

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



Université de Ghardaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par : Mme BRAHIMOUAÏSSA Aïcha

Thème

**Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles extraits des
fruits de *Ziziphus lotus*: composition biochimique et Activité antioxydante**

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Dr. BOUZIDI Soumia.
Dr. SEDDIKI Malika

Maître de conférence B
Maître de conférence B

Univ-Ghardaia
Univ-Ghardaia

Présidente
Examinatrice

Dr. ADDOUN Noura
Pr. Boual Zakaria

Maître de conférence B
Professeur

Univ-Ghardaia
Université de
Ouargla

Promotrice
Co-
Promoteur

Année universitaire 2024–2025

Remerciements

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant pour m'avoir accordé la patience, la force et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce parcours.

Je tiens à exprimer ma plus sincère gratitude à mon encadrante Dr. ADDOUN Noura, Maitre de conférences B au Département de Biologie, Université de Ghardaïa, pour sa disponibilité, son accompagnement constant, ses précieux conseils et ses encouragements durant tout le processus de réalisation de ce mémoire.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement Dr. BOUAL Zakaria, Professeur au Département de Biologie, Université KASDI Merbah-Ouargla, pour les facilités matérielles accordées durant la phase expérimentale.

Mes remerciements s'adressent également à Dr. BOUMENJEL Mahieddine, Professeur au Département de Biochimie, Université BADJI Mokhtar- Annaba, pour m'avoir orienté, conseillé et soutenu avec rigueur et bienveillance. Son encadrement à distance a été d'un grand apport pour ce travail. Ainsi que Dr. BECHEKER Abir, pour son aide précieuse et son assistance lors de la mise en œuvre de l'activité anti-oxydante. Leur soutien technique et scientifique a été d'une grande importance pour l'aboutissement de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont également à Dr. BOUZIDI Soumia, maitre de conférences au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Ghardaïa, de nous faire l'honneur de présider le jury et d'apprécier notre travail. Mes remerciements s'adressent aussi à Dr. SEDDIKI Malika., maitre de conférences au département de Biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Ghardaïa, je lui rends hommage pour avoir accepter de faire partie du jury.

Je remercie également l'ensemble des enseignants et membres du Département de Biochimie de l'Université de Ghardaïa pour la qualité de l'enseignement dispensé et leur accompagnement tout au long de mon cursus.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à la réussite de ce mémoire.

Dédicaces

C'est avec un immense plaisir et une profonde émotion que je dédie ce modeste travail :

À mon cher mari, pour sa patience, son amour, son soutien inconditionnel et sa présence rassurante à chaque étape de ce parcours.

À mon père, avec tout le respect et l'amour que je lui porte, pour ses encouragements constants et son soutien indéfectible.

À ma très chère mère, dont les sacrifices, la tendresse et les prières silencieuses ont été ma plus grande force. Les mots ne sauraient exprimer toute ma reconnaissance.

À mes beaux-parents, pour leur gentillesse, leur soutien moral et leurs encouragements sincères.

À toute ma belle-famille, pour leur bienveillance et leur soutien durant ces années d'études.

À ma famille, pour leur amour et leur appui indéfectible.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de mon parcours à l'Université de Ghardaïa.

Aicha

Résumé

Les polysaccharides hydrosolubles extraits des fruits de *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae), une plante spontanée à usage médicinal, suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés biologiques potentielles. Ce travail vise à extraire, caractériser et évaluer l'activité antioxydante des polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Ziziphus lotus* collectés dans la région de Ghardaïa. L'extraction a été réalisée par macération à chaud, donnant un rendement massique de 6,40%. La caractérisation biochimique de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des fruits de *Ziziphus lotus* (PSZL) a été réalisée à l'aide de méthodes colorimétriques. Le dosage des oses totaux a été effectué selon la méthode de Dubois et al. (1956), la teneur en protéines a été déterminée par la méthode de Bradford (1976), et la quantification des polyphénols totaux selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Les analyses ont révélé une teneur de $73,18 \pm 0,034$ % en oses totaux, $31 \pm 0,05$ % en oses neutres, $4 \pm 0,11$ % en protéines et $1,5 \pm 0,007$ % en polyphénols. L'analyse de la composition en monosaccharides par chromatographie sur couche mince (CCM) a mis en évidence la présence de plusieurs oses : arabinose, fructose, galactose, glucose, mannose, ribose, xylose, ainsi que des acides galacturonique (Gal.A) et glucuronique (Glc.A). L'évaluation de l'activité antioxydante, réalisée par le test de piégeage du radical DPPH•, a montré une activité notable avec une valeur d'IC₅₀ de $79,51 \pm 0,45$ µg/mL, indiquant un potentiel important de neutralisation des radicaux libres.

Mots clés: *Ziziphus lotus*, polysaccharides hydrosolubles, CCM, activité antioxydante, DPPH•, Ghardaïa.

Abstract

Water-soluble polysaccharides extracted from the fruits of *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae), a spontaneous medicinal plant, are attracting increasing interest due to their potential biological activities. This study aims to extract, characterize, and evaluate the antioxidant activity of water-soluble polysaccharides obtained from the fruits of *Ziziphus lotus* collected in the Ghardaïa region. The extraction was carried out by hot maceration, yielding a mass recovery of 6.40%. Biochemical characterization of the water-soluble polysaccharide extract from *Ziziphus lotus* fruits (PSZL) was performed using colorimetric methods. Total sugars were quantified using the method of Dubois et al. (1956), protein content was determined using Bradford's method (1976), and total polyphenols were quantified using the Folin-Ciocalteu method. The analyses revealed contents of $73.18 \pm 0.034\%$ total sugars, $31 \pm 0.05\%$ neutral sugars, $4 \pm 0.11\%$ proteins, and $1.5 \pm 0.007\%$ polyphenols. Monosaccharide composition analysis by thin-layer chromatography (TLC) identified the presence of arabinose, fructose, galactose, glucose, mannose, ribose, xylose, as well as galacturonic acid (Gal.A) and glucuronic acid (Glc.A). Antioxidant activity, assessed through DPPH• radical scavenging assay, showed a notable effect with an IC_{50} value of $79.51 \pm 0.45 \mu\text{g/mL}$, indicating significant free radical neutralization potential.

Keywords: *Ziziphus lotus*, water-soluble polysaccharides, TLC, antioxidant activity, DPPH•, Ghardaïa.

الملخص

تُثير السكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء والمستخلصة من ثمار نبتة السدر الصحراوي (*Ziziphus lotus*) ، وهي نبتة تلقائية ذات استخدامات طبية، اهتمامًا متزايدًا نظرًا لخصائصها البيولوجية المحتملة. يهدف هذا العمل إلى استخلاص، وتوصيف، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للسكريات المتعددة القابلة للذوبان في الماء المستخلصة من ثمار *Ziziphus lotus* التي تم جمعها من منطقة غرداية. تم تنفيذ الاستخلاص عن طريق النقع الساخن، مما أعطى مردودًا كميًا قدره 6.40٪.

أظهرت التحاليل البيوكيميائية، التي أجريت باستخدام طرق لونية، أن المستخلص PSZL يحتوي على 0.034 ± 73.18 ٪ من السكريات الكلية، و 0.05 ± 31 ٪ من السكريات المتعادلة، و 0.11 ± 4 ٪ من البروتينات، و 0.007 ± 1.5 ٪ من البوليفينولات.

أما تحليل تركيب السكريات الأحادية باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة (CCM) ، فقد كشف عن وجود عدة سكريات مثل: الأرابينوز، الفركتوز، الغالاكتوز، الجلوكوز، المانوز، الريبوز، الزيلوز، بالإضافة إلى الحمض الغالاكتورونيك (GalA) والحمض الغلوكورونيك (GlcA).

أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار تثبيط الجذور الحرة DPPH• نشاطًا ملحوظًا بقيمة $IC_{50} = 0.45 \pm 79.51 \mu\text{g/mL}$ ، مما يدل على قدرة كبيرة في تثبيط الجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية : *Ziziphus lotus* ؛ السكريات المتعددة القابلة للذوبان، CCM، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH•، غرداية.

Liste des figures

Figure 1. Schéma représentatif de deux types de polysaccharides : A) Les homo-polysaccharides et B) Les hétéro-polysaccharides.	7
Figure 2. Attaque du radical hydroxyle (OH•) sur la guanine, l'une des bases de l'ADN	20
Figure 3. Feuilles et fruits et fleurs de <i>Z. lotus</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 4. Préparation des Échantillons : Séparation des Graines de Pulpe et Peau.	26
Figure 5. Séchage des résidus de <i>Z.lotus</i> après extraction.	27
Figure 6. Concentration du filtrat après extraction.	27
Figure 7. Précipitation addition d'éthanol et d'acétone.	28
Figure 8. Lyophilisation de l'extrait pour obtenir des polysaccharides purs.	28
Figure 9. Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosoluble.	29
Figure 10. Réaction du piégeage du radicale libre DPPH.	35
Figure 11. Caractérisation par CCM des hydrolysats de polysaccharides hydrosolubles extraits des fruits de <i>Ziziphus lotus</i> par l'acide trifluoroacétique (2 M), durant 4 heures à 100°C (Deuxième système).....	42
Figure 12. Pourcentage d'inhibition du BHT du radicale libre DPPH.	43
Figure 13. Pourcentage d'inhibition du PSZL du radicale libre DPPH.	44

Liste des tableaux

Tableau 1. Gamme d'étalonnage du glucose 0,04 à 0,1 g/L	30
Tableau 2. Gamme d'étalonnage du galactose 0,05 à 0,4 g/L.....	31
Tableau 3. Gamme d'étalonnage de l'acide d'acide gallique 0,2 à 1 g/L.	32
Tableau 4. Gamme d'étalonnage de BSA 0,0050 à 0,02 g/L.	33
Tableau 5. Rapports frontaux (Rf) des oses étalons et de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des fruits de Ziziphus lotus (PSZL) pour deux systèmes de chromatographie sur couche mince (CCM).	41
Tableau 6. Concentration inhibitrice médiane (IC ₅₀)PSZL	43

