologie cellulaire et moléculaire, et la recherche sur les polysaccharides a été relancée. Dwek (1988) de l'Université d'Oxford en introduisant le concept de glycobiologie, a ouvert un nouveau domaine de recherche comprenant la chimie des glucides, l'immunologie et la biologie moléculaire. Ce concept vise à déterminer les rôles fonctionnels des polysaccharides ou des chaînes glucidiques. Le terme « glycobiologie » au sens large, est défini comme l'étude de la structure, de la biosynthèse, des interactions biologiques et de l'évolution des glucides répandus dans la nature [16].

Comme les acides nucléiques et les protéines, les polysaccharides sont présents dans toutes les formes de vie et jouent un rôle important dans la survie et les activités des organismes vivants. Ils existent en tant que paroi cellulaire des plantes (alginate) et supports végétaux (cellulose) [17], matrice extracellulaire humaine (acide hyaluronique) [18], substances de stockage d'énergie (amidon et glycogène) [19], exosquelette d'insecte (chitine), participent à des processus biologiques tels que l'adhésion et la reconnaissance cellulaire, et servent d'agents protecteurs [20].

Les polysaccharides suscitent un vif intérêt en recherche en raison de leur richesse, de leur capacité de renouvellement, de leur excellente biocompatibilité, de leur non-toxicité, de leur biodégradabilité, de leur faible immunogénicité, de leur photostabilité décente et de leur capacité

d'absorption améliorée [3]. Ces propriétés leur confèrent des avantages inhérents dans l'administration de médicaments, les applications agricoles, la fabrication de cosmétiques, l'emballage alimentaire, et d'autres applications [20–22]. De nombreuses études ont montré que l'activité des polysaccharides est liée à leur structure, et que ces caractéristiques structurales contribuent de manière significative à leurs propriétés fonctionnelles [23,24].

Les polysaccharides servent de substrats métaboliques qui régulent activement plusieurs processus métaboliques à différentes phases de croissance et du développement des plantes [25]. La synthèse du sucre est un processus crucial pour les plantes qui se produit par photosynthèse, où le dioxyde de carbone est réduit et l'énergie solaire est utilisée pour oxyder les molécules d'eau [26].

Les régions arides et semi-arides sont caractérisées par une intensité sévère et une incidence plus fréquente des stress abiotiques, en particulier la sécheresse, la salinité, la chaleur et la toxicité par les métaux lourds. Les plantes de ces régions doivent tolérer les changements environnementaux drastiques ainsi qu'un large éventail de facteurs de stress abiotiques. Elles utilisent généralement des mécanismes d'évitement du stress ou de tolérance pour faire face aux stress abiotiques. L'accumulation de sucres et d'autres solutés compatibles est une réaction fréquente à ces stress [9,10].

Les polysaccharides extraits de plantes attirent de plus en plus l'attention des chercheurs et sont devenus un sujet de recherche important. Le nombre d'articles sur ce domaine a augmenté ces dernières années (Figure I.1).

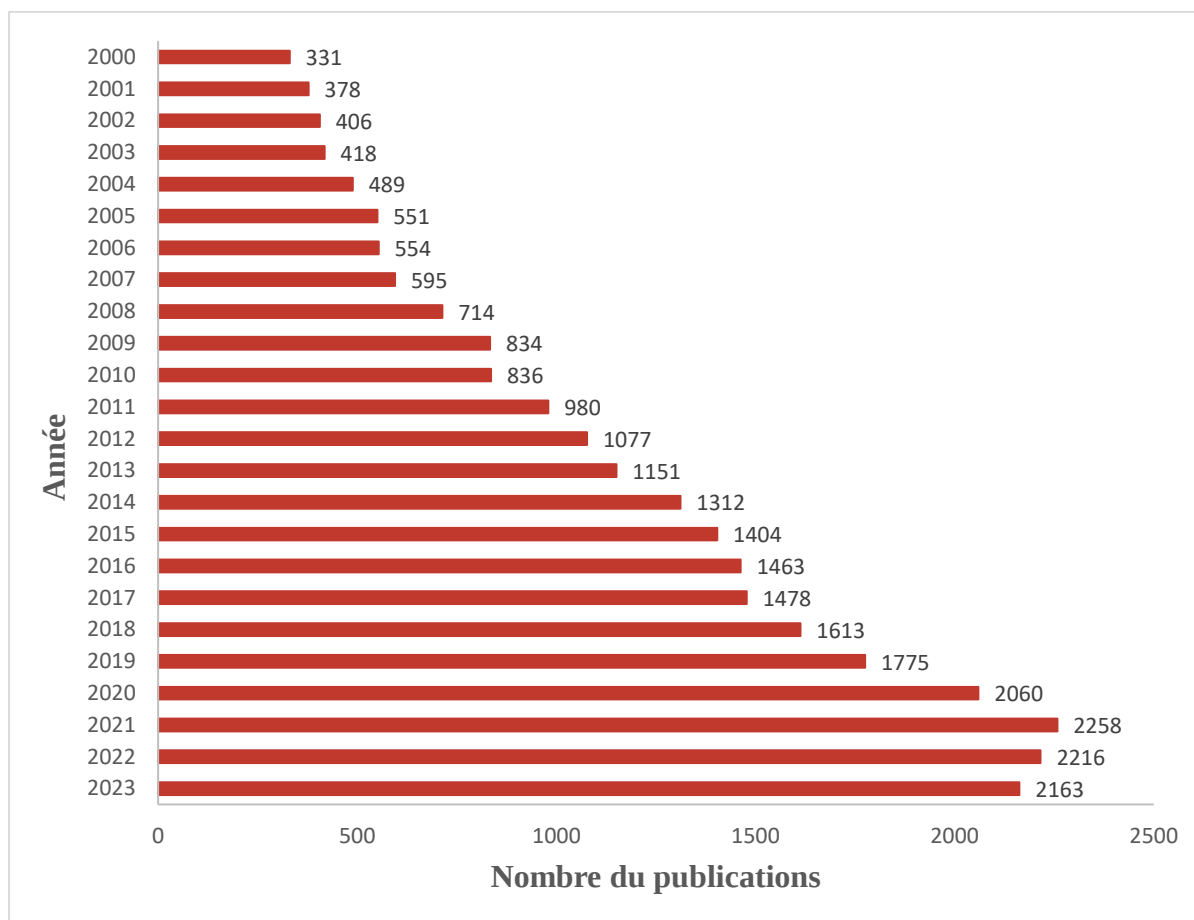


Figure I.1: Nombre annuel de publications relatives au terme de recherche «polysaccharides végétaux » en anglais (Scopus, 2000-2023)

I.2 Structure et classification des polysaccharides

Le terme « glucide » comprend en général les monosaccharides, les oligosaccharides et les polysaccharides. Les glucides peuvent contenir soit des fonctions hydroxyle et aldéhyde, soit des fonctions hydroxyle et cétone. Par conséquent, les glucides peuvent être définis comme des polyhydroxyaldéhydes ou des polyhydroxycétones et leurs dérivés simples [27].

Les monosaccharides sont les glucides les plus simples avec la formule générale $C_nH_{2n}O_n$ ($n \geq 3$). Dans cette structure, l'un des atomes de carbone est doublement lié à un atome d'oxygène formant un groupe carbonyle ($C=O$). Il y a un groupe hydroxyle (OH) sur chacun des autres atomes de carbone. Les unités monosaccharidiques les plus fréquentes des polysaccharides se trouvent dans la structure cyclique à six chaînons, bien que les pentoses ne soient pas rares, mais les sucres

à huit et neuf atomes de carbone sont moins fréquemment trouvés. Les unités monosaccharidiques sont liées par des liaisons covalentes appelées « liaisons glycosidiques ». La liaison relie l'atome de carbone en position 1 (C1) à un atome de carbone de l'unité suivante par un pont oxygène [28,29].

Les polysaccharides sont généralement composées de plus de 10 monosaccharides [30]. Comme spécifié par l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC), les termes glycane (glyc-pour sucré ou sucre ; -an pour polymère) et polysaccharide sont utilisés comme synonymes pour décrire « des composés constitués d'un grand nombre de monosaccharides liés de manière glycosidique » [27].

Le nombre d'unités de monosaccharide dans un polymère de polysaccharide est appelé degré de polymérisation (DP) et cette valeur varie selon le type de polysaccharide. La plupart des polysaccharides naturels ont des DP inférieurs à 100. Cependant, des polysaccharides plus gros existent également ; comme la cellulose (7 000 à 15 000 DP) et le composant amylopectine de l'amidon (DP supérieur à 100 000) [28]. La dépolymérisation des polysaccharides peut être obtenue par des enzymes spécifiques, un chauffage, une hydrolyse catalysée par un acide, une oxydation dans un système alcalin et des traitements par ultrasons [31]. Leurs groupes de chaîne latérale sont abondants en groupes chimiques, tels que carboxyle, hydroxyle, amide ou autres fractions utiles hydrophiles, qui peuvent être conjugués pour transformer les caractéristiques des polymères et satisfaire le besoin d'application [32,33].

En raison de leur diversité, un schéma de classification idéal n'existe pas pour les polysaccharides (Figure I.2). Une combinaison de différentes propriétés, y compris la source (plantes, animaux, champignons, bactéries et même algues), la structure (linéaire, ramifiée ou fortement ramifiée), les types de monomères (homopolysaccharides et hétéropolysaccharides), fonction (stockage ou structurel) et charge (cationiques, anioniques ou neutres), peuvent être utilisés pour décrire un polysaccharide. De plus, le type de liens entre les monosaccharides (liaisons glycosidiques sur différents carbones des monosaccharides) peut être utilisé pour la classification. Les polysaccharides sont caractérisés sur la base de la combinaison de ces facteurs qui détermine finalement les rôles biologiques ainsi que les applications industrielles et pharmaceutiques des polysaccharides [27,34].

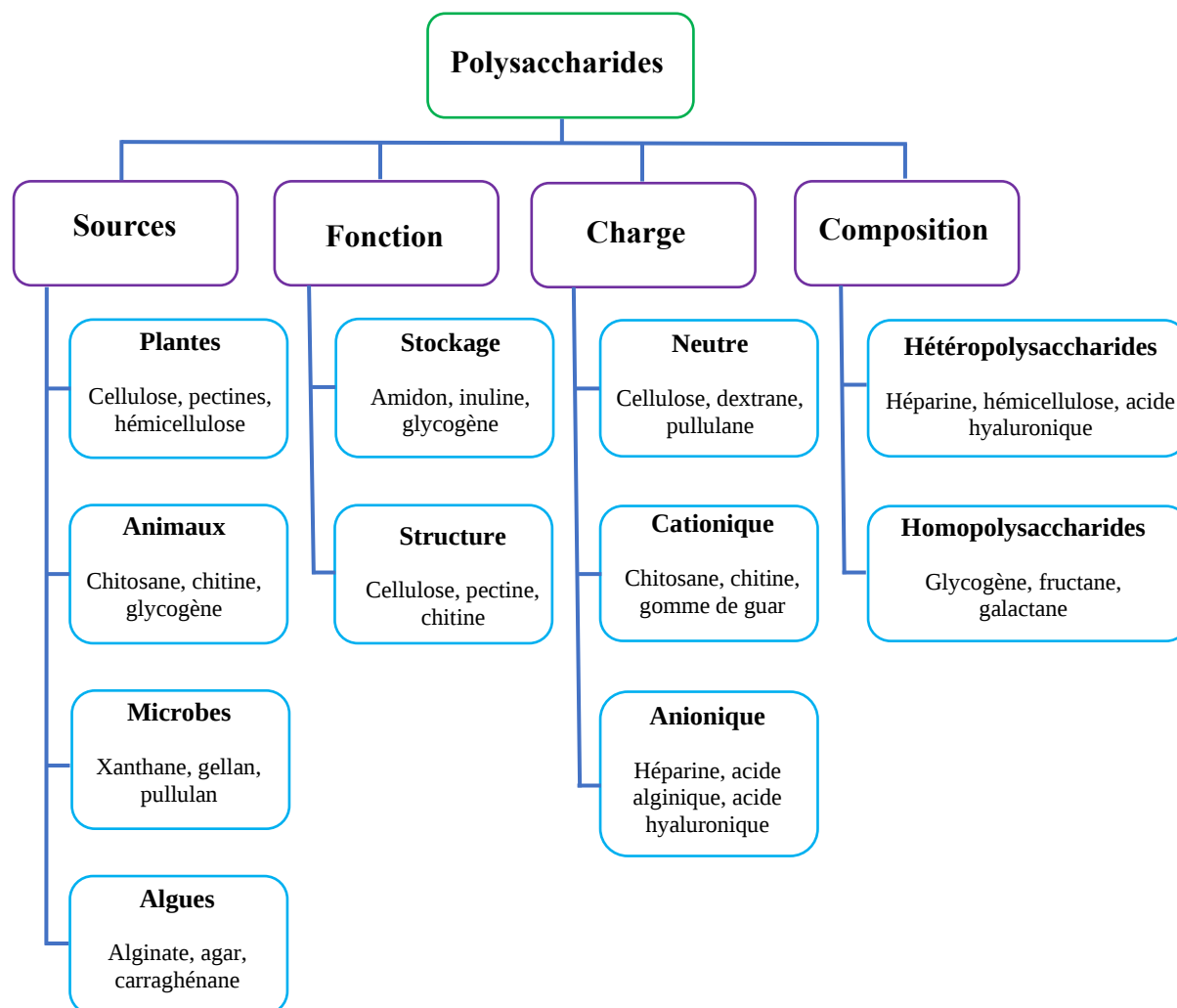


Figure I.2: Classification des polysaccharides [4]

I.3 Extraction des polysaccharides : méthodes et approches

Les polysaccharides végétaux, issus de diverses ressources naturelles telles que les feuilles, les gousses, les fruits, les noix, les céréales, les tiges, les racines, les rhizomes, les exsudats, etc., suscitent beaucoup d'attention en raison de leurs utilisations potentielles dans diverses applications industrielles. Différentes techniques d'extraction sont utilisées pour produire des polysaccharides naturels, avec le principe fondamental de préserver les propriétés intrinsèques de ces polysaccharides sans aucun changement tout au long de la progression de l'extraction et d'assurer une haute efficacité [35,36].

L'extraction à l'eau chaude demeure la méthode la plus couramment utilisée, bien qu'elle entraîne souvent un rendement faible [37]. Les méthodes actuelles d'extraction des polysaccharides

végétaux comprennent l'extraction assistée par enzymes, l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par fluide supercritique ont été développées pour améliorer le rendement ou réduire le temps d'extraction des polysaccharides [4] (Figure I.3).

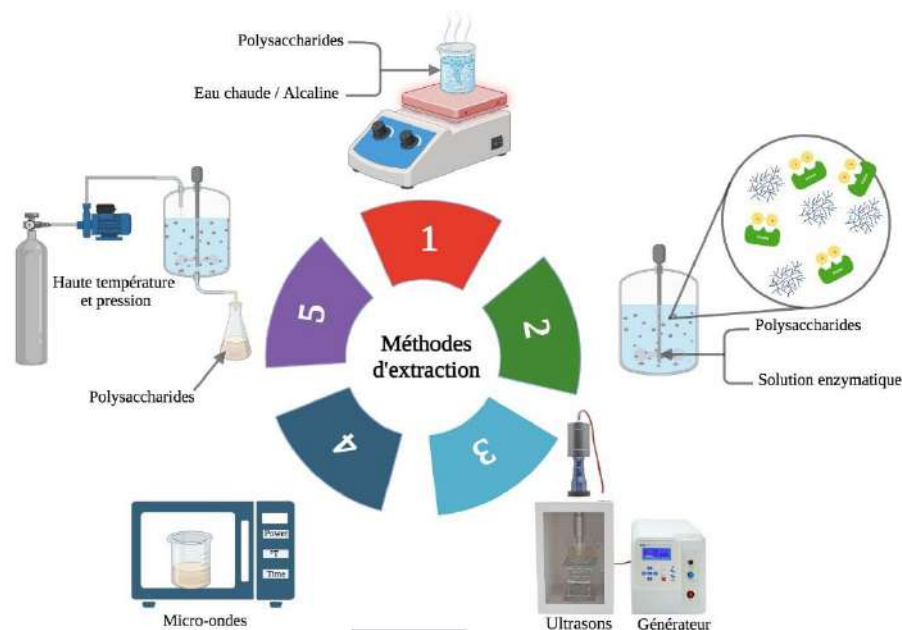


Figure I.3: Quelques méthodes d'extraction des polysaccharides : 1)- Extraction à l'eau chaude/alcaline ; 2)- Extraction assistée par enzymes ; 3)- Extraction assistée par ultrasons ; 4)- Extraction assistée par micro-ondes et 5)- Extraction par fluide supercritique (www.biorender.com)

L'origine de la plante, la température, la pression, le temps, le volume du milieu d'extraction, le pH du milieu, etc., sont tous des paramètres importants pour l'extraction des polysaccharides végétaux [36]. Chaque approche présente des avantages et des limites distincts (Tableau I.1) en termes de coût économique, de complexité des matériaux, de consommation de temps, d'effets environnementaux, d'énergie et d'efficacité d'extraction [38–40].

Les techniques d'extraction influencent de manière significative sur la structure chimique, le rendement, la consistance et les activités biologiques des polysaccharides. De plus, l'application industrielle des polysaccharides végétaux est limitée par l'efficacité d'extraction, les conditions requises et les coûts associés [41]. Il est donc crucial d'appliquer des techniques d'extraction appropriées pour obtenir les polysaccharides.

Tableau I.1: Diverses méthodes d'extraction des polysaccharides des végétaux, leur mécanisme d'action, leurs avantages et inconvénients [36]

<i>Méthode d'extraction</i>	<i>Mécanisme d'action</i>	<i>Avantages</i>	<i>Inconvénients</i>
<i>Extraction à l'eau chaud</i>	Élimination de la paroi cellulaire ou de membrane cellulaire	Économique, non toxique et sûr	Temps d'extraction plus long et faible rendement
<i>Extraction alcaline</i>	Mécanismes de dissociation	Rendement élevé	Conditions extrêmes endommagent la structure des polysaccharides
<i>Extraction assistée par des enzymes</i>	Décomposition des tissus végétaux	Améliorer le taux d'extraction des polysaccharides hydrosolubles	Température, pH, temps et concentration en enzymes doivent être strictement contrôlés.
<i>Extraction assistée par ultrasons</i>	Cavitation par ondes ultrasoniques	Taux d'extraction est élevé, gain de temps, économie de solvants, procédé simple	Coût élevé des équipements
<i>Extraction assistée par micro-ondes</i>	Élimination de la paroi cellulaire ou de la membrane cellulaire	Économique, non polluant, économie, et rendement plus élevé	Filtration des extraits après extraction, solvants polaires et des machines à coûts élevés
<i>Extraction par fluide supercritique</i>	Effet du fluide supercritique	Non polluant, non toxique, taux d'extraction élevé, extraction rapide, économie de solvants, et maintient l'activité des polysaccharides	Forte pression, coût élevé et temps d'extraction prolongé

I.4 Analyse structurale des polysaccharides

La compréhension des propriétés fonctionnelles, conformationnelles et physiologiques des polysaccharides repose essentiellement sur la connaissance de leur structure moléculaire, ce qui facilite ensuite leur utilisation dans divers domaines. Néanmoins, il est difficile de caractériser structurellement les polysaccharides en raison de leur complexité moléculaire, qui englobe des éléments tels que la composition en monosaccharides, les liaisons glycosidiques, le degré et la position de ramification, les configurations α ou β , les groupes fonctionnels, ainsi que le poids moléculaire et sa distribution (Tableau I.2) [42].

La structure des polysaccharides est plus complexe que celle des protéines et de l'ADN. Elle peut être divisée en structures primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires [43]. La structure supérieure des polysaccharides est une structure complexe d'ordre élevé formée par des interactions de liaisons non covalentes de chaînes latérales basées sur la structure primaire [44].

La combinaison de méthodes chimiques, spectroscopiques et chromatographiques, telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), la spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis), l'analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN), la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), la chromatographie gazeuse couplée spectromètre de masse (GC-MS), etc., peuvent être utilisés pour analyser les polysaccharides bioactifs [24]. Toutefois, la spectroscopie RMN reste la méthode non destructive la plus populaire permettant l'analyse des polysaccharides sous leurs formes oligomères et même polymères [45].

Le polysaccharide est hydrolysé et les monosaccharides libérés sont ensuite analysés directement par HPLC ou après dérivatisation par GC-MS [35]. Les modèles de liaison glycosidique des glycanes sont systématiquement déterminés par l'analyse de méthylation [46]. Le modèle de liaison glycosidique des oligosaccharides et polysaccharides peut également être obtenu par spectroscopie RMN [45].

La détermination du poids moléculaire (MW) des polysaccharides naturels est l'une des tâches les plus difficiles. Le MW absolu peut être déterminé à l'aide de la chromatographie d'exclusion stérique à haut performance (HP-SEC) couplée à la diffusion de lumière multi-angle

(MALS) [47]. En plus de la SEC, d'autres méthodes non destructives pour la détermination du poids moléculaire comprennent la viscosimétrie [48], l'ultracentrifugation analytique [49], et diffusion de la lumière [50].

Les molécules de polysaccharides peuvent former des structures de réseau tridimensionnelles via des liaisons hydrogène, des forces de Van der Waals, des liaisons covalentes, etc. De plus, la chaîne polysaccharidique possède un grand degré de liberté et de flexibilité, et l'association inter-chaînes est facile. Ces caractéristiques rendent la conformation spatiale des polysaccharides très complexe [35]. Des études récentes ont révélé que les polysaccharides peuvent adopter diverses conformations en solution, telles que des chaînes semi-flexibles, des chaînes rigides, et des chaînes hélicoïdales, y compris des chaînes hélicoïdales simples, doubles, triples [51], une forme semblable à un ver, une forme semblable à une tige, et des agrégats [52].

La microscopie électronique à balayage (MEB), la microscopie à force atomique (MFA), la diffraction des rayons X (DRX), ainsi que la modélisation informatique, peuvent fournir des informations supplémentaires très précieuses concernant les profils moléculaires et les conformations des polysaccharides [53].

Les polysaccharides ont une complexité structurale plus élevée que les autres macromolécules, ce qui crée des défis importants dans l'analyse de la conformation de la chaîne. Les activités des polysaccharides sont étroitement liées à leur structure chimique, à la conformation de la chaîne et à la structure d'ordre supérieur. Ainsi, il est important d'élucider les caractéristiques structurales qui sont essentielles pour l'application réussie des polysaccharides dans les différents domaines [30].

Tableau I.2: Quelques méthodes d'analyse structurale des polysaccharides [54]

<i>Méthode d'analyse</i>	<i>Informations sur le polysaccharide</i>
UV-Vis	Teneur en polysaccharides, évaluation de la présence d'acides nucléique et de protéines
FT-IR	Détermination de divers groupes fonctionnels
HPLC, LC-MS, GC-MS	Composition en monosaccharides, identification de la pureté, poids moléculaire
RMN	Séquence, composition en monosaccharides et type de structure cyclique
HP-SEC-MALS	Détermination du poids moléculaire
MEB	Structure tridimensionnelle et structure de surface
MFA	Morphologie moléculaire, structure du réseau, rugosité de surface et viscoélasticité
XRD	Analyse de la structure des polysaccharides au niveau atomique
Congo red experiment	Juger de l'état hélicoïdal de la chaîne polysaccharidique

I.5 Bioactivités des polysaccharides et relation structure-fonction

Les chercheurs du monde entier explorent les plantes terrestres pour leurs propriétés médicinales depuis l'Antiquité. Les différentes parties des plantes, tels que les graines, les feuilles, les fruits, les fleurs et les racines, sont examinés pour leurs applications potentielles, que ce soit en usage interne sous forme de décoction ou en application externe [55].

Les polysaccharides végétaux présentent de nombreuses activités pharmacologiques, notamment une activité antioxydante, une activité immunomodulatrice, une activité anti-inflammatoire, une activité antidiabétique, une activité antitumorale, une activité antivirale et d'autres activités [30]. Une compréhension approfondie de la structure et de la fonction des

polysaccharides, les scientifiques ont permis de découvrir que les polysaccharides de structures différentes possèdent de nombreuses bioactivités [7].

La relation structure-activité des polysaccharides fait principalement référence à l'effet de la structure primaire, de la structure avancée et des propriétés physicochimiques sur l'activité des polysaccharides. Cela est lié au poids moléculaire des polysaccharides, à la composition en monosaccharides, au type de liaison glycosidique et au degré de ramification. Il est difficile d'étudier directement la relation entre la structure et l'activité des polysaccharides en raison du poids moléculaire, de la structure complexe et des diverses activités [6].

I.5.1 Activité anti-inflammatoire

L'inflammation, en tant que réaction initiale du système immunitaire de l'organisme, est un phénomène physiologique naturel qui se produit en réponse à une infection, une blessure ou un stress. Elle est en général, une réponse protectrice naturelle par la sécrétion d'oxyde nitrique (NO) et de cytokines pro-inflammatoires, mais une inflammation prolongée et chronique pourrait être préjudiciable, conduisant à la pathogenèse de maladies telles que la fièvre, l'asthme, l'athérosclérose, l'arthrite, les maladies neurodégénératives et même le cancer. Le traitement de l'inflammation se concentre principalement sur les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens [56]. Cependant, les effets secondaires, tels que l'hypertension, l'ostéoporose, l'immunosuppression, les syndromes de Cushing de la première et la gastrite hémorragique, l'ulcère digestif supérieur, l'hépatotoxicité, les allergies de la seconde, rendent leur utilisation à long terme controversée et représentent une limitation importante à l'utilisation de ces médicaments. Il est donc urgent de trouver des substances potentiellement non toxiques et efficaces pour inhiber l'inflammation [57].

Les polysaccharides, en tant que biomolécules anti-inflammatoires, peuvent inhiber la voie de signalisation, réduire les facteurs inflammatoires et exercer d'autres effets anti-inflammatoires [37]. Les différents mécanismes anti-inflammatoires des polysaccharides ont été discutés. L'inhibition de la libération de médiateurs inflammatoires ou l'amélioration de la dérégulation des cytokines pro-inflammatoires (interleukines 1 et 6 (IL-1 et IL-6) et facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et des cytokines anti-inflammatoires (IL-10) constituent une stratégie potentielle pour le traitement de l'inflammation. L'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) catalyse la

synthèse de grandes quantités de NO. La cyclooxygénase (COX) est également impliquée dans le processus d'inflammation. iNOS et COX-2 stimulent la production d'une masse de médiateurs pro-inflammatoires [58,59]. La suppression de leurs activités ou la régulation négative de leur expression sont souhaitables pour réduire l'étendue de la réponse inflammatoire [60].

La voie du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) est l'une des voies effectrices les plus importantes impliquées dans l'inflammation. C'est un régulateur transcriptionnel composé d'homodimères ou d'hétérodimères de protéines Rel [58]. Dans les cellules au repos, il est localisé dans le cytosol et lié à l'inhibiteur kappa B (I κ B), inhibant ainsi sa localisation nucléaire. Une fois activé, I κ B est phosphorylé et libéré du complexe, puis les protéines Rel se déplacent vers le noyau et se lient spécifiquement aux éléments d'ADN consensus pour initier l'expression d'une cascade de gènes liés à l'inflammation et ainsi la production de divers médiateurs [61–63]. L'inhibition de la production de cytokines pro-inflammatoires en supprimant l'activation de NF- κ B est le mécanisme sous-jacent de nombreux polysaccharides. Les protéines kinases activées par le mitogène (MAPK) sont une famille de protéines kinases sérine/thréonine. En tant que molécules de signalisation en amont du NF- κ B, l'inhibition de MAPK par les polysaccharides, jouent également un rôle important dans les processus anti-inflammatoires [64].

Une mauvaise adaptation de l'interface du microbe hôte pourrait entraîner des réponses inflammatoires aberrantes et la dérégulation du microbiote intestinal pourrait être une pathogenèse sous-jacente de la maladie inflammatoire de l'intestin [65]. Le niveau réduit de probiotiques et l'abondance accrue de bactéries maléfiques dans l'intestin sont des caractéristiques typiques des patients atteints de colite [66]. Des études ont révélé que les polysaccharides produits ou agissaient sur le microbiote avaient des effets anti-inflammatoires dans les maladies inflammatoires de l'intestin [67] et confirmaient leur effet protecteur contre la colite [66]. Les polysaccharides possèdent des activités de régulation immunitaire, ce qui représente une nouvelle approche thérapeutique anti-inflammatoire.

Les transducteurs de signal et activateurs de transcription 3 (STAT3) possèdent des fonctions clés dans le développement et l'homéostasie tissulaire. Les chercheurs ont découvert que STAT3 activé par les polysaccharides pourrait favoriser la différenciation des microglies et des macrophages vers le phénotype M2 [68,69], indiquant un régulateur potentiel de l'inflammation.

Les polysaccharides exercent également des effets anti-inflammatoires en inhibant la libération d'histamine ou en activant l'autophagie [70].

La composition en monosaccharides à une influence significative sur l'activité anti-inflammatoire des polysaccharides. Des études ont indiqué que les macrophages et les cellules dendritiques expriment de nombreux récepteurs de glucides, tels que les récepteurs du mannose (MR), la dectine-1 et la lectine de type galactosétype des macrophages (MGL), qui peuvent reconnaître spécifiquement les saccharides riches en mannose, β -glucane et galactose, respectivement. De telles reconnaissances déclenchent des signaux en aval et induisent un changement dynamique du comportement cellulaire [71,72].

Il convient de souligner que l'influence du poids moléculaire peut être controversée, voire contradictoire, et que parfois l'impact de poids moléculaire s'avère non linéaire [73,74]. Il est démontré que la conformation de la chaîne des polysaccharides avait tendance à changer avec la variation de poids moléculaire, ce qui s'est avéré être étroitement lié au changement des effets anti-inflammatoires. La conformation de la chaîne est un autre facteur important influençant l'activité anti-inflammatoire des polysaccharides. Il est rapporté que les polysaccharides sont plus actifs à l'état triple hélice [75].

I.5.2 Activité antioxydante

Au cours des processus métaboliques, la production incontrôlée des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives de l'azote (ERN) peut causer des dommages au corps humain. Elles attaquent différentes macromolécules telles que les lipides membranaires, les protéines et l'ADN, entraînant de nombreux troubles de santé tels que le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives et inflammatoires avec des lésions tissulaires graves [3].

Les antioxydants ont le potentiel de supprimer ces maladies causées par les dommages oxydatifs grâce à différentes activités de piégeage, de réduction, de chélation et d'inhibition de la peroxydation [5]. Les antioxydants d'origine synthétique présentent de nombreux inconvénients tels que leur carcinogénèse et leurs dommages au foie ; pour ces raisons, un substitut naturel alternatif serait d'une grande utilité. Les polysaccharides dérivés de plantes sont des candidats prometteurs car ils présentent de fortes activités antioxydantes [76].

Des études ont montré que certains polysaccharides peuvent inhiber la peroxydation des lipides, renforcer la capacité du corps à éliminer les radicaux libres, avoir des effets anti-âge et inhiber les maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires [77].

L'activité antioxydante des polysaccharides est principalement attribuable à l'amélioration de l'activité enzymatique antioxydante de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et de l'hydroperoxyde de phospholipide glutathion peroxydase (GSH-Px) [78]. Les polysaccharides inhibent la génération de ERO en bloquant la voie de NF- κ B [79,80].

Le mécanisme antioxydant sous-jacent n'est pas entièrement expliqué. Cependant, il a été découvert que les caractéristiques des polysaccharides tels que le poids moléculaire, la composition des monosaccharides, la structure, et les liaisons hydrogènes intramoléculaires sont liées à son activité antioxydante [81].

Il a été observé que le poids moléculaire des polysaccharides est associé à leurs activités antioxydantes. Les polysaccharides de bas poids moléculaire ont des activités antioxydantes plus élevées que les polysaccharides de haut poids moléculaire car les polysaccharides de bas poids moléculaire ont leurs groupes réducteurs (groupes hydroxyle et amino) accessibles aux radicaux réactifs et aux oxydants. Les polysaccharides de haut poids moléculaire, en revanche, peuvent être plus compacts et avoir leurs groupes réducteurs restreints et inaccessibles pour les réactions antioxydantes [82]. Cependant, peu d'études suggèrent qu'il pourrait n'y avoir aucune corrélation entre le poids moléculaire des polysaccharides et leurs activités antioxydantes [83].

Une excellente activité acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS) des polysaccharides a été découverte être liée à sa teneur en acide uronique. Cela pourrait être dû à l'interaction de l'acide uronique avec l'atome d'hydrogène du carbone anomérique des polysaccharides [84]. Cette interaction conduit à la libération d'hydrogène, qui est ensuite disponible pour éteindre les radicaux. Aussi, la formation d'une liaison croisée entre le groupe COOH de l'acide uronique et Fe²⁺ a été identifiée comme étant responsable de la capacité des polysaccharides à chélater le Fe²⁺ [85]. De plus, il a été découvert que l'acide galacturonique et l'acide glucuronique présents dans les polysaccharides ont amélioré leur capacité de chélation du Fe²⁺ [86,87]. Il a également été constaté que la composition monosaccharide des polysaccharides

provoque une très forte inhibition des radicaux hydroxyles. La fraction de polysaccharides qui inhibait fortement le radical hydroxyle contenait la plus grande quantité de rhamnose [88,89].

Les liaisons glycosidiques associées aux polysaccharides peuvent influencer leur capacité d'inhibition spécifique. La relation entre les liaisons glycosidiques des polysaccharides et la capacité d'inhibition des radicaux hydroxyles nécessite une analyse plus approfondie des monosaccharides. Un rapport mentionne la relation étroite entre l'arabinose (1 → 4) et la mannose (1 → 2) avec le pouvoir réducteur, et le glucose (1 → 6) et l'arabinose (1 → 4) au piégeage des radicaux DDPH [90].

I.5.3 Activité anti-hyperglycémiant

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par une glycémie élevée chronique et associée à des lésions à long terme de divers organes. L'incidence du diabète a augmenté rapidement ces dernières années en raison de changements importants dans l'alimentation et le mode de vie. Il est donc urgent de trouver des méthodes thérapeutiques pour prévenir le diabète. Les polysaccharides végétaux présentent une activité hypoglycémiant via divers mécanismes tels que la protection des cellules β pancréatiques, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, la réduction de la digestion de l'amidon, l'augmentation des effets anti-inflammatoires, la modulation du métabolisme lipidique et la régulation du microbiote intestinal [91].

L'augmentation du taux d'apoptose des cellules β ainsi que la diminution de la sécrétion d'insuline peuvent conduire à l'apparition du diabète. La prévention de l'apoptose des cellules β est l'une des approches essentielles pour soulager le diabète. La réduction du stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes permettant aux polysaccharides de prévenir l'apoptose des cellules β [92]. En plus de leurs effets anti-apoptotiques, les polysaccharides peuvent également maintenir la fonction des cellules β et ainsi améliorer la sensibilité et la sécrétion d'insuline [93].

Une inflammation de bas grade est associée au diabète. L'infiltration accrue des cellules immunitaires et la libération de cytokines entraînent une résistance à l'insuline et la destruction des cellules β . Par exemple, l'interleukine 1 bêta (IL-1 β) est la principale cytokine capable d'intervenir dans la défaillance des cellules β puisque la fonction des cellules β est améliorée après le blocage de l'activation de l'IL-1 [94]. Par conséquent, la suppression de l'expression des cytokines inflammatoires peut inhiber la progression du diabète [95]. En plus de réguler négativement

l'expression des cytokines inflammatoires dans le sérum, les polysaccharides végétaux pourraient diminuer les niveaux d'inflammation dans les tissus cibles de l'insuline [96–99].

L'insuline est capable de réguler la glycémie. La liaison entre l'insuline et les substrats du récepteur de l'insuline active la voie phosphoinositide-3-kinase/Akt/protéine kinase B (PI3K/Akt/PKB) et la voie de la protéine kinase activée par le mitogène Ras (MAPK), ce qui diminue le taux de glucose dans le sang. Le rôle essentiel des polysaccharides végétaux dans la régulation de la voie de signalisation de l'insuline est la modulation de la voie de signalisation MAPK [100] et l'activation de la voie PI3K/Akt [101].

La régulation du métabolisme lipidique est l'un des mécanismes importants impliqués dans l'activité antidiabétique des polysaccharides végétaux. La protéine kinase activée par l'adénosine 5'-monophosphate (AMPK) joue un rôle important dans la diminution des triglycérides et du cholestérol total induite par les polysaccharides végétaux [102,103].

Les polysaccharides présentaient une activité d'inhibition élevée de l' α -amylase et de l' α -glucosidase, ce qui indiquait un bon potentiel pour les polysaccharides dans le traitement de diabète [104]. L'absorption du glucose dans l'intestin se fait principalement par les transporteurs de glucose, notamment le cotransporteur sodium-glucose 1 (SGLT-1) et le transporteur de glucose 2 (GLUT2). SGLT1 est responsable de l'absorption du glucose par l'intestin grêle. GLUT2 assure la médiation de la sortie du glucose des cellules intestinales vers la circulation sanguine. Les polysaccharides végétaux peuvent abaisser la glycémie en inhibant l'expression du SGLT-1 et du GLUT2 [105]. De plus, l'inhibition du SGLT1 a entraîné une augmentation du GLP1, ce qui a encore favorisé l'homéostasie du glucose [106].

Dans la régulation du microbiote intestinal, le traitement aux polysaccharides a inversé la dysbiose intestinale causée par le diabète. La majeure partie du microbiote intestinal est constituée de bactéries anaérobies, dont les Firmicutes et les Bacteroidetes représentent environ 90%. Les polysaccharides ont augmenté l'abondance de Bacteroidetes, et donc améliorant le métabolisme nutritionnel et énergétique [98].