Liste des annexes

Annexe I. Préparation des réactifs des dosages colorimétrique.....	64
Annexe II. Courbe d'étalonnage des oses totaux.....	64
Annexe III. Courbe d'étalonnage des oses neutre	65
Annexe IV. Courbe d'étalonnage des composée phénolique	65
Annexe V. Courbe d'étalonnage des protéines.....	66

Liste des abréviations

Abréviation	Définition
BHT	Butylhydroxytoluène (antioxydant standard)
BSA	Bovine Serum Albumin (albumine sérique bovine)
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
ED	Eau distillée
EOA	Espèces Oxygénées Activées
ERO / ROS	Espèces réactives de l'oxygène / Reactive Oxygen Species
Fru	Fructose
Gal	Galactose
GalA	Acide galacturonique
GlcA	Acide glucuronique
Glu	Glucose
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
IC₅₀	Concentration inhibitrice à 50 %
PS / PSZL	Polysaccharide sulfatés / Polysaccharide de <i>Ziziphus lotus</i>
SOD	Superoxyde dismutase
TFA	Acide trifluoroacétique
UAE	Extraction assistée par ultrasons

Table des matières

Remerciments	I
<i>Dédicaces</i>	II
Résumé	III
Abstract.....	IV
الملخص	V
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VII
Liste des annexes	VIII
Liste des abréviations.....	IX
Table des matières	X
Introduction	1

Chapitre I. Synthèse bibliographique

I.1. Vue d'ensemble sur les polysaccharides et les études phytochimiques antérieures sur quelques espèces végétales.....	6
I.1.1. Généralités sur les polysaccharides	6
I.1.1.1. Polysaccharides d'origine bactérienne et fongique.....	8
I.1.1.2. Polysaccharides d'origine animale	9
I.1.1.3. Polysaccharides d'origine végétal.....	10
I.1.2. Activités biologiques des polysaccharides	12
I.1.2.1. Activité anticoagulante des polysaccharides.....	12
I.1.2.2. Activité antitumorale des polysaccharides	13
I.1.2.3. Propriétés antidiabétiques des polysaccharides	14
I.1.2.4. Activité antioxydante des polysaccharides	14
I.2. Introduction sur le stress oxydatif.....	15
I.2.1. Origine et formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	16

I.2.2. Conséquences du stress oxydatif sur les composants cellulaires (lipides, protéines et ADN)	17
I.2.3. Stress oxydatif et maladies chroniques : lien avec les cancers et les maladies cardiovasculaires	19
I.3. Étude botanique et répartition géographique de <i>Ziziphus lotus</i>	22
I.3.1. Description botanique	22
I.3.2. Utilisation traditionnelle	22
I.3.3. Répartition géographique.....	23
I.3.4. Position systématique.....	23

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. Principe d'étude	25
II.2. Matériel.....	25
II.3. Etude des polysaccharides	25
II.3.1. Extraction des polysaccharides (protocole modifié).....	25
II.3.2. Composition des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles.....	29
II.3.2.1. Dosage des oses totaux	29
II.3.2.2. Dosage des oses neutres	30
II.3.2.3. Dosage des composés polyphénoliques totaux (PPT)	31
II.3.2.4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976).....	32
II.3.2.5. Caractérisation des monosaccharides par chromatographie sur couche mince (CCM)	33
II.3.3. Activité antioxydante par la méthode de réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH).....	35

Chapitre III. Résultats et Discussion

III.1. Caractérisation de l'extrait polysaccharidiques hydrosolubles des fruits de <i>Ziziphus lotus</i>	38
III.1.1. Rendement de l'extraction.....	38
III.1.2. Taux en oses totaux.....	38

III.1.3. Teneur en oses neutres	39
III.1.4. Teneur en protéines.....	39
III.1.5. Teneur en polyphénols.....	40
III.1.6. Caractérisation de hydrolysat des polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de <i>Ziziphus lotus</i> par CCM.....	40
III.2. Activité antioxydante des PSZL	42
Conclusion.....	45
Références bibliographiques	48
Annexes	63

Introduction

Introduction

Depuis toujours, l'humanité s'est appuyée sur la nature pour subvenir à ses besoins essentiels tels que la production de nourriture, les habitations, les vêtements, les moyens de transport, les engrais, les arômes, les parfums, et surtout les médicaments. Les plantes ont constitué la base de systèmes traditionnels de médecine sophistiqués, en usage depuis des millénaires, et continuent encore aujourd'hui à offrir à l'humanité de nouvelles solutions thérapeutiques. **(Gurib-Fakim, 2006).**

Les polysaccharides sont des polymères macromoléculaires naturels, généralement constitués de plus de dix unités de monosaccharides reliées entre elles par des liaisons glycosidiques, formant des chaînes linéaires ou ramifiées, avec une masse moléculaire pouvant atteindre plusieurs dizaines de milliers, voire des millions **(Xin et al., 2016).**

Ces dernières années, les polysaccharides isolés à partir de ressources naturelles telles que les plantes, les animaux, les champignons ou encore les algues marines, ont suscité un intérêt croissant en raison de la diversité de leurs activités pharmacologiques, notamment leurs effets antitumoraux, immunomodulateurs, antioxydants et anti-inflammatoires **(Yu et al., 2018a).**

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont produites par les organismes vivants à la suite du métabolisme cellulaire normal. À faibles ou modérées concentrations, elles interviennent dans divers processus physiologiques cellulaires, mais à fortes concentrations, elles peuvent provoquer des altérations néfastes des composants cellulaires tels que les lipides, les protéines et l'ADN **(Birben et al., 2012).**

Pour se protéger des dommages induits par le stress oxydatif, les cellules disposent de plusieurs enzymes antioxydantes ainsi que de mécanismes de réparation, dont la plupart sont exprimés à de faibles niveaux durant la croissance normale **(Storz et Imlayt, 1999).** Ces antioxydants sont progressivement remplacés par des composés naturels, tels que les polysaccharides, qui suscitent un vif intérêt de la part des chercheurs et des consommateurs en raison de leurs propriétés antioxydantes **(Xu et al., 2009b).**

Récemment, les polysaccharides ont été rapportés comme étant d'efficaces piègeurs de radicaux libres et antioxydants, jouant un rôle essentiel dans la protection contre les dommages oxydatifs chez les organismes vivants. D'un autre côté, de nombreuses pathologies

telles que l'asthme, les inflammations, le diabète, l'infarctus du myocarde et les maladies cardiovasculaires sont associées au stress oxydatif (Wang *et al.*, 2016).

Les aliments fonctionnels et les produits naturels suscitent un intérêt croissant en raison de leur valeur médicinale. *Ziziphus lotus* (*Z. lotus*), également connu sous le nom de jujube, est une plante médicinale traditionnelle largement répandue. Sur le plan botanique, elle appartient à la famille des Rhamnaceae, un groupe d'angiospermes comprenant environ 135 à 170 espèces (Maraghni *et al.*, 2010).

Depuis plusieurs années, une attention croissante est accordée à l'exploration de nouvelles sources de composés d'origine végétale, dans le but de développer de nouveaux principes actifs ou d'identifier des analogues structuraux de molécules déjà connues (Deters *et al.*, 2005).

Cependant, la flore spontanée à potentiel médicinal du Sahara algérien, ainsi que les interactions entre les populations locales et les espèces végétales dans cette région aride, méritent une attention particulière.

Face à ce constat, la présente étude porte sur l'extraction et la caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae), une espèce végétale spontanée largement utilisée dans la médecine traditionnelle du Sahara algérien. L'objectif de ce travail est de caractériser les polysaccharides extraits et d'évaluer leurs activités biologiques, dans le but d'élargir leurs perspectives d'exploitation dans le domaine biomédical. Ainsi, la problématique de cette recherche s'énonce comme suit : les polysaccharides hydrosolubles extraits des fruits de *Ziziphus lotus* présentent-ils des propriétés biochimiques et une activité antioxydante suffisantes pour justifier leur valorisation en tant qu'agents biomédicinaux potentiels ?

Le présent mémoire est structuré en trois chapitres principaux :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique, présentant les caractéristiques des polysaccharides, leurs différentes origines, leurs propriétés biologiques, ainsi que les notions essentielles sur le stress oxydatif et ses implications pathologiques.

- Le deuxième chapitre détaille le matériel et les méthodes utilisées, en décrivant l'espèce végétale étudiée (*Ziziphus lotus*), le protocole d'extraction des polysaccharides, les techniques de caractérisation biochimique, et les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.
- Le troisième chapitre présente et discute les résultats expérimentaux obtenus, en mettant en évidence la composition biochimique des polysaccharides extraits ainsi que leur activité antioxydante, *in vitro*.

Enfin, le mémoire se clôt par une conclusion générale résumant les principaux résultats et suggérant des perspectives de recherche futures.

Chapitre I.

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Synthèse bibliographique

I.1. Vue d'ensemble sur les polysaccharides et les études phytochimiques antérieures sur quelques espèces végétales

Ce chapitre aborde des généralités sur les polysaccharides, incluant des définitions et une description de quelques types couramment rencontrés. Il présente également des études antérieures portant sur des polysaccharides extraits de différentes plantes et mettant en évidence leurs activités biologiques. Par ailleurs, des recherches phytochimiques précédentes ainsi que l'utilisation traditionnelle des espèces végétales concernées par cette étude y sont également exposées.

I.1.1. Généralités sur les polysaccharides

Dans la nature, les polysaccharides sont présents chez presque tous les organismes vivants, notamment dans les tissus des graines, des tiges et des feuilles des plantes médicinales, dans les fluides corporels des animaux, ainsi que dans les parois cellulaires et les fluides extracellulaires des bactéries, des levures et des champignons (Singh *et al.*, 2012a).

Les polysaccharides peuvent être classés selon plusieurs critères, notamment leur structure, leur composition chimique, leur solubilité, leur origine ainsi que leurs applications (Xie *et al.*, 2016a).

Sur le plan chimique, ils se divisent en deux grandes catégories (*Figure 1*) :

- *Les homopolysaccharides ou homoglycanes* : composés d'un seul type de monosaccharide.