Dans l'intestin distal, les polysaccharides sont convertis en acides gras à chaîne courte (AGCC), tels que l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique, par le microbiote intestinal. Les AGCC régulent le métabolisme en activant la signalisation en aval, et donc en

modulant indirectement le diabète. Le renforcement de la barrière intestinale dans le diabète est essentiel pour prévenir l'inflammation chronique. De nombreux résultats suggèrent que les AGCC contribuent au maintien de la barrière intestinale [107]. Les acides biliaires, un type de molécules de signalisation, jouent un rôle important dans le métabolisme des glycolipides. Les polysaccharides peuvent soulager le diabète en améliorant le métabolisme des acides biliaires [108]. La sécrétion de l'hormone glucagon-like peptide 1 (GLP-1) pourrait être améliorée via les modifications induites par les polysaccharides dans les bactéries intestinales [109].

La viscosité élevée des polysaccharides peut inhiber la digestion de l'amidon et l'absorption du glucose, évitant ainsi une augmentation rapide des taux plasmatique de glucose chez les patients diabétiques [110–112]. Le poids moléculaire a un effet significatif sur l'activité des polysaccharides. Les polysaccharides de poids moléculaire relativement faible ont montré une meilleure activité antidiabétique [104]. L'activité inhibitrice plus élevée des polysaccharides de poids moléculaire inférieur pourrait être attribuée à davantage de groupes hydroxy et carboxyle sur les chaînes des polysaccharides, ce qui a facilité la formation du complexe d'enzymes et de polysaccharides, entraînant une activité inhibitrice plus élevée. Cependant, les effets du poids moléculaire des polysaccharides végétaux sur les effets antidiabétiques n'étaient pas de simples relations linéaires. La viscosité des polysaccharides de poids moléculaire plus élevé était élevée, ce qui inhibait la digestion et l'absorption de l'amidon et montrait ainsi une meilleure activité antidiabétique [110].

La plupart des polysaccharides ayant une activité antidiabétique contiennent de l'arabinose, du galactose, du glucose et du xylose dans des proportions différentes, ainsi qu'une petite quantité de rhamnose et de fucose [113]. Les polysaccharides riches en galactose et en glucose présentent une forte activité inhibitrice de l' α -amylase et de l' α -glucosidase (la teneur élevée en galactose et glucose facilite la liaison des polysaccharides aux enzymes) [114]. Un rapport mannose/glucose plus élevé entraîne une viscosité plus faible du glucomannane et donc une diminution des effets antidiabétiques [115]. La composition en monosaccharides est également associée à la production de polysaccharides végétaux par les AGCC, ce qui à son tour affecte l'activité antidiabétique. Par exemple, l'acide propionique, l'un des AGCC importants, est lié à la fermentation de polysaccharides riches en arabinose et en xylose [116]. Le type et la position de la liaison glycosidique pourraient affecter l'activité antidiabétique des polysaccharides. Une forte activité

inhibitrice de l' α -glucosidase des polysaccharides attribués à l'existence de liaisons α -(1 $\rightarrow$ 4) glycosidiques [117].

I.5.4 Activité antitumorale

Les tumeurs sont des croissances anormales de cellules dans le corps, qui peuvent être bénignes et inoffensives, ou malignes (cancéreuses) et nocives, et peuvent se propager et entraîner la mort. Les scientifiques pensent que le cancer est une maladie complète, multi-étapes et multifactorielle, qui peut survenir à partir de tous les types de cellules et d'organes. Le cancer se manifeste non seulement par des dommages physiques, provoquant diverses complications aux stades intermédiaire et avancé, mais il affecte également la santé mentale des patients et réduit leur qualité de vie. Selon les dernières données mondiales sur la charge de cancer publiées par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) de l'Organisation mondiale de la santé en 2020, le taux d'incidence et la mortalité liés au cancer ont augmenté rapidement dans le monde ces dernières années [118].

Des études ont montré que les polysaccharides végétaux ont peu d'effets toxiques et secondaires et se caractérisent par des perspectives et des mécanismes multiples, prévenant l'émergence de la résistance aux médicaments. Leurs mécanismes moléculaires anticancéreux comprennent principalement l'inhibition de la prolifération tumorale et de l'apoptose tumorale, l'induction de l'autophagie, l'impact sur le cycle cellulaire, l'inhibition de l'angiogenèse tumorale, la régulation de la transition épithéliale-mésenchymateuse, le stress oxydatif tumoral et la régulation immunitaire. Comparés aux médicaments anticancéreux existants, les polysaccharides végétaux sont devenus l'un des points chauds de la recherche dans le domaine de l'anti-tumeur en raison de leur sécurité et de leur efficacité [119].

Normalement, les cellules humaines subissent un processus ordonné de prolifération, de différenciation, de sénescence et d'apoptose. Lorsqu'une mutation génique ou chromosomique se produit, les cellules deviennent cancéreuses, et leurs activités de prolifération et de différenciation deviennent anormalement actives. Des études ont montré que les polysaccharides végétaux peuvent efficacement inhiber la prolifération et la différenciation des cellules tumorales [120,121].

L'apoptose est une voie importante pour éliminer les cellules endommagées ou infectées afin de protéger l'intégrité tissulaire et l'homéostasie cellulaire, et elle se caractérise par la

condensation de la chromatine cellulaire, l'activation des caspases, la fragmentation de l'ADN et des altérations de la membrane mitochondriale. Les voies d'apoptose induites par les polysaccharides végétaux dans les cellules tumorales sont principalement divisées en voie mitochondriale (voie intrinsèque) et voie du récepteur de la mort (voie extrinsèque). Dans la voie intrinsèque, les polysaccharides entraînent généralement des changements de potentiel membranaire mitochondrial et l'activation de la caspase-9 dans les cellules tumorales, déclenchant de multiples voies dépendantes de la caspase, y compris l'activation de la caspase-3, qui libère finalement le cytochrome C pour induire l'apoptose. Dans la voie extrinsèque, les polysaccharides végétaux induisent principalement les récepteurs de la mort à se lier à leurs ligands et activent la caspase-8, conduisant à l'apoptose [122–125].

L'autophagie est le processus par lequel les cellules forment des vésicules autophagiques à double membrane et dégradent des protéines et des organites dans ces vésicules à travers les lysosomes. Ses principales caractéristiques sont la formation de vésicules à double membrane et la transformation de la protéine associée aux microtubules 1, chaîne légère 3 (LC3). Les polysaccharides végétaux régulent l'autophagie tumorale en agissant sur les molécules d'autophagie Beclin-1 et LC3 [126].

La formation de nouveaux vaisseaux sanguins fournit non seulement une nutrition riche à la croissance tumorale, mais offre également une nouvelle voie pour la métastase tumorale. L'inhibition de l'angiogenèse est une condition préalable à l'activité antitumorale et à l'inhibition de la métastase tumorale. La régulation de la vascularisation tumorale peut renforcer les stratégies antitumorales. L'anti-angiogenèse inclut l'inhibition des voies moléculaires impliquées dans la promotion de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. Les polysaccharides végétaux peuvent exercer des effets antitumoraux en inhibant l'angiogenèse tumorale [127,128].

La métastase tumorale fait référence au processus au cours duquel les cellules tumorales adhèrent à la matrice extracellulaire, envahissent les tissus adjacents et subissent une métastase. La capacité métastatique et invasive est la principale manifestation de la malignité tumorale. Les polysaccharides végétaux peuvent traiter le cancer en inhibant l'invasion et la métastase tumorales, et peuvent être considérés comme des médicaments adjuvants dans le traitement du cancer [129–131].

Les polysaccharides végétaux peuvent prolonger la vie des patients atteints de cancer en améliorant leur auto-immunité [132,133]. Les polysaccharides peuvent cibler des molécules réceptrices telles que les récepteurs de type Toll (TLR: Toll like receptor), le récepteur du mannose, le récepteur 3 du complément et le récepteur éboueur (scavenger receptor) à la surface des cellules immunitaires, activer les voies de signalisation en aval telles que MAPK et NF- κ B, favoriser la sécrétion et l'expression de cytokines telles que NO, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL40 et IFN- γ , régulent le système immunitaire, améliorent l'activité des cellules immunitaires, régulent les facteurs inflammatoires, activent les cellules immunitaires innées et renforcent l'effet inhibiteur de l'hôte sur croissance des cellules tumorales, exerçant ainsi une activité immuno-régulatrice, et jouant alors un rôle antitumorale [133–137]

Le poids moléculaire est un facteur crucial qui influe sur l'activité antitumorale des polysaccharides. En général, plus le poids moléculaire est élevé, plus l'activité antitumorale est forte [138]. Mais, certains polysaccharides de faible poids moléculaire avaient également une activité antitumorale significative [139]. Cependant, l'activité biologique des polysaccharides montrera une corrélation positive uniquement dans une certaine plage avec le poids moléculaire. Au-delà de cette plage, un poids moléculaire trop élevé ou trop faible diminue son activité antitumorale. En raison d'un poids moléculaire trop bas, le polysaccharide ne peut pas former une structure polymère avec une activité biologique, tandis qu'un poids moléculaire trop élevé et un volume moléculaire trop important ne favorisent pas le transport transmembranaire du polysaccharide et son activité biologique dans l'organisme [119].

L'activité antitumorale des polysaccharides ayant différentes compositions de monosaccharides est très différente. La plupart des polysaccharides végétaux à base de glucose, d'arabinose et de rhamnose ont une activité antitumorale importante et plus la teneur en glucose est élevée, meilleure est l'activité antitumorale. De plus, les polysaccharides végétaux ayant une activité antitumorale contiennent également du galactose, du mannose, de l'acide galacturonique et de la xylose [119].

I.5.5 Autres activités

Des expériences *in vivo* et *in vitro* ont démontré la capacité du polysaccharide à fournir des effets neuroprotecteurs en favorisant la croissance des neurites et les voies de signalisation NF- κ B, PI3K/Akt et MAPK [140].

Les polysaccharides ont présenté une meilleure activité de digestibilité contre les activités lipase et protéase en modifiant les protéines et en aidant à diminuer les niveaux de lipides. De plus, il aide à lier les sels biliaires et à réduire les taux de cholestérol [141]. Il a également été constaté que les polysaccharides inhibaient la formation de biofilm [142].

L'activité antimicrobienne des polysaccharides peut être évaluée à l'aide de méthodes de base telles que la diffusion sur disque et les dilutions en bouillon ou en gélose. Les polysaccharides ayant un effet antimicrobien doivent présenter des propriétés d'activité de surface, une capacité d'adsorption/absorption et une affinité de liaison élevée pour les cellules bactériennes. En outre, les polysaccharides doivent posséder une lipophilie accrue afin de provoquer des dommages et une perturbation efficace de la membrane cellulaire, une fuite du contenu cytoplasmique et une lyse cellulaire [143,144].

Les polysaccharides présentent un effet hépato-protecteur contre les lésions hépatiques par divers mécanismes *in vitro* et *in vivo* [145,146]. Les mécanismes qui sous-tendent leur effet hépato-protecteur résident dans la régulation des voies NF- κ B, PI3K/AKT, MAPK, cascade des caspases, TGF- β (facteur de croissance transformant β), gène p53, du métabolisme lipidique ainsi que des enzymes du cytochrome P450 [147].

Les activités biologiques des polysaccharides ont été décrites comme étant intimement liées aux structures et aux conformations de la chaîne. Néanmoins, en raison d'une relation structure-fonction non clairement définie et d'un mécanisme d'action partiellement compris, leur utilisation clinique reste limitée. Une attention constante devrait être accordée à la découverte de leur lien plus profond, qui est crucial pour que les modifications structurales des polysaccharides atteignent leurs effets maximaux.

I.6 Aperçu sur les galactomannanes

I.6.1 Généralités

Les hémicelluloses représentent les polysaccharides les plus abondants, après la cellulose. Il s'agit d'hétéropolysaccharides ramifiés ou linéaires, regroupés structurellement en β glucanes, mannanes, xylanes et xyloglucanes. Les mannanes, l'un des principaux groupes constitutifs de l'hémicellulose dans la paroi cellulaire des plantes, où ils jouent des rôles structurels, nutritionnels et de signalisation. Ils se composent de quatre sous-familles: les glucomannanes, les galactomannanes, les mannanes linéaires et les galactoglucomannanes [148–150].

Les galactomannanes sont des hétéropolysaccharides hydrosolubles non ionique composés de mannose et de galactose. On les trouvent généralement sous forme de polysaccharides de stockage dans l'endosperme des graines de plus de 70 espèces de la famille des Légumineuses [12,151,152].

En plus de leur rôle principal de réserve, il agit comme osmoprotecteur. Le galactomannane ajuste le potentiel osmotique de la graine pendant la germination en réponse à des facteurs externes tels que la sécheresse. Les galactomannanes sont durs et compacts à l'état normal, mais lors de l'imbibition, ils absorbent une grande quantité d'eau (environ 60 % de l'eau totale absorbée par la graine entière) et deviennent doux et mucilagineux. Ils contribuent à protéger l'embryon contre la dessiccation lorsque la sécheresse suit l'imbibition. Le rôle des galactomannanes dans les relations hydriques est le résultat direct de ses propriétés hydrophiles, qui découlent elles-mêmes de sa structure moléculaire. Ce rôle ne pourrait pas être imité par des protéines de réserve, de l'huile, ou même par de l'amidon, qui absorbe peu d'eau à l'état natif. Par conséquent, il semble raisonnable de suggérer que la présence de galactomannanes dans les plantes, peut représenter une adaptation à un environnement naturel aride ou semi-aride [153,154].

Le développement du galactomannane dans les plantes légumineuses a été divisé en quatre stades largement espacés observables au microscope optique: le stade de développement embryonnaire, le stade de dépôt de galactomannane, le stade tardif de dépôt de galactomannane, et le stade de maturation du galactomannane [155]. Le temps spécifique pour chaque stade de développement varie considérablement en fonction de l'espèce et de l'environnement de croissance des plantes [156].

La biosynthèse du galactomannane est catalysée de manière coopérative par la mannosyltransférase et la galactosyltransférase [157]. Le processus de biosynthèse régulé par plusieurs enzymes influence le dépôt de galactomannane et la teneur en galactose, contrôlant ainsi le rapport mannose/galactose (M/G) [158].

L'extraction aqueuse est la méthode générale pour extraire des hydrocolloïdes, y compris les galactomannanes. Cependant, l'utilisation de nouvelles technologies telles que l'ultrason et le micro-ondes dans l'extraction peut entraîner des changements dans divers aspects, en particulier les propriétés émulsionnantes et moussantes du galactomannane obtenu [159]. Bien que ces nouvelles méthodes puissent être un peu coûteuses, si elles peuvent améliorer différentes propriétés, elles peuvent remplacer la méthode d'extraction aqueuse [160].

Parmi les principales sources de galactomannanes figurent la caroube (*Ceratonia siliqua*), le guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), le tara (*Caesalpinia spinosa*) et le fenugrec (*Trigonella foenum graecum*). D'autres sources de galactomannanes ont également été explorées dans la littérature mais ont encore une applicabilité limitée [161,162].

La détermination de la structure chimique du galactomannane a fait l'objet d'un grand intérêt et plusieurs expériences ont été réalisées pour étudier la structure détaillée du galactomannane provenant de différentes sources végétales.

I.6.2 Structure et propriétés du galactomannane

Les galactomannanes ont été mises en avant ces dernières années en raison de leur nature naturelle, leur stabilité, leur sécurité, leur non-toxicité, leur caractère hydrophile et leur biodégradabilité. Ce sont des polymères qui présentent des propriétés physico-chimiques et biologiques recherchées [163].

La détermination de la structure chimique du galactomannane a fait l'objet d'un grand intérêt et plusieurs expériences ont été réalisées pour étudier la structure détaillée du galactomannane provenant de différentes sources végétales. La première tentative a été faite par Nadelman en 1890. Il a étudié les graines en développement de *Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae), *Lotus tetragonolobus* L. (Fabaceae), *Colutea brevialata* Lange (Fabaceae) et *Indigofera hirsuta* L. (Fabaceae) et a découvert le dépôt de mucilages (ou galactomannane) sous

forme d'épaississements membranaires secondaires des parois cellulaires de l'endosperme [164]. Grâce au développement de différentes techniques de caractérisations, les chercheurs ont pu identifier la structure du galactomannane.

La structure chimique du galactomannane est un squelette linéaire d'un groupe mannopyranosyle β -D-(1 $\rightarrow$ 4) qui est attaché à une unité galactopyranosyle α -D-(1 $\rightarrow$ 6) en tant que chaîne latérale [11]. Les galactomannanes sont des polymères à longue chaîne qui peuvent augmenter significativement leur affinité pour la liaison des molécules d'eau, car ils possèdent un grand nombre de groupes hydroxyle (-OH). Lorsqu'ils sont dispersés dans l'eau, les galactomannanes peuvent former des dispersions visqueuses et/ou des gels [165].

La présence de groupes cis-OH dans le mannose permet la formation de liaisons hydrogène au sein des molécules de la chaîne polymannane tant qu'un groupe de substitution le galactose n'est pas présent ou en moindre quantité. Une augmentation de la substitution par la chaîne latérale du galactose établit un obstacle stérique entre les molécules de sorte que très moins de liaisons hydrogène se produisent et conduit à une solubilité élevée dans l'eau et provoque des changements significatifs dans la viscosité du galactomannane [11]. Ainsi, les galactomannanes peuvent se disperser facilement dans l'eau et former de fortes liaisons hydrogène lors de l'interaction avec les molécules d'eau et représentent donc une capacité élevée de liaison à l'eau [166].

Les principales différences entre les galactomannanes résident dans la répartition des branches latérales du galactose le long du squelette du mannose, dans le rapport M/G, dans leur structure et leur poids moléculaire. Ces facteurs affectent également leurs aspects physico-chimiques, rhéologiques, émulsifiants et fonctionnels [167]. Il est à noter que le rapport M/G peut affecter considérablement la solubilité du galactomannane. De plus, l'emplacement des branches latérales du galactose sur la chaîne du mannose peut également affecter divers paramètres physicochimiques, notamment la solubilité, en modifiant la structure du galactomannane. En d'autres termes, les galactomannanes qui ont des branches latérales à faible teneur en galactose dans leur conformation présentent une structure cristalline qui entraîne une réduction de la solubilité [168].

Le rapport M/G est un facteur important déterminant les propriétés physicochimiques du galactomannane telles que sa solubilité, sa rhéologie et son comportement thermique [11,169].

Comparé au galactomannane avec des rapports M/G inférieurs (1-1.8), le galactomannane avec des rapports M/G plus élevés (2.7 – 4.0) est insoluble dans l'eau froide et se dissout lorsqu'il est chauffé [151,152,170,171]. De plus, des rapports M/G plus élevés contribuent à une viscosité plus élevée en raison des interactions intermoléculaires. De plus, les propriétés physicochimiques et notamment la viscosité des galactomannanes sont également influencées par leur répartition de poids moléculaire. Les changements dans le rapport M/G varient au cours du dépôt et de la maturation du galactomannane [158].

Le rapport M/G dans le galactomannane peut varier selon le type de plante. Les auteurs ont montré, à partir d'une même espèce végétale ou d'une même source de galactomannane, que les propriétés moléculaires du galactomannane, comme le rapport M/G et le poids moléculaire, peuvent varier en fonction de la variété et des conditions de culture (climat, sol) ainsi que la méthode d'extraction ou de préparation [158].

La conformation des polysaccharides peut avoir un impact significatif sur les propriétés de leur solution, notamment des changements importants dans la solubilité, la viscosité et les interactions avec d'autres polysaccharides [172,173]. Par conséquent, déterminer la conformation du galactomannane en solution est d'une grande importance pour comprendre ses propriétés en solution.

I.6.3 Applications des galactomannanes

Les galactomannanes peuvent souvent être utilisés sous différentes formes pour la consommation humaine. Présentant différentes propriétés physicochimiques, les galactomannanes sont des biomolécules utilisées dans de nombreuses industries : textile, cosmétique, biomédicale, pharmaceutique et alimentaire. En raison de leur innocuité et de leur haute viscosité, les galactomannanes sont largement utilisés en tant qu'agents épaississants, émulsifiants, stabilisants et gélifiants [11,158,174,175].

Aussi, en raison de leur caractère hydrophile, les galactomannanes possèdent des propriétés fonctionnelles uniques pour diverses utilisations alimentaires. Il est à citer leur capacité de rétention d'eau, de réduction du taux d'évaporation, de modification de la formation des cristaux de glace, de régulation du comportement rhéologique et leur capacité émulsifiante [176,177].

Dans ce sens, l'incorporation de galactomannanes dans la fabrication du pain blanc entraîne une augmentation significative de l'absorption d'eau lors de la formation de la pâte. Cette réaction peut être principalement attribuée à la nature hydrophile du polysaccharide et à sa capacité à retenir l'eau pendant la cuisson. En conséquence, l'humidité ainsi retenue s'évapore sous l'effet d'une pression de vapeur accrue, ce qui se traduit par une amélioration du volume du pain [178].

Lorsque les galactomannanes sont ajoutés aux recettes de crème glacée, ils empêchent la cristallisation du lactose et la recristallisation de la glace au cours de stockage congelé des produits. Ils empêchent la synérèse et améliorent l'étalement et la texture lorsqu'ils sont utilisés dans la fabrication de fromages à tartiner [179]. En maximisant leur interaction avec les protéines et en améliorant la texture, ils contribuent à réduire le taux de matières grasses de la préparation du yaourt [180].

Les galactomannanes trouvent de nombreuses applications dans les sauces, les vinaigrettes, les soupes et diverses formulations liquides. Ils jouent un rôle crucial dans la régulation de la texture, de l'expérience sensorielle et de la stabilité de ces mélanges. De plus, ils contribuent à prolonger la durée de conservation des sauces en gérant la séparation des particules solides et le processus de synérèse [179].

Les solutions de galactomannanes présentent une stabilité sur une large plage de pH, ce qui en fait d'excellents choix pour l'épaississement, la stabilisation et le prolongement de la durée de conservation des boissons. Les galactomannanes, avec leurs propriétés tensioactives, peuvent être efficacement utilisées en tant que stabilisateurs pour les émulsions huile-dans-eau dans les boissons [181].

Les galactomannanes caractérisés par une teneur réduite en galactose sont utilisés dans la création des films comestibles, démontrant leur biodégradabilité. Cette caractéristique offre une méthode permettant de minimiser la transformation des légumes frais, des fruits et des produits carnés [182]. Pour obtenir les propriétés souhaitables du film telles qu'une résistance à la traction élevée et un allongement à la rupture accru, des ajustements des caractéristiques du biopolymère telles que la perméabilité à l'oxygène, la perméabilité au dioxyde de carbone et la perméabilité à l'humidité sont nécessaires. Les galactomannanes jouent un rôle crucial dans ce processus d'optimisation en permettant la modification de la structure moléculaire du biopolymère [179].

Dans l'industrie cosmétique en raison de leurs propriétés non toxiques, les galactomannanes sont utilisées en tant qu'épaississant dans les dentifrices, en tant que conditionneur dans les shampoings, en tant que colorants dans les industries textiles, et en tant que poudres pour prothèses dentaires [167,183].

Les galactomannanes sont des agents de revêtement de surface efficaces, utilisés pour lier ou désintégrer des comprimés et des médicaments. Il est principalement utilisé comme composant de certains laxatifs à base de fibres et se révèlent utiles dans le traitement des inflammations. Ces substances peuvent être employées pour créer des nanoparticules dans la délivrance de médicaments et interagissent facilement avec d'autres composés, ce qui est très bénéfiques pour la fabrication de comprimés et d'additifs dans l'industrie pharmaceutique [183–186].

Les galactomannanes présentant un rapport M/G élevé sont couramment utilisés dans la formulation de systèmes de délivrance orale à base d'hydrogels, de systèmes multiparticulaires et de comprimés. Le galactomannane possède des propriétés antidiabétiques et hypolipidémiques, abaisse le taux de cholestérol LDL (lipoprotéines de basse densité) en raison de sa teneur élevée en fibres solubles, et agit ainsi en tant que matériau bioactif [154,187,188].

Les galactomannanes sont des agents de renforcement des fibres et de défloculation, et leur ajout dans de petites quantités à la pâte peut augmenter la production de papier [189]. Lorsqu'il est utilisé comme additif de partie humide, le galactomannane présente d'excellents effets de liaison hydrogène, et des papiers légers avec une excellente étanchéité peuvent également être fabriqués pour éviter les traces d'encre d'impression [11].

Dans l'industrie textile, le galactomannane est utilisé comme agent d'encollage lorsqu'il est combiné à de l'amidon et comme épaississant inimitable dans les peintures. Par conséquent, les solutions de colorants épaissies peuvent être utilisées pour créer des motifs clairement imprimés [154]. Les galactomannanes sont utilisés dans l'industrie du forage pétrolier pour briser les roches en utilisant une haute pression (fracturation hydraulique). Lors de l'ajout de solutions de gomme, le fluide de fracturation s'épaissit et transporte le sable dans la roche fracturée, permettant ainsi au pétrole ou au gaz de s'écouler facilement dans les puits de forage [189]. Dans le domaine de nanotechnologie, les chercheurs ont exploré l'utilisation des galactomannanes en raison de leur

potentiel en tant qu'agents stabilisants et réducteurs dans la biosynthèse des nanoparticules métalliques [12].

I.7 Nanoparticules d'argent

La nanotechnologie a attiré l'attention des chercheurs en tant que nouveau domaine scientifique multidisciplinaire. Le physicien Richard Feynman, lauréat du prix Nobel, a inventé la nanotechnologie en 1959, et elle a depuis été utilisée dans diverses industries, notamment l'ingénierie, l'alimentation, l'énergie, la médecine et l'environnement [190]. La nanotechnologie a généré divers matériaux à l'échelle nanométrique ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Étant donné que les caractéristiques des matériaux ne peuvent être découvertes dans les macrosystèmes ou microsystèmes, la nanotechnologie permet aux chercheurs d'étudier les propriétés spéciales, améliorées ou complètement nouvelles d'un matériau dans la nanodimension [191].

Les nanoparticules (NP) représentent une large catégorie de matériaux englobant des substances particulières dont leur taille varie en 1 nm à 100 nm [192]. Les nanoparticules de métaux nobles, notamment l'or, l'argent, le palladium et le platine, présentent un intérêt considérable en raison de leurs activités optiques, magnétiques, électroniques et catalytiques supérieures, ainsi que de leurs caractéristiques globales, telles que la conductivité électrique et la stabilité chimique [193].

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont le sujet d'études de plusieurs recherches récentes, en raison de leur grand rapport surface/volume, de leur petite taille, de leur réactivité élevée, de leur capacité de transport élevée, de leurs propriétés de surface facilement variables et de leur haute efficacité comme agent antimicrobiennes [194] (Figure I.4).

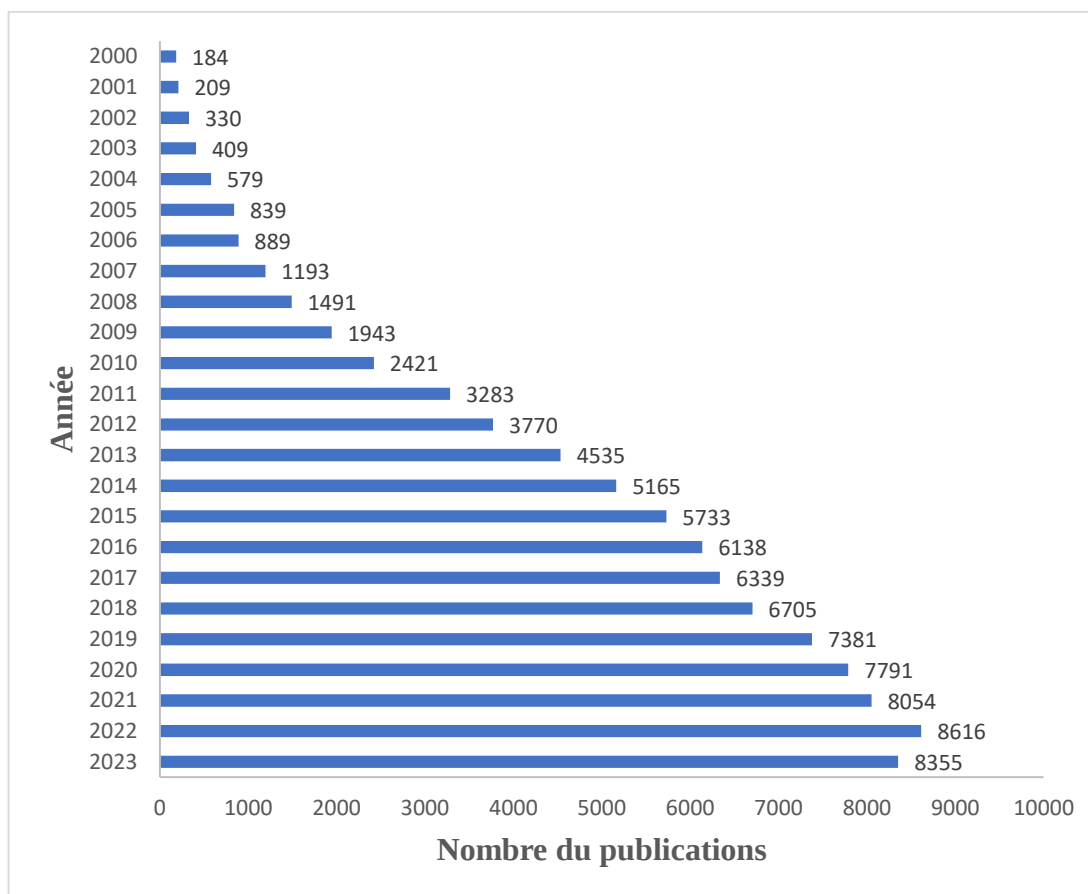


Figure I.4: Nombre annuel de publications relatives au terme de recherche « nanoparticules d'argent » en anglais (Scopus, 2000-2023)

Actuellement, les AgNPs se distinguent par leurs applications variées et fascinantes dans de nombreux domaines, englobant des domaines tels que la médecine, la pharmacothérapie, les produits pharmaceutiques [195], les applications de détection [196], les traitements photothermiques [197], l'électronique optique [198], les cellules solaires [199], le transfert d'énergie [200] et les applications environnementales [193].

L'utilisation des AgNPs dans le domaine biomédical a connu une augmentation significative en raison de leur efficacité contre les agents pathogènes biomédicaux. Les AgNPs ont le potentiel d'être une solution précieuse pour le contrôle des maladies et des infections [201–204], les applications dentaires [205–207], la thérapie anticancéreuse [208–210], les systèmes de revêtement, la cicatrisation des plaies [211,212], et d'autres applications biomédicales avec des effets secondaires minimes ou inexistantes [194].

De plus, en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, les AgNPs sont utilisées dans divers domaines tels que l'emballage et le stockage des aliments [213], les produits cosmétiques [214] et les systèmes d'administration de médicaments [215].

I.7.1 Synthèse des nanoparticules d'argent

Les AgNPs sont produites par diverses méthodes chimiques, physiques et biologiques, conduisant à diverses tailles et formes adaptées à diverses applications. Ces approches de synthèse sont globalement classées en deux catégories principales: les méthodes descendantes (top-down) et ascendantes (bottom-up) [216].

Des AgNPs peuvent être produites à l'aide de méthodes descendantes, qui impliquent la synthèse physique de NP à partir d'argent métallique (Ag) sous forme aérosol ou solide à l'échelle nanométrique [217]. D'autre part, la méthode ascendante implique le nano-cadrage et la stabilisation des atomes d'Ag grâce à diverses méthodes pour générer des NP. Les technologies ascendantes génèrent des AgNPs grâce à l'auto-association d'atomes formant de nouveaux noyaux qui se transforment en particules nanométriques à l'aide des méthodes chimiques et biologiques [218].

Les méthodes physiques, telles que l'ablation au laser, le broyage mécanique, pyrolyse par pulvérisation, condensation par évaporation et la pulvérisation cathodique, sont souvent utilisées pour produire de grandes quantités de nanoparticules. Selon le processus, ils peuvent créer des nanoparticules très pures. Cependant, ces méthodes nécessitent des instruments coûteux, une énergie élevée, des variations de température et des pressions élevées. De plus, les AgNPs produites par ces méthodes peuvent contenir des défauts de surface qui limitent leur utilisation dans des applications biologiques [219].

Les méthodes chimiques comprenaient le dépôt chimique en phase vapeur, la réduction chimique, le procédé sol-gel, la solvothermie, l'hydrothermie, la photochimie, la pulvérisation plasma flamme et le filage. Ces méthodes sont considérées comme extensibles, peu coûteuses et simple à réaliser puisqu'elles ne nécessitent qu'un précurseur métallique, un agent réducteur et un composant stabilisant. Cependant, ces méthodes présentent des inconvénients importants, tels que l'utilisation de produits chimique peut être nocive pour l'environnement et les problèmes de toxicité, ce qui limite leur applicabilité dans le domaine biomédical [220].

La recherche d'une méthode écologique et économique pour synthétiser des AgNPs a permis l'émergence de la méthode de réduction biologique. La méthode de réduction biologique (biosynthèse) est devenue vitale, inévitable et méritait des recherches approfondies, contrairement à d'autres méthodes [221].

La biosynthèse est un procédé de préparation des AgNPs qui utilise des matériaux naturels comme agents réducteurs. Elle est souvent considérée comme un processus propre, sûr, rentable et respectueux de l'environnement. Cependant, il présente certaines limites, telles que sa consommation de temps et un contrôle moindre sur la distribution de taille, la forme et la cristallinité. Des micro-organismes tels que des bactéries, des levures, des algues, des champignons ou des extraits de plantes peuvent être utilisés dans la biosynthèse de l'AgNPs [193].

Une technique de synthèse simple utilise des polysaccharides naturels comme agents réducteurs et stabilisateurs pour la synthèse de nanoparticules métalliques, en particulier des nanoparticules d'or et d'argent. Le polysaccharide est un nouvel agent réducteur naturel qui présente l'avantage d'être peu toxique et biodégradable. Cette substance ne provoque pas la génération de composés nocifs lors de la synthèse des AgNPs, et les NPs produites ont moins tendance à s'agréger. L'ensemble du processus de synthèse est ainsi respectueux de l'environnement, l'activité biologique des AgNPs s'en trouve renforcée et les AgNPs qui en résultent sont biocompatibles [216,222]. Les AgNPs synthétisés à l'aide de méthodes biologiques ont un potentiel significatif en tant qu'agents antimicrobiens [193].

I.7.2 Caractérisation des nanoparticules d'argent

La caractérisation des AgNPs revêt une importance capitale dans le processus de biosynthèse. Il permet d'examiner leur forme, leur taille, leur pureté, leur structure et leurs propriétés chimiques de surface. Les caractéristiques distinctives des AgNPs détermineront leur potentiel et leur utilisation. Diverses techniques peuvent être utilisées pour caractériser les AgNPs [223].

Les chercheurs en science des matériaux utilisent fréquemment diverses techniques spectroscopiques, telles que la spectroscopie UV-visible (UV-vis), l'infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), l'analyse des rayons X dispersifs en énergie (EDX) et la diffusion dynamique de la lumière (DLS). Le microscope électronique à balayage (MEB), le microscope électronique à

transmission (MET) et le microscope à force atomique (MFA) sont des techniques microscopiques couramment utilisées pour caractériser les nanoparticules [194].

Les méthodes couramment utilisées pour analyser et vérifier la production des AgNPs comprennent l'UV-Vis, la FT-IR et la diffractométrie des rayons X (DRX). MEB et MET ont été utilisées pour analyser la morphologie des particules. L'EDX, associé à l'instrument MEB, détermine efficacement l'analyse élémentaire. Pour mesurer la propriété de cristallinité, la DRX est très utile. La DLS est utilisée pour déterminer la taille et la distribution des nanoparticules biosynthétisés [194,224].

I.7.3 Activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent

Il y a environ 5 000 ans, les Romains, les Grecs, les Égyptiens et les Indiens utilisaient l'argent (Ag) sous diverses formes pour protéger leurs produits alimentaires. Dans l'Antiquité, l'utilisation d'ustensiles en argent pour manger et boire, ainsi que pour conserver des consommables, pourrait découler d'une compréhension de leurs propriétés antimicrobiennes. Ces dernières années, les AgNPs ont reçu une attention particulière de la part des scientifiques en raison de leur capacité à se défendre contre divers micro-organismes pathogènes [223,225,226].

Les infections causées par des bactéries et des champignons sont devenues plus répandues chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Les antibiotiques sont efficaces pour traiter la plupart des infections bactériennes, mais certains sont très contagieux et peuvent entraîner la mort chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. La surutilisation des antibiotiques favorise le développement de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques [227–229]. Les AgNPs présentent des propriétés antimicrobiennes remarquables.

Comme les micro-organismes ne peuvent pas développer de résistance aux AgNPs, les scientifiques s'intéressent de plus en plus à la possibilité d'utiliser les AgNPs pour éliminer les maladies infectieuses. Remarquablement, les AgNPs démontrent une moindre toxicité pour les cellules de mammifères tout en se révélant hautement mortelles pour les microbes [223,230,231].

En raison de l'impact de leur petite taille, de leur énergie de surface élevée et de leur surface spécifique, les AgNPs offrent plusieurs avantages, notamment une performance antibactérienne

très efficace, un large spectre antibactérien et la capacité de contrer la résistance aux médicaments [222].

L'activité antimicrobienne d'AgNPs est influencée par plusieurs facteurs, notamment la concentration, la forme, la taille et les micro-organismes testés. Les AgNPs ont le potentiel d'agir comme inhibiteurs de croissance ou biocides [232].

Les principaux mécanismes d'action des AgNPs comprennent la libération d'ions Ag^+ , l'interférence avec le métabolisme énergétique et la synthèse des parois cellulaires, la génération des ERO, la perturbation des membranes et l'interférence avec l'ADN, l'ARN et d'autres processus métaboliques cellulaires [233,234].

I.7.4 Toxicité des nanoparticules d'argent

Des études récentes ont montré que les nanoparticules peuvent avoir des effets graves sur la santé lorsqu'elles sont exposées au corps par ingestion, inhalation ou contact cutané sans précaution. La mesure dans laquelle la toxicité est induite dépend de certaines propriétés, notamment la nature, la surface, la taille, la forme, le revêtement de surface, le rapport d'aspect, la dissolution, la cristallinité et l'agglomération. Les mécanismes généraux par lesquels il provoque une toxicité reposent sur sa capacité à initier la formation d'espèces réactives, la génotoxicité, la cytotoxicité et la neurotoxicité, entre autres [235].

Les AgNPs se distinguent comme des nanoparticules métalliques largement utilisées, jouant un rôle central dans les domaines biomédical et pharmaceutique. La génération d'ERO et l'augmentation du stress oxydatif au sein des cellules microbiennes sont des éléments cruciaux contribuant à l'efficacité antimicrobienne accrue [236].

De plus, les nanoparticules d'argent démontrent une toxicité contre les cellules cancéreuses grâce à la libération d'ERO qui ciblent spécifiquement les cellules cancéreuses. La littérature indique que seules les AgNPs synthétisés par des moyens biologiques présentent une activité anticancéreuse [172,237].

Ces preuves confirment que les AgNPs déclenchent ou stimulent l'incorporation de biomolécules dans les cellules cancéreuses, renforçant ainsi leurs propriétés anticancéreuses [238].

Bien qu'elles présentent des réponses toxiques aux microbes et aux cellules cancéreuses, diverses études ont indiqué que les AgNPs présentent une toxicité moindre ou sont non toxiques pour les cellules humaines saines [235].

L'impact des AgNPs sur les cellules d'hépatome humain a été évalué en étudiant la cytotoxicité due au stress oxydatif. Les résultats ont montré que les nanoparticules ne libéraient pas de quantités significatives d'ions argent libres dans la culture cellulaire. Notamment, les nanoparticules sont restées stables dans le milieu de culture cellulaire, formant des agglomérats dans le cytoplasme et les noyaux cellulaires, conduisant à un stress oxydatif intracellulaire. De plus, la cytotoxicité des AgNPs ressemblait beaucoup à celle des ions argent. Néanmoins, l'antioxydant N-acétylcystéine a été identifié comme un facteur atténuant, capable de réduire le stress oxydatif induit par les nanoparticules et les dommages à l'ADN [235,239,240].

Une étude a démontré que les AgNPs sont toxiques pour les cellules de la peau, du cerveau, du foie, des poumons et des systèmes reproducteur et vasculaire des mammifères. Les réactions toxiques dépendent de l'exposition à court et à long terme des nanoparticules avec les cellules [241–243].

Les AgNPs possèdent la capacité de déclencher des réactions inflammatoires dans les cellules humaines. De plus, ils avaient la capacité de traverser la membrane cellulaire et d'atteindre le noyau, ce qui provoque des dommages croissants au matériel génétique et donc une génotoxicité. Les chercheurs ont également révélé la présence de biomolécules en tant que groupes fonctionnels dans les AgNPs de biosynthèse, ce qui réduit la production d'ERO grâce à leurs propriétés antioxydantes. Ils ont conclu que les AgNPs biosynthétisés sont moins toxiques pour les cellules humaines normales et saines que les AgNPs synthétisés chimiquement [235,244].

Chapitre II. *Méthodologie de travail*

Le chapitre II, relatif à la méthodologie de travail, traite le principe de l'étude, la région et la plante d'étude, l'extraction et la caractérisation des polysaccharides hydrosolubles, la biosynthèse et la caractérisation des nanoparticules d'argent, ainsi que l'étude des activités biologiques.

II.1 Principe d'étude

L'augmentation de la population mondiale et la sensibilisation croissante à l'environnement entraînent une hausse de la demande de produits et de remèdes d'origine naturelle. Les matières premières renouvelables peuvent être utilisées pour fabriquer une variété de produits de tous les jours, y compris des consommables biodégradables, des produits pharmaceutiques et des articles d'hygiène. Ces produits sont conçus pour répondre à ces exigences et peuvent contribuer à une couverture durable des produits [245].

Les polysaccharides végétaux sont des glucides complexes présents dans les cellules des plantes. Ces macromolécules jouent un rôle crucial dans divers processus physiologiques au sein des plantes et exercent diverses activités dans les organismes vivants. L'intérêt porté aux polysaccharides est cependant dû à leurs activités biologiques et aussi à leur valeur en tant que matière première dans de nombreuses industries notamment alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques [53].

Dans le contexte de l'exploitation du potentiel de la surface naturelle du Sahara algérien et de l'exploration de nouvelles biomolécules actives, le présent travail se propose l'étude des polysaccharides extraits des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel de la famille des fabacées récolté dans la wilaya d'Illizi (Algérie).

II.2 Présentation de la région d'étude (wilaya d'Illizi)

La wilaya d'Illizi est l'une des régions les plus étendues d'Algérie. Elle couvre une superficie de 200 432 km², représentant ainsi le 1/9 du territoire national. Située à l'extrême sud-est du pays, elle fait partie de la vaste zone connue sous le nom de Bas Sahara. Ses coordonnées géographiques s'étendent entre 21°50' et 30°34' de latitude Nord, ainsi que 5°54' et 12°00' de longitude Est. Elle est limitée par la Libye à l'est, la Tunisie au nord-est, la wilaya d'Ouargla au

nord, les wilayas de Tamanrasset et d'In Salah à l'ouest et la wilaya de Djanet au sud [246] (Figure II.1).

Le climat de la wilaya est désertique saharien et très sec, marqué par des températures élevées, une sécheresse atmosphérique et des précipitations très limitées. En été, les températures moyennes atteignent 42.4 °C en maximum et 25.6 °C en minimum. La distribution des précipitations est extrêmement irrégulière. Certaines années sont complètement arides, tandis que d'autres connaissent des orages violents qui en quelques heures, peuvent accumuler l'intégralité des précipitations annuelles. Les vents sont généralement faibles à modérés, avec les plus fréquents venant du Sud-Est et de l'Est. Les vents plus forts se manifestent souvent pendant les mois de mars, avril, mai et septembre, atteignant parfois des vitesses allant jusqu'à 120 km/h [246].

L'économie de wilaya repose principalement sur des activités telles que l'élevage, l'agriculture et une certaine exploration gazière et pétrolière. De plus, Illizi est une région d'importance historique et archéologique, abritant de l'art rupestre ancien et des sites archéologiques [246].



Figure II.1: Situation géographique de la région d'étude « wilaya d'Illizi » (d-maps.com, avec modification)

II.3 *Astragalus gombiformis* Pomel

II.3.1 Choix de la plante

Le choix s'est porté sur la plante *Astragalus gombiformis* Pomel, une espèce endémique du Sahara algérien caractérisé par des conditions climatiques sévères. De même, les résultats de travaux sur d'autres espèces du genre *Astragalus*, ont révélé la richesse de ce genre en polysaccharides ayant des applications dans différents domaines.

II.3.2 Répartition, écologie, description botanique et importance économique

Astragalus est l'un des plus grands genres de plantes à fleurs appartenant à la famille Fabaceae, avec environ 3 000 espèces décrites. Environ cinquante espèces sont observées en Afrique du Nord, avec environ quinze d'entre elles présentes dans le Sahara algérien [8]. Le genre *Astragalus* est largement répandu dans les régions tempérées et arides du monde. Les plantes d'astragale sont identifiées par leurs feuilles pennées composées, qui ont souvent de nombreuses folioles. Les fleurs sont généralement en forme de pois et peuvent varier en couleur. Leur fruit est constitué d'une gousse de légumineuse de différentes formes contenant des graines en forme de rein [247,248] (Figure II.2).

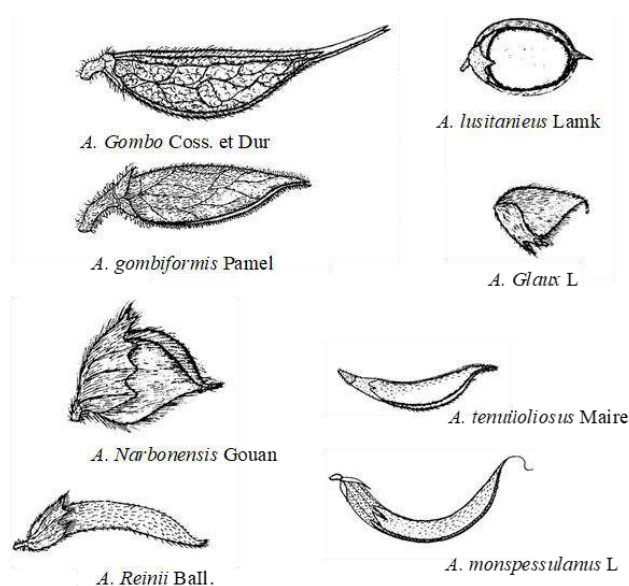


Figure II.2: Différents types de gousses de quelques plantes de genre *Astragalus* dans l'Algérie [249]

De nombreuses espèces d'astragales sont très appréciées en médecine traditionnelle, en particulier en phytothérapie chinoise, où certaines sont censées apporter divers bienfaits pour la santé. Les plantes d'astragale contiennent plusieurs phytocomposants qui ont des propriétés bénéfiques, notamment des flavonoïdes, des saponines et des polysaccharides [250].

Astragalus gombiformis Pomel est une plante endémique psammophyte présente dans les pâturages sablonneux désertiques [251]. Elle se distingue par des tiges bien développées portant des fleurs jaunes en grappes axillaires, accompagnées de feuilles robustes et larges, dotées de nombreuses folioles. Les gousses qui suivent la floraison sont triangulaires, épaisses et spongieuses, mesurant entre 25 et 30 mm de long, avec un bec court et une surface couverte de poils courts et laineux. Les tiges ont généralement une hauteur de 50 à 100 cm [8,249] (Figure II.3).

Astragalus gombiformis Pomel joue un rôle important dans l'alimentation des dromadaires et des chèvres élevés par les agriculteurs locaux dans les régions arides de l'Algérie, de la Tunisie et de la Maroc. Dans ces zones, la production animale repose essentiellement sur le pâturage des plantes indigènes [252]. Cette légumineuse fourragère est bien adaptée aux milieux arides, notamment aux sols sableux [253], et est reconnue pour sa valeur nutritionnelle supérieure à celle de nombreuses espèces sauvages de buissons et d'herbes [254].

De plus, *Astragalus gombiformis* Pomel a des utilisations traditionnelles, notamment la protection contre les piqûres de scorpions et les morsures de serpents. Et les pays où il est utilisé sont l'Algérie, la Libye, le Maroc et la Tunisie [255–257].



Figure II.3: *Astragalus gombiformis* Pomel

II.3.3 Position systématique

La classification taxonomique de l'*Astragalus gombiformis* Pomel [8] :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Genre : *Astragalus*

Espèce : *Astragalus gombiformis* Pomel

Nom vernaculaire: En Algérie : Djelban el hamir, Foul el ebel, Gelga [249], Fegouce el dwabe, Ekechchaker; en Maroc : Ouchked, Touchked [255]; en Tunisie : Helbet Elbel [258].

II.3.4 Etudes phytochimiques et pharmacologiques réalisées sur *Astragalus gombiformis* Pomel

Les études antérieures menées sur l'*Astragalus gombiformis* Pomel se sont concentrées sur les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles, les tanins, les lipides et les protéines. Aucune étude n'a été réalisée sur les polysaccharides d'*Astragalus gombiformis* Pomel (Tableau II.1).

Lekmine *et al.* (2020), ont identifié et quantifié les composés phénoliques de l'extrait obtenu à partir des parties aériennes d'*Astragalus gombiformis* [259], et ont évalué leurs activités photoprotectrices, anti-inflammatoires, antioxydantes et cytotoxiques [18].

Une étude a été réalisée pour analyser la composition en flavonoïdes des parties aériennes d'*Astragalus gombiformis* chez les espèces sauvages et cultivées [261]. Teyeb *et al.* (2010, 2011

et 2012) ont mené des travaux sur la composition chimique des huiles essentielles [258,262] et les activités antibactériennes et cytotoxiques des extraits de feuilles [263]. De plus, Teyeb *et al.* (2012) ont étudié les activités antibactériennes, insecticides et antioxydantes des extraits de parties aériennes et de racines d'*Astragalus gombiformis* [264].

Des études se sont concentrées sur la recherche de tanins dans cette plante [252,254], notamment sur la détermination de composition en lipides et protéines et l'évaluation du potentiel antioxydant [265].

Tableau II.1: Etudes antérieures menées sur l'*Astragalus gombiformis* Pomel

Région	Parties étudiées	Molécules bioactives	Références
EL Oued (Algérie)	Tiges, fleurs, feuilles, gousses et graines	Composes phénoliques	[259,260]
Bir Soltane (Tunisie)	Parties Aériennes	Flavonoïdes	[261]
Bir Soltane (Tunisie)	Feuilles, fleurs et fruits (plante spontanée)	Huiles essentielles	[258]
Bir Soltane (Tunisie)	Parties aériennes (plante spontanée et cultivée)	Huiles essentielles	[262]
Bir Soltane (Tunisie)	Feuilles (plante spontanée)	Extraits : éther de pétrole, dichlorométhane et méthanol	[263]
Bir Soltane (Tunisie)	Parties aériennes et racines (plante spontanée)	Extraits : méthanol, chloroforme et acétate d'éthyle	[264]
EL Oued (Algérie)	Feuilles, tiges et fleurs	Tanins	[252]

Bou Saâda (Algérie)	Parties Aériennes Phénols et tanins [254]
Ghordhab Tataouine - Tunisie	Graines Lipides et protéines [265]

II.4 Extraction des polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Astragalus gombiformis*

Pomel

Astragalus gombiformis Pomel est récolté en juin 2019 (stade de maturité). La détermination est faite par M. Eddoud Amar enseignant chercheur au département d'agronomie de l'Université Kasdi Merbah Ouargla (Algérie).

Les gousses récoltées ont été séchées à l'air libre et à température ambiante. Après avoir décortiqué les gousses ainsi séchées, les graines obtenues sont stockées dans des sacs en papier Kraft jusqu'à utilisation.

La méthode d'extraction par macération à l'eau chaud, suivie d'une précipitation éthanolique, a été utilisée pour l'extraction des polysaccharides hydrosolubles des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel. Trente (30) grammes de poudre de graines séchées puis broyées, sont dispersés dans de l'eau ultra pure (1:10, m/v) et agités magnétiquement (500 rpm) pendant 2 heures à 60 °C. L'extrait obtenu est centrifugé à 4100 rpm pendant 15 mn pour séparer la fraction soluble (surnageant) de la fraction insoluble (culot). Ensuite, le culot est extrait deux fois de plus dans les mêmes conditions que précédemment. Les surnageant sont combinés et concentrés à l'aide d'un rotar vapor sous pression réduite à 60 °C après trois cycles d'extractions. Pour précipiter les polysaccharides, de l'éthanol absolu à 96 % (1:3, v/v) est ajouté au concentré, et le mélange est maintenu à 4 °C pendant une nuit. Après centrifugation (4100 rpm, 15 mn), le précipité est lavé quatre fois avec de l'acétone avant d'être lyophilisé pour obtenir l'extrait polysaccharidique brut dénommé AGFPG. Le rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles AGFPG est calculé suivant la formule [266]:

Rendement d'extraction (%) = (masse des polysaccharides extraits / masse des graines sèches) × 100

II.5 Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique AGFPG : Dosages colorimétriques

Les dosages colorimétriques utilisent des réactifs qui réagissent spécifiquement avec les échantillons pour produire des signaux mesurables, tels que des changements de couleur et d'absorbance. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration de la molécule dosée dans l'échantillon. La mesure de l'absorbance du complexe coloré s'effectue à une longueur d'onde spécifique par un spectrophotomètre [5].

La teneur en oses totaux et en oses neutres est déterminée respectivement par le test phénol-acide sulfurique [267] et le test du résorcinol [268], en utilisant le glucose comme étalon. Le dosage du m-hydroxydiphényle est utilisé pour quantifier la teneur en oses acides, en utilisant l'acide galacturonique comme étalon [269]. Les protéines sont mesurées à l'aide du test de Bradford et le sérum-albumine bovine (BSA) servant d'étalon [270]. Pour quantifier les composés phénoliques totaux, le test de Folin-Ciocalteu est appliqué en utilisant l'acide gallique comme étalon [271].

Pour tous les dosages présentés ci-dessous, une gamme étalon de 0.01 % à 0.002 % est préparée afin d'établir la courbe d'étalonnage. La solution de l'extrait polysaccharidique préparée pour l'analyse a une concentration de 0.01 %. La concentration ou la teneur de la molécule dosée dans l'échantillon est déterminée en comparant ses valeurs d'absorbance à la courbe d'étalonnage.

II.5.1 Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois

II.5.1.1 Principe

La méthode phénol-acide sulfurique, développée par Dubois *et al.* (1956) est une technique colorimétrique utilisée pour quantifier la teneur en oses totaux. Cette méthode est largement utilisée en raison de sa sensibilité et de sa simplicité. L'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré décompose les polysaccharides, les oligosaccharides et les disaccharides en monosaccharides. Les monosaccharides sont ensuite déshydratés avec de l'acide sulfurique concentré pour former des dérivés du furfural. Les composés furfuraux réagissent ensuite avec le phénol pour former un complexe coloré (couleur jaune-or).

II.5.1.2 Mode opératoire

Mettre 0.2 ml de l'échantillon dans un tube à essai, puis ajouter 0.2 ml de réactif de phénol (5 %) et 1 ml d'H₂SO₄ concentré, agiter les tubes au vortex et les chauffer au bain-marie à la température 90 °C pendant 5 mn, placer ensuite les tubes dans un bain d'eau froide pendant 30 mn à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis), en utilisant un blanc (réactif sans échantillon) comme référence.

II.5.2 Dosage des oses neutres par la méthode de Monsigny

II.5.2.1 Principe

La méthode de Monsigny *et al.* (1988) est très appréciée pour sa simplicité, sa sensibilité et sa spécificité dans la quantification des oses neutres dans divers échantillons biologiques. Elle implique l'hydrolyse des oses par l'acide sulfurique, suivie de la réaction des dérivés résultants avec le résorcinol pour former un complexe coloré (couleur brune-orange).

II.5.2.2 Mode opératoire

Mettre 0.2 ml de l'échantillon dans un tube à essai, puis ajouter 0.2 ml de résorcinol (0.6 %) et 1 ml d'H₂SO₄ concentré, agiter les tubes au vortex et les chauffer au bain-marie à la température 90 °C pendant 30 mn, placer ensuite les tubes dans un bain d'eau froide pendant 30 mn à l'obscurité. L'absorbance du complexe coloré est mesurée à une longueur d'onde de 480 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis), en utilisant un blanc (réactif sans échantillon) comme référence.

II.5.3 Dosage des oses acides par la méthode de Blumenkrantz et Asboe-Hansen

II.5.3.1 Principe

La méthode de Blumenkrantz et Asboe-Hansen (1973) est la plus couramment utilisée pour la détermination quantitative des acides uroniques. Un complexe rose-violet est formé par condensation des composés furfuraux, qui résultent de l'hydrolyse des polysaccharides par l'acidité et la chaleur, avec le méta-hydroxybiphényle (m-HBP).

II.5.3.2 Mode opératoire

A 0,2 ml de l'échantillon, il est ajouté 1,2 ml de la solution Borax (solution d'acide sulfurique-tétraborate de sodium), réfrigérer les tubes dans un bain de glace. Puis le mélange est agité dans un vortex et chauffer dans un bain-marie à 100 °C pendant 5 mn. Après refroidissement dans un bain de glace, il est ajouté 20 µl du réactif m-hydroxydiphényle. Agiter les tubes et, dans les 5 mn qui suivent, l'absorbance est mesurée à 520 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis), en utilisant un blanc (réactif sans échantillon) comme référence.

II.5.4 Dosage des protéines par la méthode de Bradford

II.5.4.1 Principe

La méthode de Bradford (1976) est utilisée pour doser les protéines dans une solution. Elle est rapide et sensible permettant la quantification de quantités de 1 à 10 µg de protéines (micro-Bradford). Elle repose sur la réaction entre le bleu de Coomassie G-250 et les protéines présente dans l'échantillon. La liaison entre le bleu de Coomassie et les groupements amines des protéines provoque le changement de coloration de la solution du brun au bleu.

II.5.4.2 Mode opératoire

Mettre 0.8 ml de l'échantillon dans un tube à essai, puis ajouter 0.2 ml de réactif de Bradford. Après agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité pendant 30 mn. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis), en utilisant un blanc (réactif sans échantillon) comme référence.

II.5.5 Dosage des composés phénoliques par la méthode de Singleton

II.5.5.1 Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu, décrite par Singleton *et al.* (1965), permettant la quantification des composés phénoliques. Le réactif Folin-Ciocalteu est un mélange, de couleur jeune, d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$). L'oxydation des composés phénolique provoque la réduction de réactif Folin-Ciocalteu et la formation d'un complexe de couleur bleu.

II.5.5.2 Mode opératoire

A 0.25 ml d'échantillon, ajoutez 5 ml d'eau distillée et 0.25 ml de réactif Folin-Ciocalteu (diluer 1/10) dans un tube à essai. Il faut laisser le mélange pendant 3 mn et, rajoutez 0.5 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 10 %. Après agitation, le tube est incubé à l'obscurité pendant 60 mn. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis), en utilisant un blanc (réactif sans échantillon) comme référence.

II.6 Caractérisation de l'AGFPG par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec réflectance totale atténuée (FTIR-ATR)

II.6.1 Principe

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique rapide, non destructive et simple. Les pics du spectre infrarouge d'un échantillon sont liés aux groupes fonctionnels et aux liaisons chimiques présents [272].

La réflexion totale atténuée (ATR) est une technique qui exploite le phénomène des ondes évanescentes pour mesurer le spectre IR d'un matériau avec une grande sensibilité. L'onde évanescente est une onde stationnaire qui se produit à la frontière entre deux milieux, où la lumière est réfléchie. L'ATR utilise un faisceau infrarouge qui traverse un cristal d'un matériau à indice de réfraction élevé, tel que le diamant, le sélénure de zinc (ZnSe) ou le germanium (Ge), sous un angle supérieur à l'angle critique. Il en résulte une réflexion interne totale du faisceau au niveau de la surface du cristal en contact avec l'échantillon, créant une réflectance qui génère une onde évanescente. L'onde évanescente s'étend au-delà des limites du cristal et pénètre dans l'échantillon. L'échantillon absorbe le rayonnement infrarouge, ce qui atténue l'onde évanescente réfléchie. Cette lumière réfléchie est ensuite détectée et analysée pour obtenir le spectre infrarouge de l'échantillon [273].

II.6.2 Mode opératoire

Le spectre infrarouge de polysaccharides AGFPG est réalisé à l'aide d'un spectromètre (Agilent, Cary 660), équipé d'un système universel de réflexion totale atténuée (ATR) contenant

un cristal de diamant. Sans préparation préalable, quelques milligrammes d'AGFPG en poudre est placé sur le cristal. La plage de balayage était de 400 à 4000 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} .

II.7 Composition en monosaccharides de l'AGFPG par chromatographie sur couche mince (CCM) et chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

II.7.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

II.7.1.1 Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique d'analyse simple et peu coûteuse fréquemment utilisée pour vérifier qualitativement la présence des polysaccharides dans des échantillons, en particulier les monosaccharides, disaccharides et oligosaccharides [274].

Dans cette technique, l'échantillon à étudier est placé sur une plaque d'aluminium préalablement recouverte d'une fine couche d'adsorbant, comme le gel de silice (phase stationnaire). Ensuite, la plaque est insérée dans une cuvette fermée qui renferme un système de solvants (phase mobile ou éluant). Les produits présents dans l'échantillon sont distribués de manière différentielle entre l'adsorbant et le solvant, en cas de montée par capillarité du mélange de solvants à travers l'adsorbant. Il est essentiel que l'adsorbant reste inerte avec les substances à analyser et ne joue pas le rôle de catalyseur dans les réactions de décomposition [275].

Il est possible de mesurer la distance de migration des échantillons déposées (D_X) en fonction de leurs affinités pour les deux phases (stationnaire et mobile). La distance de migration de l'éluant (D_E) permet de calculer un rapport frontal (R_F) particulier pour chaque monosaccharide ou polysaccharide étudié. Le rapport frontal est déterminé par la formule [276] suivante :

$$R_F = D_X / D_E$$

R_F : rapport frontal ;

D_X : distance de migration de l'échantillon ;

D_E : distance de migration de l'éluant.

II.7.1.2 Mode opératoire

Dans un tube en verre scellé, 20 mg d'AGFPG sont hydrolysés en ajoutant 1 ml d'acide trifluoroacétique (TFA) 2 M. Le mélange est agité (vortex) puis chauffé dans une étuve à 100 °C pendant 4 h. Après refroidissement à température ambiante, en répétant une co-distillation avec du méthanol, l'excès de TFA a été complètement éliminé. L'hydrolysate séché est dissous dans 1 ml d'eau ultra pure et récupéré dans un eppendorf de 2 ml.

Après l'hydrolyse acide de l'échantillon, l'hydrolysate et les étalons (neuf monosaccharides : glucose (Glc), galactose (Gal), fructose (Fru), arabinose (Ara), mannose (Man), acide glucuronique (A Glc), xylose (Xyl), acide galacturonique (A Gal) et rhamnose (Rha)), sont déposées à l'aide d'un applicateur sur une plaque en gel de silice (20 × 20 cm, Silica gel 60 F₂₅₄) préalablement activée dans l'étuve à 100 °C pendant 5 mn.

Les spots de l'hydrolysate et des étalons étaient espacés de 1 cm, une distance de 1 cm était maintenue entre les bords droit et gauche de la plaque et 1.5 cm de sa bordure inférieure. Deux phases mobiles sont utilisées pour réaliser l'analyse chromatographique : système I) acide acétique, pyridine, eau, acétate d'éthyle et n-butanol (2:4:4:5:10, v/v/v/v/v) [277] ; et système II) acide acétique, eau, chloroforme, méthanol et n-butanol (1.5:1.5:4.5:5:12.5, v/v/v/v/v) [278].

Les plaques CCM sont placées dans des cuves saturées de phases mobiles et scellées. Après élution, les plaques sont récupérées et la distance de migration est déterminée. Après séchage, les plaques sont révélées avec le réactif de Nigrum puis chauffées dans une étuve à 105 °C jusqu'à l'apparition des taches colorées.

II.7.2 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

II.7.2.1 Principe

La chromatographie liquide à haute performance (ou chromatographie liquide à haute pression, HPLC) est un type particulier de chromatographie sur colonne. En raison de sa grande sensibilité, de son adaptabilité et de sa sélectivité, l'HPLC est l'un des techniques les plus utilisés pour identifier et quantifier les constituants monosaccharidiques des polysaccharides [279].

Les principaux composants de l'HPLC sont une colonne remplie de matériau (phase stationnaire), une pompe qui fait circuler la phase mobile dans la colonne et un détecteur qui affiche les temps de rétention moléculaire. Le temps de rétention est influencé par les interactions entre la phase mobile, les composés analysés et la phase stationnaire. L'HPLC comprend une large gamme de modes qui sont définis par les phases stationnaires et mobiles utilisées [280].

La chromatographie liquide à interaction hydrophile (HILIC) ou l'HPLC en phase normale, est un mode alternatif d'HPLC, utilisé pour séparer les composés polaires. L'HILIC utilise une phase mobile non polaire et une phase stationnaire polaire [279].

Pour l'analyse des glucides, la phase mobile typique est acétonitrile-eau et un gel de silice avec des groupes aminés comme phase stationnaire. La technique repose sur les interactions entre les groupements hydroxyles (OH) des glucides et les groupes amides de la silice de la colonne [24]. L'excellente performance de la colonne HILIC, offre une bonne forme de pics et de bonne résolution pour les monosaccharides séparés [279].

II.7.2.2 Mode opératoire

Dans un tube en verre scellé, 40 mg d'AGFPG sont hydrolysés en ajoutant 1 ml d'acide trifluoroacétique (TFA) 2 M. Le mélange est agité (vortex) puis chauffé dans une étuve pendant 90 mn à 120 °C. Après refroidissement à température ambiante, en répétant une co-distillation avec du méthanol, l'excès de TFA a été complètement éliminé. L'hydrolysate séché est dissous dans 1.5 ml d'eau ultra pure et centrifugé pendant 10 mn. Avant injection, l'hydrolysate est filtré sur un filtre 0.22 µm.

L'analyse chromatographique est réalisée à l'aide d'un système HPLC analytique Shimadzu (Kyoto, Japon), en utilisant une colonne Shim-pack GIST NH₂ (4,6 × 250 mm) et un détecteur d'indice de réfraction (RID-20A). La procédure de séparation est réalisée en mode isocratique avec une phase mobile composée d'acétonitrile et d'eau ultra pure (75:25, v/v). Elle est effectuée à un débit de 0,8 ml/mn, un volume d'injection de 10 µl et une température de 35 °C.

Les monosaccharides présents dans l'échantillon hydrolysé sont identifiés en comparant leurs temps de rétention avec ceux de neuf monosaccharides (étalons) : glucose (Glc), galactose (Gal), fructose (Fru), arabinose (Ara), mannose (Man), acide glucuronique (A Glc), xylose (Xyl),

acide galacturonique (A Gal) et rhamnose (Rha). Des courbes d'étalonnage (surface de pic-concentration) pour chaque étalon de monosaccharide sont utilisées pour calculer la teneur en monosaccharides.

II.8 Analyse par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) de l'extrait polysaccharidique AGFPG

II.8.1 Principe

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est l'une des méthodes les plus importantes et les plus pratiques pour l'identification structurale des polysaccharides. Elle peut être utilisée pour analyser des monosaccharides ou des polysaccharides [35].

La résonance des noyaux atomiques dans un champ magnétique externe est à la base du fonctionnement de l'RMN. La plupart des noyaux atomiques possèdent un moment angulaire intrinsèque appelé spin, qui possède à la fois une magnitude et une direction. Un noyau en rotation génère un courant circulant qui peut produire des champs magnétiques et former des moments magnétiques. Cette propriété est caractérisée par un nombre quantique de spin nucléaire. Chaque noyau possède un moment magnétique unique [24].

Lorsqu'un champ magnétique externe est appliqué à l'échantillon, les moments magnétiques ne peuvent adopter que certaines orientations quantifiées par rapport au champ. Dans ce cas, il y a un mouvement supplémentaire. Le moment magnétique présente une précession de la vitesse angulaire autour de la direction du champ magnétique externe. La fréquence d'absorption de ce type spécifique de noyau sous un champ magnétique externe donné est la fréquence de rotation, également connue sous le nom de fréquence de Larmor. Le signe du rapport gyromagnétique détermine si cette rotation se fait dans le sens des aiguilles d'une montre ou dans le sens inverse. La fréquence du spin nucléaire dans le champ est déterminée par la formule suivante [45] :

$$\omega = \gamma B_0 = 2 \pi \nu \text{ avec}$$

ω : fréquence angulaire ;

ν : fréquence de Larmor ;

γ : rapport gyromagnétique ;

B_0 : champ magnétique externe.

La fréquence angulaire correspond à la fréquence de résonance du noyau examiné. Le rapport gyromagnétique et le champ magnétique sont proportionnels à cette fréquence.

La RMN fait référence à la spectroscopie d'absorption produite par le noyau atomique dans un champ magnétique externe après avoir absorbé des ondes électromagnétiques d'un niveau de spin à l'autre. Elle fournit des informations structurales en termes de noyau individuel et de son environnement, qui peuvent être détectées et analysées sous forme de déplacement chimique (δ , ppm) et de couplage de spin [45].

II.8.2 Mode opératoire

Il est dissous 10 mg d'AGFPG dans 1 ml d'oxyde de deutérium (ou eau lourde, D_2O), puis centrifugé pour éliminer les particules solides. Un spectromètre RMN Bruker 600 MHz couplé à une sonde CryoProbes, est utilisé pour enregistrer les spectres 1H RMN et ^{13}C RMN. Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport à la résonance de tétraméthylsilane (TMS, 0 ppm) en tant qu'étalon interne.

II.9 Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) par l'AGFPG

La solution d'AGFPG est préparée en dissolvant 40 mg de poudre d'AGFPG dans 100 ml d'eau ultra pure sous agitation à 60 °C jusqu'à dissolution complète. En outre, une solution de nitrate d'argent $AgNO_3$ (300 mM) est préparée et 10 ml sont ajoutés à la solution d'AGFPG. Sur une plaque chauffante, la solution réactionnelle est placée dans un bain-marie à 60 °C pendant 2 h avec une agitation magnétique de 500 rpm. Une fois la réaction terminée, la solution est incubée à 60 °C. Après 48 h, un changement de couleur en brune est observé. Les AgNPs sont collectées par centrifugation et lavées plusieurs fois avec de l'eau ultrapure. Ils sont séchés et conservés pour une utilisation ultérieure.

II.10 Caractérisation des AgNPs biosynthétisés et de l'extrait polysaccharidique AGFPG

II.10.1 Spectrophotométrie UV-Visible (UV-vis)

II.10.1.1 Principe

La spectrophotométrie UV-visible (UV-Vis) est une technique simple et efficace pour la caractérisation des nanoparticules synthétisées. La spectroscopie est basée sur l'absorption ou la diffusion de la lumière par des nanoparticules métalliques dans les spectres UV et visible. Les AgNPs comprennent des bandes de valence et de conduction qui sont extrêmement proches les unes des autres et permettent une mobilité illimitée des électrons. L'interaction entre la lumière et les électrons de surface mobiles des AgNPs entraîne une forte bande d'absorption connue sous le nom de résonance plasmonique de surface (SPR) [281].

II.10.1.2 Mode opératoire

Les AgNPs biosynthétisés sont analysées à l'aide d'un spectrophotomètre Agilent, Cary 100 UV-Vis. Le spectre d'absorption UV-Vis a été enregistré en balayant la solution d'AgNPs dans la gamme de 300-800 nm.

II.10.2 Diffraction des rayons X (DRX)

II.10.2.1 Principe

La diffraction des rayons X (DRX) est la méthode principale permettant de déterminer la nature cristalline ou amorphe et la mesure de taille des cristallites des nanoparticules. Lorsqu'un cristal est exposé à un faisceau de rayons X, les atomes du cristal diffusent le faisceau incident, ce qui entraîne la formation des pics de diffraction. Ces pics peuvent être analysés pour déterminer diverses caractéristiques du cristal ou du matériau polycristallin [282].

II.10.2.2 Mode opératoire

Les AgNPs en poudre sont placées dans le port échantillon. La mesure DRX est réalisée à l'aide d'un diffractomètre à rayons X Bruker D8 Advance avec une anode Cu(K α) ($\lambda = 0.15406$ nm) pour mettre en évidence la nature cristalline et la pureté des AgNPs. L'angle de diffraction (2θ) était compris entre 20° et 90° .

La taille moyenne des cristallites (D) des AgNPs biosynthétisés est calculée à partir du FWHM (full width at half maximum = largeur à mi-hauteur) du plan (111) en utilisant l'équation de Scherrer :

$$D = 0.94 \lambda / \beta \cos \theta \quad \text{Où}$$

β : FWHM du pic ;

λ : longueur d'onde du rayonnement ;

X : ($\lambda = 0.15406$ nm) ;

Θ : angle de diffraction.

II.10.3 Microscopie électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X (MEB-EDX)

II.10.3.1 Principe

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique courante utilisée pour déterminer la morphologie et la topologie de surface des particules. Elle est utilisée pour observer la surface de l'échantillon en la balayant avec un faisceau d'électrons à haute énergie. Les électrons rétrodiffusés fournissent les caractéristiques de l'échantillon. La spectroscopie X à dispersion d'énergie (EDX) est une méthode d'analyse chimique utilisée en combinaison avec le MEB pour déterminer la composition élémentaire d'un échantillon. La technique détecte les rayons X émis par l'échantillon lorsqu'il est bombardé par un faisceau d'électrons et quantifie l'abondance relative des rayons X émis sur la base de leur énergie [283].

II.10.3.2 Mode opératoire

Une petite quantité d'AGFPG et des AgNPs en poudre sont montés sur un support métallique, puis recouverts d'une fine couche d'or à l'aide d'une machine à pulvérisation sous vide. Le microscope électronique à balayage de type ZEISS EVO 15 a été utilisé pour observer les caractéristiques morphologiques et la microstructure de l'AGFPG et des AgNPs. L'analyse par

rayons X à dispersion d'énergie (EDX) a également été réalisée à l'aide du même instrument afin d'identifier la composition élémentaire.

II.10.4 Potentiel zêta et diffusion dynamique de la lumière

II.10.4.1 Principe

L'analyse du potentiel zêta est une technique utilisée pour mesurer la charge électrique à la surface d'une particule et pour caractériser sa stabilité dans les suspensions aqueuses. Les particules possèdent une charge de surface qui attire les ions de charge opposée à leur surface, formant une double couche d'ions qui se déplace avec les particules lors de leur diffusion dans la solution aqueuse. Le potentiel de charge électrique net entre les couches est connu sous le nom de potentiel zêta. La stabilité de toute suspension est étroitement liée au potentiel zêta des particules en suspension. Lorsque le potentiel zêta est proche de zéro, aucune force n'empêche les particules de s'agréger [284]. Les suspensions stables ont des valeurs de potentiel zêta supérieur à +25 mV ou inférieur à -25 mV ($> +25$ mV ou < -25 mV) [191].

La diffusion dynamique de la lumière (Dynamic Light Scattering, DLS) est une technique simple pour déterminer la taille moyenne des nanoparticules en solution aqueuse. Lorsque la lumière laser est appliquée, les particules de la solution diffusent la lumière avec une intensité variable et celle-ci est enregistrée [221].