Comme la cellulose et le glycogène, constitués uniquement de glucose.

- *Les hétéropolysaccharides ou hétéroglycanes* : qui contiennent plusieurs types de monosaccharides.

Un exemple représentatif est l'héparine, composée d'acide α -L-idopyranosyluronic-2-sulfate et de 2-désoxy-2-sulfoamino- α -D-glucopyranose-6-sulfate.

Selon les molécules associées à la chaîne de glycanes, les polysaccharides peuvent également être classés en protéoglycanes, glycoprotéines ou glycolipides et en fonction de

leur origine, les polysaccharides bioactifs peuvent être dérivés de sources végétales, de lichens ou encore de sources animales (Liu *et al.*, 2015).

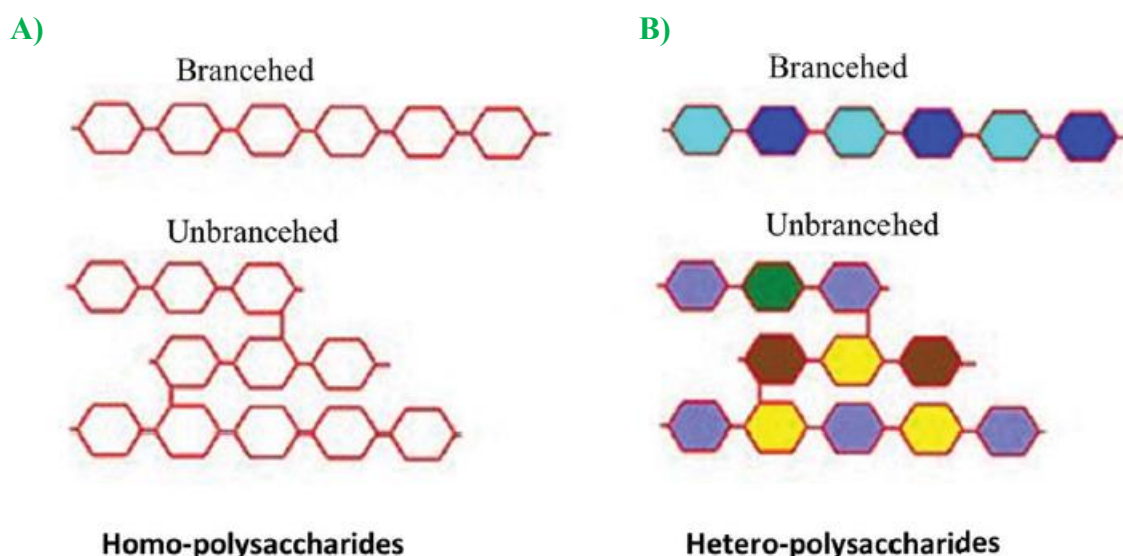


Figure 1. Schéma représentatif de deux types de polysaccharides : A) Les homo-polysaccharides et B) Les hétéro-polysaccharides (Xie *et al.*, 2016a)

L'utilisation des plantes à des fins alimentaires et médicinales est répandue à travers le monde, notamment dans les médecines traditionnelles de la Chine, de la Corée, de l'Inde, de l'Afrique, de l'Asie et de l'Amérique du Sud. Elles sont également utilisées comme « remèdes traditionnels » dans les pays occidentaux. Stimpel *et al.* (1984) ont publié l'un des premiers rapports scientifiques sur les effets potentiels d'un polysaccharide pur et complexe, extrait d'*Echinacea purpurea*, une plante traditionnellement utilisée en Amérique du Nord pour le traitement de la grippe et la cicatrisation des plaies. Peu après, un intérêt croissant a été accordé à l'étude des polysaccharides bioactifs, et la majorité des recherches menées dans ce domaine se sont appuyées sur les connaissances traditionnelles concernant l'usage médicinal des plantes et leurs bioactivités pour orienter le choix des espèces à étudier (Smestad Paulsen et Barsett, 2005).

Les polysaccharides présentent diverses propriétés fonctionnelles. Ils jouent notamment un rôle en tant que réserves énergétiques et interviennent dans la formation des tissus de soutien chez les plantes comme chez les animaux (Navard, 2012). La majorité des polysaccharides d'origine végétale sont relativement non toxiques et ne provoquent pas d'effets secondaires significatifs (Xu *et al.*, 2009a).

I.1.1.1. Polysaccharides d'origine bactérienne et fongique

Les polysaccharides issus des microorganismes, et en particulier ceux produits par les bactéries, sont des polymères fonctionnels présentant une diversité structurale illimitée. Ils ont été identifiés aussi bien chez les bactéries à Gram positif que chez les Gram négatif, généralement localisés à l'extérieur de la cellule, c'est-à-dire exocellulaires. Cependant, certains oligo- et polysaccharides intracellulaires ont également été retrouvés chez plusieurs espèces bactériennes, comme les oligosaccharides périplasmiques osmorégulés (MDO Membrane-Derived Oligosaccharides ou oligosaccharides dérivés de la membrane), impliqués dans la régulation de la pression osmotique (**Bohin, 2000**). Les polysaccharides d'origine microbienne peuvent être de nature neutre (comme le dextran) ou acide (comme la gomme gellane). Ces polysaccharides microbiens font l'objet de recherches récentes et sont exploités pour diverses applications biomédicales (**Hasnain et Nayak, 2018**).

Les champignons ont développé des voies biochimiques complexes leur permettant de produire une large variété de métabolites, y compris des métabolites secondaires et des polysaccharides fongiques, qui présentent une grande diversité d'activités biologiques (**Yu et al., 2024**). Une large gamme de saccharides bioactifs est présente chez les champignons, allant des monosaccharides aux polysaccharides. Ces derniers peuvent être classés comme polysaccharides intracellulaires ou extracellulaires, selon leur localisation dans le champignon (**Zhang et al., 2019**).

I.1.1.1.1. Xanthan

La gomme xanthane, produite par la bactérie phytopathogène, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, est un polysaccharide extracellulaire largement étudié pour ses applications industrielles et biologiques (**Rogovin et al., 1961 ; Sutherland, 2001**).

La gomme xanthane est un hétéropolysaccharide dont la structure primaire est composée d'unités pentasaccharidiques répétées. La chaîne principale présente une structure identique à celle de la cellulose, formée de résidus de β -D -(1→4)-glucopyranose. À cette chaîne sont rattachées des chaînes latérales trisaccharidiques constituées d'un résidu d'acide α -D-glucuronique encadré par deux unités de D-mannose, liées à la position 3 de chaque glucose de la chaîne principale. Environ la moitié des résidus terminaux de D-mannose porte un acide pyruvique en positions 4 et 6, bien que la distribution exacte de ces groupements ne soit pas complètement élucidée. Le D-mannose lié à la chaîne principale possède quant à lui

un groupe acétyle en position 6. La présence combinée d'acides acétique et pyruvique confère à la gomme xanthane un caractère anionique (**Garcia-Ochoa *et al.*, 2000**).

Elle est largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire (fromage, bière, sauces, jus, crème glacée, salades, etc.), seule ou en association avec d'autres polysaccharides tels que les galactomannanes ou les glucomannanes (**Sutherland, 1998**).

I.1.1.1.2. Gellan

Il s'agit d'un polysaccharide microbien extracellulaire, produit par la bactérie *Pseudomonas elodea*. Grâce aux avancées biotechnologiques actuelles, il peut être obtenu en grande quantité et avec une grande pureté. Ce polysaccharide appartient à la famille des gellanes, un groupe de cinq polysaccharides apparentés partageant une même unité tétrasaccharidique acide de base, et se différenciant par la nature des substitutions ou des ramifications (**te Nijenhuis, 1997**).

Sa structure est basée sur une unité répétée de tétrasaccharide, constituée de (1→3)- β -D-glucose, (1→4)- β -D-acide glucuronique, (1→4)- β -D-glucose et (1→4)- α -L-rhamnose formant l'ossature principale (**Noda *et al.*, 2008**).

I.1.1.1.3. Pullulane

La pullulane est l'un des biopolymères émergents d'intérêt commercial, principalement produite par un champignon levuriforme, *Aureobasidium pullulans*. C'est **Bernier (1958)** qui fut le premier à isoler la pullulane à partir de *Aureobasidium pullulans* et à en élucider la structure chimique (**Singh *et al.*, 2017b**).

I.1.1.2. Polysaccharides d'origine animale

Les polysaccharides d'origine animale jouent un rôle essentiel. Leur composition tissulaire présentant des effets biomédicaux significatifs (**Zhou *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2018**).

Zhou *et al.* (2015) ont étudié l'activité hypoglycémiante du polysaccharide extrait de *Misgurnus anguillicaudatus* polysaccharide (MAP) chez des souris diabétiques induites par la streptozotocine (STZ). D'une part, l'administration de MAP a entraîné une augmentation significative des taux d'insuline sérique ainsi que du contenu en insuline pancréatique chez les souris diabétiques. D'autre part, MAP a permis d'inverser l'élévation de l'expression de l'ARNm de la PEPCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase) et la diminution du contenu en glycogène observée dans le foie des souris diabétiques. De plus, le traitement avec MAP a

significativement amélioré les marqueurs de la fonction hépatique et rénale altérés dans le sang des souris diabétiques.

I.1.1.3. Polysaccharides d'origine végétal

Actuellement, les polysaccharides extraits de sources végétales sont largement utilisés dans de nombreuses applications industrielles, en raison de leur biodégradabilité, de leur durabilité, de leur faible coût de transformation et de leur abondance dans la nature (Pal et Nayak, 2017;Nayak et Hasnain, 2019). Parmi les composés actifs extraits des plantes, les polysaccharides attirent une attention croissante en raison de leurs multiples propriétés biologiques, ce qui en fait des candidats prometteurs dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques (Diao *et al.*, 2011).

Les polysaccharides végétaux sont classés selon leur fonction biologique :

- **Les polysaccharides de réserve**, tels que l'amidon et les fructanes ;
- **Les polysaccharides structuraux**, comme la cellulose ;

(Merghem, 2009).