II.10.4.2 Mode opératoire

Deux solutions sont préparées : l'une contenant des AgNPs avec une concentration de 0.1 %, et l'autre contenant de l'AGFPG avec une concentration de 1 %. En utilisant HORIBA Scientific SZ-100, les valeurs du potentiel zêta sont déterminées pour les AgNPs et AGFPG. Le même instrument est utilisé pour déterminer la distribution de la taille moyenne des AgNPs biosynthétisés.

II.11 Activité antimicrobienne des AgNPs et d'AGFPG

Le potentiel antimicrobien des AgNPs et de l'AGFPG est déterminé selon la méthode de diffusion sur disque de l'Institut des normes de laboratoire clinique (Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI) [285].

L'activité antimicrobienne est testée sur neuf (9) micro-organismes pathogènes dont quatre (4) bactéries Gram négatives (*Escherichia coli* ATCC25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603, *Pseudomonas aeruginosa*, ATTC27853 *Salmonella enterica* ATCC6017), quatre (4) bactéries Gram positives (*Bacillus subtilis* ATCC6633, *Listeria monocytogenes* ATCC13932, *Micrococcus luteus* ATCC9314, *Staphylococcus aureus* ATCC25923) et une souche fongique (*Candida albicans* ATCC10237).

Après une pré-culture de 18 h à 37 °C dans un bouillon nutritif (BN), les germes sont dilués avec du BN pour produire une suspension contenant environ 10^5 - 10^6 unités formant de colonies par millilitre (UFC/ml). Les micro-organismes sontensemencés dans des boîtes Pétries sur gélose Muller-Hinton à l'aide d'un coton-tige stérile. Des disques de diamètre 5 mm en papier filtre stérile Whatman N° 1, sont ensuite déposés sur la gélose ensemencée. Sur chaque disque, 10 µl de solution d'AgNPs à des concentrations variables (0.1, 0.25, 0.5, 0.75 et 1 mg/ml) et une solution d'AGFPG (10 mg/ml), préparées avec de l'eau ultra pure, sont déposés. Après une incubation à 37 °C pendant 24 h, le diamètre de la zone inhibitrice est mesuré pour chaque boîte. Trois répétitions sont effectuées pour chaque test. L'oxacilline (1 mg/ml) et l'ampicilline (10 mg/ml) sont utilisées comme contrôle positif et l'eau ultra pure comme contrôle négatif. Les données sont exprimées en moyennes $\pm$ écart-type. Pour l'exploitation des résultats, une ANOVA et un test post hoc de Tukey sont utilisées pour identifier les différences significatives dans les résultats en utilisant IBM SPSS Statistics 21.

II.12 Activités antioxydantes des AgNPs et d'AGFPG

II.12.1 Test de piégeage de radical libre DPPH

L'activité de piégeage du radical libre 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH) de l'extrait polysaccharidique AGFPG et des AgNPs biosynthétisés, est évaluée en faisant appel à la méthode de Brand-Williams *et al.* (1995), modifiée [286]. Une solution d'AGFPG à des concentrations (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1 mg/ml) et une solution d'AgNPs à des concentrations (0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 et 0.1 mg/ml) sont préparées avec de l'eau distillée. Chaque échantillon (1 ml AGFPG et 0.4 ml AgNPs) est mélangé avec une solution de DPPH (0,1 mM) (1:1, v/v), puis incubé dans l'obscurité pendant 30 mn à 37 °C. L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme pour le

contrôle positif et l'essai est répété en triplicata. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide du spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis). L'activité de piégeage du radical DPPH est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité de piégeage du radical DPPH (\%)} = (A_C - A_E) / A_C \times 100$$

A_C : absorbance du contrôle (éthanol-DPPH) ;

A_E : absorbance de l'échantillon (AGFPG et AgNPs).

II.12.2 Test de piégeage de radical libre ABTS

L'activité de piégeage du radical libre 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6 sulphonique (ABTS) de l'extrait polysaccharidique AGFPG est évaluée en utilisant la méthode de Re *et al.* (1999), avec quelques modifications [287].

Une solution d'AGFPG à des concentrations (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1 mg/ml) est préparée avec de l'eau distillée. La solution d'ABTS est préparée en ajoutant 20 ml d'ABTS (7 mM) à 10 ml de persulfate de potassium (2.45 mM). Le mélange est conservé à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 24 h. La solution d'ABTS est diluée jusqu'à une absorbance de 0.7 ± 0.02 à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Pour 1 ml de solution d'ABTS, est ajouté 0.25 ml de solution d'AGFPG, puis incubé pendant 15 mn à 37 °C. L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme un contrôle positif et l'essai est répété trois fois. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 734 nm à l'aide du spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis). L'activité de piégeage du radical ABTS est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité de piégeage du radical ABTS (\%)} = (A_C - A_E) / A_C \times 100$$

A_C : absorbance du contrôle ;

A_E : absorbance de l'échantillon.

II.12.3 Test de pouvoir réducteur ferrique

Le pouvoir réducteur ferrique des AgNPs est évalué selon la méthode de Kanipandian *et al.* (2014), avec quelques modifications [288]. Une solution d'AgNPs à des concentrations (0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 et 0.1 mg/ml) est préparée avec de l'eau distillée. A 100 µl de solution d'AgNPs

est mélangé avec 250 µl de tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6) et 250 µl de ferricyanure de potassium à 1 % (m/v). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 30 mn, puis traité avec 250 µl d'acide trichloracétique à 10 % (m/v). Après centrifugation à 3000 g pendant 10 mn, 250 µl du surnageant sont mélangés avec 250 µl d'eau distillée et 50 µl de chlorure ferrique (FeCl₃) à 0,1 % (m/v). Après 10 mn d'incubation, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 700 nm à l'aide du spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis). L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme un contrôle positif et l'essai est répété trois fois.

II.13 Activité anti-inflammatoire d'AGFPG

L'étude de l'activité anti-inflammatoire d'AGFPG est portée sur l'inhibition de dénaturation du BSA sous l'effet de la chaleur, selon la méthode de Karthik *et al.* (2013), modifiée [289].

Une solution d'AGFPG à des concentrations (1, 2.5, 5, 7.5 et 10 mg/ml) est préparée avec de l'eau distillée. La solution de BSA 0.2 % (m/v) est préparée dans un tampon Tris-HCl (0.05 M, pH= 6.6). A 500 µl de solution de BSA est ajouté à 500 µl de solution d'AGFPG, puis incubé pendant 15 mn à 37 °C. Les tubes sont placés dans un bain-marie pendant 5 mn à 72 °C. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 660 nm à l'aide du spectrophotomètre (Agilent, Cary 100 UV-Vis).

Le diclofenac de sodium (forme injectable) à des concentrations (0.001, 0.05, 0.1, 0.5 et 1 mg/ml) est utilisé comme un contrôle positif et l'essai est répété trois fois. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de la dénaturation (\%)} = (A_C - A_E) / A_C \times 100$$

A_C : absorbance du contrôle ;

A_E : absorbance de l'échantillon

Chapitre III. *Résultats et discussion*

Le rendement d'extraction de polysaccharides hydrosolubles (3.15 g) à partir de 30 g de graines est de 10.4 % (m/m). Il est rapporté des rendements en polysaccharides hydrosolubles pour certaines espèces de la famille des Fabacées, notamment *Astragalus alpinus* L. de 0.59 % [290], *Astragalus danicus* Retz de 3.39 % [291], *Astragalus sericeocanus* Gonsch de 3.58 % [292], *Astragalus membranaceus* Bunge de 3.6 % [293], *Astragalus armatus* Willd de 4.2 % [294], *Astragalus tibetanus* Benth. Ex Bunge de 4.65 % [290], *Astragalus lehmannianus* Bunge de 4.8 % [295], *Astragalus cicer* L. de 5.9 % [296], *Astragalus gombo* Bunge de 6.8 % [297] et d'*Astragalus cicer* L. de 8.42 % [298], qui s'avèrent faibles par rapport au rendement obtenu pour la présente étude.

La composition biochimique de l'AGFPG est présentée dans le tableau III.1. Les teneurs en oses totaux, en protéines et en composés phénoliques, étaient de 83.09 ± 0.03 % (m/m), 8.39 ± 0.01 % (m/m) et 4.64 ± 0.003 % (m/m), respectivement.

L'AGFPG a une composition en oses totaux très proche à celle des polysaccharides hydrosolubles extraits par macération à chaude des graines d'*Astragalus armatus* Willd (83.4 ± 1.29 %) [294] et d'*Astragalus gombo* Bunge (85 ± 2 %) [297]. La teneur en oses totaux de l'AGFPG se situe dans la fourchette rapportée pour la gomme de guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) (75-85 %) et la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua*) (80-85 %) [154,299].

La présence des protéines dans l'extrait polysaccharidique AGFPG pourrait être due à des interactions entre les protéines et les polysaccharides via des liaisons hydrogène, des liaisons covalentes et des interactions hydrophobes [300]. Toutefois, un rendement appréciable, une faible teneur en protéines et en composés phénoliques et la teneur élevée en oses totaux de l'extrait polysaccharidique AGFPG confirment que la méthode d'extraction de la présente étude, reste appropriée et efficace.

Tableau III.1: Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique AGFPG

Rendement d'extraction (m/m)	10.4 %
Oses totaux (m/m)	83.09 ± 0.03 %
Oses neutres (m/m)	91.15 ± 0.03 %
Oses acides (m/m)	2.66 ± 0.2 %
Protéines (m/m)	8.39 ± 0.01 %
Composés phénoliques (m/m)	4.64 ± 0.003 %

La figure III.1 montre le spectre FTIR de l'AGFPG, présentant des pics allant de 555.9 cm^{-1} à 3342.1 cm^{-1} . Le pic d'absorption large et fort observé à 3342.1 cm^{-1} correspond à la vibration d'étirement des OH, qui sont abondant dans les polysaccharides et l'eau et qui participe à la formation des liaisons hydrogène [301]. Le pic étroit à 2924.1 cm^{-1} peut être attribué à la vibration d'étirement C-H [302]. En outre, le pic à 1638.0 cm^{-1} est lié aux vibrations d'étirement des COO- [303]. Le pic d'absorption à 1405.9 cm^{-1} est attribué à la vibration d'étirement C-OH et à la vibration de déformation C-H [304]. L'AGFPG présente une bande distincte à 1023.1 cm^{-1} , dominée par les vibrations d'étirement de la liaison glycosidique C-O-C et les groupes latéraux C-OH et indique l'existence des cycles pyranoses [305].

En outre, les configurations α et β du carbone anomérique peuvent être distinguées à l'aide de bandes dans la plage $900\text{--}800\text{ cm}^{-1}$, appelée région anomérique [306]. Le spectre FTIR du AGFPG montre des bandes d'absorption à 869.3 cm^{-1} et 794.9 cm^{-1} sont attribuées aux liaisons β -glycosidiques et α -glycosidiques, respectivement [93,305,307–309].

Dans leur étude sur les polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* (Fenugrec), Rashid *et al.* (2017) ont identifié des bandes à 872 cm^{-1} et 800 cm^{-1}

correspondant à β -D-mannopyranose et α -D-galactopyranose, respectivement [310].

De même, le spectre FTIR de l'étude de Liu *et al.* (2019) sur les polysaccharides des graines de *Gleditsia sinensis* Lam, a montré des bandes d'absorption à 870.3 cm^{-1} et 807.8 cm^{-1} , attribuées respectivement aux unités β -D-mannopyranose et α -D-galactopyranose [311].

Au vu des résultats de Rashid *et al.* et Liu *et al.*, et en observant les bandes d'absorption à 869.3 cm^{-1} et 794.9 cm^{-1} dans le spectre FTIR d'AGFPG, cet extrait polysaccharidique est constitué de β -D-mannopyranose et d' α -D-galactopyranose.

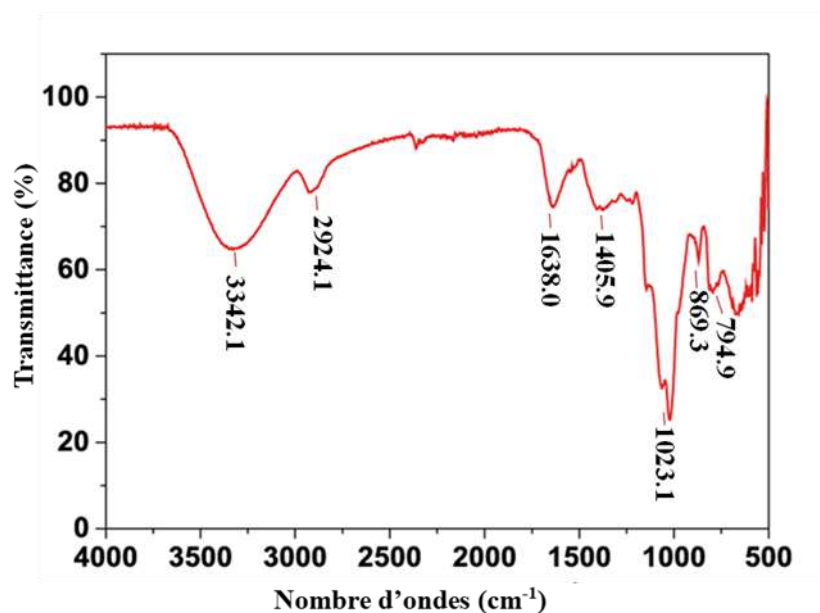


Figure III.1: Spectre infrarouge (FTIR-ATR) de l'extrait polysaccharidique AGFPG

La figure III.2 montre les chromatogrammes obtenus après séparation de l'hydrolysat de l'extrait polysaccharidique AGFPG dans deux systèmes différents (I et II). Les résultats révèlent l'apparition de deux taches sur les plaques pour les deux systèmes, ce qui indique que l'AGFPG

est composé de deux monosaccharides.

Dans le système I, en comparant les R_F des deux taches apparues (0.44 et 0.35) avec ceux des étalons ($R_{F\text{ Man}} = 0.45$ et $R_{F\text{ Gal}} = 0.36$), les deux taches correspondent au mannose et au galactose. De même, dans le système II, en comparant les R_F des deux taches apparues (0.47 et 0.40) avec ceux des étalons ($R_{F\text{ Man}} = 0.46$ et $R_{F\text{ Gal}} = 0.40$), indiquent la présence de mannose et de galactose.

L'extrait polysaccharidique AGFPG semble être constitué de mannose et de galactose, donc un polysaccharide de type galactomannane.

Dans leur étude sur les polysaccharides des graines de *Leucaena leucocephala* L. (Fabaceae), Mittal *et al.* (2016) ont utilisé la CCM pour déterminer la composition en monosaccharides. L'analyse de chromatogramme de l'hydrolysate montre deux taches distinctes sur la plaque qui ont été identifiées comme étant du galactose et du mannose par comparaison des R_F [312]. De plus, la CCM a été utilisée dans d'autres études et les polysaccharides extraits ont été identifiés comme étant du galactomannane [313,314].

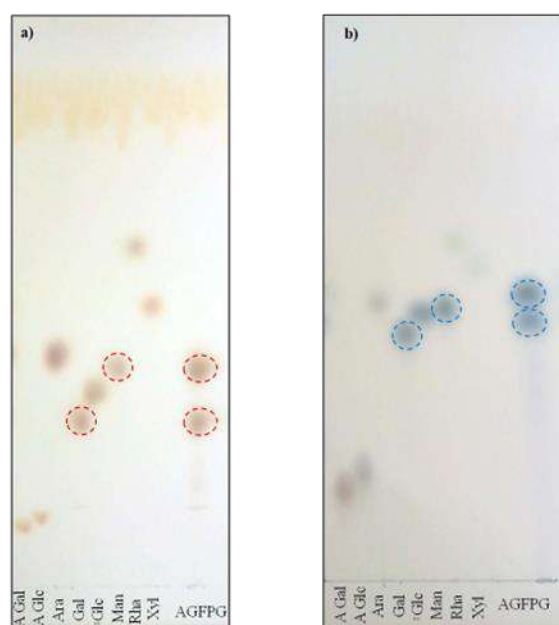


Figure III.2: Chromatogrammes par CCM des hydrolysats de l'extrait polysaccharidique AGFPG, a)- Système I : acide acétique, pyridine, eau, acétate d'éthyle et n-butanol (2:4:4:5:10, v/v/v/v/v) ; b)- Système II : acide acétique, eau, chloroforme, méthanol et n-butanol (1.5:1.5:4.5:5:12.5,v/v/v/v/v)

Le chromatogramme des résultats obtenus d'analyse par HPLC est représenté sur la figure III.3. L'extrait polysaccharidique hydrosoluble AGFPG, est composé de mannose (60.05 %) et de galactose (39.95 %), ce qui suggère que AGFPG, polysaccharides hydrosolubles issus des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel, est un hétéropolysaccharide de type galactomannane. Le rapport molaire mannose/galactose du AGFPG galactomannane extrait, est de 1.51 (Man/Gal = 1.51).

Des polysaccharides hydrosolubles extraits de différentes graines d'*Astragalus* sp. sont composés de galactomannane dont *Astragalus lehmannianus* (1.24) [295], *Astragalus tibetanus* (1.33) [290], *Astragalus cicer* (1.39) [296], *Astragalus danicus* (1.4) [291], *Astragalus alpinus* (1.48) [290] et *Astragalus sericeocanus* (1.58) [292].

L'AGFPG est un galactomannane, conforme à celle des trois plantes spontanées (*Astragalus armatus* Willd, *Astragalus gombo* Bunge et *Alhagi maurorum* Medik) de la famille Fabaceae du Sahara algérien. Les polysaccharides hydrosolubles des graines de ces plantes ont été obtenus par macération a chaude suivi d'une précipitation par solvant. Ils ont été identifiés comme des galactomannanes.

Les rapports molaires Man/Gal d'*Alhagi maurorum* (2.2-2.4) [315] et d'*Astragalus gombo* (1.7) [297] sont plus élevés que ceux de l'extrait polysaccharidique AGFPG (Man/Gal=1.51), tandis que d'*Astragalus armatus* (1.13) [294] est plus faible. Dans le même contexte, le rapport Man/Gal obtenu est supérieur à celui déclaré pour *Trigonella foenum-graceum* (fenugrec) (1.1) [316] et inférieur à celui déclaré pour *Caesalpinia spinosa* (gomme de tara) (3) [317] et *Ceratonia siliqua* (gomme de caroube) (3.5) [180]. Par ailleurs, elle est relativement similaire à la valeur rapportée pour *Cyamopsis tetragonoloba* (gomme de guar) (1.54-2) [154].

Le rapport Man/Gal du galactomannane dépend fortement de l'espèce étudiée, des conditions de croissance de la plante et des circonstances, en particulier du niveau de maturité, du moment de la récolte et des méthodes d'extraction [318].

La solubilité dans l'eau du galactomannane est déterminée par le nombre de galactoses présentes, ce qui en fait une variable couramment utilisée pour prédire leurs propriétés finales. Le

nombre élevé de galactoses augmente le nombre de groupes hydroxyles qui ont une forte affinité et facilitent la liaison avec les molécules d'eau. Il en résulte une grande solubilité du galactomannane [319,320].

Le rapport Man/Gal du galactomannane AGFPG est de 1.5, soit 3 mannose et 2 galactose. Ce galactomannane a une solubilité élevée dans l'eau en raison de la quantité importante de galactose. La capacité du galactomannane à absorber de grandes quantités d'eau, est l'un des facteurs qui contribuent à l'adaptation des plantes, dont d'*Astragalus gombiformis* Pomel, aux environnements secs et à leur résistance à la sécheresse [10, 35].

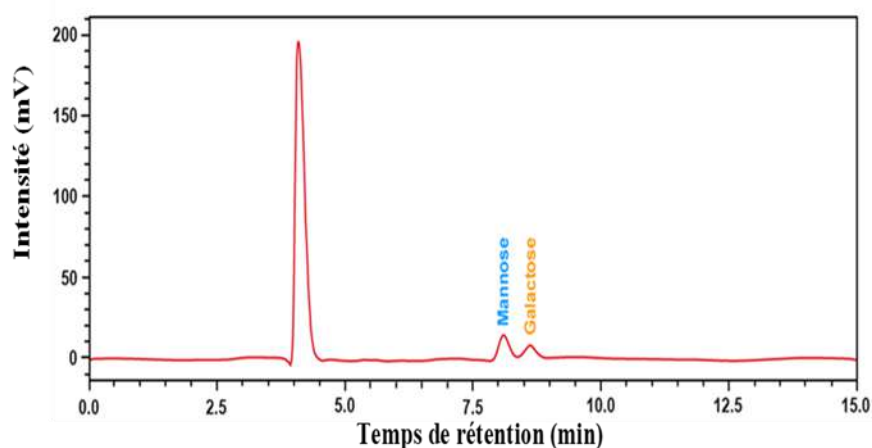


Figure III.3: Chromatogramme par HPLC de l'extrait polysaccharidique AGFPG

La figure III.4 présente les spectres ^1H RMN et ^{13}C RMN de l'extrait polysaccharidique AGFPG. Le déplacement chimique à 4.94 ppm et 5.2 ppm est attribué au proton anomérique (H-1) du β -D-mannopyranosyl et du α -D galactopyranosyl, respectivement [158]. Le rapport Man/Gal peut être estimé en utilisant l'intégration des pics de ^1H RMN associée aux déplacements chimiques du β -D-mannose et de l' α -D-galactose, qui est de 1.46, est un rapport similaire à celle obtenu par l'analyse au HPLC de l'AGFPG (Man/Gal=1.51).

Dans le spectre ^{13}C RMN, deux carbones anomériques (C-1) sont attribués au α -D-galactopyranosyl et au β -D-mannopyranosyl à 99.72 ppm et 100.09 ppm, respectivement. Un signal faible a été observé au niveau de H-5 du β -D-mannopyranose sans chaîne latérale

substitutive (3.57 ppm), tandis que H-5' (3.76 ppm) avec une chaîne latérale présentait un signal fort [321]. Cela suggère que la plupart des résidus β -D-mannopyranose ont été substitués par des chaînes latérales α -D-galactopyranosyl. Le signal à 66.39 ppm pour C-6 du β -D-mannopyranose de l'AGFPG, comparé à sa position à 60.4 ppm, indique que les chaînes latérales du β -D-mannopyranose ramifié comprennent des résidus de galactose [309,322]. Les déplacements chimiques ^1H et ^{13}C de l'AGFPG sont résumés en annexe 3.

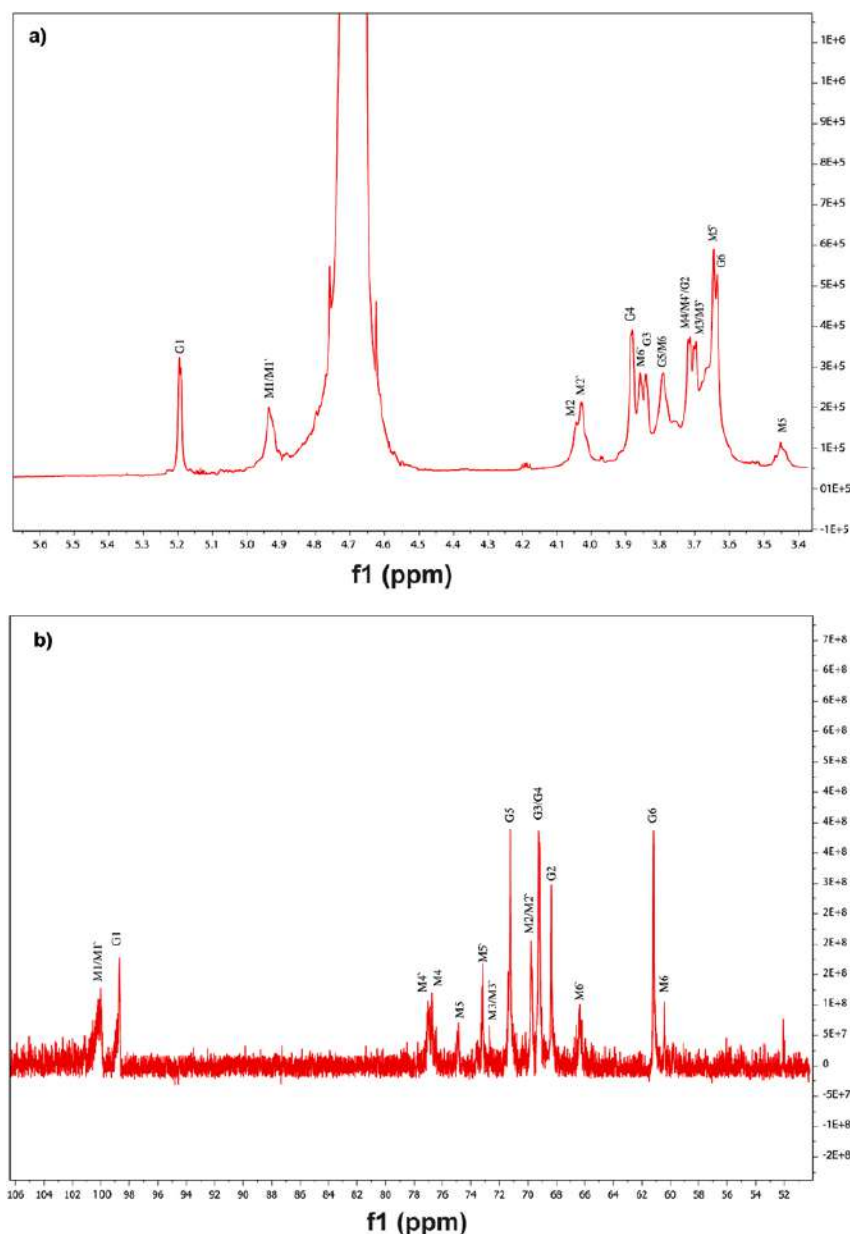


Figure III.4: Spectres RMN de l'extrait polysaccharidique AGFPG, a)- Spectre ^1H ; b)- Spectre ^{13}C (G : α -D-Galp (1 $\rightarrow$ / M : $\rightarrow$ 4)- β -D-Manp-(1 $\rightarrow$ / M' : $\rightarrow$ 4,6)- β -D-Manp-(1 $\rightarrow$))

L'analyse par RMN d'un polysaccharide extrait des graines d'*Astragalus gombo* Bunge (Fabaceae) indique qu'il s'agit d'un galactomannane formé d'un squelette de résidus β -(1,4)-D-mannopyranosyl substitués en position O-6 par un seul résidu d' α -D galactopyranose [297]. Les spectres ^1H et ^{13}C RMN d'un galactomannane isolé des graines de *Leucaena leucocephala* L. (Fabaceae) montrent qu'il se compose d'une chaîne linéaire (1-4) de β -D-mannose avec des groupes latéraux d' α -D-galactose [323].

Les résultats des études sur les RMN unidimensionnelle (RMN 1D) et bidimensionnelle (RMN 2D) de Albuquerque *et al.* (2014) et de Nobre *et al.* (2018), sur un galactomannane extrait de graines de *Cassia grandis* L. (Fabaceae) et de graines d'*Adenantha pavonina* L. (Fabaceae) respectivement, ont confirmé que la chaîne principale est constituée de β (1 $\rightarrow$ 4)-D-mannose liée avec des unités d' α (1 $\rightarrow$ 6)-D-galactose [42, 43].

La caractérisation d'un galactomannane isolé des graines de *Desmanthus illinoensis* (Fabaceae) par ^1H RMN et ^{13}C RMN indique qu'il est composé de 1,4- β -D-mannane substitué par des chaînes latérales α -D-galactose ou de 1,6- α -D-galacto-disaccharide en C-6 sur la chaîne principale [321].

Au vu des résultats de l'analyse structurale (RMN), de la composition en monosaccharides (CCM et HPLC) et de l'analyse par FTIR-ATR, il est confirmé que l'extrait polysaccharidique AGFPG des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel, est un galactomannane. La figure III.5 est une illustration de la structure proposée de AGFPG galactomannane.

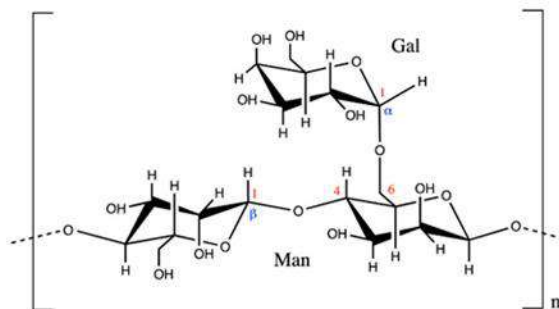


Figure III.5: Structure proposée de l'extrait polysaccharidique AGFPG issu des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel

La biosynthèse des AgNPs a été réalisée par la réduction des ions d'argent (Ag^+) en présence de l'extrait polysaccharidique AGFPG à 60 °C et sous agitation. La couleur de la solution réactionnelle est passée d'incolore à brun, traduisant la formation d'AgNPs, confirmé par spectroscopie UV-vis. L'apparition d'une bande SPR dans la région des 400-450 nm est l'indicateur le plus caractéristique de la formation des AgNPs [326,327].

La biosynthèse d'AgNPs par l'AGFPG est confirmée par le spectre UV-vis qui a montré un pic à 423 nm (Figure III.6). Pour Taher *et al.* (2022) ; Agnihotri *et al.* (2021) ; Jing *et al.* (2021) ; Padinjarathil *et al.* (2018), la biosynthèse des AgNPs a été réalisée par des polysaccharides hydrosolubles extraits de plantes [284,328–330].

A partir de la valeur de pic, 423 nm, il est suggéré que les AgNPs sont biosynthétisés, avec une forme sphérique et une petite taille, confirmant la suite par l'analyse par microscope électronique à balayage (MEB) [331–333]. De plus, la symétrie du pic d'adsorption des AgNPs de biosynthèse, l'absence de changement dans leur emplacement et leur intensité durant 6 mois de stockage suggèrent que les AgNPs ne s'agrègent pas avec l'AGFPG, et leur dispersion colloïdale représente une stabilité significative. Il est conforté par l'absence de pics à 560 nm et 335 nm dans le spectre UV-vis [47,53-58].

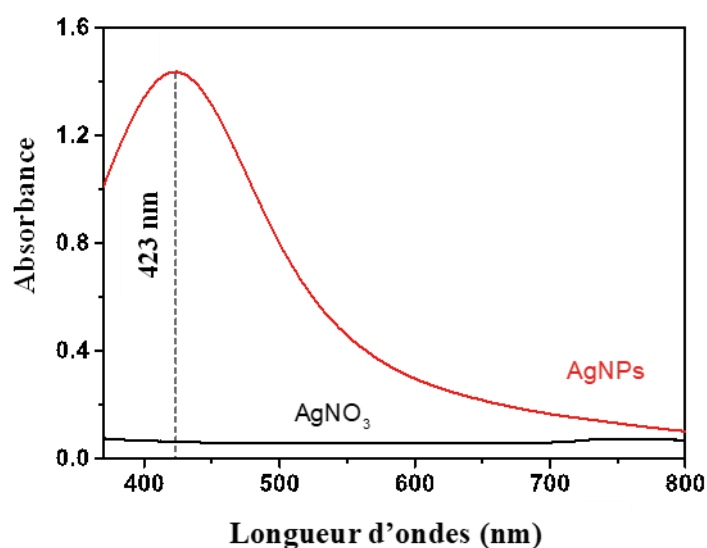


Figure III.6: Spectre UV-vis des AgNPs biosynthétisés par l'extrait polysaccharidique AGFPG

Le mécanisme de biosynthèse des AgNPs par l'extrait polysaccharidique AGFPG est illustré dans la figure III.7. L'AGFPG ayant un grand nombre de groupes hydroxyles (OH) qui facilitent leur complexation avec l' Ag^+ . Cette complexation est suivie par la réduction de l' Ag^+ en argent métallique (Ag^0) sous l'action de ces groupes OH et de l'exposition à la lumière solaire. L' Ag^0 se nucléarise ensuite (étape de nucléation) pour former des grappes, qui s'agrègent ensuite pour former des AgNPs (étape de croissance). Les AgNPs sont ensuite recouverts et stabilisés par l'AGFPG [284,337–339].

Dans leur étude sur l'effet de lumière de soleil sur la biosynthèse des AgNPs par un champignon *Pleurotus citrinopileatus*, Bhardwaj *et al.* (2018) ont rapporté que les AgNPs formés après 72 h de réaction dans l'obscurité sont environ 1.8 fois plus faible que les AgNPs produites après une heure d'exposition à la lumière du soleil. Ainsi, les biomolécules présentent dans l'extrait de champignon sont responsables de la réduction de l' Ag^+ en Ag^0 dans le mélange réactionnel lorsqu'il est exposé à la lumière du soleil. L'excitation de ces biomolécules par l'énergie photonique lui permet d'agir en tant que donneurs d'électrons ou agents réducteurs [340].

Jian *et al.* (2020) ont mené la biosynthèse des AgNPs à l'aide du Konjac glucomannane extrait d'*Amorphophallus konjac* (Araceae) par une stratégie photocatalytique. Ils ont trouvé que sans irradiation ultraviolette, une certaine quantité d'AgNPs a été obtenue par la réduction de l'hydroxyle C₁ dans le terminal réducteur du Konjac glucomannane. Lorsqu'ils sont exposés en lumière ultraviolette, les AgNPs produits ont entraîné la libération d'une quantité importante d'électrons libres. La réduction complète des Ag^+ restants en Ag^0 a été rendue possible par les électrons fonctionnant comme des réducteurs efficaces [339].

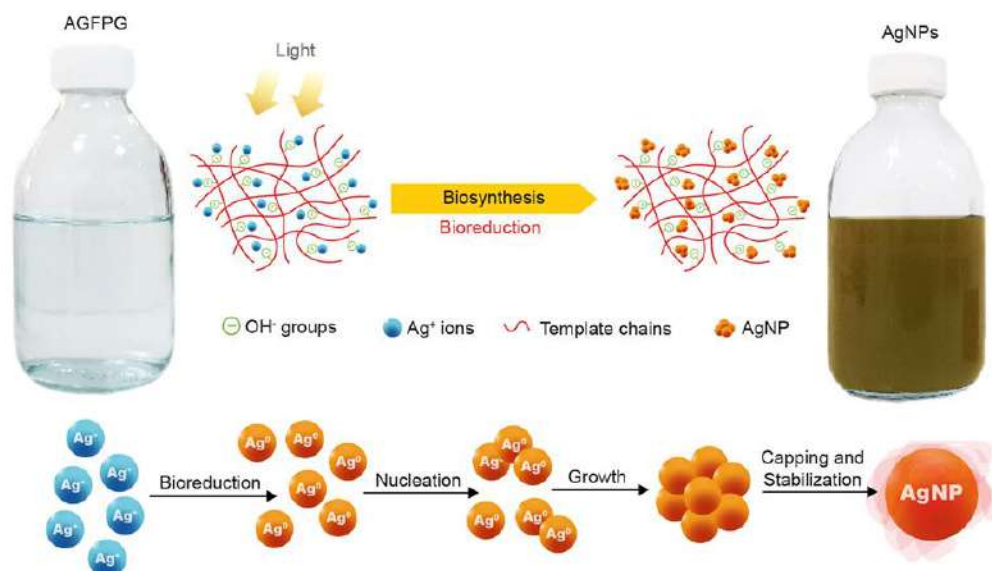


Figure III.7: Processus de biosynthèse des AgNPs à partir de l'extrait polysaccharidique AGFPG [226]

Les résultats de l'analyse par le DRX ont révélé la structure cristalline des AgNPs (Figure III.8). Les pics de diffraction à des valeurs 2θ de 38.5° ; 44.8° ; 65° ; 77.8° et 81.8° dans le diagramme DRX des AgNPs correspondant aux plans (111, 200, 220, 311 et 222) de la structure cubique à faces centrées (FCC) de l'Ag.

Le diagramme DRX des AgNPs de biosynthèses à partir d'un polysaccharide extrait de graines de *Leucaena leucocephala* L. (Fabaceae) a révélé la présence de quatre pics majeurs (38.27° ; 46.27° ; 64.63° et 77.66°), indiquant qu'ils présentent une nature cristalline et des plans compatibles avec une structure de réseau cubique à faces centrées de l'Ag [284]. De plus, un polysaccharide extrait de la gomme de guar *Cyamopsis tetragonaloba* Taub (Fabaceae), a été utilisé pour la biosynthèse des AgNPs. Les pics de diffraction observés démontrent la présence d'une structure cristalline cubique à face centrée dans les AgNPs étudiées [336].

Par ailleurs, Agnihotri *et al.* (2021) ont mené la biosynthèse des AgNPs à l'aide de la gomme arabique. L'analyse DRX laisse apparaître des pics caractéristiques de la structure cubique

à faces centrées (FCC) de l'Ag, confirmant la cristallisation des AgNPs [328].

La pureté des AgNPs est démontrée par l'absence de pics ressemblant à d'autres phases cristallines. L'intensité des pics de diffraction indique un niveau élevé de cristallinité des AgNPs [328,341]. En utilisant l'équation de Scherrer, la taille moyenne des cristallites (D) des AgNPs biosynthétisés par AGFPG était d'environ 23,48 nm.