I.1.1.3.1. Polysaccharides de réserve

- **Amidon** : L'amidon représente la principale forme de réserve glucidique chez les végétaux. On le retrouve dans toutes les espèces végétales ainsi que dans l'ensemble des parties de la plante (Paris et Hurabielle, 1981). L'amidon est présent dans l'ensemble des organes végétaux, avec une concentration importante dans les fruits tels que les céréales (40 à 90 %), la châtaigne et la banane, ainsi que dans les graines de légumineuses (30 à 70 %) et les organes souterrains comme les tubercules et les rhizomes. La production mondiale d'amidon est estimée à environ 15 millions de tonnes, dont les deux tiers proviennent principalement du maïs et de la pomme de terre (Merghem, 2009). L'amidon est un biopolymère constitué de deux formes principales de glucose polymérisé : l'amylose et l'amylopectine. Sur la base du poids sec, les amidons extraits des organes de réserve, comme les tubercules (ex. : pomme de terre) ou les grains de céréales, contiennent typiquement entre 20 et 30 % d'amylose et entre 70 et 80 % d'amylopectine. Les deux biopolymères glucaniques, amylose et amylopectine, sont constitués de séquences linéaires de chaînes α -1,4-glucanes entrecoupées de régions branchées par des liaisons α -1,6-glucosidiques. Lorsque ces points de branchement sont rares dans un polymère comptant entre 100 et 10 000 unités glucosyles, on parle d'amylose. À

l'inverse, si les branchements α -1,6 sont plus fréquents et répartis régulièrement sur un polymère de 10 000 à 100 000 résidus glucosyles, le biopolymère est désigné sous le nom d'amylopectine (**Keeling et Myers, 2010**).

- **Fructanes** : Le terme « fructane » désigne de manière générale tout glucide dont la majorité des liaisons osidiques sont constituées de liaisons fructosyle-fructose. Ce sont des polymères (ou oligomères) de fructose pouvant être linéaires ou ramifiés, classés en deux types principaux selon la nature de leurs liaisons glycosidiques : les inulines (liaisons β -2,1) et les lévannes (liaisons β -2,6). Les inulines sont principalement d'origine végétale (**Roberfroid et Delzenne, 1998**). Ces polymères sont généralement localisés dans les organes souterrains tels que les racines, les bulbes, les tubercules ou les rhizomes. Leur concentration et leur structure peuvent varier en fonction de l'espèce végétale, du type de tissu, de l'état physiologique de la plante ainsi que des conditions environnementales (**Wack et Blaschek, 2006**).

I.1.1.3.2. Polysaccharides de structures

- **Cellulose**: La cellulose est synthétisée au niveau de la membrane plasmique sous forme de microfibrilles paracristallines. Ces microfibrilles s'assemblent en fibrilles de cellulose, localisées dans les parois cellulaires végétales. Ce biopolymère constitue l'élément structural principal des plantes, assurant leur rigidité et contribuant fortement à la stabilité mécanique des parois cellulaires (**Magalhães et al., 2023**).

Les microfibrilles de cellulose constituent approximativement 20 à 30 % de la masse sèche de la paroi cellulaire et occupent près de 15 % de son volume total. Dans les cellules différenciées présentant une paroi secondaire, la proportion de cellulose augmente considérablement, pouvant représenter entre 40 et 90 % de la masse de la paroi (**Pérez, 2000**).

La cellulose est une macromolécule composée de monomères de glucose unis par des liaisons β -(1 $\rightarrow$ 4), formant ainsi une chaîne linéaire étirée. Son unité répétitive est constituée de deux résidus de glucose, disposés de manière alternée : l'un en orientation normale, l'autre inversé. En raison de cette orientation structurée du polymère, les deux extrémités de la chaîne diffèrent, seule l'une d'elles possédant un groupe hydroxyle hémiacétalique doté de propriétés réductrices. Le degré de polymérisation (DP) de la cellulose varie généralement entre 300 et 15 000, ce qui correspond à une masse moléculaire allant de 5×10^4 à $2,5 \times 10^6$, selon la source botanique, l'âge du tissu végétal et le procédé d'extraction utilisé. Dans les parois

secondaires des plantes supérieures, le DP se situe entre 6000 et 10 000, tandis que dans les capsules de coton encore fermées, il peut atteindre jusqu'à 15 000 (**BRUNETON, 1999**).

I.1.2. Activités biologiques des polysaccharides

Les polysaccharides bioactifs naturels issus de diverses sources peuvent présenter de nombreuses propriétés biologiques bénéfiques et contribuer de manière significative à l'amélioration des soins de santé (**Ngo et Kim, 2013**).

I.1.2.1. Activité anticoagulante des polysaccharides

Le déséquilibre entre les mécanismes de coagulation et d'anticoagulation, ou entre le système coagulation-fibrinolyse, peut entraîner un état d'hypercoagulabilité ou la formation de thromboses, ce qui contribue à l'instabilité des plaques d'athérosclérose, et peut ainsi induire des maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires ischémiques. Une fois la coagulation activée chez l'humain ou l'animal, cela peut représenter un danger vital (**Raposo et al., 2013; Raposo et de Morais, 2015**).

L'héparine, un glycosaminoglycane extrait des tissus porcins, demeure l'un des médicaments antithrombotiques/anticoagulants les plus couramment utilisés. Toutefois, son usage peut être associé à divers effets indésirables, tels que la thrombocytopénie, un effet hémorragique, ainsi qu'une inefficacité chez les patients présentant des déficits en antithrombine, qu'ils soient congénitaux ou acquis. De plus, l'héparine est incapable d'inhiber la thrombine liée à la fibrine, ce qui limite son efficacité dans certaines situations cliniques (**Costa et al., 2010**). En raison des nombreux effets indésirables associés à l'héparine, l'activité anticoagulante constitue l'une des propriétés les plus étudiées des polysaccharides sulfatés (PS) dans la recherche d'alternatives thérapeutiques aux composés héparinoïdes. Ainsi, divers PS d'origine algale marine ont été isolés et caractérisés (**Chevolot et al., 1999**).

Un polysaccharide isolé de la plante *Porana volubilis* de la famille des Convolvulaceae (**Staples et Jacquemoud, 2005**) présente une forte activité anticoagulante. Ce polymère, de masse moléculaire moyenne d'environ 10 kDa, est principalement composé de galactose, d'acide galacturonique et de mannose, et ne contient aucun groupement sulfate. Son activité anticoagulante est médiée par l'activation du cofacteur II de l'héparine, qui permet l'inhibition de la thrombine, indépendamment de l'antithrombine. Les résidus d'acide

galacturonique jouent un rôle essentiel dans cette activité, car leur réduction chimique des groupes carboxyles entraîne la perte complète de l'effet anticoagulant (Yoon *et al.*, 2002).

I.1.2.2. Activité antitumorale des polysaccharides

Les tumeurs malignes constituent un enjeu majeur de santé publique en raison de leur impact sur l'organisme. Bien que la chimiothérapie reste un pilier des traitements systémiques, ses effets indésirables limitent son utilisation. Des études récentes soulignent néanmoins le potentiel anticancéreux des polysaccharides extraits de plantes, ouvrant des perspectives thérapeutiques prometteuses (Yu *et al.*, 2018b). Depuis plusieurs décennies, de nombreux complexes polysaccharide-protéine et polysaccharides bioactifs ont été extraits de différentes sources naturelles telles que les plantes, les lichens, les algues, les levures, les champignons et les moisissures. Ces substances attirent une attention considérable grâce à leurs propriétés antitumorales et immunomodulatrices (Xie *et al.*, 2007).

Un polysaccharide isolé de la racine de *Sanguisorba officinalis* L. pourrait inhiber la croissance tumorale en rétablissant les fonctions immunitaires de souris préalablement immunosupprimées par des cellules cancéreuses (Cai *et al.*, 2012).

Le fucoidan, extrait des sporophylles de l'algue brune coréenne *Undaria pinnatifida*, a démontré une activité inhibitrice notable sur la prolifération de cellules cancéreuses humaines, notamment les lignées PC-3 (cancer de la prostate), HeLa (cancer du col utérin) et A549 (cancer du poumon) (Synytsya *et al.*, 2010).

Le polysaccharide SFPS, isolé de *Sargassum fusiform*, inhibe de manière dose-dépendante la prolifération des cellules d'hépatome humain HepG2. Une réduction de 90% de la croissance tumorale a été observée à la concentration la plus élevée (2000 µg/mL) après 72 heures d'exposition (Fan *et al.*, 2017).

La pectine, appartenant à une famille de polysaccharides complexes et reconnue comme une source majeure de fibres alimentaires, a montré une activité inhibitrice vis-à-vis de diverses lignées de cellules cancéreuses (Maxwell *et al.*, 2016).

Les deux fractions de polysaccharides DCPPI-a et DCPPI-II, isolées de *Dendrobium chrysotoxum*, ont présenté une inhibition significative de la prolifération des cellules cancéreuses SPCA-1, soulignant le potentiel prometteur de ces polysaccharides en tant qu'ingrédients fonctionnels pour la prévention du cancer pulmonaire (Sun *et al.*, 2013).

I.1.2.3. Propriétés antidiabétiques des polysaccharides

Le diabète sucré (Diabetes mellitus (DM)), maladie métabolique chronique fréquente, se définit principalement par une hyperglycémie. Celle-ci résulte d'un déficit en insuline et/ou d'une résistance à cette hormone, provoquant des anomalies du métabolisme des glucides, lipides et protéines. Ces dysfonctionnements engendrent des complications telles que l'athérosclérose, la néphropathie ou la rétinopathie (Zhang *et al.*, 2018).

Il est classé en trois types : diabète de type 1 (diabetes mellitus (T1DM)), diabète de type 2 (diabetes mellitus (T2DM)) et diabète gestationnel. Le DT2 constitue la forme la plus fréquente, représentant plus de 95% des cas de diabète (Apostolidis *et al.*, 2011).

Le polysaccharide extrait de *Rehmannia glutinosa* représente une option thérapeutique prometteuse contre le T1DM, en raison de sa capacité à atténuer efficacement l'hyperglycémie, l'hyperlipidémie, l'inflammation des vaisseaux sanguins ainsi que le stress oxydatif chez les souris diabétiques induites par la streptozotocine (STZ) (Zhou *et al.*, 2015).

I.1.2.4. Activité antioxydante des polysaccharides

Les êtres humains sont exposés à de nombreux radicaux libres, provenant à la fois de l'organisme lui-même et de l'environnement extérieur, en particulier aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées naturellement lors du métabolisme. Ces ROS incluent notamment le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical superoxyde, le radical hydroxyle et l'oxyde nitrique (NO). Le stress oxydatif résultant peut entraîner une activation enzymatique involontaire et provoquer des altérations oxydatives des systèmes cellulaires. Les antioxydants jouent alors un rôle bénéfique pour la santé humaine en neutralisant les ROS, qui ciblent et détériorent des macromolécules essentielles telles que les lipides membranaires, les protéines et l'ADN. Ces attaques peuvent conduire à diverses pathologies graves telles que les cancers, le diabète sucré, les maladies neurodégénératives et inflammatoires, souvent associées à des lésions tissulaires importantes (Erdmann *et al.*, 2008; Ngo *et al.*, 2011).

Les extraits naturels représentent une source très prometteuse d'antioxydants, en particulier les polysaccharides, qui possèdent la capacité de piéger les radicaux libres, leur conférant ainsi des activités antioxydantes et anti-âge. Ces dernières années, les polysaccharides à activité antioxydante suscitent un intérêt croissant, en raison de leur importance dans la recherche et le développement de la médecine naturelle. Des études ont démontré que certains de ces polysaccharides peuvent inhiber la peroxydation lipidique,

renforcer la capacité de l'organisme à éliminer les radicaux libres, ralentir le vieillissement, et prévenir les maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires (Yu *et al.*, 2018a).

Les tests *in vitro* ont également révélé qu'un polysaccharide hydrosoluble extrait de *Dendrobium denneanum* (DDP) possède une forte capacité de piégeage des radicaux DPPH et hydroxyles. Par ailleurs, les essais *in vivo* ont montré que le DDP est capable de stimuler l'activité des enzymes antioxydantes, notamment la superoxyde dismutase (SOD), et de réduire la concentration sérique de malondialdéhyde (MDA), un marqueur du stress oxydatif (Luo *et al.*, 2011). Le polysaccharide extracellulaire de *Morchella esculenta* a la capacité d'augmenter l'activité de la glutathion peroxydase et de la superoxyde dismutase dans le sang, la rate, le foie, le cœur et les reins des souris. De plus, il contribue à réduire la teneur en malondialdéhyde (MDA) dans ces organes, indiquant ainsi une activité antioxydante significative (Meng *et al.*, 2010).

I.2. Introduction sur le stress oxydatif

L'oxygène, bien qu'essentiel à la vie, peut induire des effets nocifs dans l'organisme via des mécanismes impliquant la génération de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (Haleng *et al.*, 2007).

L'équilibre entre les (ERO) et les antioxydants endogènes est crucial pour l'organisme. Le stress oxydant survient lorsque cet équilibre est rompu, entraînant une incapacité à neutraliser les ERO. Ce déséquilibre peut entraîner des altérations structurelles et fonctionnelles importantes (Bensakhria, 2018)

Le stress oxydatif apparaît lorsque la production de radicaux libres, molécules oxydantes, dépasse la capacité de neutralisation de l'organisme. Un radical libre est une molécule hautement réactive possédant un ou plusieurs électrons non appariés dans ses orbitales. Ces radicaux instables cherchent à se stabiliser en induisant l'oxydation des lipides membranaires, des acides aminés protéiques et des glucides constitutifs des acides nucléiques, provoquant ainsi des dommages cellulaires (Tremellen, 2008).

Le rôle des (EOA) est particulièrement complexe, car elles peuvent exercer des effets bénéfiques ou toxiques selon leur concentration. À faible dose, elles participent à des processus cellulaires essentiels : régulation de l'apoptose, activation de facteurs de transcription ou modulation de la signalisation intracellulaire. Un exemple notable est le

processus de fécondation, durant lequel les spermatozoïdes libèrent une quantité importante d'EOA pour traverser la membrane de l'ovule (Haleng *et al.*, 2007).

I.2.1. Origine et formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées à partir de l'oxygène moléculaire au cours du métabolisme cellulaire normal. Elles se divisent en deux catégories : les radicaux libres et les formes non radicalaires. Les radicaux libres sont des molécules possédant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui leur confère une grande réactivité. Lorsque deux radicaux libres partagent leurs électrons non appariés, ils forment alors des espèces non radicalaires. Parmi les ERO physiologiquement pertinentes figurent l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Birben *et al.*, 2012b).

Les mitochondries et les NADPH oxydases (NOX) figurent parmi les principales sources intracellulaires d'ERO, molécules clés du stress oxydatif (Holmström et Finkel, 2014).

La production d'ROS dans les mitochondries est étroitement liée au processus de phosphorylation oxydative. À certains sites de la chaîne de transport des électrons (chaîne des cytochromes), les électrons dérivés du NADH ou du FADH peuvent interagir directement avec l'oxygène moléculaire ou d'autres accepteurs d'électrons, entraînant la formation de radicaux libres (Balaban *et al.*, 2005).

Dans des conditions physiologiques, le radical libre oxygéné le plus courant est l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), dont la principale source est la mitochondrie. Le transfert d'électrons au sein des enzymes de la chaîne respiratoire n'est pas totalement efficace ; une fuite d'électrons vers l'oxygène moléculaire, notamment à partir des complexes I et III, conduit à la formation de l'anion superoxyde (Burton et Jauniaux, 2011).

En plus de la production mitochondriale d'ERO, les cellules génèrent des radicaux superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) via l'activité de la NOX, une enzyme membranaire. La NOX catalyse la réduction monoélectronique de l'oxygène moléculaire (O_2) en utilisant le NADPH ou NADH comme donneurs d'électrons. Initialement caractérisée dans les cellules phagocytaires pour son rôle dans la neutralisation des pathogènes, la NOX est également exprimée dans les cellules non phagocytaires, où elle intervient dans des processus de signalisation cellulaire (Migdal et Serres, 2011).

La NOX est un complexe enzymatique multi-sous-unités. Sa structure inclut : des sous-unités membranaires : gp91 et p22 et des sous-unités cytoplasmiques : p47, p67 et Rac2 (une petite protéine G). Au repos, l'enzyme est inactive. Son activation dans les leucocytes est déclenchée par des stimuli comme le lipopolysaccharide (LPS) ou des médiateurs pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6). Cette activation provoque la translocation des sous-unités cytoplasmiques vers la membrane plasmique, entraînant une production massive d'O₂^{•-}, essentielle pour éliminer les pathogènes via les ROS (Bayr, 2005).

La xanthine-oxydase (XO), enzyme cytoplasmique non hémique, catalyse la conversion de la xanthine ou de l'hypoxanthine en acide urique (Preiser, 2012). La (XO) catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine, transférant les électrons à l'O₂ pour générer du (O₂^{•-}) et du (H₂O₂) (George et Struthers, 2009).

I.2.2. Conséquences du stress oxydatif sur les composants cellulaires (lipides, protéines et ADN)

À concentrations élevées, les ERO interagissent de manière agressive avec les protéines, lipides, glucides et acides nucléiques, provoquant des altérations fonctionnelles irréversibles, voire une destruction totale de ces biomolécules (Krause, 2007).

Les dommages oxydatifs subis par l'ADN se présentent sous diverses formes, notamment des altérations des bases azotées, des cassures à simple brin, des ponts covalents entre l'ADN et des protéines, ainsi que la présence de sites apuriniques ou apyrimidiques (sans base). Cependant, l'altération la plus couramment rencontrée reste l'hydroxylation de la guanine en position 8, conduisant à la formation de la 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (Cadet *et al.*, 1994; Dizdaroglu, 1994).

Le radical hydroxyle représente l'espèce radicalaire de l'oxygène la plus nocive impliquée dans le stress oxydatif, en raison de son potentiel d'oxydoréduction extrêmement élevé et de ses constantes de vitesse de réaction très importantes. Ce radical peut s'ajouter aux doubles liaisons des bases azotées de l'ADN ou extraire un atome d'hydrogène des groupements méthyles ou des résidus de désoxyribose, provoquant ainsi des altérations structurales majeures au niveau de l'ADN (Chatgililoglu et O'Neill, 2001).

L'ADN mitochondrial est particulièrement vulnérable aux (ROS), en raison de sa proximité avec le site de génération d'O₂ dans la chaîne de transport des électrons, de

l'absence de protection par les histones et de l'efficacité limitée des mécanismes de réparation. En conséquence, les dommages à l'ADN mitochondrial sont fréquents, même dans des conditions normales, avec un taux de mutations cinq à dix fois supérieur à celui observé dans l'ADN nucléaire. Puisque l'ADN mitochondrial code pour plusieurs protéines, dont des enzymes de la chaîne respiratoire, ces mutations peuvent altérer la production énergétique et accroître les fuites électroniques, exacerbant ainsi le stress oxydatif initial **(Burton et Jauniaux, 2011b)**.

Les processus d'oxydation des protéines ainsi que leurs répercussions sur la structure et la fonction des protéines ont été largement documentés dans la littérature scientifique **(Cecarini et al., 2007)**. Il est désormais établi que certaines protéines présentent une sensibilité accrue à l'oxydation. Cette susceptibilité sélective est influencée par plusieurs facteurs, notamment la teneur en acides aminés particulièrement sensibles à l'oxydation, la présence de sites de fixation pour les métaux, la localisation subcellulaire de la protéine, sa conformation tridimensionnelle et son taux de renouvellement intracellulaire **(Holland et al., 2007; Medicherla et Goldberg, 2008)**

Les protéines particulièrement sensibles à l'oxydation sont généralement impliquées dans des fonctions métaboliques spécifiques, telles que le métabolisme énergétique ou les processus mitochondriaux **(Martínez et al., 2010)**. Les données indiquent également que les protéines nouvellement synthétisées présentent une plus grande vulnérabilité au stress oxydatif, suggérant que leur repliement complet et leur incorporation dans des complexes protéiques leur confèrent une certaine protection contre la dégradation induite par les ROS **(Holland et al., 2007; Medicherla et Goldberg, 2008)**. Dans certains cas, des résidus d'acides aminés spécifiques ont été identifiés comme cibles de l'oxydation, entraînant une altération de la fonction protéique **(Ezraty et al., 2004)**. À titre d'exemple, la superoxyde dismutase Cu,Zn (Sod1p), une enzyme antioxydante majeure, est fréquemment décrite comme particulièrement sensible à l'oxydation **(Costa et al., 2002; Yin et al., 2010)**. Sa dégradation pourrait aggraver la vulnérabilité cellulaire aux ROS, initiant un cercle vicieux de stress oxydatif accru **(Woo et al., 2010)**.