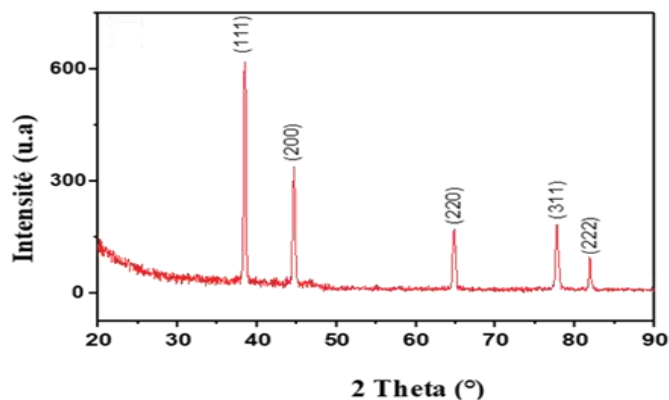


Figure III.8: DRX diagramme des AgNPs biosynthétisés par l'extrait polysaccharidique AGFPG

La micrographie d'AGFPG montre de grandes feuilles minces aux surfaces lisses et de tailles variées, ainsi que des particules fragmentées adhérant les unes aux autres dans des réseaux fortement interconnectés avec des pores (Figure III.9 a-b). Les pores de l'AGFPG permettent l'absorption de volumes d'eau importants, d'où une solubilité élevée de l'AGFPG en tant que galactomannane, ce qui est confirmé par l'analyse par HPLC. La présence des pores permet à la plante de stocker l'eau et l'aide également à s'adapter aux conditions environnementales extrêmes. Cette morphologie offre de nombreuses possibilités d'utilisation de l'AGFPG galactomannane dans de nombreuses applications industrielles. Des structures similaires de polysaccharides utilisées dans les emballages alimentaires et dans l'industrie pharmaceutique ont été identifiées [342–344].

D'après les analyses qualitative et quantitative, la teneur en oxygène (O) et en carbone (C)

sont respectivement de 44,46 % et de 47,62 % (Figure III.9c). La procédure d'extraction peut être à l'origine de faibles quantités d'éléments supplémentaires comme le calcium (Ca=1.68 %), le potassium (K=0.87 %), le phosphore (P=4.11 %) et le magnésium (Mg=1.25 %).

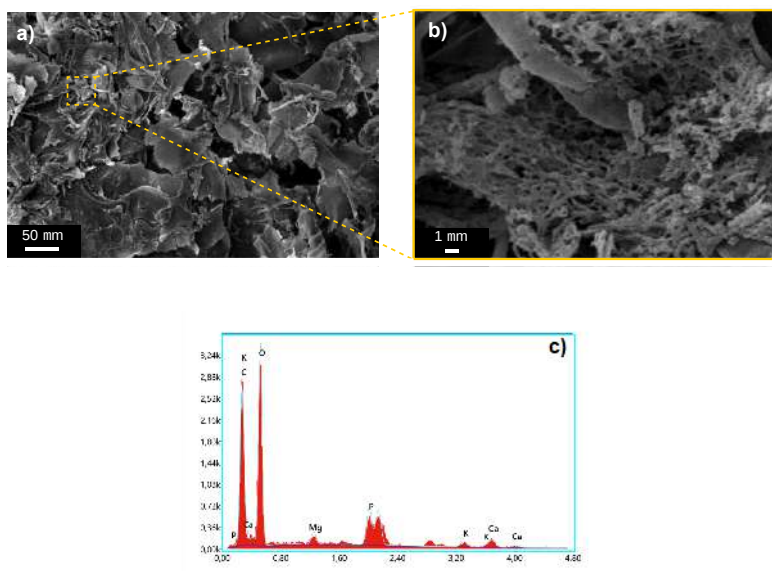


Figure III.9: Analyse par MEB-EDX de l'extrait polysaccharidique AGFPG. a-b)- Images de MEB à 50 µm et 1 µm ; c)- Spectre EDX de la composition élémentaire

Les images MEB ont montré que les AgNPs de biosynthèse ont une forme sphérique, ce qui est compatible avec la bande SPR unique observée à l'aide de la spectroscopie UV-vis (Figure III.10 a-b). Taher *et al.* (2022) ; Ma *et al.* (2021) et Padinjarathil *et al.* (2018), soulignent que la forme des AgNPs biosynthétisés par des polysaccharides est également sphérique [284,329,334].

La présence d'argent dans les AgNPs de biosynthèse, est confirmée par la spectroscopie EDX (Figure III.10c). La présence de pics d'oxygène et de carbone confirme le rôle du AGFPG en tant qu'agent réducteur et stabilisateur. Le carbone détecté peut aussi provenir des grilles de cuivre recouvertes de carbone utilisé pour l'analyse.

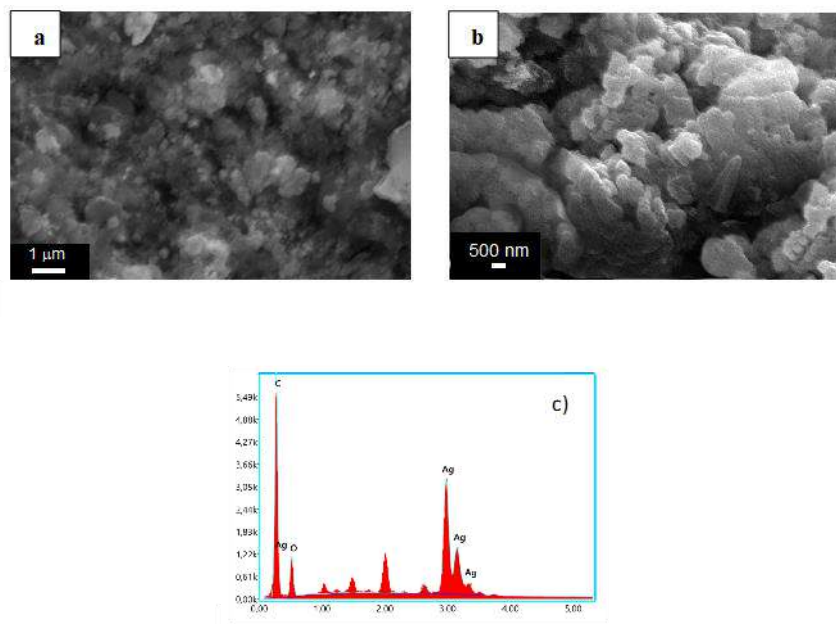


Figure III.10: Analyse par MEB-EDX des AgNPs. a-b)- Images de MEB à 1 µm et 500 nm ; c)- spectre EDX de la composition élémentaire

La valeur du potentiel zêta de l'AGFPG est égal à - 12,4 mV (Figure III.11). Salarbashi *et al.* (2019) ont rapporté que le potentiel zêta variait entre -20,4 à -14,8 mV pour les solutions de galactomannane des graines de fenugrec à différentes concentrations [345]. Dans une étude de galactomannane extrait de la gomme de caroube *Ceratonia siliqua* L. (Fabaceae) de neuf variétés, les valeurs du potentiel zêta variaient de -2,67 à -12,95 mV [346].

L'AGFPG est à tendance d'agrégation et instable en raison de son potentiel zêta de faible valeur et de sa charge négative. Cette tendance à l'agrégation peut s'expliquer par la structure neutre du galactomannane et l'abondance des groupes hydroxyles [345].

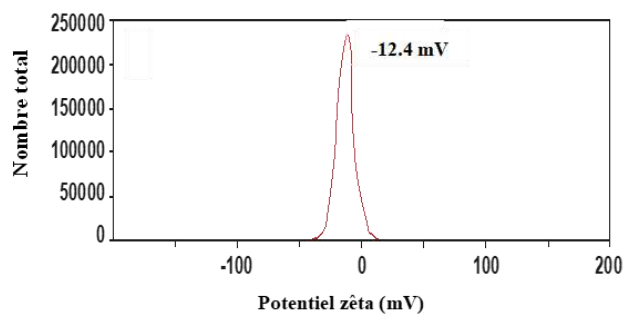


Figure III.11: Potentiel zêta de l'extrait polysaccharidique AGFPG

La figure III.12a laisse apparaître que les AgNPs biosynthétisés ont une taille moyenne de 144.4 nm. De même, il est à noter la présence de deux pics dont une forte à 144.4 nm et une faible à 22.9 nm, indiquant la variation de diamètre des AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG.

Les AgNPs biosynthétisés ont montré une stabilité remarquable, comme l'indique la valeur du potentiel zêta de -48.6 mV (Figure III.12b) confirmant les résultats obtenus par la spectroscopie UV-vis.

Ma *et al.* (2017), dans leur étude sur les AgNPs de biosynthèse par des polysaccharides hydrosolubles issus de tiges d'*Astragalus membranaceus*, ont indiqué que les AgNPs avaient un potentiel zêta de -32.6 mV et une stabilité remarquable [347]. En outre, un potentiel zêta de -31.3 mV a été rapporté dans une étude sur des AgNPs biosynthétisés à l'aide d'une solution de polysaccharides solubles de microalgue *Chlorella vulgaris*, révélant leur stabilité [348]. Considérant que le potentiel zêta des AgNPs biosynthétisés par des polysaccharides hydrosolubles extraits des graines de *Leucaena leucocephala* L. (Fabaceae) donne une valeur de -14.2 mV [284].

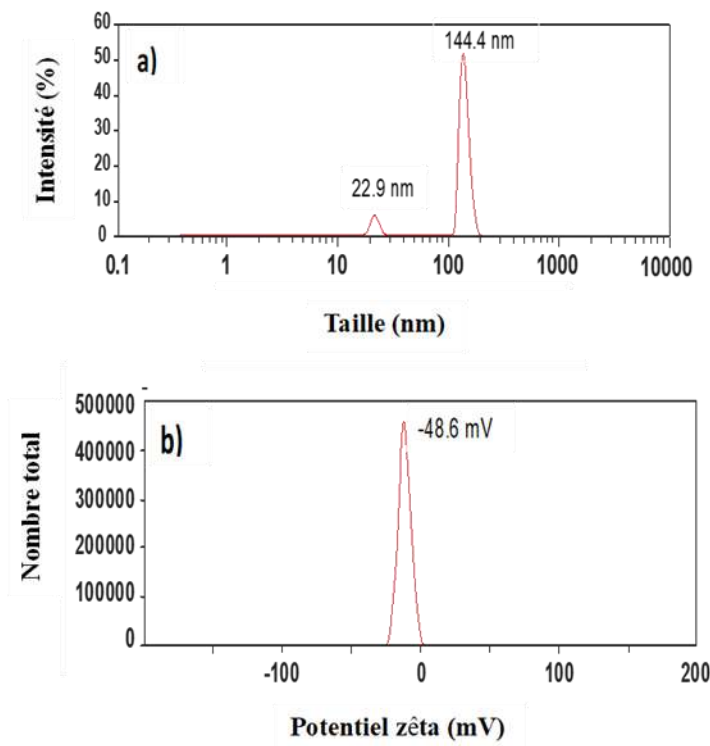


Figure III.12: Analyse DLS (a) et potentiel zêta (b) des AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG

Les AgNPs sont efficaces contre les neuf souches de micro-organismes pathogènes testées dont (*C. albicans* ATCC10237) (une souche fongique), quatre bactéries Gram négatives (*E. coli* ATCC25922, *K. pneumoniae* ATCC70603, *P. aeruginosa*, ATTC27853, *S. enterica* ATCC6017) et quatre bactéries Gram positives (*B. subtilis* ATCC6633, *L. monocytogenes* ATCC13932, *M. luteus* ATCC9314, *S. aureus* ATCC25923).

Les résultats du tableau III.2 ont révélé que l'AGFPG et l'oxacilline n'avaient aucune activité antimicrobienne, tandis que les AgNPs et l'ampicilline ont une efficacité contre les micro-organismes pathogènes testés.

Pour les AgNPs, la zone inhibitrice la plus faible est de 6 ± 0.0 mm pour une concentration d'AgNPs de 0.1 mg/ml, et la zone inhibitrice la plus élevée reste 13 ± 0.0 mm à des concentrations d'AgNPs de 0.75 et 0.5 mg/ml, sont observées chez *S. enterica*. L'ampicilline à une concentration de 10 mg/ml présentait la zone d'inhibition la plus élevée de 22.67 ± 0.57 mm pour *P. aeruginosa* et la zone d'inhibition la plus faible de 5.67 ± 0.57 mm pour *B. subtilis*.

Le diamètre de la zone inhibitrice est de 9.67 ± 0.57 mm pour *B. subtilis* et de 10 ± 0.0 mm pour *M. luteus* à une concentration de 0.1 mg/ml d'AgNPs, ce résultat est plus important que celui de l'ampicilline à une concentration de 10 mg/ml (5.67 ± 0.57 mm pour *B. subtilis* et 9.33 ± 1.52 mm pour *M. luteus*).

A différentes concentrations des AgNPs biosynthétisés de la présente étude, il est observé que la zone d'inhibition est proportionnelle à que plus la concentration des AgNPs. Cela indique que l'activité antibactérienne des AgNPs biosynthétisés par AGFPG est liée étroitement à la concentration. Il a été rapporté que l'efficacité antimicrobienne des AgNPs est fortement corrélée à la concentration [225].

Ma *et al.* (2017) ont étudié l'activité antibactérienne des AgNPs biosynthétisés pour des polysaccharides extraits des racines d'*Astragalus membranaceus*. Le diamètre de zone d'inhibition des AgNPs à une concentration de 1 mg/ml était de 9.16 ± 0.76 mm pour *S. aureus* ATCC 29213, de 11.17 ± 1.04 mm pour *P. aeruginosa* ATCC 15442 et aucune zone d'inhibition n'a été détectée contre *E. coli* ATCC 25922 [347].

Tableau III.2: Zones d'inhibition par des AgNPs, de l'AGFPG, de l'oxacilline et de l'ampicilline sur les neuf souches de micro-organismes testés

Souche	Zone d'inhibition (mm)							
	AgNPs biosynthétisées					Ampicillin	Oxacillin	AGFPG
	100% 1 mg/ml	75% 0.75mg/ml	50% 0.5mg/ml	25% 0.25mg/ml	10% 0.1mg/ml	10 mg/ml	1mg/ml	10 mg/ml
<i>L. monocytogenes</i>	12±0.0 ^d	11.83±0.28 ^d	11±0.0 ^c	9.67±0.57 ^b	9±0.0 ^b	20.17±0.28 ^a	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>M. luteus</i>	12±0.0 ^d	12±0.0 ^d	12±0.0 ^d	11±0.0 ^{cd}	10±0.0 ^{bc}	9.33±1.52 ^b	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>S. aureus</i>	11.67±0.57 ^{de}	12±0.0 ^e	11±0.0 ^d	10±0.0 ^c	8±0.0 ^b	20.5±0.5 ^c	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>B. subtilis</i>	10.67±0.57 ^c	11±0.0 ^c	10.33±0.57 ^c	10.67±0.57 ^c	9.67±0.57 ^c	5.67±0.57 ^b	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>E. coli</i>	12±0.0 ^c	12±0.0 ^c	12±0.0 ^c	11±0.0 ^c	9±0.0 ^b	20±1.15 ^d	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>P. aeruginosa</i>	12±0.0 ^e	11±0.0 ^d	11±0.0 ^d	10±0.0 ^c	9±0.0 ^b	22.67±0.57 ^f	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>S. enterica</i>	10±0.0 ^c	13±0.0 ^d	13±0.0 ^d	9.67±0.57 ^c	6±0.0 ^b	18.33±0.57 ^a	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>k. pneumoniae</i>	9.33±0.57 ^b	10.33±0.57 ^b	9.33±0.57 ^b	8.67±1.15 ^b	8.67±1.15 ^b	21.67±0.57 ^c	0±00 ^a	0±00 ^a
<i>C. albicans</i>	12±0.5 ^b	12±0.0 ^b	12±1.0 ^b	10.83±0.28 ^b	9±0.0 ^a	-	-	0±00 ^a

Les expériences ont été réalisées en trois répétitions et sont exprimées en moyenne ± écart-type. Les exposants avec des lettres minuscules différentes (a-f) indiquent une différence statistiquement significative ($P < 0,05$) au sein d'une même ligne.

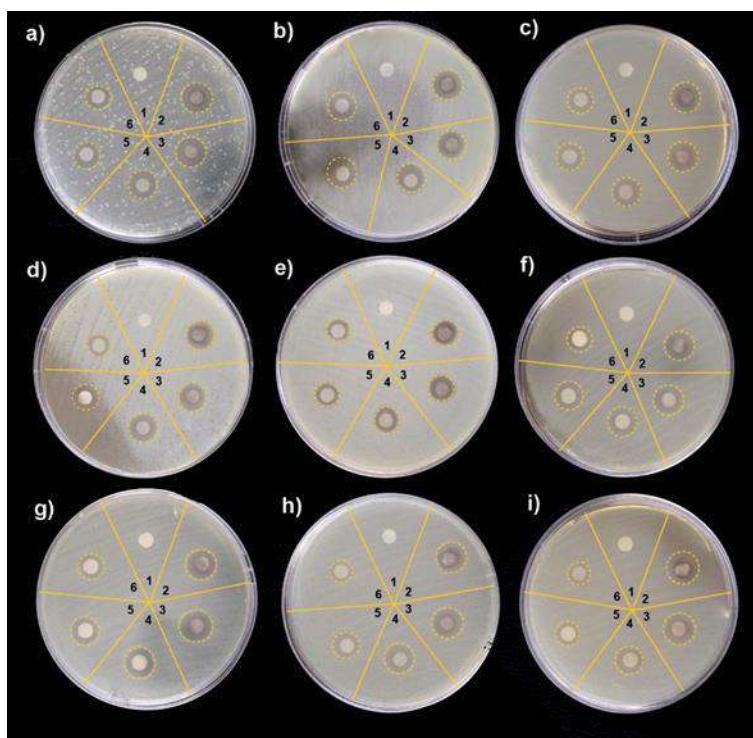


Figure III. 13 : Activité antimicrobienne des AgNPs biosynthétisés par l'extrait polysaccharidique AGFPG à différentes concentrations [ddH₂O (1) ; 1 mg/ml AgNPs (2) ; 0.75 mg/ml AgNPs (3) ; 0.5 mg/ml AgNPs (4) ; 0.25 mg/ml AgNPs (5) et 0.1 mg/ml AgNPs (6)]. a)- *C. albicans* ; b)- *B. subtilis* ; c)- *S. enterica* ; d)- *M. luteus* ; e)- *k. pneumoniae* ; f)- *E. coli* ; g)- *P. aeruginosa* ; h)- *S. aureus* et i)- *L. monocytogenes*

Les polysaccharides composés de monosaccharides (mannose, glucose et galactose) peuvent constituer une source de nutriments aux microorganismes [349]. Dans leur étude sur l'activité antimicrobienne des polysaccharides extraits à partir des graines de *Dolichos biflorus* Linn (Fabaceae) et *Trachyspermum ammi* Linn (Apiaceae), Basu *et al.* (2017) ont rapporté que le galactose n'a pas de rôle dans l'activité antimicrobienne [350]. De plus, le polysaccharide soluble de soja (SSPS) utilisé dans la biosynthèse des AgNPs n'a pas montré d'activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives [334].

L'activité antimicrobienne des polysaccharides est influencée par leur structure et leur composition. La diffusion de l'agent antimicrobien dans la gélose est influencée par ses propriétés physicochimiques. La capacité de diffusion de différents polysaccharides peut avoir un effet direct

sur la zone d'inhibition puisqu'elle correspond au poids moléculaire. Un effet inhibiteur plus faible ou nul est généralement obtenu avec des poids moléculaires plus élevés [81,351–353].

L'efficacité antimicrobienne des AgNPs est influencée par un certain nombre de variables, séparément ou en combinaison. Il s'agit notamment de la concentration, des micro-organismes cibles, de la morphologie, de la taille, de la forme et de la charge de surface [225].

Les AgNPs sont des particules de très petite taille, ce qui leur confère une grande surface par rapport au volume. Plus la taille des AgNPs est petite, plus le rapport surface/volume est élevé. Ce rapport élevé augmente la réactivité des AgNPs avec les parois et les membranes des cellules microbiennes, ce qui entraîne une distorsion accrue des parois et des membranes et peut également entraîner une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) [225,354].

Bien que le mécanisme précis de l'activité antimicrobienne des AgNPs n'a pas encore été entièrement élucidé, certaines explications possibles ont été fournies (Figure III.14). Les AgNPs peuvent adhérer aux lipopolysaccharides (LPS) et à la surface des cellules, ce qui peut perturber les fonctions physiologiques des bactéries en rendant les cellules plus perméables et en limitant le flux des nutriments vitaux [355]. De plus, les AgNPs ont la capacité de traverser la membrane cellulaire interne et de désactiver les enzymes déshydrogénases de la chaîne respiratoire, inhibant ainsi la croissance cellulaire et la respiration. Les AgNPs peuvent avoir un impact sur l'activité biologique de certaines phosphates et protéines, entraînant ainsi la désintégration des membranes cellulaires et conduisant finalement à la mort de la cellule [356].

Par ailleurs, elle a aussi mis en évidence une relation entre l'activité antimicrobienne des AgNPs et la libération des ions d'argent (Ag^+). Les AgNPs peuvent interagir avec la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire des micro-organismes par la libération continue d' Ag^+ [357].

Les enzymes respiratoires sont donc rendues inactives par l' Ag^+ dès son entrée dans la cellule, ce qui favorise la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO). La surabondance des espèces réactives de l'oxygène (ERO) a le potentiel d'endommager l'ADN et de dénaturer les protéines biologiques. En outre, les ions Ag^+ libres peuvent déstabiliser les ribosomes dans le noyau

cytoplasmique et inhiber la synthèse des protéines. Cela peut conduire à l'altération de la structure intracellulaire et des processus métaboliques, entraînant finalement la mort des micro-organismes [358,359].

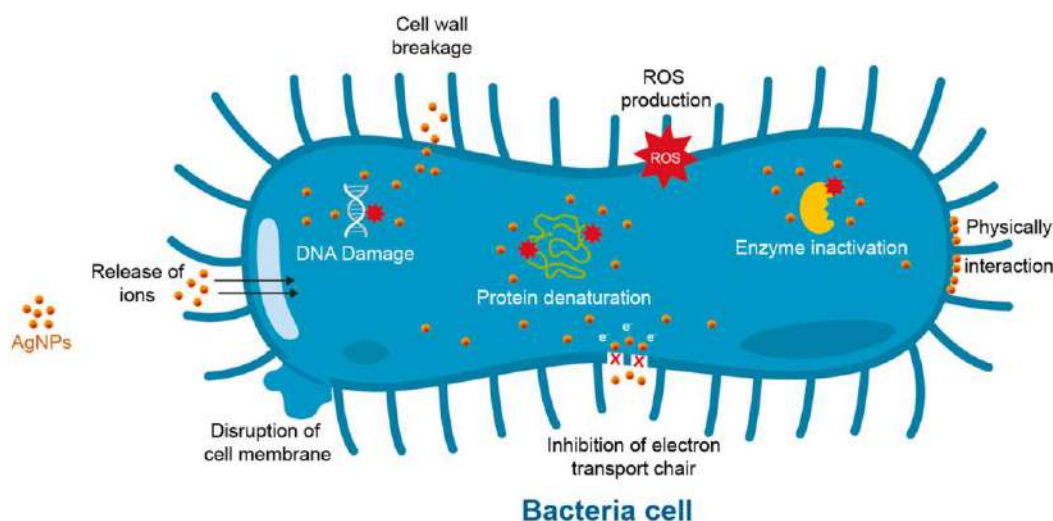


Figure III.14: Mécanisme de l'activité antimicrobienne des AgNPs biosynthétisés [226]

Au vu des résultats, il apparaît que l'AGFPG présente une activité antioxydante significative contre le DPPH proportionnelle à la concentration. Lorsque les concentrations en AGFPG passent de 0.1 mg/ml à 1 mg/ml, les activités de piégeage des radicaux DPPH de même augmentent de 2 % à 70 % respectivement (Figure III.15). A une concentration de 1 mg/ml, les activités de piégeage maximal de l'AGFPG et de l'acide ascorbique sont de 70 % et 76.6 %, avec des valeurs de l' IC_{50} de 0.59 mg/ml et 0.19 mg/ml, respectivement. Selon l'étude menée par Shang *et al.* (2018) sur les polysaccharides extraits d'*Astragalus cicer* L. (Fabaceae), la valeur d'activité de piégeage des radicaux libres DPPH été de 75.30 %, à une concentration de 1 mg/ml de polysaccharides [360].

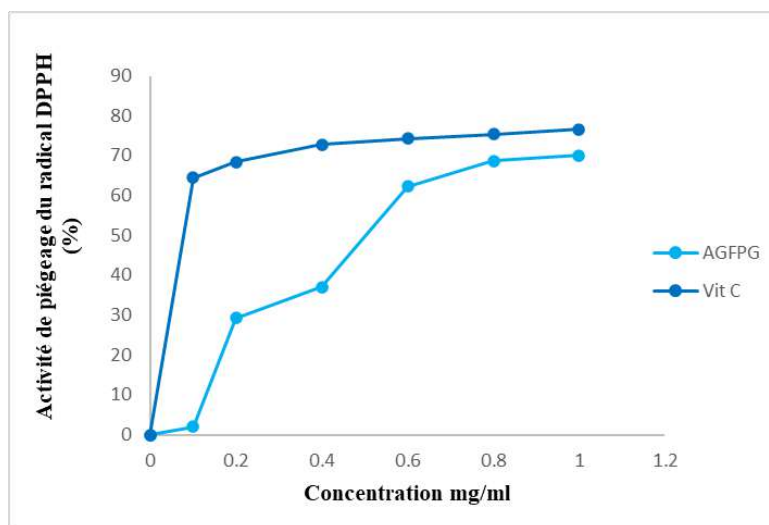


Figure III.15: Activité de piégeage de radical libre DPPH par l'AGFPG ou l'acide ascorbique

Pour l'activité de piégeage de radicaux libres DPPH par les AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG à une concentration de 0.1 mg/ml, les AgNPs biosynthétisés ont une activité de piégeage maximale de 90.61% tandis que l'acide ascorbique a une activité de piégeage maximale de 96%. Dans une étude sur les AgNPs biosynthétisés par un extrait aqueux de feuilles d'*Ocimum americanum* (Lamiaceae), un résultat inférieur de 75.91 % a été observé à la même concentration (0.1 mg/ml) [361]. Aucune action de réduction des radicaux libres DPPH n'a été observée avec les AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG à des concentrations de 0.02 mg/ml et 0.01 mg/ml.

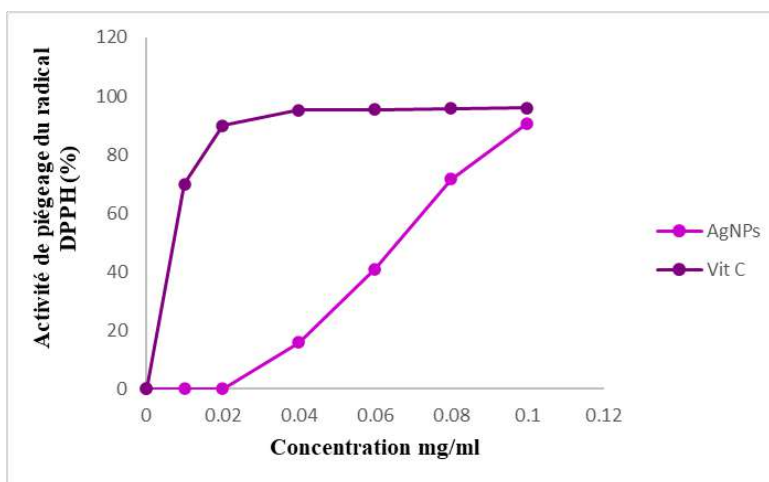


Figure III.16: Activité de piégeage de radical libre DPPH par des AgNPs ou de l'acide ascorbique

Au vu de la figure III.17, à mesure que la concentration d'AGFPG augmente de 0.2 mg/ml à 1 mg/ml, son activité de piégeage augmente de manière proportionnelle, passant de 4.3% à 66 %. L'acide ascorbique a une activité de 89 % à une concentration de 1 mg/ml nettement supérieure à celui de l'AGFPG à la même concentration.

L'IC₅₀ de l'AGFPG et de l'acide ascorbique est de 0.76 mg/ml et 0.56 mg/ml, respectivement. La valeur de l'IC₅₀ de l'activité de piégeage des radicaux ABTS d'un galactomannane extrait de *Sesbania cannabina* était de 5.312 mg/ml [362]. Dans une étude menée sur les polysaccharides de Caroube, la valeur de l'IC₅₀ était de 0.15 mg/ml [363].

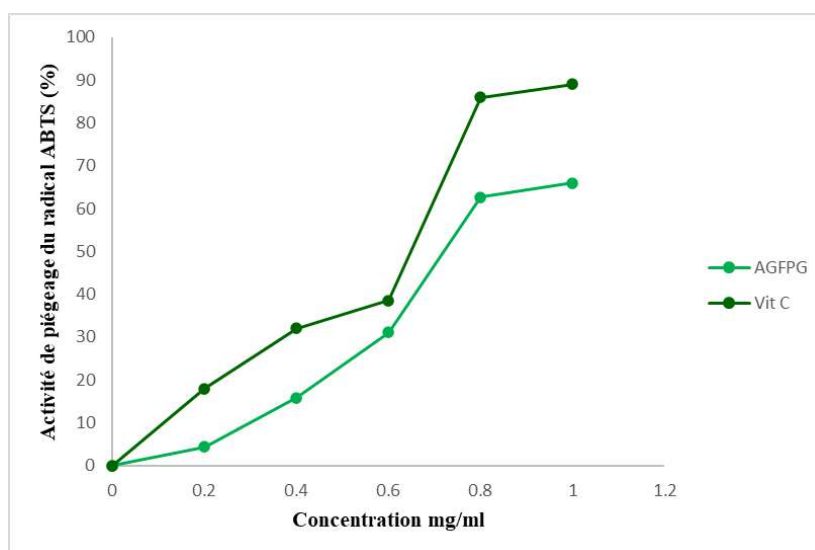


Figure III.17: Activité de piégeage de radical libre ABTS par l'AGFPG ou l'acide ascorbique

Le pouvoir réducteur ferrique des AgNPs augmente avec la concentration en AgNPs (Figure III.18). La capacité de réduction des AgNPs à une concentration de 0.1 mg/ml est de $A_{700} = 0,061$ nm. Dans une étude sur des AgNPs biosynthétisés par un extrait aqueux de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae), le pouvoir réducteur était de $A_{700} = 0.0489$ nm [364].

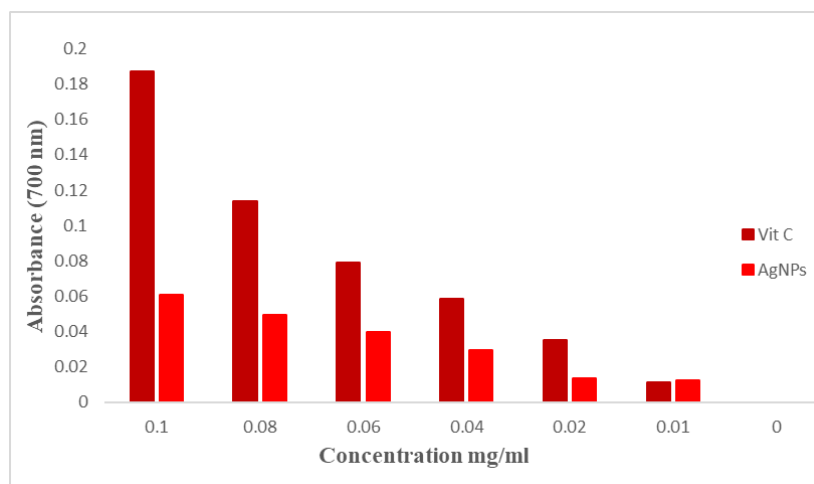


Figure III.18: Pouvoir réducteur ferrique par des AgNPs ou de l'acide ascorbique

Les résultats des tests de DPPH, d'ABTS et du pouvoir réducteur ferrique, suggèrent que l'AGFPG et les AgNPs biosynthétisés présentent des capacités antioxydantes appréciables. Il existe une relation et une corrélation étroites entre la structure des polysaccharides et la capacité antioxydante. Le poids moléculaire, la composition en monosaccharides, le type de liaison, le degré de ramification et la conformation peuvent être les facteurs déterminants de cette association [300,365]. Les polysaccharides de faible poids moléculaire ont souvent une activité antioxydante plus forte en raison de leurs terminaisons de groupe hydroxyle plus réductrices. Les polysaccharides de poids moléculaire élevé limitent leur accessibilité et leur mobilité aux radicaux [366,367].

Zhong *et al.* (2012) ont signalé que les polysaccharides contenant du rhamnose, du galactose et du mannose présentaient une forte activité de piégeage des radicaux [368]. Dans une étude sur un galactomannane extrait de *Sesbania cannabina* chinois, Li *et al.* (2020) notent que la capacité de piégeage des radicaux libres peut être due au galactose et au mannose, qui peuvent donner des atomes d'hydrogène aux radicaux [362].

Les polysaccharides contiennent des groupes hydroxyles (OH) essentiels à leur action antioxydante. La capacité du polysaccharide à donner de l'hydrogène est à l'origine de son activité

antioxydante [369].

Pour Bedlovičová *et al.* (2020); Ahmed *et al.* (2019); Kanipandian et Thirumurugan (2014); Shanmugasundaram *et al.* (2013) et Mittal *et al.* (2012), le mécanisme possible de l'activité antioxydante des AgNPs produits par des méthodes biologiques est dû à leur capacité à donner des électrons [288,370–373].

La capacité des AgNPs synthétisées par des méthodes biologiques à donner des protons aux radicaux libres est due aux composés bioactifs présents dans l'extrait qui recouvre la surface des AgNPs, ce qui explique leur activité antioxydante [361,364,373,374]. Sriranjani *et al.* (2016) et Saravanakumar *et al.* (2015) ont suggéré qu'en plus de la présence de molécules de coiffage à la surface des AgNPs, la petite taille et la dispersion sont des raisons de l'activité antioxydante des AgNPs biosynthétisés [375,376].

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire d'AGFPG et de diclofénac sont présentés sur la figure III.19. A une concentration de 1 mg/ml, l'activité inhibitrice de l'AGFPG est plus importante que celle du diclofenac avec des valeurs de 60.6 % et 53 %, respectivement. A la même concentration, une valeur inférieure de 14.89 % a été trouvée dans une étude menée sur le galactomannane extrait de graines d'*Alhagi maurorum* [315].

Au vu des résultats de l'étude l'extrait polysaccharidique AGFPG, identifié comme un galactomannane, possède une bonne activité inhibitrice sur la dénaturation de la BSA et que cette inhibition est dépendante de la concentration.

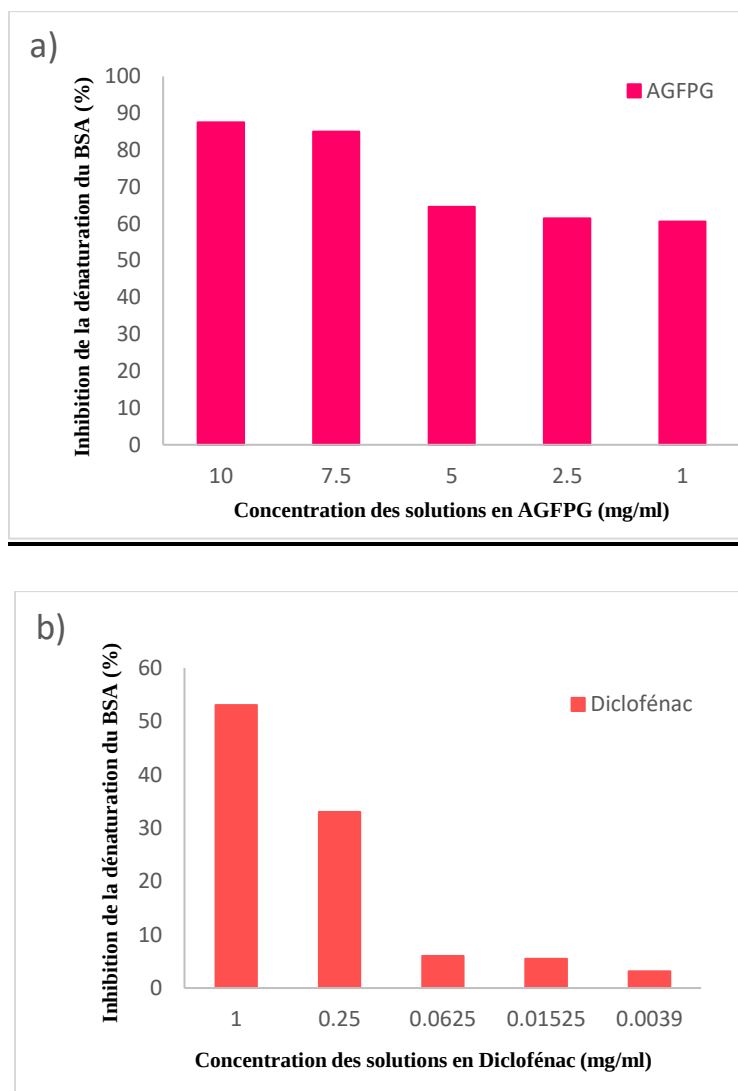


Figure III.19: Activité anti-inflammatoire (% d'inhibition de la dénaturation du BSA), a) Extrait polysaccharidique AGFPG ; b)- Diclofénac

Selon Chandra *et al.* (2012), la dénaturation des protéines augmente la viscosité du milieu. Le changement de la viscosité peut soutenir l'effet protecteur de dénaturation de la BSA [377]. L'analyse par RMN de la BSA a révélé que la voie biologique globale contient deux sites actifs avec les acides aminés lysine, tyrosine et thréonine. Les molécules bioactives peuvent se lier à ces sites, activant et régulant la transduction du signal [378,379]. L'effet peut être attribué au fait que les molécules bioactives se lient aux protéines plasmatiques, les protégeant ainsi des agressions [380]. Pour Abbou *et al.* (2019), le mécanisme exact par lequel fonctionne l'inhibition de la dénaturation des protéines n'est pas encore bien compris [381].