Il est bien établi que les membranes cellulaires jouent un rôle fondamental dans les systèmes biologiques, en assurant une séparation sélective entre le cytoplasme et l'environnement extérieur, tout en délimitant également les organites intracellulaires. Leur

structure de base est une bicouche phospholipidique intégrant des protéines et d'autres composants fonctionnels (**Girotti, 1998**).

En tant que barrières sélectivement perméables et acteurs clés du transport cellulaire, les membranes biologiques sont essentielles à la viabilité cellulaire. Ainsi, tout dysfonctionnement majeur de ces structures est généralement corrélé à une perte de viabilité. Parmi les (ROS), la forme protonée de l'anion superoxyde et le radical hydroxyle sont particulièrement impliqués dans l'initiation de la peroxydation lipidique autocatalytique (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Des études ont démontré que la peroxydation massive des phospholipides, notamment dans les membranes riches en phosphatidyléthanolamine, peut provoquer une désorganisation membranaire. Ce désordre résulterait de la formation de structures intermédiaires non bilayaires, comme des micelles inversées, perturbant ainsi la stabilité du système membranaire (**Van Duijn et al., 1984**).

I.2.3. Stress oxydatif et maladies chroniques : lien avec les cancers et les maladies cardiovasculaires

En induisant la formation de biomolécules chimiquement modifiées de manière irréversible et en provoquant la surexpression de certains gènes, le stress oxydatif constitue un facteur initial majeur dans le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire ainsi qu'un vieillissement prématuré (**Favier, 2006**).

Ces observations mettent en évidence la nécessité d'un équilibre entre la concentration des (ROS) et celle des antioxydants. Les cellules disposent des mécanismes biochimiques et génétiques sophistiqués pour maintenir cet équilibre, dont la perturbation peut conduire à des altérations physiopathologiques importantes (**Hayes et al., 2020**).

Les recherches épidémiologiques ont mis en évidence une association entre le stress oxydatif chronique et le développement du cancer (**Hwang et Bowen, 2007**), ce qui confirme l'implication du stress oxydatif dans les différentes étapes du processus tumoral. De nombreuses données expérimentales appuient le rôle des (ROS) dans l'initiation, la promotion et la progression des tumeurs (**Guyton et Kensler, 1993; Ishikawa et al., 2008**).

La molécule d'ADN est particulièrement sensible aux attaques du radical hydroxyle, ce qui provoque des dommages et des modifications des bases puriques et pyrimidiques. L'adduit qui en résulte, la 8-hydroxy-désoxyguanosine (8-OHdG), peut se former lors de la production de ROS (en particulier par l'action du radical hydroxyle) et est directement lié à une augmentation de la mutagenèse (Forcados *et al.*, 2017).

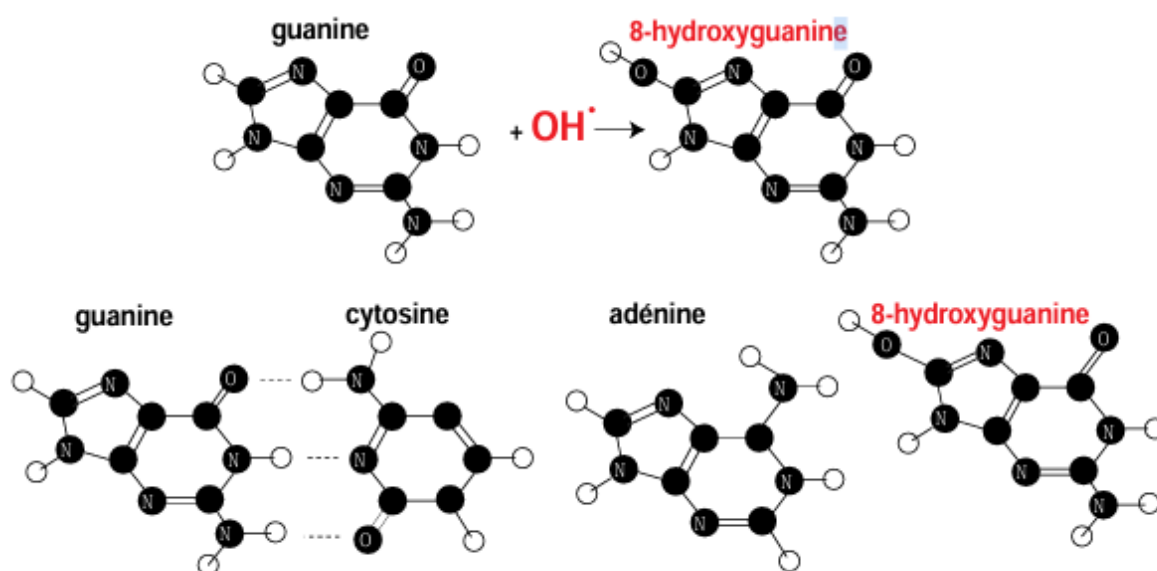


Figure 2. Attaque du radical hydroxyle ($\text{OH}^\bullet$) sur la guanine, l'une des bases de l'ADN (Pincemail *et al.*, 1999)

La **Figure 2** montre l'attaque du radical hydroxyle ($\text{OH}^\bullet$) sur la guanine de l'ADN, entraîne sa transformation en 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine. Lors de la réplication de l'ADN, cette guanine oxydée ne s'apparie plus avec la cytosine comme normalement, mais avec l'adénine. Ce mésappariement induit une mutation de type G(Guanine) $\rightarrow$ T(Thymine) dans le brin néoformé de l'ADN (Pincemail *et al.*, 1999).

La phase de promotion, qui peut s'étendre sur plusieurs années, correspond à la transformation progressive de la cellule initiée en cellule pré-néoplasique. Cette étape peut survenir spontanément ou être induite par des promoteurs tumoraux tels que les lipides alimentaires, certaines hormones ou l'inflammation. Cette dernière étant une source notable de production de ROS. Ces facteurs contribuent à la prolifération incontrôlée de cellules ayant perdu leur fonction initiale et ayant acquis de nouvelles propriétés morphologiques et fonctionnelles (Pincemail *et al.*, 1999).

Une inflammation persistante peut initier un processus pré-néoplasique (**Guina *et al.*, 2015**). Dans ce contexte, les cellules soumises à une inflammation chronique produisent de grandes quantités d'ROS, ce qui favorise le recrutement massif de cellules immunitaires activées. Cette cascade amplifie les déséquilibres cellulaires existants et peut conduire à un état cellulaire pré-néoplasique. Lorsque la production intracellulaire de ROS dépasse la capacité des systèmes antioxydants endogènes, cela engendre des dommages oxydatifs irréversibles ciblant l'ADN, les lipides et les protéines. Ces altérations peuvent provoquer des modifications génétiques et/ou épigénétiques, perturbant l'expression des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. Ainsi, le lien étroit entre stress oxydatif et inflammation chronique joue un rôle majeur dans l'induction de la cancérogenèse en cas de défaillance des mécanismes de régulation de ces processus (**Murata *et al.*, 2012**).

I.3. Étude botanique et répartition géographique de *Ziziphus lotus*

I.3.1. Description botanique

Ziziphus (**Figure 3**), un genre d'arbustes épineux appartenant à la famille des Rhamnacées, est répandu dans les régions tropicales, notamment en Asie, en Amérique, au sud de l'Europe et au nord de l'Afrique, y compris l'Algérie (**Maraghni et al., 2010**). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètre pouvant atteindre 2 mètres de hauteur. Ses feuilles, courtes et pétiolées, sont caduques, alternes, ovales et à marges entières. Les fleurs, très visibles, sont de couleur jaune avec des sépales ouvertes en étoiles, de petits pétales et un ovaire supère bisexuel, et fleurissent en juin (**Rsaissi et Bouhache, 2002**).

Les fruits de *Ziziphus* sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petits et ronds, sont recouverts d'une pulpe semi-charnue, rapidement desséchée et riche en sucre (**Ghedira, 2013**).

I.3.2. Utilisation traditionnelle

En Algérie, *Z. lotus* est très abondant (**Borgi et Chouchane, 2009**). Localement appelé "Sedra", le fruit est désigné par le terme "Nbag" (**Berkani et al., 2021**). Plusieurs parties de *Z. lotus* sont utilisées en médecine traditionnelle et ancestrale, tant en Afrique du Nord qu'au Moyen-Orient, pour traiter diverses pathologies, notamment les troubles digestifs, la faiblesse, les affections hépatiques, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (**Adzu et al., 2003**).



Figure 3. Feuilles et fruits et fleurs de *Z. lotus* (**Saghro, 2015; asteriscus, 2023**)

I.3.3. Répartition géographique

La nomination du *Ziziphus* vient du grec « Zizyphos », mais le mot proviendrait du nom arabe Zizouf et n'apparaît qu'au deuxième siècle (**Bonnet, 2001**). L'aire de répartition naturelle des espèces du genre est vaste, s'étendant entre 20° et 30° de latitude. Cette zone est caractérisée par des climats chauds et secs, recouvrant les plus grands déserts du globe, du continent asiatique au bassin méditerranéen, et même au continent américain (**Laamouri et al., 2008**).