Conclusion et perspectives

La caractérisation et le potentiel biologique des polysaccharides issus d'*Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae), débutent par une macération à l'eau chaude suivie d'une précipitation éthanolique. Le rendement d'extraction de polysaccharides hydrosolubles des graines (AGFPG) est de 10.4 % (m/m). Les dosages colorimétriques de l'extrait AGFPG ont révélé des teneurs en oses totaux (83.09 ± 0.03 %), en protéines (8.39 ± 0.01 %) et en composés phénoliques (4.64 ± 0.003 %). Les faibles teneurs en protéines et en composés phénoliques et la teneur élevée en oses totaux confirment que la méthode d'extraction était appropriée et efficace. Les résultats de l'analyse par FTIR-ATR, CCM, HPLC et RMN de l'extrait polysaccharidique AGFPG indique que c'est un galactomannane composé de β -D-mannose (60.5 %) et d' α -D-galactose (39.95 %) avec un rapport Man/Gal de 1.51. Le rapport Man/Gal est un facteur clé pour différencier les galactomannanes et leur solubilité dans l'eau. L'AGFPG présente un rapport Man/Gal indiquant sa grande solubilité et par conséquent la possibilité de son utilisation dans différentes applications industrielles.

La biosynthèse d'AgNPs par l'AGFPG se manifeste par un changement de coloration du milieu réactionnel allant de l'incolore à brun et avec un spectre UV-vis montrant un pic à 423 nm. Le DRX diagramme des AgNPs biosynthétisés a révélé leur nature cristalline avec une structure cubique à faces centrées (FCC).

La micrographie d'AGFPG par MEB montre de grandes feuilles minces aux surfaces lisses et de tailles variées, ainsi que des particules fragmentées adhérant les unes aux autres dans des réseaux fortement interconnectés avec des pores. Cette morphologie offre de nombreuses possibilités d'utilisation de l'AGFPG galactomannane dans de nombreuses applications industrielles. Les images MEB révèle la forme sphérique des AgNPs biosynthétisés. La présence d'argent dans les AgNPs biosynthétisés est confirmée par la spectroscopie EDX et la présence de pics d'oxygène et de carbone confirme le rôle de l'AGFPG en tant qu'agent stabilisateur et de coiffage. Les valeurs des potentiels zêta de l'AGFPG et des AgNPs biosynthétisés sont de -12,4 mV et -48.6 mV respectivement. Ces valeurs montrent une tendance de l'AGFPG à s'agréger et la stabilité remarquable des AgNPs biosynthétisés.

Les résultats ont montré que les AgNPs biosynthétisés possédaient une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*, 4 bactéries Gram négatives et 4 bactéries Gram positives. En revanche, l'AGFPG n'a aucune activité antimicrobienne. L'AGFPG présente une

activité antioxydante significative contre les radicaux libres DPPH et ABTS avec des valeurs d'IC₅₀ de 0.59 mg/ml et 0.76 mg/ml, respectivement. Les AgNPs biosynthétisés ont une activité de piégeage de radicaux libres DPPH de 90.61 %, et une capacité de réduction ferrique de A₇₀₀ = 0,061 nm à une concentration de 0.1 mg/ml. Ces résultats des tests de DPPH, d'ABTS et du pouvoir réducteur ferrique, suggèrent que l'AGFPG et les AgNPs biosynthétisés présentent des capacités antioxydantes appréciables. Au vu des résultats de l'étude d'activité anti-inflammatoire, l'AGFPG présente une bonne activité inhibitrice sur la dénaturation de la BSA. Cette inhibition est dose dépendante.

Dans la synthèse biologique des AgNPs, l'AGFPG laisse apparaître qu'il pouvait servir à la fois comme agent réducteur pour réduire des ions d'argent et agent stabilisateur. Par conséquent, il peut être utilisé comme un agent réducteur naturel extrait de plante dans la synthèse biologique d'autres nanoparticules.

Les AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG ont des activités antioxydantes et antimicrobienne appréciables, ce qui en font des candidats prometteurs pour une utilisation en tant que nouveaux agents antimicrobiens dans des applications pharmaceutiques, biomédicales et industrielles.

En perspectives, pour approfondir l'étude sur les polysaccharides extraits de graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel et les AgNPs de leur biosynthèse, des études complémentaires doivent être menées, notamment :

- Caractérisation rhéologique du galactomannane AGFPG et détermination de leur poids moléculaire ;
- Evaluation de l'activité anti-hyperglycémiant de l'AGFPG ;
- Réalisation d'autre testes pour évaluer le potentiel anti-inflammatoire de l'AGFPG ;
- Evaluer le potentiel de l'AGFPG dans la synthèse biologique d'autre nanoparticules ;
- Tester les AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG en tant que nouvel agent antimicrobien contre les bactéries multirésistantes ;
- Evaluer le potentiel des AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG pour d'autres activités biologiques.

Références bibliographiques

- [1] Meng Y., Lyu F., Xu, X. et Zhang L., 2020.- Recent advances in chain conformation and bioactivities of triple-helix polysaccharides. *Biomacromolecules*, 21(5): 1653–1677. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01644>
- [2] Barbosa J. R. et de Carvalho Junior R. N., 2021.- Polysaccharides obtained from natural edible sources and their role in modulating the immune system: Biologically active potential that can be exploited against COVID-19. *Trends in Food Science and Technology*, 108, 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.026>
- [3] Mohammed A. S. A., Naveed M. et Jost N., 2021.- Polysaccharides; classification, chemical properties, and future perspective applications in fields of pharmacology and biological medicine (A review of current applications and upcoming potentialities). *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8): 2359–2371. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02052-2>
- [4] Niyigaba T., Liu D. et Habimana J. de D., 2021.- The extraction, functionalities and applications of plant polysaccharides in fermented foods: A review. *Foods*, 10(12): <https://doi.org/10.3390/foods10123004>
- [5] Muthusamy S., Udayakumar G. P. et Narala V. R., 2021.- Recent advances in the extraction and characterization of seed polysaccharides, and their bioactivities: Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 26, 100276. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100276>
- [6] Cai Y., Si Z., Jiang Y., Ye M., Wang F., Yang X., Yu J., Gao X. et Liu W., 2023.- Structure-activity relationship of low molecular weight *Astragalus membranaceus* polysaccharides produced by *Bacteroides*. *Carbohydrate Polymers*, 316: 1–48. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121036>
- [7] Shi L., 2016.- Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92: 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.100>
- [8] Ozenda P., 2004.- Flore et végétation du Sahara (3rd ed.). CNRS Editions, Pp. 298-300.
- [9] Sami F., Yusuf M., Faizan M., Faraz A. et Hayat S., 2016.- Role of sugars under abiotic

- stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109: 54–61.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>
- [10] Aftab T. et Hakeem K. R., 2021.- Plant Growth Regulators (Signalling under Stress Conditions). In Springer Nature (Springer, Vol. 65, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/978-3-030-61153-8>
- [11] Prajapati V. D., Jani G. K., Moradiya N. G., Randeria N. P., Nagar B. J., Naikwadi N. N. et Variya B. C., 2013.- Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60: 83–92.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.017>
- [12] Yadav H. et Maiti S., 2020.- Research progress in galactomannan-based nanomaterials: Synthesis and application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163: 2113–2126. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.062>
- [13] Khan S. U., Saleh T. A., Wahab A., Khan M. H. U., Khan D., Khan W. U., Rahim A., Kamal S., Khan F. U. et Fahad S., 2018.- Nanosilver: New ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. *International Journal of Nanomedicine*, 13: 733–762.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S153167>
- [14] DeAngelis P. L., 1999.- Molecular directionality of polysaccharide polymerization by the *Pasteurella multocida* hyaluronan synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 274(37): 26557–26562. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.37.26557>
- [15] Sindhu R. K., Goyal A., Das J., Neha C. S. et Kumar P., 2021.- Immunomodulatory potential of polysaccharides derived from plants and microbes: A narrative review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100044.
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100044>
- [16] Rademacher T. W., Parekh R. B. et Dwek R. A., 1988.- Glycobiology. *Annual Review of Biochemistry*, 57: 785–838.
- [17] Hamann T., 2015.- The plant cell wall integrity maintenance mechanism - A case study of a cell wall plasma membrane signaling network. *Phytochemistry*, 112(1): 100–109.

- <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.019>
- [18] Schaefer L. et Schaefer R. M., 2010.- Proteoglycans: From structural compounds to signaling molecules. *Cell and Tissue Research*, 339(1): 237–246. <https://doi.org/10.1007/s00441-009-0821-y>
- [19] Rosin P. M., Lajolo F. M. et Menezes E. W., 2002.- Measurement and characterization of dietary starches. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(4): 367–377. <https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1084>
- [20] Fan Y., Liu Y., Wu Y., Dai F., Yuan M., Wang, F., Bai Y. et Deng H., 2021.- Natural polysaccharides based self-assembled nanoparticles for biomedical applications – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192: 1240–1255. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.074>
- [21] Kyzas G. Z., Bikiaris D. N. et Mitropoulos A. C., 2017.- Chitosan adsorbents for dye removal: a review. *Polymer International*, 66(12): 1800–1811. <https://doi.org/10.1002/pi.5467>
- [22] Munteanu S. B. et Vasile C., 2020.- Vegetable additives in food packaging polymeric materials. *Polymers*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/polym12010028>
- [23] Zhang M., Zhang Y., Ma X., Liu X., Niu M., Yao R. et Zhang L., 2020.- Using a PCR instrument to hydrolyze polysaccharides for monosaccharide composition analyses. *Carbohydrate Polymers*, 240, 116338. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116338>
- [24] Kurzyna-Szklarek M., Cybulska J. et Zdunek A., 2022.- Analysis of the chemical composition of natural carbohydrates – An overview of methods. *Food Chemistry*, 394, 133466. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133466>
- [25] Alagbe E. E., Amlabu Y. S., Daniel E. O. et Ojewumi M. E., 2020.- Effect of varying drying temperature on the soluble sugar and nutritional content of banana. *The Open Chemical Engineering Journal*, 14(1): 11–16. <https://doi.org/10.2174/1874123102014010011>
- [26] Taiz L. et Zeiger E., 2002.- *Plant Physiology* (3rd ed). Sinauer Associates, 690 pp. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg079>

- [27] Tunçer S., 2021.- Biopolysaccharides: properties and applications. In Polysaccharides (Scrivener). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119711414>
- [28] BeMiller J. N., 2019.- Carbohydrate chemistry for food scientists. In Carbohydrate Chemistry for Food Scientists (3rd ed). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-01960-5>
- [29] Posocco B., Dreussi E., De Santa J., Toffoli G., Abrami M., Musiani F., Grassi M., Farra R., Tonon F., Grassi G. et Dapas B., 2015.- Polysaccharides for the delivery of antitumor drugs. *Materials*, 8(5): 2569–2615. <https://doi.org/10.3390/ma8052569>
- [30] Yu Y., Shen M., Song Q. et Xie J., 2018.- Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: *Carbohydrate Polymers*, 183(235): 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.009>
- [31] Rigouin C., Ladrat C. D., Sinquin C., Collic-Jouault S. et Dion M., 2009.- Assessment of biochemical methods to detect enzymatic depolymerization of polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 76(2): 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.10.022>
- [32] Yang J., Han S., Zheng H., Dong H. et Liu J., 2015.- Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 123: 53–66. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.029>
- [33] Pushpamalar J., Veeramachineni A. K., Owh C. et Loh X. J., 2016.- Biodegradable polysaccharides for controlled drug delivery. *Chem Plus Chem*, 81(6): 504–514. <https://doi.org/10.1002/cplu.201600112>
- [34] Li Q., Niu Y., Xing P. et Wang C., 2018.- Bioactive polysaccharides from natural resources including Chinese medicinal herbs on tissue repair. *Chinese Medicine*, 13(1): 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0166-0>
- [35] Ren Y., Bai Y., Zhang Z., Cai W. et Del Rio Flores A., 2019.- The preparation and structure analysis methods of natural polysaccharides of plants and fungi: *Molecules*, 24(17): <https://doi.org/10.3390/molecules24173122>
- [36] Nayak A. K., Hasnain M. S. et Pal D., 2023.- Plant polysaccharides as pharmaceutical excipients (Elsevier). <https://doi.org/10.1016/C2020-0-03919-8>

- [37] Li J. et Huang G., 2021.- Extraction, purification, separation, structure, derivatization and activities of polysaccharide from Chinese date. *Process Biochemistry*, 110: 231–242. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.08.018>
- [38] Chen G., Fang C., Ran C. X., Tan Y., Yu Q. et Kan J., 2019.- Comparison of different extraction methods for polysaccharides from bamboo shoots (*Chimonobambusa quadrangularis*) processing by-products. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130: 903–914. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.038>
- [39] Wu H., Shang H., Guo Y., Zhang H. et Wu H., 2020.- Comparison of different extraction methods of polysaccharides from cup plant (*Silphium perfoliatum* L.). *Process Biochemistry*, 90: 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.11.003>
- [40] Abuduwaili A., Rozi P., Mutailifu P., Gao Y., Nuerxiati R., Aisa H. A. et Yili A., 2019.- Effects of different extraction techniques on physicochemical properties and biological activities of polysaccharides from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk. *Process Biochemistry*, 83: 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.020>
- [41] Fu Y., Li F., Ding Y., Li H. Y., Xiang X. R., Ye Q., Zhang J., Zhao L., Qin W., Gan R. Y. et Wu D. T., 2020.- Polysaccharides from loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves: Impacts of extraction methods on their physicochemical characteristics and biological activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146: 508–517. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.273>
- [42] Guo Q., Ai L. et Cui S., 2018.- Methodology for structural analysis of polysaccharides. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9>
- [43] Ma X., Yang M., He Y., Zhai C. et Li C., 2021.- A review on the production, structure, bioactivities and applications of Tremella polysaccharides. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35(1979): 1–14. <https://doi.org/10.1177/20587384211000541>
- [44] Liu J., Willför S. et Xu C., 2015.- A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1): 31–61. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.12.001>

- [45] Yao H. Y. Y., Wang J. Q., Yin J. Y., Nie S. P. et Xie M. Y., 2021.- A review of NMR analysis in polysaccharide structure and conformation: Progress, challenge and perspective. *Food Research International*, 143: 110290. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110290>
- [46] Sims I. M., Carnachan S. M., Bell T. J. et Hinkley S. F. R., 2018.- Methylation analysis of polysaccharides: Technical advice. *Carbohydrate Polymers*, 188: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.075>
- [47] Held D. et Kilz P., 2021.- Size-exclusion chromatography as a useful tool for the assessment of polymer quality and determination of macromolecular properties. *Chemistry Teacher International*, 3(2): 77–103. <https://doi.org/10.1515/cti-2020-0024>
- [48] Oberlerchner J. T., Rosenau T. et Potthast A., 2015.- Overview of methods for the direct molar mass determination of cellulose. *Molecules*, 20(6): 10313–10341. <https://doi.org/10.3390/molecules200610313>
- [49] Cole J. L., Lary J. W., Moody T. P. et Laue T. M., 2008.- Analytical ultracentrifugation: sedimentation velocity and sedimentation equilibrium. In *Methods in Cell Biology* 84(7): 143–179). Elsevier Inc. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(07\)84006-4](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(07)84006-4)
- [50] Ono Y. et Isogai A., 2021.- Analysis of celluloses, plant holocelluloses, and wood pulps by size-exclusion chromatography/multi-angle laser-light scattering. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117045. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117045>
- [51] Guo X., Kang J., Xu Z., Guo Q., Zhang L., Ning H. et Cui S. W., 2021.- Triple-helix polysaccharides: Formation mechanisms and analytical methods. *Carbohydrate Polymers*, 262: 117962. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117962>
- [52] Du B., Nie S., Peng F., Yang Y. et Xu B., 2022.- A narrative review on conformational structure characterization of natural polysaccharides. *Food Frontiers*, 3(4): 631–640. <https://doi.org/10.1002/fft2.150>
- [53] MuKherjee S., Jana S., Khawas S., Kicuntod J., Marschall M., Ray B. et Ray S., 2022.- Synthesis, molecular features and biological activities of modified plant polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 289, 119299. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119299>

- [54] Huang G., Chen F., Yang W. et Huang H., 2021.- Preparation, deproteinization and comparison of bioactive polysaccharides. *Trends in Food Science and Technology*, 109: 564–568. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.038>
- [55] Liu Z. H., Niu F. J., Xie Y. X., Xie S. M., Liu Y. N., Yang Y. Y., Zhou C. Z. et Wan X. H., 2020.- A review: Natural polysaccharides from medicinal plants and microorganisms and their anti-herpetic mechanism. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 129, 110469. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110469>
- [56] Jin M. Y., Li M. Y., Huang R. M., Wu X. Y., Sun Y. M. et Xu Z. L., 2021.- Structural features and anti-inflammatory properties of pectic polysaccharides: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 107: 284–298. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.042>
- [57] Hou C., Chen L., Yang L. et Ji X., 2020.- An insight into anti-inflammatory effects of natural polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153: 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.315>
- [58] Du B., Lin C., Bian Z. et Xu B., 2015.- An insight into anti-inflammatory effects of fungal beta-glucans. *Trends in Food Science and Technology*, 41(1): 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.002>
- [59] Mueller M., Hobiger S. et Jungbauer A., 2010.- Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chemistry*, 122(4): 987–996. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.041>
- [60] Zhu F., Du B. et Xu B., 2018.- Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58(8): 1260–1270. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1251390>
- [61] Wu G. J., Shiu S. M., Hsieh M. C. et Tsai G. J., 2016.- Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum cristaefolium*. *Food Hydrocolloids*, 53: 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.019>
- [62] Karin M. et Ben-neriah Y., 2000.- Phosphorylation meets the ubiquitination: The Control of NF- κ B Activity. *Annual Review of Immunology*, 18: 621–663.

- [63] Levy-Ontman O., Huleihel M., Hamias R., Wolak T. et Paran E., 2017.- An anti-inflammatory effect of red microalga polysaccharides in coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis*, 264: 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.07.017>
- [64] Paunovic V. et Harnett M. M., 2013.- Mitogen-activated protein kinases as therapeutic targets for rheumatoid arthritis. *Drugs*, 73(2): 101–115. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0014-6>
- [65] Danne C., Ryzhakov G., Martínez-López M., Ilott N. E., Franchini F., Cuskin F., Lowe E. C., Bullers S. J., Arthur J. S. C. et Powrie F., 2017.- A large polysaccharide produced by *helicobacter hepaticus* induces an anti-inflammatory gene signature in macrophages. *Cell Host and Microbe*, 22(6): 733–745. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.11.002>
- [66] Wang Y., Zhang N., Kan J., Zhang X., Wu X., Sun R., Tang S., Liu J., Qian C. et Jin C., 2019.- Structural characterization of water-soluble polysaccharide from *Arctium lappa* and its effects on colitis mice. *Carbohydrate Polymers*, 213: 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.090>
- [67] Thomson P., Medina D. A., Ortúzar V., Gotteland M. et Garrido D., 2018.- Anti-inflammatory effect of microbial consortia during the utilization of dietary polysaccharides. *Food Research International*, 109: 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.008>
- [68] Zhang K., Liu Y., Zhao X., Tang Q., Dervedde J., Zhang J. et Fan H., 2018.- Anti-inflammatory properties of GLPss58, a sulfated polysaccharide from *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(PartA): 486–493. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.015>
- [69] Qin C., Fan W. H., Liu Q., Shang K., Murugan M., Wu L. J., Wang W. et Tian D. S., 2017.- Fingolimod protects against ischemic white matter damage by modulating microglia toward M2 polarization via STAT3 pathway. *Stroke*, 48(12): 3336–3346. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.018505>
- [70] Chu Q., Zhang S., Yu L., Li Y., Liu Y., Ye X. et Zheng X., 2019.- *Apios americana* Medikus tuber polysaccharide exerts anti-inflammatory effects by activating autophagy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130: 892–902.

- <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.012>
- [71] Meng L. Z., Feng K., Wang L. Y., Cheong K. L., Nie H., Zhao J. et Li S. P., 2014.- Activation of mouse macrophages and dendritic cells induced by polysaccharides from a novel *Cordyceps sinensis* fungus UM01. *Journal of Functional Foods*, 9(1): 242–253. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.029>
- [72] Zhang X., Qi C., Guo Y., Zhou W. et Zhang Y., 2016.- Toll-like receptor 4-related immunostimulatory polysaccharides: Primary structure, activity relationships, and possible interaction models. *Carbohydrate Polymers*, 149: 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.097>
- [73] Xu X., Chang Y., Xue C., Wang J. et Shen J., 2018.- Gastric protective activities of Sea Cucumber fucoidans with different molecular weight and chain conformations: A structure-activity relationship investigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(32): 8615–8622. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01497>
- [74] Choi J. I., Kim H. J. et Lee J. W., 2011.- Structural feature and antioxidant activity of low molecular weight laminarin degraded by gamma irradiation. *Food Chemistry*, 129(2): 520–523. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.078>
- [75] Palleschi A., Bocchinfuso G., Coviello T. et Alhaique F., 2005.- Molecular dynamics investigations of the polysaccharide scleroglucan: First study on the triple helix structure. *Carbohydrate Research*, 340(13): 2154–2162. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.06.026>
- [76] Tseng Y. H., Yang J. H. et Mau J. L., 2008.- Antioxidant properties of polysaccharides from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 107(2): 732–738. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.073>
- [77] Wang Z. J., Xie J. H., Nie S. P. et Xie M. Y., 2017.- Review on cell models to evaluate the potential antioxidant activity of polysaccharides. *Food and Function*, 8(3): 915–926. <https://doi.org/10.1039/c6fo01315e>
- [78] Chen Y., Yao F., Ming K., Wang D., Hu Y. et Liu J., 2016.- Polysaccharides from traditional Chinese medicines: Extraction, purification, modification, and biological activity.

- Molecules, 21(12). <https://doi.org/10.3390/molecules21121705>
- [79] Xue H., Gan F., Zhang Z., Hu J., Chen X. et Huang K., 2015.- Astragalus polysaccharides inhibits PCV2 replication by inhibiting oxidative stress and blocking NF- κ B pathway. International Journal of Biological Macromolecules, 81: 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.050>
- [80] Jin Y., Liu K., Peng J., Wang C., Kang L., Chang N. et Sun H., 2015.- Rhizoma Dioscoreae Nipponicae polysaccharides protect HUVECs from H₂O₂-induced injury by regulating PPAR γ factor and the NADPH oxidase/ROS-NF- κ B signal pathway. Toxicology Letters, 232(1): 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.10.006>
- [81] Yarley O. P. N., Kojo A. B., Zhou C., Yu X., Gideon A., Kwadwo H. H. et Richard O., 2021.- Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant, antibacterial and anticancer activities of water-soluble plant polysaccharides. International Journal of Biological Macromolecules, 183: 2262–2271. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.181>
- [82] Wang J., Hu S., Nie S., Yu Q. et Xie M., 2016.- Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant activity of polysaccharides. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016: 1–13. <https://doi.org/10.1155/2016/5692852>
- [83] Kardošová A. et Machová E., 2006.- Antioxidant activity of medicinal plant polysaccharides. Fitoterapia, 77(5): 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.05.001>
- [84] Yan Y., Li X., Wan M., Chen J., Li S., Cao M. et Zhang D., 2015.- Effect of extraction methods on property and bioactivity of water-soluble polysaccharides from Amomum villosum. Carbohydrate Polymers, 117: 632–635. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.070>
- [85] Wang C. C., Chang S. C., Inbaraj B. S. et Chen B. H., 2010.- Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. Food Chemistry, 120(1): 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.005>
- [86] Chen G., Bu F., Chen X., Li C., Wang S. et Kan J., 2018.- Ultrasonic extraction, structural

- characterization, physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from bamboo shoots (*Chimonobambusa quadrangularis*) processing by-products. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112(2017): 656–666. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.013>
- [87] Xu Z., Wang B., Fu L., Wang H., Liu J., Zhou L., Yuan M. et Ding C., 2019.- Optimization extraction, purification and antioxidant activities of polysaccharides from penthorum chinense pursh. *International Journal of Food Engineering*, 15(3–4): 1–11. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2018-0152>
- [88] Xu S. F., Ye Y. P., Li X. Y. et Chen F. Y., 2011.- Chemical composition and antioxidant activities of different polysaccharides from the roots of angelica dahurica. *Chemistry and Biodiversity*, 8(6): 1121–1131. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000233>
- [89] Ge Q., Mao J. W., Guo X. Q., Zhou Y. F., Yin J. et Mao S. R., 2013.- Composition and antioxidant activities of four polysaccharides extracted from *Herba lophatheri*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60: 437–441. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.011>
- [90] Lo T. C. T., Chang C. A., Chiu K. H., Tsay P. K. et Jen J. F., 2011.- Correlation evaluation of antioxidant properties on the monosaccharide components and glycosyl linkages of polysaccharide with different measuring methods. *Carbohydrate Polymers*, 86(1): 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.056>
- [91] Wang H., Li H., Hou Y., Zhang P. et Tan M., 2023.- Plant polysaccharides: sources, structures, and antidiabetic effects. *Current Opinion in Food Science*, 51: 101013. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101013>
- [92] Li W., Lin K., Zhou M., Xiong Q., Li C. et Ru Q., 2020.- Polysaccharides from *Opuntia milpa alta* alleviate alloxan-induced INS-1 cells apoptosis via reducing oxidative stress and upregulating Nrf2 expression. *Nutrition Research*, 77(8): 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.02.004>
- [93] Li F., Wei Y., Liang L., Huang L., Yu G. et Li Q., 2021.- A novel low-molecular-mass pumpkin polysaccharide: Structural characterization, antioxidant activity, and

- hypoglycemic potential. Carbohydrate Polymers, 251: 117090. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117090>
- [94] Rohm T. V., Meier D. T., Olefsky J. M. et Donath M. Y., 2022.- Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. Immunity, 55(1): 31–55. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>
- [95] Wang Z., Wang Z., Huang W., Suo J., Chen X., Ding K., Sun Q. et Zhang H., 2020.- Antioxidant and anti-inflammatory activities of an anti-diabetic polysaccharide extracted from *Gynostemma pentaphyllum* herb. International Journal of Biological Macromolecules, 145: 484–491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.213>
- [96] Chen X., Tong Y. L., Ren Z. M., Chen S., Mei X. Y., Zhou Q. Y. et Dai G. H., 2023.- Hypoglycemic mechanisms of *Polygonatum sibiricum* polysaccharide in db/db mice via regulation of glycolysis/gluconeogenesis pathway and alteration of gut microbiota. Heliyon, 9(4): e15484. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15484>
- [97] Xia X., Wang X., Wang H., Lin Z., Shao K., Xu J. et Zhao Y., 2021.- Ameliorative effect of white tea from 50-year-old tree of *Camellia sinensis* L., (Theaceae) on kidney damage in diabetic mice via SIRT1/AMPK pathway. Journal of Ethnopharmacology, 272: 113919. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113919>
- [98] Dong J., Liang Q., Niu Y., Jiang S., Zhou L., Wang J., Ma C. et Kang W., 2020.- Effects of *Nigella sativa* seed polysaccharides on type 2 diabetic mice and gut microbiota. International Journal of Biological Macromolecules, 159: 725–738. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.042>
- [99] Kakar M. U., Naveed M., Saeed M., Zhao S., Rasheed M., Firdoos S., Manzoor R., Deng Y. et Dai R., 2020.- A review on structure, extraction, and biological activities of polysaccharides isolated from *Cyclocarya paliurus* (Batalin) Iljinskaja. International Journal of Biological Macromolecules, 156: 420–429. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.022>
- [100] Zeng J., Li D., Li Z., Zhang J. et Zhao X., 2020.- *Dendrobium officinale* attenuates myocardial fibrosis via inhibiting EMT signaling pathway in HFD/STZ-induced diabetic

- mice. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 43(5): 864–872.
<https://doi.org/10.1248/BPB.B19-01073>
- [101] Wu G., Bai Z., Wan Y., Shi H., Huang X. et Nie S., 2020.- Antidiabetic effects of polysaccharide from azuki bean (*Vigna angularis*) in type 2 diabetic rats via insulin/PI3K/AKT signaling pathway. Food Hydrocolloids, 101: 105456.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105456>
- [102] Chen M., Xu J., Wang Y., Wang Z., Guo L., Li X. et Huang L., 2020.- *Arctium lappa* L. polysaccharide can regulate lipid metabolism in type 2 diabetic rats through the SREBP-1/SCD-1 axis. Carbohydrate Research, 494: 108055.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108055>
- [103] Li X., Liu H., Yang H. R. et Zeng Y. J., 2022.- Hypoglycemic Effects of Novel Panax notoginseng Polysaccharide in Mice with Diet-Induced Obesity. Foods, 11(19): 1–11.
<https://doi.org/10.3390/foods11193101>
- [104] Lv Q. Q., Cao J. J., Liu R. et Chen H. Q., 2021.- Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from wheat bran. Food Chemistry, 341, 128218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128218>
- [105] Yang Z. M., Wang Y. et Chen S. Y., 2021.- Astragalus polysaccharide alleviates type 2 diabetic rats by reversing the glucose transporters and sweet taste receptors/GLP-1/GLP-1 receptor signaling pathways in the intestine-pancreatic axis. Journal of Functional Foods, 76, 104310. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104310>
- [106] Zhao C., Zhao H., Zhang C. C., Yang X. H., Chen K., Xue Y., Li Q., Deng S. Y. et Cai H. Z., 2023.- Impact of Lycium barbarum polysaccharide on the expression of glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo. International Journal of Biological Macromolecules, 224: 908–918. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.176>
- [107] Zhou W., Yang T., Xu W., Huang Y., Ran L., Yan Y., Mi J., Lu L., Sun Y., Zeng X. et Cao Y., 2022.- The polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum* L. confer anti-diabetic effect by regulating gut microbiota and intestinal barrier. Carbohydrate Polymers, 291, 119626. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119626>

- [108] Chen H., Nie Q., Hu J., Huang X., Huang W. et Nie S., 2020.- Metabolism amelioration of *Dendrobium officinale* polysaccharide on type II diabetic rats. *Food Hydrocolloids*, 102: 1–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105582>
- [109] Yao Y., Yan L., Chen H., Wu N., Wang W. et Wang D., 2020.- Cyclocarya paliurus polysaccharides alleviate type 2 diabetic symptoms by modulating gut microbiota and short-chain fatty acids. *Phytomedicine*, 77: 153268. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153268>
- [110] Zhou Z., Ye F., Lei L., Zhou S. et Zhao G., 2022. Fabricating low glycaemic index foods: Enlightened by the impacts of soluble dietary fibre on starch digestibility. *Trends in Food Science and Technology*, 122: 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.016>
- [111] Zhang H., Li Z., Zhang L., Lai P. F. H., Tian Y., Cui S. W. et Ai L., 2021.- Effects of soluble dietary fibers on the viscosity property and digestion kinetics of corn starch digesta. *Food Chemistry*, 338: 127825. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127825>
- [112] Chen M., Guo L., Nsor-Atindana J., Goff H. D., Zhang W., Mao J. et Zhong F., 2020.- The effect of viscous soluble dietary fiber on nutrient digestion and metabolic responses I: In vitro digestion process. *Food Hydrocolloids*, 107: 105971. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105971>
- [113] Ji X., Guo J., Cao T., Zhang T., Liu Y. et Yan Y., 2023.- Review on mechanisms and structure-activity relationship of hypoglycemic effects of polysaccharides from natural resources. *Food Science and Human Wellness*, 12(6): 1969–1980. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2023.03.017>
- [114] Deng Y., Huang L., Zhang C., Xie P., Cheng J., Wang X. et Liu L., 2020.- Novel polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* seeds: Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153: 755–766. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.057>
- [115] Guo L., Yokoyama W., Chen L., Liu F., Chen M. et Zhong F., 2021.- Characterization and physicochemical properties analysis of konjac glucomannan: Implications for structure-properties relationships. *Food Hydrocolloids*, 120: 106818.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106818>
- [116] Kang J., Yin S., Liu J., Li C., Wang N., Sun J., Li W., He J., Guo Q. et Cui S. W., 2022.- Fermentation models of dietary fibre in vitro and in vivo - A review. *Food Hydrocolloids*, 131, 107685. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107685>
- [117] Chen J., Li L., Zhang X., Wan L., Zheng Q., Xu D., Li Y., Liang Y., Chen M., Li B. et Chen Z., 2021.- Structural characterization of polysaccharide from *Centipeda minima* and its hypoglycemic activity through alleviating insulin resistance of hepatic HepG2 cells. *Journal of Functional Foods*, 82, 104478. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104478>
- [118] Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A. et Bray F., 2021. Global cancer statistics 2020.- GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3): 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [119] Ju H., Yu C., Zhang X. D., Liu W., Wu Y. C., Gong P. X., Li H. H., Liu Y. et Li H. J., 2023.- Recent trends in anti-cancer activities of terrestrial plants-based polysaccharides: *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6: 100341. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100341>
- [120] He J. Q., Zheng M. X., Ying H. Z., Zhong Y. S., Zhang H. H., Xu M. et Yu C. H., 2020.- PRP1 a heteropolysaccharide from *Platycodonis Radix*, induced apoptosis of HepG2 cells via regulating miR-21-mediated PI3K/AKT pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158: 542–551. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.193>
- [121] Liu C., Dai K. Y., Ji H. Y., Jia X. Y. et Liu A. J., 2022.- Structural characterization of a low molecular weight *Bletilla striata* polysaccharide and antitumor activity on H22 tumor-bearing mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 205(29): 553–562. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.073>
- [122] Tao S., Ren Z., Yang Z., Duan S., Wan Z., Huang J., Liu C. et Wei G., 2021.- Effects of different molecular weight polysaccharides from *Dendrobium officinale* Kimura et Migo on human colorectal cancer and transcriptome analysis of differentially expressed genes. *Frontiers in Pharmacology*, 12: 1–15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.704486>

- [123] Sha X., Xu X., Liao S., Chen H. et Rui W., 2022.- Evidence of immunogenic cancer cell death induced by honey-processed *Astragalus* polysaccharides in vitro and in vivo. *Experimental Cell Research*, 410(1): 112948. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112948>
- [124] Qin X., Wang X., Xu K., Yang X., Wang Q., Liu C., Wang X., Guo X., Sun J., Li L. et Li S., 2022.- Synergistic antitumor effects of polysaccharides and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. on human colorectal carcinoma LoVo cells and the molecular mechanism. *Food Science and Nutrition*, 10(9): 2956–2968. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2892>
- [125] Tong X., Lao C., Li D., Du J., Chen J., Xu W., Li L., Ye H., Guo X. et Li J., 2022.- An acetylated mannan isolated from *Aloe vera* induce colorectal cancer cells apoptosis via mitochondrial pathway. *Carbohydrate Polymers*, 291: 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119464>
- [126] Bian Y., Zeng H., Tao H., Huang L., Du Z., Wang J. et Ding K., 2020.- A pectin-like polysaccharide from *Polygala tenuifolia* inhibits pancreatic cancer cell growth in vitro and in vivo by inducing apoptosis and suppressing autophagy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162: 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.054>
- [127] Zhang J., Li Y., Li Y., Li Y., Gong X., Zhou L., Xu J. et Guo Y., 2022.- Structure, selenization modification, and antitumor activity of a glucomannan from *Platycodon grandiflorum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220: 1345–1355. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.029>
- [128] Wang H., Li Y., Wang X., Li Y., Cui J., Jin D. Q., Tuerhong M., Abudukeremu M., Xu J. et Guo Y., 2022.- Preparation and structural properties of selenium modified heteropolysaccharide from the fruits of *Akebia quinata* and in vitro and in vivo antitumor activity. *Carbohydrate Polymers*, 278: 118950. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118950>
- [129] Safonova E. A., Lopatina K. A., Razina T. G., Zueva E. P., Gur'ev A. M. et Belousov M. V., 2020.- Effects of *Tussilago farfara* L. polysaccharides on the expression of PD-1 (CD279) and PD-L1 (CD274) in peripheral blood and tumor tissue lymphocytes in mice with Lewis lung carcinoma. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 169(3): 378–

382. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04891-w>
- [130] Yang Y. L., Lin Z. W., He P. T., Nie H., Yao Q. Y. et Zhang S. Y., 2021.- Inhibitory effect of astragalus polysaccharide combined with cisplatin on cell cycle and migration of nasopharyngeal carcinoma cell lines. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 44(7): 926–931. <https://doi.org/10.1248/bpb.b20-00959>
- [131] Son S. U., Park H. Y., Suh H. J. et Shin K. S., 2021.- Evaluation of antitumor metastasis via immunostimulating activities of pectic polysaccharides isolated from radish leaves. *Journal of Functional Foods*, 85: 104639. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104639>
- [132] Ji H. Y., Dai K. Y., Liu C., Yu J., Liu A. J. et Chen Y. F., 2022.- The ethanol-extracted polysaccharide from *Cynanchum paniculatum*: Optimization, structure, antioxidant and antitumor effects. *Industrial Crops and Products*, 175: 114243. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114243>
- [133] Zhao Y., Feng Y., Jing X., Liu Y. et Liu A., 2021.- Structural characterization of an alkali-soluble polysaccharide from *Angelica sinensis* and its antitumor activity in Vivo. *Chemistry and Biodiversity*, 18(6): 1–11. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100089>
- [134] Yu J., Dong X. D., Jiao J. S., Ji H. S. et Liu A. J., 2021.- Antitumor and immunoregulatory activities of a novel polysaccharide from *Astragalus membranaceus* on S180 tumor-bearing mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189(29): 930–938. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.099>
- [135] Li J., Wang Y., Jin W. et Shen L., 2021.- Actinidia eriantha polysaccharide and pd1-antibody combination therapy enhances antitumor efficacy in colorectal cancer– xenograft mice. *OncoTargets and Therapy*, 14: 1239–1248. <https://doi.org/10.2147/OTT.S294253>
- [136] Wang S., Hu Q., Chang Z., Liu Y., Gao Y., Luo X., Zhou L., Chen Y., Cui Y., Wang Z., Wang B., Huang Y., Liu Y., Liu R. et Zhang L., 2023.- *Moringa oleifera* leaf polysaccharides exert anti-lung cancer effects upon targeting TLR4 to reverse the tumor-associated macrophage phenotype and promote T-cell infiltration. *Food and Function*, 14(10): 4607–4620. <https://doi.org/10.1039/d2fo03685a>

- [137] Pu Y., Zhu J., Xu J., Zhang S. et Bao Y., 2022.- Antitumor effect of a polysaccharide from *Pseudostellaria heterophylla* through reversing tumor-associated macrophages phenotype. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220(76): 816–826. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.111>
- [138] Liu B., Li Q. M., Shang Z. Z., Zha X. Q., Pan L. H. et Luo J. P., 2021.- Anti-gastric cancer activity of cultivated *Dendrobium huoshanense* stem polysaccharide in tumor-bearing mice: Effects of molecular weight and O-acetyl group. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192: 590–599. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.016>
- [139] Jin W., Zhang W., Liu G., Yao J., Shan T., Sun C. et Zhang Q., 2017.- The structure-activity relationship between polysaccharides from *Sargassum thunbergii* and anti-tumor activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105: 686–692. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.089>
- [140] Gao Q. H., Fu X., Zhang R., Wang Z. et Guo M., 2018.- Neuroprotective effects of plant polysaccharides: A review of the mechanisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106: 749–754. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.075>
- [141] Hu J. L., Nie S. P., Li C. et Xie M. Y., 2013.- In vitro effects of a novel polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. on intestinal function. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54(1): 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.12.011>
- [142] Jayamanohar J., Devi P. B., Kavitha D., Priyadarisini V. B. et Shetty P. H., 2019.- Prebiotic potential of water extractable polysaccharide from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT*, 101: 703–710. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.089>
- [143] Mazarei F., Jooyandeh H., Noshad M. et Hojjati M., 2017.- Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95: 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.049>
- [144] Ajiboye T. O., Mohammed A. O., Bello S. A., Yusuf I. I., Ibitoye O. B., Muritala H. F. et Onajobi I. B., 2016.- Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* seed: Studies on oxidative stress biomarkers and membrane permeability. *Microbial Pathogenesis*, 95: 208–

215. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.03.011>
- [145] Cao P., Sun J., Sullivan M. A., Huang X., Wang H., Zhang Y., Wang N. et Wang K., 2018.- Angelica sinensis polysaccharide protects against acetaminophen-induced acute liver injury and cell death by suppressing oxidative stress and hepatic apoptosis in vivo and in vitro. International Journal of Biological Macromolecules, 111: 1133–1139. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.139>
- [146] Zhang K., Gao Y., Zhong M., Xu Y., Li J., Chen Y., Duan X. et Zhu H., 2016.- Hepatoprotective effects of Dicliptera chinensis polysaccharides on dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis rats and its underlying mechanism. Journal of Ethnopharmacology, 179: 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.053>
- [147] Qu J., Huang P., Zhang L., Qiu Y., Qi H., Leng A. et Shang D., 2020.- Hepatoprotective effect of plant polysaccharides from natural resources: A review of the mechanisms and structure-activity relationship. International Journal of Biological Macromolecules, 161(9): 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.196>
- [148] Moreira L. R. S. et Filho E. X. F., 2008.- An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems. Applied Microbiology and Biotechnology, 79(2): 165–178. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1423-4>
- [149] Pauly M., Gille S., Liu L., Mansoori N., de Souza A., Schultink A. et Xiong G., 2013.- Hemicellulose biosynthesis. Planta, 238(4): 627–642. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1921-1>
- [150] Aulitto M., Fusco S., Limauro D., Fiorentino G., Bartolucci S. et Contursi P., 2019.- Galactomannan degradation by thermophilic enzymes: a hot topic for biotechnological applications. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 35(2): 0. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2591-3>
- [151] Avigad G. et Dey P. M., 1997.- Carbohydrate Metabolism: Storage Carbohydrates. In Plant Biochemistry, 1: 143–204). <https://doi.org/10.1016/b978-012214674-9/50005-9>
- [152] Gidley M. J. et Reid J. S. G., 2006.- Galactomannans and other cell wall storage

- polysaccharides in seeds. In Food Polysaccharides and Their Applications. Taylor et Francis Group, LLC, Pp. 181–215.
- [153] Mulimani V. H. et Prashanth S. J., 2002.- Investigating plant galactomannans. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 30(2): 101–103. <https://doi.org/10.1002/bmb.2002.494030020044>
- [154] Sharma P., Sharma S., Ramakrishna G., Srivastava H. et Gaikwad K., 2021.- A comprehensive review on leguminous galactomannans: structural analysis, functional properties, biosynthesis process and industrial applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(2): 443–465. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1819196>
- [155] Reid J. S. G. et Meier H., 1973.- Formation of the endosperm galactomannan in Leguminous seeds: Preliminary communications. *Caryologia*, 25: 219–222. <https://doi.org/10.1080/00087114.1973.10797126>
- [156] Bewley J. D., Bradford K. J., Hilhorst H. W. M. et Nonogaki H., 2013.- Development and Maturation. Springer, Pp. 27–83. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4_2
- [157] Campbell J. M. et Reid J. S. G., 1982.- Galactomannan formation and guanosine 5'-diphosphate-mannose: galactomannan mannosyltransferase in developing seeds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L., leguminosae). *Planta*, 155(2): 105–111. <https://doi.org/10.1007/BF00392539>
- [158] Xu W., Liu Y., Zhang F., Lei F., Wang K. et Jiang J., 2020.- Physicochemical characterization of *Gleditsia triacanthos* galactomannan during deposition and maturation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144: 821–828. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.161>
- [159] Gorgani L., Mohammadi M., Najafpour G. D. et Nikzad M., 2017.- Sequential microwave-ultrasound-assisted extraction for isolation of piperine from black pepper (*Piper nigrum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 10(12): 2199–2207. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1994-0>
- [160] Niknam R., Mousavi M. et Kiani H., 2022.- Comprehensive evaluation of emulsifying and

- p>foaming properties of Gleditsia caspica seed galactomannan as a new source of hydrocolloid: Effect of extraction method. Food Hydrocolloids, 131: 107758.
- <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107758>
- [161] Buriti F. C. A., Dos Santos K. M. O., Sombra V. G., Maciel J. S., Teixeira Sá D. M. A., Salles H. O., Oliveira G., de Paula R. C. M., Feitosa J. P. A., Monteiro Moreira A. C. O., Moreira R. A. et Egito A. S., 2014.- Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from Caesalpinia pulcherrima seeds as a potential dietary fibre. Food Hydrocolloids, 35: 512–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.015>
- [162] Rodriguez-Canto W., Chel-Guerrero L., Fernandez V. V. A. et Aguilar-Vega M., 2019.- Delonix regia galactomannan hydrolysates: Rheological behavior and physicochemical characterization. Carbohydrate Polymers, 206: 573–582. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.028>
- [163] Santos M. B. et Garcia-Rojas E. E., 2021.- Recent advances in the encapsulation of bioactive ingredients using galactomannans-based as delivery systems. Food Hydrocolloids, 118: 106815. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106815>
- [164] Meier H. et Reid J. S. G., 1982.- Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. In Plant Carbohydrates Springer Berlin Heidelberg, I(i): 418–471).. https://doi.org/10.1007/978-3-642-68275-9_11
- [165] Li R., Tang N., Jia X., Nirasawa S., Bian X., Zhang P. et Cheng Y., 2020.- Isolation, physical, structural characterization and in vitro prebiotic activity of a galactomannan extracted from endosperm splits of Chinese Sesbania cannabina seeds. International Journal of Biological Macromolecules, 162: 1217–1226. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.177>
- [166] Gadkari P. V., Tu S., Chiyarda K., Reaney M. J. T. et Ghosh S., 2018.- Rheological characterization of fenugreek gum and comparison with other galactomannans. International Journal of Biological Macromolecules, 119: 486–495. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.108>
- [167] Vendruscolo C. W., Ferrero C., Pineda E. A. G., Silveira J. L. M., Freitas R. A., Jiménez-

- Castellanos M. R. et Bresolin T. M. B., 2009.- Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers*, 76(1): 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.028>
- [168] Liyanage S., Abidi N., Auld D. et Moussa H., 2015.- Chemical and physical characterization of galactomannan extracted from guar cultivars (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Industrial Crops and Products*, 74: 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.013>
- [169] Jamir K., Badithi N., Venumadhav K. et Seshagirirao K., 2019.- Characterization and comparative studies of galactomannans from *Bauhinia vahlii*, *Delonix elata*, and *Peltophorum pterocarpum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134: 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.080>
- [170] Jim W., Rick G. et Arron, K., 2003.- Guar Gum Degradation: A kinetic study. *Proceedings of International Symposium on Oilfield Chemistry*, 1–10. <https://doi.org/10.2523/80226-MS>
- [171] Gresta F., Ceravolo G., Presti V. L., D'Agata A., Rao R. et Chiofalo B., 2017.- Seed yield, galactomannan content and quality traits of different guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*, 107: 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.037>
- [172] Lindman B., Medronho B., Alves L., Costa C., Edlund H. et Norgren M., 2017.- The relevance of structural features of cellulose and its interactions to dissolution, regeneration, gelation and plasticization phenomena. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(35): 23704–23718. <https://doi.org/10.1039/C7CP02409F>
- [173] Zhang X., Dai L., Li P., Wang T., Qin L., Xiang J. et Chang H., 2021.- Characterization of hydrophobic interaction of galactomannan in aqueous solutions using fluorescence-based technique. *Carbohydrate Polymers*, 267: 118183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118183>
- [174] Dhugga K. S., Barreiro R., Whitten B., Stecca K., Hazebroek J., Randhawa G. S., Dolan M., Kinney A. J., Tomes D., Nichols S. et Anderson P., 2004.- Guar seed β -mannan synthase is a member of the cellulose synthase super gene family. *Science*, 303(5656): 363–366.

<https://doi.org/10.1126/science.1090908>

- [175] Vieira Í. G. P., Mendes F. N. P., Gallão M. I. et de Brito E. S., 2007.- NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). *Food Chemistry*, 101(1): 70–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.052>
- [176] Gupta S. et Variyar P. S., 2018.- Guar gum: A versatile polymer for the food industry. In *Biopolymers for Food Design* (pp. 383–407). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0.00012-8>
- [177] Gómez-rodríguez G. H., Lizardi-mendoza J., Argüelles-monal W. et Álvarez-bajo O., 2023.- Chemical modifications of galactomannans : synthesis and structure- function analysis. *Journal of Biological and Health Sciences*, 25(2): 126–135. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i2.1883>
- [178] Rodge A., Sonkamble S., Salve R. et Syed I. H., 2012.- Effect of hydrocolloid (guar gum) incorporation on the quality characteristics of bread. *Journal of Food Processing et Technology*, 03(02): 1–7. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000136>
- [179] Kontogiorgos V., 2018.- Galactomannans (Guar, Locust Bean, Fenugreek, Tara). In *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 109–113). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21589-8>
- [180] Barak S. et Mudgil D., 2014.- Locust bean gum: Processing, properties and food applications-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66: 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.017>
- [181] Mikkonen K. S., Tenkanen M., Cooke P., Xu C., Rita H., Willför S., Holmbom B., Hicks K. B. et Yadav M. P., 2009.- Mannans as stabilizers of oil-in-water beverage emulsions. *LWT - Food Science and Technology*, 42(4): 849–855. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.010>
- [182] Vargas M., Pastor C., Chiralt A., McClements D. J. et González-Martínez C., 2008.- Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(6): 496–511. <https://doi.org/10.1080/10408390701537344>

- [183] Lavudi H. N. et Suthari S., 2020.- Application of legume seed galactomannan polysaccharides. In *Sustainable Agriculture Reviews* 45 (Vol. 1, pp. 97–113). https://doi.org/10.1007/978-3-030-53017-4_5
- [184] Varshosaz J., Tavakoli N. et Eram S. A., 2006.- Use of natural gums and cellulose derivatives in production of sustained release metoprolol tablets. *Drug Delivery*, 13(2): 113–119. <https://doi.org/10.1080/10717540500313356>
- [185] Friend D. R., 2005.- New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(2): 247–265. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.08.011>
- [186] Dionísio M. et Grenha A., 2012.- Locust bean gum: Exploring its potential for biopharmaceutical applications. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 4(3): 175. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.99013>
- [187] Rodrigues Noleto G. et Oliveira Petkowicz C. L., 2016.- Potential for biomedical applications of galactomannans and xyloglucans from seeds: An overview. *Medicinal Chemistry*, 6(10): 658–661. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000411>
- [188] Li R., Tang N., Jia X., Xu Y. et Cheng Y., 2021.- Antidiabetic activity of galactomannan from Chinese *Sesbania cannabina* and its correlation of regulating intestinal microbiota. *Journal of Functional Foods*, 83: 104530. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104530>
- [189] Mudgil D., Barak S. et Khatkar B. S., 2014.- Guar gum: processing, properties and food applications—A Review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3): 409–418. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0522-x>
- [190] Bayda S., Adeel M., Tuccinardi T., Cordani M. et Rizzolio F., 2020.- The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1): 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- [191] Shnoudeh A. J., Hamad I., Abdo R. W., Qadumii L., Jaber A. Y., Surchi H. S. et Alkelany S. Z., 2019.- Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. In *Biomaterials and Bionanotechnology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12->

814427-5.00015-9

- [192] Khan I., Saeed K. et Khan I., 2019.- Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7): 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- [193] Ahmed A., Usman M., Ji Z., Rafiq M., Yu B., Shen Y. et Cong H., 2023.- Nature-inspired biogenic synthesis of silver nanoparticles for antibacterial applications. *Materials Today Chemistry*, 27, 101339. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2022.101339>
- [194] Naganthran A., Verasoundarapandian G., Khalid F. E., Masarudin M. J., Zulkharnain A., Nawawi N. M., Karim M., Che Abdullah C. A. et Ahmad S. A., 2022.- Synthesis, characterization and biomedical application of silver nanoparticles. *Materials*, 15(2): 427. <https://doi.org/10.3390/ma15020427>
- [195] Gul A. R., Shaheen F., Rafique R., Bal J., Waseem S. et Park T. J., 2021.- Grass-mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles and their drug delivery evaluation: A biocompatible anti-cancer therapy. *Chemical Engineering Journal*, 407: 127202. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127202>
- [196] Zhou S., Mesina D. S., Organt M. A., Yang T. H., Yang X., Huo D., Zhao M. et Xia Y., 2018.- Site-selective growth of Ag nanocubes for sharpening their corners and edges, followed by elongation into nanobars through symmetry reduction. *Journal of Materials Chemistry C*, 6(6): 1384–1392. <https://doi.org/10.1039/C7TC05625G>
- [197] Manivannan K., Cheng C. C., Anbazhagan R., Tsai H. C. et Chen J. K., 2019.- Fabrication of silver seeds and nanoparticle on core-shell Ag@SiO₂ nanohybrids for combined photothermal therapy and bioimaging. *Journal of Colloid and Interface Science*, 537: 604–614. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.11.051>
- [198] Waqas M., Zulfiqar A., Ahmad H. B., Akhtar N., Hussain M., Shafiq Z., Abbas Y., Mehmood K., Ajmal M. et Yang M., 2018.- Fabrication of highly stable silver nanoparticles with shape-dependent electrochemical efficacy. *Electrochimica Acta*, 271: 641–651. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.03.049>
- [199] Sutradhar P. et Saha M., 2016.- Silver nanoparticles: Synthesis and its nanocomposites for

- heterojunction polymer solar cells. *The Journal of Physical Chemistry C*, 120(16): 8941–8949. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b00075>
- [200] Ha J. H., Lee B., Kim J. H., Cho B. W., Kim S. O. et Oh S. H., 2020.- Silver chalcogenides (Ag_2X , $\text{X}=\text{S}$, Se) nanoparticles embedded in carbon matrix for facile magnesium storage via conversion chemistry. *Energy Storage Materials*, 27: 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.ensm.2019.12.008>
- [201] Sujitha V., Murugan K., Paulpandi M., Panneerselvam C., Suresh U., Roni M., Nicoletti M., Higuchi A., Madhiyazhagan P., Subramaniam J., Dinesh D., Vadivalagan C., Chandramohan B., Alarfaj A. A., Munusamy M. A., Barnard D. R. et Benelli G., 2015.- Green-synthesized silver nanoparticles as a novel control tool against dengue virus (DENV-2) and its primary vector *Aedes aegypti*. *Parasitology Research*, 114(9): 3315–3325. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4556-2>
- [202] Salleh A., Naomi R., Utami N. D., Mohammad A. W., Mahmoudi E., Mustafa N. et Fauzi M. B., 2020.- The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: A mechanism of action. *Nanomaterials*, 10(8): 1566. <https://doi.org/10.3390/nano10081566>
- [203] Aziz A. T., Alshehri M. A., Alanazi N. A., Panneerselvam C., Trivedi S., Maggi F., Sut S. et Dall'Acqua S., 2020.- Phytochemical analysis of *Rhazya stricta* extract and its use in fabrication of silver nanoparticles effective against mosquito vectors and microbial pathogens. *Science of The Total Environment*, 700: 134443. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134443>
- [204] Sharma V., Kaushik S., Pandit P., Dhull D., Yadav J. P. et Kaushik S., 2019.- Green synthesis of silver nanoparticles from medicinal plants and evaluation of their antiviral potential against chikungunya virus. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(2): 881–891. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9488-1>
- [205] Acosta-Torres L. S., Mendieta I., Nuñez-Anita R. E., Cajero-Juárez M. et Castano V. M., 2012.- Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 4777. <https://doi.org/10.2147/IJN.S32391>

- [206] Al-Nerabieah Z., 2020.- Effectiveness of a novel nano-silver fluoride with green Tea extract compared with silver diamine fluoride: A randomized, controlled, non-Inferiority trial. *International Journal of Dentistry and Oral Science*, 7(7): 753–761. <https://doi.org/10.19070/2377-8075-20000148>
- [207] Sundeep D., Vijaya Kumar T., Rao P. S. S., Ravikumar R. V. S. S. N. et Gopala Krishna A., 2017.- Green synthesis and characterization of Ag nanoparticles from *Mangifera indica* leaves for dental restoration and antibacterial applications. *Progress in Biomaterials*, 6(1–2): 57–66. <https://doi.org/10.1007/s40204-017-0067-9>
- [208] Narasimha V. R., Latha T. S., Pallu R., Panati K. et Narala V. R., 2022.- Anticancer activities of biogenic silver nanoparticles targeting apoptosis and inflammatory pathways in colon cancer cells. *Journal of Cluster Science*, 33(5): 2215–2231. <https://doi.org/10.1007/s10876-021-02143-z>
- [209] Adebayo I. A., Arsad H., Gagman H. A., Ismail N. Z. et Samian M. R., 2020.- Inhibitory effect of eco-friendly naturally synthesized silver nanoparticles from the leaf extract of medicinal *Detarium microcarpum* plant on pancreatic and cervical cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 21(5): 1247–1252. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.5.1247>
- [210] Ullah I., Khalil A. T., Ali M., Iqbal J., Ali W., Alarifi S. et Shinwari Z. K., 2020.- Green-synthesized silver nanoparticles induced apoptotic cell death in MCF-7 breast cancer cells by generating reactive oxygen species and activating caspase 3 and 9 enzyme activities. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020: 1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/1215395>
- [211] Mohanta Y. K., Biswas K., Panda S. K., Bandyopadhyay J., De D., Jayabalan R., Bastia A. K. et Mohanta T. K., 2017.- Phyto-assisted synthesis of bio-functionalised silver nanoparticles and their potential anti-oxidant, anti-microbial and wound healing activities. *IET Nanobiotechnology*, 11(8): 1027–1034. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0017>
- [212] Dhapte V., Kadam S., Moghe A. et Pokharkar V., 2014.- Probing the wound healing potential of biogenic silver nanoparticles. *Journal of Wound Care*, 23(9): 431–441.

- <https://doi.org/10.12968/jowc.2014.23.9.431>
- [213] Jildeh N. B. et Matouq M., 2020.- Nanotechnology in packing materials for food and drug stuff opportunities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5): 104338. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104338>
- [214] Lohani A., Verma A., Joshi H., Yadav N. et Karki N., 2014.- Nanotechnology-based cosmeceuticals. *ISRN Dermatology*, 2014: 1–14. <https://doi.org/10.1155/2014/843687>
- [215] Hussein H. A. et Abdullah M. A., 2022.- Novel drug delivery systems based on silver nanoparticles, hyaluronic acid, lipid nanoparticles and liposomes for cancer treatment. *Applied Nanoscience*, 12(11): 3071–3096. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-02018-9>
- [216] Mohammadlou M., Maghsoudi H. et Jafarizadeh-Malmiri H., 2016.- A review on green silver nanoparticles based on plants: Synthesis, potential applications and eco-friendly approach. *International Food Research Journal*, 23(2): 446–463
- [217] Jara P., Herrera B. et Yutronic N., 2016.- Formation of nanoparticles and decoration of organic crystals. In *Handbook of Nanoparticles* (pp. 549–564). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15338-4_26
- [218] Rafique M., Sadaf I., Rafique M. S. et Tahir M. B., 2017.- A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(7): 1272–1291. <https://doi.org/10.1080/21691401.2016.1241792>
- [219] Zhang X. F., Liu Z. G., Shen W. et Gurunathan S., 2016.- Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9). <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>
- [220] Beyene H. D., Werkneh A. A., Bezabh H. K. et Ambaye T. G., 2017.- Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs): A review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13: 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2017.08.001>
- [221] Abdul Kareem E. A., Sultan A. E. et Oraibi M. H., 2023.- Synthesis and characterization of Silver nanoparticles: A review. *Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Sciences*, 36(3): 177–200. <https://doi.org/10.30526/36.3.3050>

- [222] Jing Y., Li J., Zhang Y., Zhang R., Zheng Y., Hu B., Wu L. et Zhang D., 2021.- Structural characterization and biological activities of a novel polysaccharide from *Glehnia littoralis* and its application in preparation of nano-silver. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183: 1317–1326. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.178>
- [223] Vadakkan K., Rumjit N. P., Ngangbam A. K., Vijayanand S. et Nedumpillil N. K., 2024.- Novel advancements in the sustainable green synthesis approach of silver nanoparticles (AgNPs) for antibacterial therapeutic applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 499: 215528. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215528>
- [224] Yaqoob A. A., Umar K. et Ibrahim M. N. M., 2020.- Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience*, 10(5): 1369–1378. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01318-w>
- [225] Kumar S., Basumatary I. B., Sudhani H. P. K., Bajpai V. K., Chen L., Shukla S. et Mukherjee A., 2021.- Plant extract mediated silver nanoparticles and their applications as antimicrobials and in sustainable food packaging: A state-of-the-art review. *Trends in Food Science et Technology*, 112: 651–666. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.031>
- [226] Bouziane G., Henni A., Bouricha M., Boual Z., Belkhalifa H., Bachari K. et Ould El Hadj M. D., 2024.- A new galactomannan extracted from the seeds of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) and its utilization in the biosynthesis of silver nanoparticles. *Process Biochemistry*, 136(2023): 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.11.009>
- [227] Mobarki N., Almerabi B. et Hattan A., 2019.- Antibiotic resistance crisis. *International Journal of Medicine in Developing Countries*, 3: 561–564. <https://doi.org/10.24911/IJMDC.51-1549060699>
- [228] Bloom D. E. et Cadarette D., 2019.- Infectious disease threats in the twenty-first century: strengthening the global response. *Frontiers in Immunology*, 10: 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00549>
- [229] Aabed K. et Mohammed A. E., 2021.- Synergistic and antagonistic effects of biogenic silver nanoparticles in combination with antibiotics against some pathogenic microbes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9: 1–14. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.652362>

- [230] Baptista P. V., McCusker M. P., Carvalho A., Ferreira D. A., Mohan N. M., Martins M. et Fernandes A. R., 2018.- Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria—"A battle of the titans." *Frontiers in Microbiology*, 9: 1–26. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01441>
- [231] Huq M. A. et Akter S., 2021.- Biosynthesis, characterization and antibacterial application of novel silver nanoparticles against drug resistant pathogenic *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enteritidis*. *Molecules*, 26(19): 5996. <https://doi.org/10.3390/molecules26195996>
- [232] Bruna T., Maldonado-Bravo F., Jara P. et Caro N., 2021.- Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13): 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
- [233] Singh P., Garg A., Pandit S., Mokkalapati V. et Mijakovic I., 2018.- Antimicrobial effects of biogenic nanoparticles. *Nanomaterials*, 8(12): 1009. <https://doi.org/10.3390/nano8121009>
- [234] Mařátková O., Michailidu J., Miřkovská A., Kolouchová I., Masák J. et Čejková A., 2022.- Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods. *Biotechnology Advances*, 58: 107905. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107905>
- [235] Egbuna C., Parmar V. K., Jeevanandam J., Ezzat S. M., Patrick-Iwuanyanwu K. C., Adetunji C. O., Khan J., Onyeike E. N., Uche C. Z., Akram M., Ibrahim M. S., El Mahdy N. M., Awuchi C. G., Saravanan K., Tijjani H., Odoh U. E., Messaoudi M., Ifemeje J. C., Olisah M. C., Ezeofor N. J., Chikwendu C. J. et Ibeabuchi C. G., 2021.- Toxicity of nanoparticles in biomedical application: Nanotoxicology. *Journal of Toxicology*, 2021: 1–21. <https://doi.org/10.1155/2021/9954443>
- [236] Durán N., Nakazato G. et Seabra A. B., 2016.- Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(15): 6555–6570. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7657-7>
- [237] Buttacavoli M., Albanese N. N., Di Cara G., Alduina R., Faleri C., Gallo M., Pizzolanti G., Gallo G., Feo S., Baldi F. et Cancemi P., 2018.- Anticancer activity of biogenerated silver

- nanoparticles: an integrated proteomic investigation. *Oncotarget*, 9(11): 9685–9705. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23859>
- [238] Bethu M. S., Netala V. R., Domdi L., Tartte V. et Janapala V. R., 2018.- Potential anticancer activity of biogenic silver nanoparticles using leaf extract of *Rhynchosia suaveolens* : an insight into the mechanism. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46: 104–114. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1414824>
- [239] Kim S., Choi J. E., Choi J., Chung K. H., Park K., Yi J. et Ryu D. Y., 2009.- Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicology in Vitro*, 23(6): 1076–1084. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.06.001>
- [240] Miethling-Graff R., Rumpker R., Richter M., Verano-Braga T., Kjeldsen F., Brewer J., Hoyland J., Rubahn H. G. et Erdmann H., 2014.- Exposure to silver nanoparticles induces size- and dose-dependent oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. *Toxicology in Vitro*, 28(7): 1280–1289. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.06.005>
- [241] AshaRani P. V., Mun G. L. K., Hande M. P. et Valiyaveetil S., 2009.- Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano*, 3(2): 279–290. <https://doi.org/10.1021/nn800596w>
- [242] Ahamed M., AlSalhi M. S. et Siddiqui M. K. J., 2010.- Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica Chimica Acta*, 411(23–24): 1841–1848. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.08.016>
- [243] Anees Ahmad S., Sachi Das S., Khatoon A., Tahir Ansari M., Afzal M., Saquib Hasnain M. et Kumar Nayak A., 2020.- Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. *Materials Science for Energy Technologies*, 3: 756–769. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.09.002>
- [244] de Lima R., Seabra A. B. et Durán N., 2012.- Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. *Journal of Applied Toxicology*, 32(11): 867–879. <https://doi.org/10.1002/jat.2780>
- [245] Ibn Yaich A., Edlund U. et Albertsson A. C., 2017.- Transfer of biomatrix/wood cell

- interactions to hemicellulose-based materials to control water interaction. Chemical Reviews, 117(12): 8177–8207. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00841>
- [246] ANIREF., 2021.- Monographie wilaya d’Illizi. Agence Nationale d’Intermédiation et de Régulation Foncière, Pp. 1-24.
- [247] Li X., Qu L., Dong Y., Han L., Liu E., Fang S., Zhang Y. et Wang T., 2014.- A review of recent research progress on the *Astragalus* genus. Molecules, 19(11): 18850–18880. <https://doi.org/10.3390/molecules191118850>
- [248] Salehi B., Carneiro J. N. P., Rocha J. E., Coutinho H. D. M., Morais Braga M. F. B., Sharifi-Rad J., Semwal P., Painuli S., Moujir L. M., de Zarate Machado V., Janakiram S., Anil Kumar N. V., Martorell M., Cruz-Martins N., El Beyrouthy M. et Sadaka C., 2020.- *Astragalus* species: Insights on its chemical composition toward pharmacological applications. Phytotherapy Research, 35(5): 1–32. <https://doi.org/10.1002/ptr.6974>
- [249] Quezel P. et Santa S., 1962.- Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales., (Centre Nat), Tome I, Pp. 549-551.
- [250] Gorai D., Jash S. K. et Roy R., 2016.- Flavonoids From *Astragalus* Genus. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7(7): 2732–2747. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(7\).2732-47](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(7).2732-47)
- [251] Guerrouj K., Pérez-Valera E., Chahboune R., Abdelmoumen H., Bedmar E. J. et El Idrissi M. M., 2013.- Identification of the rhizobial symbiont of *Astragalus glombiformis* in Eastern Morocco as *Mesorhizobium camelthorni*. Antonie van Leeuwenhoek, 104(2): 187–198. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9936-y>
- [252] Arhab R., Macheboeuf D., Aggoun M., Bousseboua H., Viala D. et Besle J. M., 2009.- Effect of polyethylene glycol on in vitro gas production and digestibility of tannin containing feedstuffs from north African arid zone. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10: 475–486.
- [253] Gorai M., Hachef A. et Neffati M., 2010.- Differential responses in growth and water relationship of *Medicago sativa* (L.) cv. Gabès and *Astragalus gombiformis* (Pom.) under

- water-limited conditions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 22(1): 1–12. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v22i1.4902>
- [254] Boufennara S., Lopez S., Bousseboua H., Bodas R. et Bouazza L., 2012.- Chemical composition and digestibility of some browse plant species collected from Algerian arid rangelands. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 10(1): 88. <https://doi.org/10.5424/sjar/2012101-134-11>
- [255] El Rhaffari L. et Zaid A., 2002.- Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. In *Des sources du savoir aux médicaments du futur* (pp. 293–318). <https://doi.org/10.4000/books.irdeditions.7244>
- [256] Boukerker H., Salemkour N., Nouasria D., Benyakhlef B., Nacereddine S., Chalabi K., Nouidjem Y. et Belhamra M., 2016. La végétation steppique au profit de la phytothérapie dans la région d ' El Bayadh. *Journal Algérien Des Régions Arides (JARA)*, 13: 61–73.
- [257] Hemmami H., Seghir B. B., Zeghoud S., Ben Amor I., Kouadri I., Rebiai A., Zaater A., Messaoudi M., Benchikha N., Sawicka B. et Atanassova M., 2023.- Desert endemic plants in Algeria: A review on traditional uses, phytochemistry, polyphenolic compounds and pharmacological activities. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 4, p. 1834). <https://doi.org/10.3390/molecules28041834>
- [258] Teyeb H., Zouari S., Douki W., Najjar M. F. et Neffati M., 2010.- Essential oils of leaves, flowers and fruits of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae). *Acta Horticulturae*, 853(853): 263–268. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.853.30>
- [259] Lekmine S., Boussekine S., Kadi K., Martín-García A. I., Kheddouma A., Nagaz K. et Bensouici C., 2020.- A comparative study on chemical profile and biological activities of aerial parts (stems, flowers, leaves, pods and seeds) of *Astragalus gombiformis*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27: 101668. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101668>
- [260] Lekmine S., Boussekine S., Akkal S., Martín-García A. I., Boumegoura A., Kadi K., Djeghim H., Mekersi N., Bendjedid S., Bensouici C. et Nieto G., 2021.- Investigation of photoprotective, anti-inflammatory, antioxidant capacities and LC–ESI–MS phenolic profile of *Astragalus gombiformis* Pomel. *Foods*, 10(8): 1937.

<https://doi.org/10.3390/foods10081937>

- [261] Montoro P., Teyeb H., Masullo M., Mari A., Douki W. et Piacente S., 2013.- LC–ESI-MS quali-quantitative determination of phenolic constituents in different parts of wild and cultivated *Astragalus gombiformis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72: 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.09.014>
- [262] Teyeb H., Zouari S., Douki W., Najjar M. F. et Neffati M., 2011.- Variation in volatiles of *Astragalus gombiformis* Pomel. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 66 c(1): 1–6. <https://doi.org/0939 – 5075/2011/0100 – 0001>
- [263] Teyeb H., Zanina N., Neffati M., Douki W. et Najjar M. F., 2012.- Cytotoxic and antibacterial activities of leaf extracts of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) growing wild in Tunisia. *Turkish Journal of Biology*, 36(1): 53–58. <https://doi.org/10.3906/biy-1010-131>
- [264] Teyeb H., Houta O., Najjaa H., Lamari A., Neffati M., Douki W. et Najjar M. F., 2012.- Biological and chemical study of *Astragalus gombiformis*. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 67 c: 367–374. <https://doi.org/10.1515/znc-2012-7-803>
- [265] Mahmoudi M., Abdellaoui R., Boughalleb F., Yahia B., Mabrouk M. et Nasri N., 2021.- Characterization of lipids, proteins, and bioactive compounds in the seeds of three *Astragalus* species. *Food Chemistry*, 339: 127824. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127824>
- [266] Chen G., Zhang S., Ran C., Wang L. et Kan J., 2016.- Extraction, characterization and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from *Tuber huidongense*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91: 431–442. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.108>
- [267] Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A. et Smith F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3): 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- [268] Monsigny M., Petit C. et Roche A. C., 1988.- Colorimetric determination of neutral sugars

- by a resorcinol sulfuric acid micromethod. *Analytical Biochemistry*, 175(2): 525–530. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90578-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90578-7)
- [269] Blumenkrantz N. et Asboe-Hansen G., 1973.- New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54(2): 484–489. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(73\)90377-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90377-1)
- [270] Bradford M. M., 1976.- A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- [271] Singleton V. L., Joseph A. et Rossi J., 1965.- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- [272] Lee L. C., Liong C. Y. et Jemain A. A., 2017.- A contemporary review on Data Preprocessing (DP) practice strategy in ATR-FTIR spectrum. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 163: 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2017.02.008>
- [273] Blum M. et John H., 2011.- Historical perspective and modern applications of Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). *Drug Testing and Analysis*, 4(3–4): 298–302. <https://doi.org/10.1002/dta.374>
- [274] Muñiz-Márquez D. B., Martínez-Cervantes M. A., Martínez-Pérez A., AguiLar C. N., AguiLar-Zarate P. et Wong-Paz J. E., 2022.- A simple quantitative method using TLC-image analysis to determine fructooligosaccharides (FOS) in food samples. *Turkish Journal of Chemistry*, 46(4): 1297–1305. <https://doi.org/10.55730/1300-0527.3436>
- [275] Kong Y., Li X., Zhang N., Miao Y., Feng H., Wu T. et Cheng Z., 2018.- Improved bioautographic assay on TLC layers for qualitative and quantitative estimation of xanthine oxidase inhibitors and superoxide scavengers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 150: 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.077>
- [276] Han N. S. et Robyt J. F., 1998.- Separation and detection of sugars and alditols on thin layer chromatograms. *Carbohydrate Research*, 313(2): 135–137. <https://doi.org/10.1016/S0008->

6215(98)00250-X

- [277] 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. *Journal of Chromatography*, 166: 417–423.
- [278] Yang C., Guan J., Zhang J. S. et Li S. P., 2010.- Use of HPTLC to differentiate among the crude polysaccharides in six traditional Chinese medicines. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 23(1): 46–49. <https://doi.org/10.1556/JPC.23.2010.1.8>
- [279] Liu D., Tang W., Yin J. Y., Nie S. P. et Xie M. Y., 2021.- Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development. *Food Hydrocolloids*, 116: 106641. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106641>
- [280] Sadaphal P. et Dhamak K., 2022.- Review article on high-performance liquid chromatography (HPLC) method development and validation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 74(03): 23–29. <https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2022.v74i02.003>
- [281] Rajeshkumar S. et Bharath L. V., 2017.- Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-Biological Interactions*, 273: 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019>
- [282] Sharma R., Bisen D. P., Shukla U. et Sharma B. G., 2012.- X-ray diffraction: a powerful method of characterizing nanomaterials. *Recent Research in Science and Technology*, 4(8): 77–79. <http://recent-science.com/>
- [283] Buhr E., Senftleben N., Klein T., Bergmann D., Gnieser D., Frase C. G. et Bosse H., 2009.- Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy in transmission mode. *Measurement Science and Technology*, 20(8): 1–10. <https://doi.org/10.1088/0957-0233/20/8/084025>
- [284] Taher M. A., Khojah E., Darwish M. S., Elsherbiny E. A., Elawady A. A. et Dawood D. H.,

- 2022.- Biosynthesis of silver nanoparticles by polysaccharide of *Leucaena leucocephala* seeds and their anticancer, antifungal properties and as preservative of composite milk sample. *Journal of Nanomaterials*, 2022: 1–16. <https://doi.org/10.1155/2022/7490221>
- [285] CLSI., 2020.- Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). In *Journal of clinical microbiology* (30th ed, Vol. 58, Issue 3). <https://doi.org/10.1128/JCM.01864-19>
- [286] Brand-Williams W., Cuvelier M. E. et Berset C., 1995.- Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [287] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C., 1999.- Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology et Medicine*, 26: 1231–1237. [https://doi.org/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/S0891-5849(98)00315-3)
- [288] Kanipandian N. et Thirumurugan R., 2014.- A feasible approach to phyto-mediated synthesis of silver nanoparticles using industrial crop *Gossypium hirsutum* (cotton) extract as stabilizing agent and assessment of its in vitro biomedical potential. *Industrial Crops and Products*, 55: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.042>
- [289] Karthik K., Kumar B. R., Priya V., Kumar S. et Rathore R. S., 2013.- Evaluation of anti-inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 5: 729–730.
- [290] Olennikov D. N. et Rokhin A. V., 2011.- Polysaccharides of fabaceae. VI. Galactomannans from seeds of *Astragalus alpinus* and *A. tibetanus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(3): 343–346. <https://doi.org/10.1007/s10600-011-9928-y>
- [291] Olennikov D. N. et Rokhin A. V., 2009.- Polysaccharides of Fabaceae. II. Galactomannan from *Astragalus danicus* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(3): 297–299. <https://doi.org/10.1007/s10600-010-9558-9>
- [292] Olennikov D. N. et Rokhin A. V., 2008.- Polysaccharides of Fabaceae. I. Galactomannan of *Astragalus sericeocanus* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(6): 297–299.