Les espèces fruitières du genre *Ziziphus* possèdent une grande importance environnementale et socio-économique. Elles sont particulièrement appréciées pour leur résistance à la sécheresse et leurs mécanismes d'adaptation physiologique et morphologique (**Reich, 1991; Arndt et al., 2001**). Ces espèces sont utilisées de multiples façons dans les zones arides, semi-arides et même désertiques (**Laamouri et al., 2008**).

Z. lotus est une plante médicinale distribuée dans la région méditerranéenne, avec une faible pénétration dans le nord du Sahara, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye. Elle réapparaît ensuite au Yémen, sur l'île de Socotra, et au Moyen-Orient, notamment en Palestine, en Syrie et en Turquie. En Europe, elle est restreinte à certaines zones semi-arides du sud-est de l'Espagne et de l'île de Sicile (**Bellakhdar, 2013**). Cet arbuste pousse sur tous les types de sols, tels que calcaires, siliceux, argileux et sablonneux, et supporte généralement de petites quantités de sel (**Lajkó et al., 2015**).

I.3.4. Position systématique

Embranchement	: Spermatophytes
Sous embranchement	: Angiospermes
Sous classe	: Dicotylédone
Ordre	: Celastrales
Famille	: Rhamnacées
Genre	: <i>Zizyphus</i>
Espèce	: <i>Ziziphus lotus</i> L. (Quezel et Santa, 1962)

Chapitre II. Matériel et méthodes

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. Principe d'étude

Au cours des deux dernières décennies, l'intérêt des chercheurs pour les plantes médicinales en tant que sources naturelles de divers composés actifs a considérablement augmenté (Ebringerová *et al.*, 2003). Actuellement, une attention particulière est accordée à l'extraction et à la bioactivité des biomacromolécules, notamment des polysaccharides (Zhai *et al.*, 2018). Ces composés, présents dans de nombreuses plantes médicinales, ont souvent montré une activité antioxydante significative, ouvrant la voie à de nouvelles thérapies naturelles et efficaces.

Dans ce contexte, le présent travail se concentre sur l'étude des polysaccharides hydrosolubles potentiellement actifs dans les fruits de *Ziziphus lotus*, une plante médicinale spontanée de la région de Ghardaïa. Le choix de *Z. lotus* pour cette étude est justifié par les preuves accumulées dans la littérature, suggérant que ses polysaccharides pourraient avoir des effets antioxydants prometteurs.

L'étude englobe l'extraction des polysaccharides et l'analyse de leur composition globale à l'aide de méthodes colorimétriques. Les teneurs en oses totaux, en oses neutres, en composés polyphénoliques totaux et en protéines des polysaccharides extraits des fruits de *Z. lotus* sont déterminées. De plus, des analyses qualitatives des résidus glycosidiques sont réalisées par chromatographie sur couche mince, afin de mieux comprendre les propriétés bioactives de ces polysaccharides. Et à la fin, l'évaluation de l'activité antioxydante des polysaccharides isolés de *Z. lotus*, *in vitro*.

II.2. Matériel

Le matériel d'étude est constitué de matériel biologique, de produits chimiques et d'appareillages utilisés au cours de l'expérimentation.

II.3. Etude des polysaccharides

II.3.1. Extraction des polysaccharides (protocole modifié)

Pour procéder à l'extraction des polysaccharides hydrosolubles des fruits de *Ziziphus lotus*, une plante spontanée récoltés en septembre 2022 dans l'oued Nechou région de

Ghardaïa, il est essentiel de suivre une série d'étapes préliminaires visant à éliminer les substances contaminantes et à garantir la pureté des polysaccharides extraits.

Dans un premier temps, une portion de fruits mûrs est séchée à l'air libre pendant trois semaines, puis prélevée, et les graines sont soigneusement séparées de la pulpe et de la peau. 40g de la pulpe et la peau sont ensuite, découpées en petits morceaux, broyées dans un mixeur, puis tamisées pour obtenir une fine poudre (**Hammi et al., 2016**).



Figure 4. Préparation des Échantillons : Séparation des Graines de Pulpe et Peau (Photo originale)

Pour assurer la pureté des polysaccharides, cette poudre subit une délipidation et une dépigmentation, en éliminant ainsi les lipides et les pigments susceptibles de contaminer l'extraction (**Malika et al., 2017**). Le broyat obtenu est traité avec de l'éther de pétrole à 95% pour maximiser l'efficacité de l'extraction (**Wu et al., 2007**) puis avec de l'éthanol à 75% pour une délipidation supplémentaire.

Une fois l'extraction avec les solvants organiques terminée, le marc est séché pendant 24 heures (**Diallo et al., 2004**). Ensuite, le résidu est placé dans quatre boîtes de Petri entre deux papiers absorbants et laissé sécher à température ambiante pendant 48 heures (**Maran et al., 2016**).



(Brahimouaissa, 2024)

Figure 5. Séchage des résidus de *Z.lotus* après extraction (**Photo originale**)

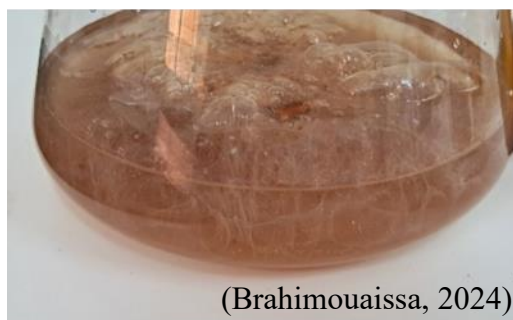
Les marcs séchés sont macérés dans 500 mL d'eau ultra-pure pendant quatre heures sous agitation modérée à une température de 60°C. Après une filtration sous vide, le filtrat est concentré jusqu'à obtenir un tiers du volume initial à l'aide d'un évaporateur rotatif (Ebringerová *et al.*, 2003).



(Brahimouaissa, 2024)

Figure 6. Concentration du filtrat après extraction (**Photo originale**)

Le surnageant obtenu après centrifugation à 4000 rpm pendant 15 minutes est récupéré, le filtrat est laissé refroidir puis précipité à l'aide de trois volumes d'éthanol à 99,5% pendant 24h sous agitation sur un agitateur magnétique (Yang *et al.*, 2008).



(Brahimouaissa, 2024)



(Brahimouaissa, 2024)

Figure 7. Précipitation addition d'éthanol et d'acétone (**Photo originale**)

Enfin, l'extrait est lavé par addition d'acétone, puis lyophilisé pour obtenir les polysaccharides purs (**Boual *et al.*, 2015**).



(Brahimouaissa, 2024)

Figure 8. Lyophilisation de l'extrait pour obtenir des polysaccharides purs (**Photo originale**)

Ces étapes méthodologiques, suivies de manière rigoureuse, garantissent l'obtention de polysaccharides, prêts pour des analyses et des tests fonctionnels ultérieurs.

Le rendement d'extraction des polysaccharides est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement de l'extraction (\%)} = \frac{\text{Le contenu polysaccharidique de l'extraction (g)}}{\text{Le poids de la poudre sec de la plante (g)}} \times 100$$

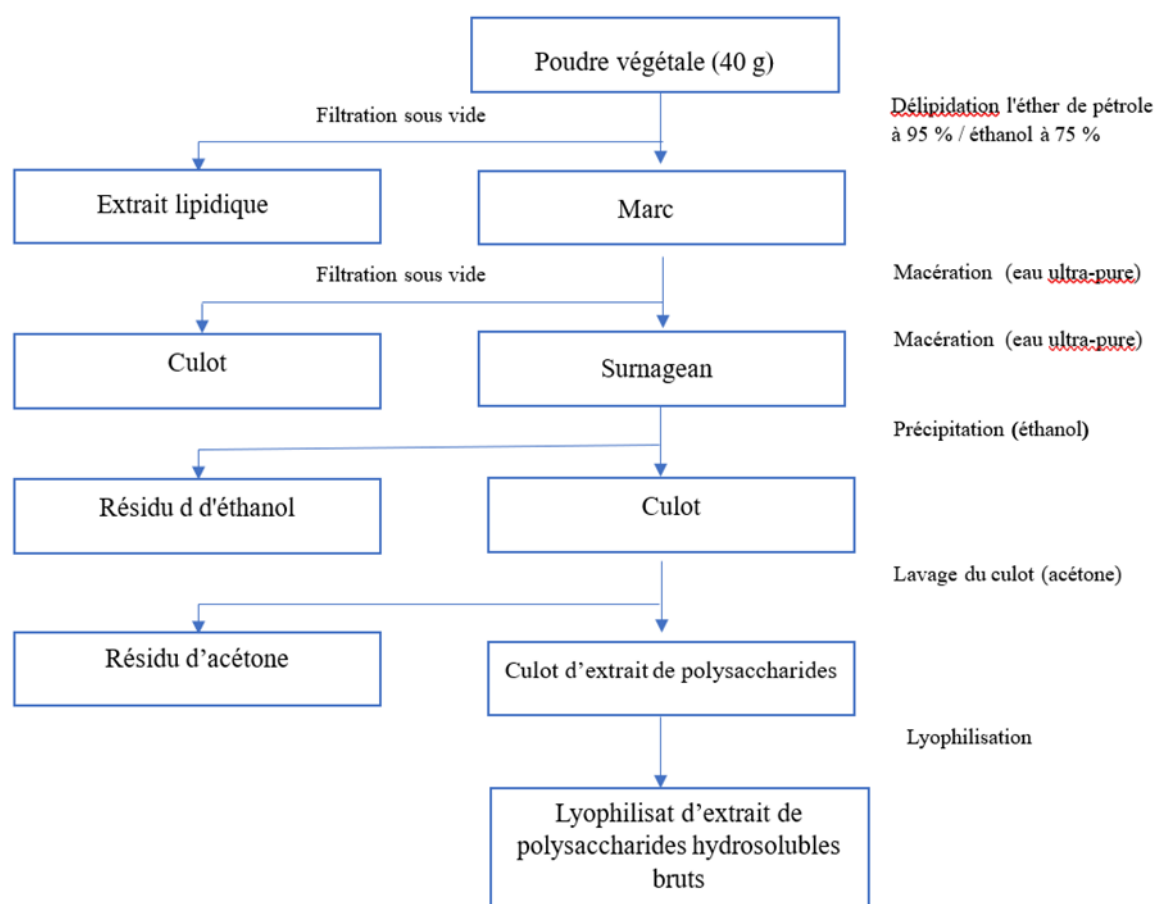


Figure 9. Différentes étapes de l'extraction des polysaccharides hydrosoluble (Boual *et al.*, 2015).