- <https://doi.org/10.1007/s10600-009-9357-3>
- [293] Wang J., Jia J., Song L., Gong X., Xu J., Yang M. et Li M., 2018.- Extraction, structure, and pharmacological activities of *Astragalus* polysaccharides. *Applied Sciences*, 9(1): 1-15. <https://doi.org/10.3390/app9010122>
- [294] Boual Z., Pierre G., Delattre C., Benaoun F., Petit E., Gardarin C., Michaud P. et El Hadj M. D. O., 2015.- Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1): 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.11.002>
- [295] Mestechkina N. M., Anulov O. V., Smirnova N. I. et Shcherbukhin V. D., 2000.- Composition and structure of a galactomannan macromolecule from seeds of *Astragalus lehmannianus* Bunge. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 36(5): 586–587.
- [296] Olennikov D. N. et Rokhin A. V., 2010.- Fabaceae polysaccharides. III. Galactomannan from *Astragalus cicer* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(2): 165–168.
- [297] Chouana T., Pierre G., Vial C., Gardarin C., Wadouachi A., Cailleu D., Le Cerf D., Boual Z., Ould El Hadj M. D., Michaud P. et Delattre C., 2017.- Structural characterization and rheological properties of a galactomannan from *Astragalus gombo* Bunge seeds harvested in Algerian Sahara. *Carbohydrate Polymers*, 175: 387–394. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.003>
- [298] Shang H., Chen S., Li R., Zhou H., Wu H. et Song H., 2018. Influences of extraction methods on physicochemical characteristics and activities of *Astragalus cicer* L. polysaccharides. *Process Biochemistry*, 73: 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.07.016>
- [299] Mirhosseini H. et Amid B. T., 2012.- A review study on chemical composition and molecular structure of newly plant gum exudates and seed gums. *Food Research International*, 46(1): 387–398. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.017>
- [300] Rjeibi I., Hentati F., Feriani A., Hfaiedh N., Delattre C., Michaud P. et Pierre G., 2020.- Novel antioxidant, anti- α -amylase, anti-inflammatory and antinociceptivewater-soluble polysaccharides from the aerial part of *nitraria retusa*. *Foods*, 9(1):

<https://doi.org/10.3390/foods9010028>

- [301] Wang Y. X., Xin Y., Yin J. Y., Huang X. J., Wang J. Q., Hu J. L., Geng F. et Nie S. P., 2022.- Revealing the architecture and solution properties of polysaccharide fractions from *Macrolepiota albuminosa* (Berk.) Pegler. *Food Chemistry*, 368: 130772. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130772>
- [302] Wu L., Sun H., Hao Y., Zheng X., Song Q., Dai S. et Zhu Z., 2020.- Chemical structure and inhibition on α -glucosidase of the polysaccharides from *Cordyceps militaris* with different developmental stages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148: 722–736. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.178>
- [303] Wan Y. J., Hong T., Shi H. F., Yin J. Y., Koev T., Nie S. P., Gilbert R. G. et Xie M. Y., 2021.- Probiotic fermentation modifies the structures of pectic polysaccharides from carrot pulp. *Carbohydrate Polymers*, 251: 117116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117116>
- [304] Wiercigroch E., Szafraniec E., Czamara K., Pacia M. Z., Majzner K., Kochan K., Kaczor A., Baranska M. et Malek K., 2017.- Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 185: 317–335. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>
- [305] Liu X., Renard C. M. G. C., Bureau S. et Le Bourvellec C., 2021.- Revisiting the contribution of ATR-FTIR spectroscopy to characterize plant cell wall polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 262: 117935. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117935>
- [306] Hong T., Yin J. Y., Nie S. P. et Xie M. Y., 2021.- Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X*, 12: 100168. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100168>
- [307] Yuen S. N., Choi S. M., Phillips D. L. et Ma C. Y., 2009.- Raman and FTIR spectroscopic study of carboxymethylated non-starch polysaccharides. *Food Chemistry*, 114(3): 1091–1098. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.053>
- [308] Figueiro S. D., Goes J. C., Moreira R. A. et Sombra A. S. B., 2004.- On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films.

- Carbohydrate Polymers, 56(3): 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.011>
- [309] Zhou M., Yang L., Yang S., Zhao F., Xu L. et Yong Q., 2018.- Isolation, characterization and in vitro anticancer activity of an aqueous galactomannan from the seed of *Sesbania cannabina*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113(2017): 1241–1247. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.067>
- [310] Rashid F., Hussain S. et Ahmed Z., 2018.- Extraction purification and characterization of galactomannan from fenugreek for industrial utilization. *Carbohydrate Polymers*, 180: 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.025>
- [311] Liu Y., Xu W., Lei F., Li P. et Jiang J., 2019.- Comparison and characterization of galactomannan at different developmental stages of *Gleditsia sinensis* Lam. *Carbohydrate Polymers*, 223: 115127. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115127>
- [312] Mittal N., Mattu P. et Kaur G., 2016.- Extraction and derivatization of *Leucaena leucocephala* (Lam.) galactomannan: Optimization and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92: 831–841. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.046>
- [313] Santander S. P., Aoki M., Hernandez J. F., Pombo M., Moins-Teisserenc H., Mooney N. et Fiorentino S., 2011.- Galactomannan from *Caesalpinia spinosa* induces phenotypic and functional maturation of human dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 11(6): 652–660. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.01.006>
- [314] Pawar H. A. et Lalitha K. G., 2014.- Isolation, purification and characterization of galactomannans as an excipient from *Senna tora* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65: 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.026>
- [315] Chakou F. Z., Boual Z., Ould El Hadj M. D., Belkhalifa H., Bachari K., El Alaoui-talibi Z., El Modafar C., Hadjkacem F., Fendri I., Abdelkafi S., Traïkia M., Le Cerf D., Dubessay P., Pierre G. et Michaud F., 2021.- Pharmacological investigations in traditional utilization of *Alhagi maurorum* Medik. in Saharan Algeria: In vitro study of anti-inflammatory and antihyperglycemic activities of water-soluble polysaccharides extracted from the seeds. *Plants*, 10(2658): 1–13.

- [316] Brummer Y., Cui W. et Wang Q., 2003.- Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. Food Hydrocolloids, 17(3): 229–236. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(02\)00054-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00054-1)
- [317] Wu Y., Ding W., Jia L. et He Q., 2015.- The rheological properties of tara gum (*Caesalpinia spinosa*). Food Chemistry, 168: 366–371. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.083>
- [318] Prajapati V. D., Jani G. K., Moradiya N. G., Randeria N. P., Nagar B. J., Naikwadi N. N. et Variya B. C., 2013.- Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. International Journal of Biological Macromolecules, 60: 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.017>
- [319] Pollard M. A. et Fischer P., 2006.- Partial aqueous solubility of low-galactose-content galactomannans-What is the quantitative basis? Current Opinion in Colloid and Interface Science, 11(2–3): 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.12.001>
- [320] Liu Y., Lei F., He L., Xu W. et Jiang J., 2020.- Physicochemical characterization of galactomannans extracted from seeds of *Gleditsia sinensis* Lam and fenugreek. Comparison with commercial guar gum. International Journal of Biological Macromolecules, 158: 1047–1054. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.208>
- [321] Tako M., Tamaki Y. et Teruya T., 2018.- Discovery of unusual highly branched galactomannan from seeds of *Desmanthus illinoensis*. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology, 09(02): 101–116. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2018.92009>
- [322] Tel-Çayan G., Muhammad A., Deveci E., Duru M. E. et Öztürk M., 2020.- Isolation, structural characterization, and biological activities of galactomannans from *Rhizopogon luteolus* and *Ganoderma adspersum* mushrooms. International Journal of Biological Macromolecules, 165: 2395–2403. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.040>
- [323] Rahim N., Li A. R., Kamarun D. et Ahmad M. R., 2018.- Isolation and characterization of galactomannan from seed of *Leucaena leucocephala*. Polymer Bulletin, 75(5): 2027–2037. <https://doi.org/10.1007/s00289-017-2135-7>
- [324] Albuquerque P. B. S., Barros W., Santos G. R. C., Correia M. T. S., Mourão P. A. S.,

- Teixeira J. A. et Carneiro-da-Cunha M. G., 2014.- Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. Carbohydrate Polymers, 104(1): 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.010>
- [325] Nobre K. A., Soares C. E. A., Vieira Í. G. P., De Almeida R. R., Moreira R. de A., De Araújo T. G., Ribeiro M. E. N. P. et Ricardo N. M. P. S., 2018.- Adenanthera pavonina galactomannan for controlled delivery of rutin-a preliminary study. Quimica Nova, 41(6): 607–612. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170226>
- [326] Njagi E. C., Huang H., Stafford L., Genuino H., Galindo H. M., Collins J. B., Hoag G. E. et Suib S. L., 2011.- Biosynthesis of iron and silver nanoparticles at room temperature using aqueous sorghum bran extracts. Langmuir, 27(1): 264–271. <https://doi.org/10.1021/la103190n>
- [327] Wasilewska A., Klekotka U., Zambrzycka M., Zambrowski G., Święcicka I. et Kalska-Szostko B., 2023.- Physico-chemical properties and antimicrobial activity of silver nanoparticles fabricated by green synthesis. Food Chemistry, 400: 133960. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133960>
- [328] Agnihotri A. S., Ma N., Rison S., K B A. et Varghese A., 2021.- Tuning of the surface structure of silver nanoparticles using Gum arabic for enhanced electrocatalytic oxidation of morin. Applied Surface Science Advances, 6: 100181. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100181>
- [329] Padinjarathil H., Joseph M. M., Unnikrishnan B. S., Preethi G. U., Shiji R., Archana M. G., Maya S., Syama H. P. et Sreelekha T. T., 2018.- Galactomannan endowed biogenic silver nanoparticles exposed enhanced cancer cytotoxicity with excellent biocompatibility. International Journal of Biological Macromolecules, 118: 1174–1182. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.194>
- [330] Jing Y., Li J., Zhang Y., Zhang R., Zheng Y., Hu B., Wu L. et Zhang D., 2021.- Structural characterization and biological activities of a novel polysaccharide from *Glehnia littoralis* and its application in preparation of nano-silver. International Journal of Biological Macromolecules, 183: 1317–1326. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.178>

- [331] Mulvaney P., 1996.- Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles. *Langmuir*, 12(3): 788–800. <https://doi.org/10.1021/la9502711>
- [332] Restrepo C. V. et Villa C. C., 2021.- Synthesis of silver nanoparticles, influence of capping agents, and dependence on size and shape: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 15: 100428. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100428>
- [333] Smitha S. L., Nissamudeen K. M., Philip D. et Gopchandran K. G., 2008.- Studies on surface plasmon resonance and photoluminescence of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71(1): 186–190. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.12.002>
- [334] Ma Z., Liu J., Liu Y., Zheng X. et Tang K., 2021.- Green synthesis of silver nanoparticles using soluble soybean polysaccharide and their application in antibacterial coatings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166: 567–577. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.214>
- [335] Huang H. et Yang X., 2004.- Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: A green method. *Carbohydrate Research*, 339(15): 2627–2631. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.08.005>
- [336] Pandey S., Goswami G. K. et Nanda K. K., 2012.- Green synthesis of biopolymer-silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(4): 583–589. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.033>
- [337] Emam H. E. et Ahmed H. B., 2016.- Polysaccharides templates for assembly of nanosilver. *Carbohydrate Polymers*, 135: 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.095>
- [338] Kumar A. S., Madhu G., John E., Kuttinarayanan S. V. et Nair S. K., 2020.- Optical and antimicrobial properties of silver nanoparticles synthesized via green route using honey. *Green Processing and Synthesis*, 9(1): 268–274. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0029>
- [339] Jian W., Hou M., Wu H., Ma Y., Lin L., Jia B., Shen X., Xiong H. et Wang W., 2020.- Green and facile fabrication of silver nanoparticles using Konjac Glucomannan by photocatalytic

- p>strategy. Carbohydrate Polymers, 245: 116576.
-
- <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116576>
- [340] Bhardwaj A. K., Shukla A., Maurya S., Singh S. C., Uttam K. N., Sundaram S., Singh M. P. et Gopal R., 2018.- Direct sunlight enabled photo-biochemical synthesis of silver nanoparticles and their Bactericidal Efficacy: Photon energy as key for size and distribution control. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 188: 42–49.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.08.019>
- [341] Wani I. A., Ganguly A., Ahmed J. et Ahmad T., 2011.- Silver nanoparticles : Ultrasonic wave assisted synthesis , optical characterization and surface area studies. Materials Letters, 65(3): 520–522. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.11.003>
- [342] Niknam R., Mousavi M. et Kiani H., 2021.- A new source of galactomannan isolated from *Gleditsia caspica* (Persian honey locust) seeds: Extraction and comprehensive characterization. Journal of Food Processing and Preservation, 45(10): 1–16.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.15774>
- [343] Soares P. A. G., C De Seixas J. R. P., Albuquerque P. B. S., Santos G. R. C., Mourão P. A. S., Barros W., Correia M. T. S. et Carneiro-Da-Cunha M. G., 2015.- Development and characterization of a new hydrogel based on galactomannan and κ -carrageenan. Carbohydrate Polymers, 134: 673–679. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.042>
- [344] Qiu L., Shen Y., Wang C. et Yang X., 2018.- Scanning electron microscopy analysis of guar gum in the dissolution, gelation and gel-breaking process. Polymer Testing, 68: 95–99.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.04.001>
- [345] Salarbashi D., Bazeli J. et Fahmideh-Rad E., 2019.- Fenugreek seed gum: Biological properties, chemical modifications, and structural analysis. International Journal of Biological Macromolecules, 138: 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.006>
- [346] Haddarah A., Bassal A., Ismail A., Gaiani C., Ioannou I., Charbonnel C., Hamieh T. et Ghoul M., 2014.- The structural characteristics and rheological properties of Lebanese locust bean gum. Journal of Food Engineering, 120(1): 204–214.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.026>

- [347] Ma Y., Liu C., Qu D., Chen Y., Huang M. et Liu Y., 2017.- Antibacterial evaluation of silver nanoparticles synthesized by polysaccharides from *Astragalus membranaceus* roots. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89: 351–357. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.009>
- [348] El-Naggar N. E. A., Hussein M. H., Shaaban-Dessuuki S. A. et Dalal S. R., 2020.- Production, extraction and characterization of *Chlorella vulgaris* soluble polysaccharides and their applications in AgNPs biosynthesis and biostimulation of plant growth. *Scientific Reports*, 10(1): 3011. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59945-w>
- [349] Escobedo-Lozano A. Y., Domard A., Velázquez C. A., Goycoolea F. M. et Argüelles-Monal W. M., 2015.- Physical properties and antibacterial activity of chitosan/acemannan mixed systems. *Carbohydrate Polymers*, 115: 707–714. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.064>
- [350] Basu S., Ghosh M., Bhunia R. K., Ganguly J. et Banik B. K., 2017.- Polysaccharides from *Dolichos biflorus* Linn and *Trachyspermum ammi* Linn seeds: isolation, characterization and remarkable antimicrobial activity. *Chemistry Central Journal*, 11(1): 118. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0349-2>
- [351] Ren L., Hemar Y., Perera C. O., Lewis G., Krissansen G. W. et Buchanan P. K., 2014.- Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(2): 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.003>
- [352] Mæhre H. K., Weisensee S., Ballance S. et Rieder A., 2021.- Guar gum fortified white breads for prospective postprandial glycaemic control – Effects on bread quality and galactomannan molecular weight. *LWT - Food Science and Technology*, 152: 112354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112354>
- [353] Zhu Y., Xu W., Feng C., Zhu L., Ji L., Wang K. et Jiang J., 2024.- Study on structure and properties of galactomannan and enzyme changes during fenugreek seeds germination. *Carbohydrate Polymers*, 327: 121653. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121653>
- [354] Sayed F. A. Z., Eissa N. G., Shen Y., Hunstad D. A., Wooley K. L. et Elsabahy M., 2022.-

- Morphologic design of nanostructures for enhanced antimicrobial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1): 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01733-x>
- [355] El-Seedi H. R., El-Shabasy R. M., Khalifa S. A. M., Saeed A., Shah A., Shah R., Iftikhar F. J., Abdel-Daim M. M., Omri A., Hajrahand N. H., Sabir J. S. M., Zou X., Halabi M. F., Sarhan W. et Guo W., 2019.- Metal nanoparticles fabricated by green chemistry using natural extracts: biosynthesis, mechanisms, and applications. *RSC Advances*, 9(42): 24539–24559. <https://doi.org/10.1039/C9RA02225B>
- [356] Jing Y., Cheng W., Ma Y., Zhang Y., Li M., Zheng Y., Zhang D. et Wu L., 2022.- Structural characterization, antioxidant and antibacterial activities of a novel polysaccharide from *Zingiber officinale* and its application in synthesis of silver nanoparticles. *Frontiers in Nutrition*, 9: 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.917094>
- [357] Li H. F., Pan Z. C., Chen J. M., Zeng L. X., Xie H. J., Liang Z. Q., Wang Y. et Zeng N. K., 2024.- Green synthesis of silver nanoparticles using *Phlebopus portentosus* polysaccharide and their antioxidant, antidiabetic, anticancer, and antimicrobial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254: 127579. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127579>
- [358] Kaplan Ö., Gökşen Tosun N., Özgür A., Erden Tayhan S., Bilgin S., Türkeul İ. et Gökce İ., 2021.- Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using crude extracts of *Boletus edulis* and *Coriolus versicolor*: Characterization, anticancer, antimicrobial and wound healing activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64: 102641. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102641>
- [359] Nisar P., Ali N., Rahman L., Ali M. et Shinwari Z. K., 2019.- Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 24(7): 929–941. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01717-7>
- [360] Shang H., Wang M., Li R., Duan M., Wu H. et Zhou H., 2018.- Extraction condition optimization and effects of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Astragalus cicer* L. *Scientific Reports*, 8(1): 3359.

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-21295-z>

- [361] Manikandan D. B., Sridhar A., Krishnasamy Sekar R., Perumalsamy B., Veeran S., Arumugam M., Karuppaiah P. et Ramasamy T., 2021.- Green fabrication, characterization of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum americanum* (Hoary Basil) and investigation of its in vitro antibacterial, antioxidant, anticancer and photocatalytic reduction. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(1): 104845. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104845>
- [362] Li R., Zhu C., Bian X., Jia X., Tang N. et Cheng Y., 2020.- An antioxidative galactomannan extracted from Chinese *Sesbania cannabina* enhances immune activation of macrophage cells. *Food et Function*, 11(12): 10635–10644. <https://doi.org/10.1039/D0FO02131H>
- [363] Dammak A., Ben Slima S., Gomes da Silva M. D. R., Ben Salah R., Aljuaid A. M., Hachicha W. et Bouaziz M., 2022.- Antioxidant and antibacterial activities of a purified polysaccharide extracted from *Ceratonia siliqua* L. and its involvement in the enhancement performance of whipped cream. *Separations*, 9(5): 117. <https://doi.org/10.3390/separations9050117>
- [364] Shahat A. S. et Assar N. H., 2015.- Biochemical and antimicrobial studies of biosynthesised silver nanoparticles using aqueous extract of *Myrtus communis* L. *Annals of Biological Research*, 6(11): 90–103.
- [365] Mohanta B., Sen D. J., Mahanti B. et Nayak A. K., 2022._ Antioxidant potential of herbal polysaccharides: An overview on recent researches. *Sensors International*, 3: 100158. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2022.100158>
- [366] Hu Y. N., Sung T. J., Chou C. H., Liu K. L., Hsieh L. P. et Hsieh C. W., 2019.- Characterization and antioxidant activities of yellow strain *Flammulina velutipes* (Jinhua mushroom) polysaccharides and their effects on ROS content in L929 cell. *Antioxidants*, 8(8): 298. <https://doi.org/10.3390/antiox8080298>
- [367] Zhu R., Zhang X., Wang Y., Zhang L., Zhao J., Chen G., Fan J., Jia Y., Yan F. et Ning C., 2019.- Characterization of polysaccharide fractions from fruit of *Actinidia arguta* and assessment of their antioxidant and antiglycated activities. *Carbohydrate Polymers*, 210: 73–

84. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.037>
- [368] Zhong K., Lin W., Wang Q. et Zhou S., 2012.- Extraction and radicals scavenging activity of polysaccharides with microwave extraction from mung bean hulls. International Journal of Biological Macromolecules, 51(4): 612–617. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.032>
- [369] Melo R. C., Geronço M. S., Sousa R. W. R., Ramos L. P. S., Araújo F. P., Ribeiro A. B., Ferreira P. M. P., Osajima J. A. et Costa M. P., 2018.- Biopolymer from Adenantha pavonina L. seeds: Characterization, photostability, antioxidant activity, and biotoxicity evaluation. International Journal of Polymer Science, 2018: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2018/1385830>
- [370] Mittal A. K., Kaler A. et Banerjee U. C., 2012.- Free radical scavenging and antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from flower extract of *Rhododendron dauricum*. Nano Biomedicine and Engineering, 4(3): 118–124. <https://doi.org/10.5101/nbe.v4i3.p118-124>
- [371] Ahmed M. J., Murtaza G., Rashid F. et Iqbal J., 2019.- Eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles and their potential applications as antioxidant and anticancer agents. Drug Development and Industrial Pharmacy, 45(10): 1682–1694. <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1656224>
- [372] Shanmugasundaram T., Radhakrishnan M., Gopikrishnan V., Pazhanimurugan R. et Balagurunathan R., 2013.- A study of the bactericidal, anti-biofouling, cytotoxic and antioxidant properties of actinobacterially synthesised silver nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 111: 680–687. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.06.045>
- [373] Bedlovičová Z., Strapáč I., Baláž M. et Salayová A., 2020.- A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. Molecules, 25(14): 3191. <https://doi.org/10.3390/molecules25143191>
- [374] Dhayalan M., Denison M. I. J., L, Jegadeeshwari L . A., Krishnan, K. et Gandhi N . G., 2017.- In vitro antioxidant, antimicrobial, cytotoxic potential of gold and silver nanoparticles prepared using Embelia ribes. Natural Product Research, 31(4): 465–468.

<https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1166499>

- [375] Saravanakumar A., Ganesh M., Jayaprakash J. et Jang H. T., 2015.- Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cassia tora* leaf extract and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 28: 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.03.003>
- [376] Sriranjani R., Srinithya B., Vellingiri V., Brindha P., Anthony S. P., Sivasubramanian A. et Muthuraman M. S., 2016.- Silver nanoparticle synthesis using *Clerodendrum phlomidis* leaf extract and preliminary investigation of its antioxidant and anticancer activities. *Journal of Molecular Liquids*, 220: 926–930. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.05.042>
- [377] Chandra S., Chatterjee P., Dey P. et Bhattacharya S., 2012.- Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1): S178–S180. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60154-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60154-3)
- [378] Rösner H., Williams L. A., Jung A. et Kraus W., 2001.- Disassembly of microtubules and inhibition of neurite outgrowth, neuroblastoma cell proliferation, and MAP kinase tyrosine dephosphorylation by dibenzyl trisulphide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1540(2): 166–177. [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(01\)00129-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(01)00129-X)
- [379] Williams L. A. D., Vasquez E. A., Milan P. P., Zebitz C. et Kraus W., 2002. In vitro anti-inflammatory and antimicrobial activities of phenylpropanoids from *Piper betle* L., (Piperaceae). *Natural Products in the New Millennium: Prospects and Industrial Application*, 2: 221–227. https://doi.org/10.1007/978-94-015-9876-7_22
- [380] Duganath N., Kumar S. R., Kumanan R. et Jayaveera K. N., 2010.- Evaluation of anti-denaturation property and anti-oxidant activity of traditionally used medicinal plants. *International Journal of Pharma and Bio Science*, 1(2): 1–7.
- [381] Abbou A., Kadri N., Debbache N., Dairi S., Remini H., Dahmoune F., Berkani F., Adel K., Belbahi A. et Madani K., 2019.- Effect of precipitation solvent on some biological activities of polysaccharides from *Pinus halepensis* Mill. seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 141: 663–670. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.266>

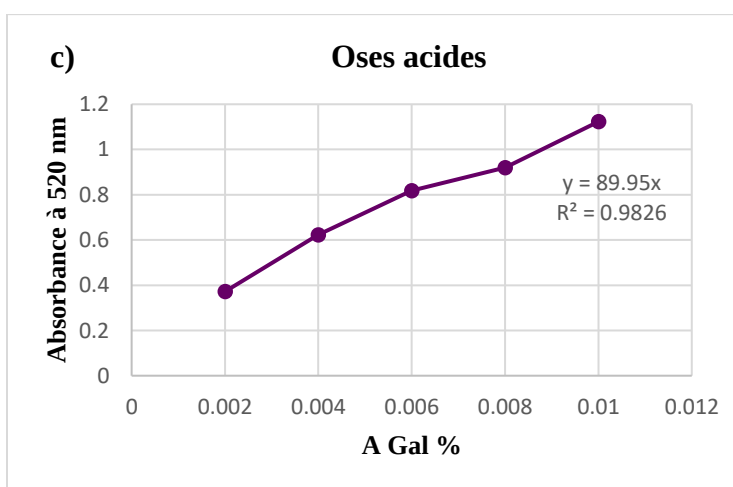
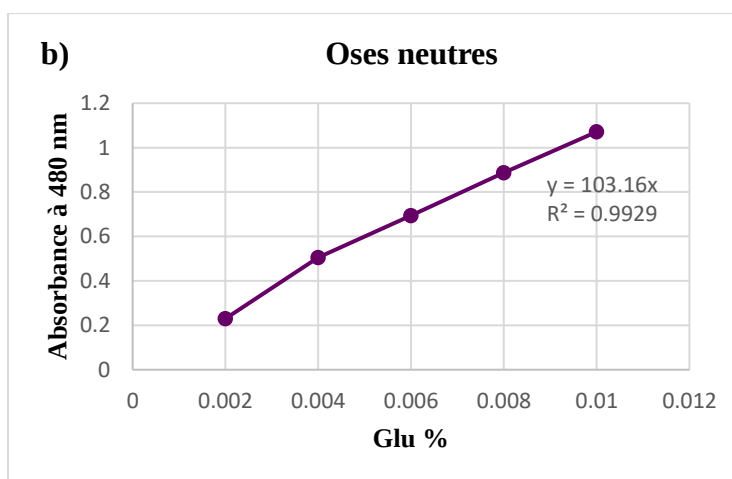
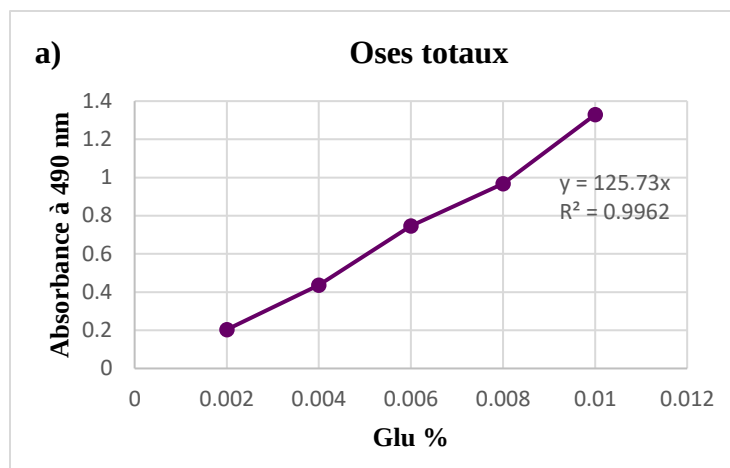
Annexes

Annexe 1 : Préparation des solutions et des réactifs pour les dosages colorimétriques

Solution	Protocole de préparation
Extrait polysaccharidique AGFPG 0.01 % (échantillon)	Dans 100 ml de l'eau ultrapure, dissoudre 10 mg d'AGFPG en poudre
Etalons (Glucose, acide galacturonique, BSA et acide gallique) à 0.01 %	Dans 100 ml de l'eau distillée, dissoudre 10 mg d'étalon
Phénol 5 %	Dans 40 ml de l'eau distillée, dissoudre 2 g de phénol
Résorcinol 0.6 %	Dans 25 ml de l'eau distillée, dissoudre 0.15 g de résorcinol
Borax	Dans 100 ml d'acide sulfurique, dissoudre 4.576 g de tétraborate de sodium
Méta-hydroxybiphényle (m-HBP) 0.15 %	Dans 50 ml de NaOH 0.5 %, dissoudre 0.075 g de m-HBP
NaOH 0.5 %	Dans 50 ml d'eau distillée, dissoudre 0.25 g de NaOH
Réactif de Bradford	Dans 50 ml d'éthanol à 95 %, dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie. A ce mélange, ajouter 100 ml d'acide phosphorique à 85 %. Diluer la solution résultant jusqu'à un volume de 1000 ml.
Carbonate de sodium (Na₂CO₃) 10 %	Dans 25 ml d'eau distillée, dissoudre 2.5 g de Na ₂ CO ₃

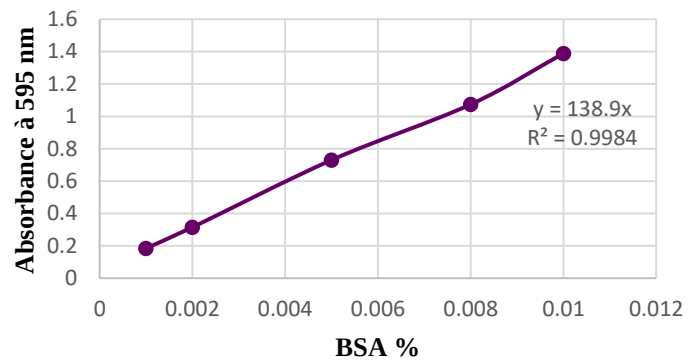
N.B : % = m/v = 1 g/100 ml

Annexe 2 a, b, c, d, e : Courbes étalons pour les dosages colorimétriques



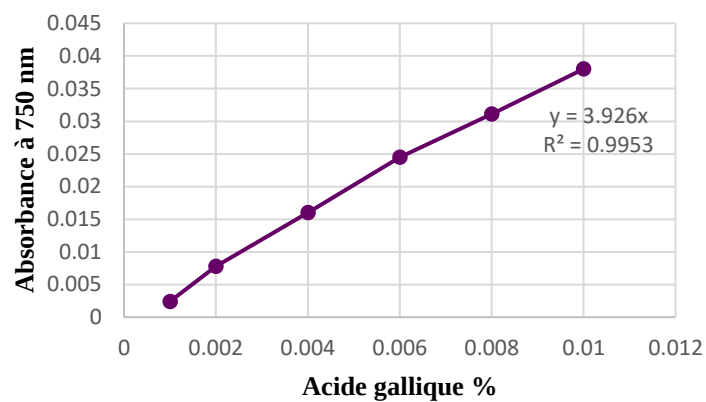
d)

Protéines



e)

Composés phénoliques



Annexe 3 : Déplacements chimiques ^1H et ^{13}C de l'extrait polysaccharidique AGFPG

Structure	H-1/C-1	H-2/C-2	H-3/C-3	H-4/C-4	H-5/C-5	H-6/C-6
α-D-Galp-(1→	5.2/99.72	3.72/68.33	3.84/69.23	3.88/69.23	3.79/71.22	3.64/61.17
→4)-β-D-Manp-(1→	4.94/100.09	4.04/69.77	3.7/72.66	3.72/76.68	3.45/74.94	3.79/60.4
→4,6)-β-D-Manp-(1→	4.94/100.09	4.03/69.77	3.7/72.66	3.72/77.04	3.65/73.16	3.86/66.39

Caractérisation et potentiel biologique des polysaccharides issus d'*Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae)

Résumé

Le présent travail porte sur la caractérisation et potentiel biologique des polysaccharides issus des graines d'*Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae). Après l'extraction de l'extrait polysaccharidique AGFPG avec un rendement de 10.4 % (m/m), la teneur en oses totaux est de 83.09 ± 0.03 %. La caractérisation de l'AGFPG par FTIR-ATR, CCM, HPLC et RMN indique que c'est un galactomannane composé de β -D-mannose (60.5 %) et d' α -D-galactose (39.95 %) avec un rapport Man/Gal de 1.51. La biosynthèse des nanoparticules AgNPs se manifeste par un spectre UV-vis à partir d'un pic à 423 nm. La caractérisation des AgNPs biosynthétisés par DRX, MEB-EDX révèle leur forme sphérique, leur nature cristalline avec une structure cubique à faces centrées (FCC). L'AGFPG et les AgNPs biosynthétisés ont une valeur du potentiel zêta égale à -12.4 mV et -48.6 mV, respectivement. Les AgNPs biosynthétisés possédaient une activité antimicrobienne contre *Candida albicans*, 4 bactéries Gram négatives et 4 bactéries Gram positives. En revanche, l'AGFPG n'a aucune activité antimicrobienne. Selon les tests de DPPH, d'ABTS et du pouvoir réducteur ferrique, l'AGFPG et les AgNPs biosynthétisés semblaient avoir des propriétés antioxydantes remarquables. Le potentiel anti-inflammatoire de l'AGFPG à inhiber la dénaturation de la BSA sous l'effet de la chaleur s'est avéré appréciable et demeure concentration dépendante. Les AgNPs biosynthétisés par l'AGFPG possèdent de propriétés notables antimicrobiennes et antioxydantes.

Mots clés : Polysaccharides, *Astragalus gombiformis* Pomel, biosynthèse, nanoparticules, AgNPs, potentiel biologique.

Characterization and biological potential of polysaccharides from *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae)

Abstract

The present work focuses on the characterization and biological potential of polysaccharides from the seeds of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae). After the extraction of the polysaccharide extract AGFPG with a yield of 10.4 % (w/w), the total carbohydrate content was 83.09 ± 0.03 %. The characterization of AGFPG by FTIR-ATR, TLC, HPLC and NMR indicates that it is a galactomannan composed of β -D-mannose (60.5 %) and α -D-galactose (39.95 %) with a Man/Gal ratio of 1.51. The biosynthesis of AgNPs nanoparticles is manifested by a UV-vis spectrum from a peak at 423 nm. Characterization of biosynthesized AgNPs by XRD, SEM-EDX revealed their spherical shape, crystalline nature with a face-centered cubic (FCC) structure. AGFPG and biosynthesized AgNPs had a zeta potential value equal to -12.4 mV and -48.6 mV, respectively. Biosynthesized AgNPs possessed antimicrobial activity against *Candida albicans*, 4 Gram-negative bacteria, and 4 Gram-positive bacteria. In contrast, AGFPG had no antimicrobial activity. According to DPPH, ABTS, and Ferric reducing power tests, AGFPG and biosynthesized AgNPs appeared to have remarkable antioxidant properties. The anti-inflammatory potential of AGFPG to inhibit the denaturation of BSA under the effect of heat was found to be appreciable and remained concentration-dependent. AgNPs biosynthesized by AGFPG possess notable antimicrobial and antioxidant properties.

Keywords: Polysaccharides, *Astragalus gombiformis* Pomel, biosynthesis, nanoparticles, AgNPs, biological potential.

ملخص

يتعلق هذا العمل بالتوصيف والإمكانات البيولوجية لعديد السكريات من بذور *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae). بعد استخراج مستخلص عديد السكاريد AGFPG بإنتاجية 10.4 %، بلغ إجمالي محتوى السكريات ± 83.09 0.03 %. أشار توصيف AGFPG بواسطة FTIR-ATR و CCM و HPLC و RMN إلى أنه عبارة عن جالاكتومانان يتكون من β -D-mannose (60.5 %) و α -D-galactose (39.95 %) مع معامل Man /Gal يبلغ 1.51. يتجلى التخليق الحيوي لجسيمات AgNPs النانوية في طيف الأشعة فوق البنفسجية من ذروة عند 423 نانومتر. يكشف توصيف الجسيمات النانوية AgNPs المُخلَّقة حيويًا بواسطة XRD و SEM-EDX عن شكلها الكروي، وطبيعتها البلورية مع بنية مكعبة متمركزة الوجه (FCC). AGFPG و AgNPs المُصنَّعة حيويًا لهما قيمة زيتا محتملة تساوي -12.4 ملي فولت و -48.6 ملي فولت، على التوالي. تمتلك AgNPs المصنعة حيويًا نشاط مضاد للميكروبات ضد *Candida albicans*، 4 بكتيريا سالبة الغرام و 4 بكتيريا موجبة الغرام. في المقابل، AGFPG ليس لديه نشاط مضاد للميكروبات. وفقًا لاختبارات DPPH و ABTS واختبارات قوة الاختزال الحديدي، بدا أن AGFPG و AgNPs المُصنَّعة حيويًا يمتلكان خصائص مضادة للأكسدة ملحوظة. لقد ثبت أن القدرة المضادة للالتهابات التي يتمتع بها AGFPG على تثبيط تمسخ BSA تحت تأثير الحرارة ملحوظة وتظل تعتمد على التركيز. تمتلك AgNPs التي تم تصنيعها حيويًا بواسطة AGFPG خصائص ملحوظة مضادة للميكروبات و مضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: عديد السكريات، *Astragalus gombiformis* Pomel، التخليق الحيوي، الجسيمات النانوية، AgNPs، الإمكانات البيولوجية.