II.3.2. Composition des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles

Dans cette étude, la méthode de **Dubois *et al.* (1956)** a été sélectionnée pour quantifier les oses totaux, en utilisant le phénol comme réactif chromogène. Par ailleurs, la quantification des oses neutres a été effectuée selon la méthode de **Monsigny *et al.* (1988)**, où le résorcinol sert de chromogène. Enfin, la méthode de **Bradford (1976)** a été appliquée pour le dosage des protéines, en utilisant l'albumine sérique bovine comme étalon.

II.3.2.1. Dosage des oses totaux

II.3.2.1.1. Principe

Sous l'action de l'acide sulfurique chaud, les résidus glucidiques subissent une déshydratation, formant des dérivés furfuriques. Ces derniers réagissent ensuite par condensation avec le phénol, produisant une coloration jaune-orange (Dubois *et al.*, 1956).

II.3.2.1.2. Mode opératoire

Pour le dosage des oses totaux, des aliquotes de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles (PSZL) et de ses dilutions ont été placées dans des tubes à essai. Une solution de phénol à 5 % (Annexe I) a été ajoutée à chaque tube, suivie de l'acide sulfurique concentré, versé le long des parois. Après une première incubation à température ambiante, les tubes ont été agités puis de nouveau incubés pour permettre le développement de la coloration. Une incubation supplémentaire dans un bain-marie à 35 °C a été effectuée. L'absorbance des échantillons a ensuite été mesurée à 483 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La concentration en oses totaux a été déterminée par extrapolation à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des standards de glucose.

Tableau 1. Gamme d'étalonnage du glucose 0,04 à 0,1 g/L

g/L	Blanc	0,04	0,06	0,08	0,1
Glu (μL)	0	200	300	400	500
ED (μL)	500	400	200	100	0

II.3.2.2. Dosage des oses neutres**II.3.2.2.1. Principe**

Le dosage des oses neutres repose sur la formation de dérivés furfuriques lorsqu'un acide concentré, tel que l'acide sulfurique, est appliqué à chaud. Ces dérivés réagissent ensuite avec un composé aromatique, le résorcinol, pour former un chromophore de couleur orange, dont l'absorbance est mesurée à 450 nm. Les quantités d'oses neutres en solution sont déterminées en les comparant à une courbe étalon de galactose, avec des concentrations allant de 0,05% à 0,4%.

II.3.2.2.2. Mode opératoire

Pour la détermination des oses neutres, 200 μL de l'extrait de polysaccharides ont été placés dans un tube à essai, en parallèle avec deux dilutions de cet extrait. Une gamme étalon de galactose a également été préparée. À chaque tube (échantillons et standards), une solution de résorcinol (Annexe I) a été ajoutée, suivie de l'acide sulfurique à 80 % (Annexe I). Les tubes ont été incubés dans un bain-marie à 90 °C pendant 30 minutes afin de permettre le

développement de la coloration jaune-orange caractéristique. Après refroidissement à température ambiante et à l'obscurité, de l'eau distillée a été ajoutée pour diluer les solutions, puis les tubes ont été homogénéisés à l'aide d'un vortex. L'absorbance a ensuite été mesurée à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Tableau 2. Gamme d'étalonnage du galactose 0,05 à 0,4 g/L

	Blanc	0,05	0,1	0,15	0,20	0,25	0,3	0,35	0,4
Gal (μL)	0	25	50	75	100	125	150	175	200
ED (μL)	200	175	150	125	100	75	50	25	0

II.3.2.3. Dosage des composés polyphénoliques totaux (PPT)

II.3.2.3.1. Principe

Les composés phénoliques dans les extraits de plantes sont évalués en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, comme décrit par **Adesegun *et al.* (2010)**. Ce dosage repose sur la réduction du réactif Folin-Ciocalteu par les phénols, générant ainsi une coloration bleue dont l'absorbance maximale se situe autour de 750 nm, selon **Abdel-Hameed (2009)**.

II.3.2.3.2. Mode opératoire

- Prendre 50 μL de la solution mère de polysaccharides de *Ziziphus*.
- Préparer des dilutions de 1/10 et 1/20 de cette solution.
- Utiliser 50 μL d'eau distillée comme solution blanc, servant de référence pour la mesure spectrophotométrique.
- Préparer 50 μL de différentes concentrations d'une gamme d'étalonnage d'acide gallique.
- Diluer chaque échantillon, blanc, et solution étalon avec 2,45 mL d'eau distillée.
- Ajouter 250 μL de réactif de Folin-Ciocalteu à chaque tube contenant les échantillons et solutions étalons.

- Après une incubation de 3 minutes, ajouter 500 μL d'une solution de Na_2CO_3 à 35% dans chaque tube.
- Compléter chaque tube avec 1,75 mL d'eau distillée.
- Agiter soigneusement chaque tube pour homogénéiser les solutions.
- Incuber les tubes pendant 1 heure à température ambiante, à l'obscurité.
- Mesurer l'absorbance des solutions à 725 nm en utilisant un spectrophotomètre.

Tableau 3. Gamme d'étalonnage de l'acide d'acide gallique 0,2 à 1 g/L.

	Blanc	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Gal.A (μL)	0	60	120	180	240	300
ED (μL)	300	240	180	120	60	0

II.3.2.4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)

II.3.2.4.1. Principe

La méthode de Bradford (1976) est largement utilisée pour détecter les petites quantités de protéines (jusqu'à 20 $\mu\text{g/mL}$).

II.3.2.4.2. Mode opératoire

- Ajouter 800 μL de l'échantillon ou de l'étalon dans un tube à essai.
- Incorporer 200 μL de réactif de Bradford.
- Agiter les tubes pour bien mélanger le contenu.
- Incuber les tubes à l'obscurité pendant 30 minutes.
- Mesurer la densité optique à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Tableau 4. Gamme d'étalonnage de BSA 0,0050 à 0,02 g/L.

	Blanc	0,0050	0,0075	0,010	0,0125	0,015	0,0175	0,02
BSA (μ L)	0	200	300	400	500	600	700	800
ED (μ L)	800	600	500	400	300	200	100	0

II.3.2.5. Caractérisation des monosaccharides par chromatographie sur couche mince (CCM)

II.3.2.5.1. Principe

L'identification des résidus glycosidiques d'un polysaccharide commence par la rupture de toutes les liaisons glycosidiques, ce qui nécessite des températures élevées (de 50 à 100°C) et l'utilisation d'acides forts comme l'acide chlorhydrique (HCl) ou l'acide trifluoroacétique (TFA), qu'ils soient dilués ou concentrés (**Ruiz, 2005**). Les monosaccharides libérés lors de cette étape sont ensuite analysés par chromatographie sur couche mince (CCM), une technique couramment utilisée pour l'identification de composés organiques (**Multon et al., 1991**).

La CCM repose sur l'utilisation d'une couche mince constituée de petites particules, dont la forme est généralement sphérique (**Munier, 1968**). Cette méthode permet non seulement de contrôler rapidement la pureté des produits, mais aussi de suivre l'évolution de réactions, comme l'hydrolyse des polysaccharides, en indiquant le nombre de composants présents dans un mélange (**Doat, 1974**).

II.3.2.5.2. Mode opératoire :

➤ **Hydrolyse des polysaccharides** : Selon **Niu et al.(2011)**:

1. Mélanger 25 mg de lyophilisat de polysaccharides avec 1 mL de TFA à 2 M.
2. Incuber les tubes dans une étuve à 100°C pendant 4 heures.
3. Laisser les tubes refroidir et ajouter quelques gouttes de méthanol.
4. Placer le mélange dans un dessiccateur sous hotte pendant 24 heures.
5. Après séchage, ajouter 1 mL d'eau distillée.
6. Récupérer l'ensemble du contenu dans des Eppendorfs.

➤ *Phase mobile*

Deux systèmes différents peuvent être utilisés pour la séparation des oses sur des plaques de gel de silice. Le choix du système dépend de la nature des oses à séparer.

système 1 : L'éther éthylique-acide pyridinique-eau-n-butanol-acide acétique, dans un rapport de 5:4:4:10:2 (v/v), a été utilisé comme solvant (**Hoton-Dorge, 1976**).

Système 2 : Le mélange se compose de chloroforme, n-butanol, méthanol, acide acétique et eau dans les proportions suivantes : 4,5/12,5/5/1,5/1,5 (**Chakou et al., 2018**) .

➤ *Phase stationnaire*

C'est une plaque de gel de silice.

➤ *Dépôt des étalons et des hydrolysats*

Les étalons et les hydrolysats sont préparés en dissolvant 25 mg de chaque étalon (acide glucuronique, acide galacturonique, glucose, arabinose, rhamnose, xylose et mannose) dans 2,5 mL d'eau distillée (**Boual, 2014**). Une ligne de dépôt est tracée à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, qui est ensuite activée à 100°C pendant 10 minutes. Après activation, les échantillons et les étalons sont appliqués sur la ligne de dépôt. Les systèmes préalablement préparés sont transférés dans les cuves chromatographiques, où les plaques sont placées de manière à ce que la ligne de dépôt soit au-dessus de la phase mobile. Une fois le solvant monté à 1 cm du bord supérieur, les plaques sont retirées, et une ligne est tracée au niveau du front du solvant (**Delattre, 2005**). Une fois sèches, les plaques sont révélées à l'aide du Nigrum, puis incubées à l'étuve jusqu'à l'apparition des taches colorées (**Boual et al., 2011**).

➤ *Calcul des rapports frontaux*

Pour déterminer la composition en monosaccharides des extraits, le rapport frontal est calculé pour chaque tache observée (**David et Hazel, 1998**) .

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le olvant}} \times 100$$

II.3.3. Activité antioxydante par la méthode de réduction du radical 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH)

II.3.3.1.1. Principe

Le 1,1'-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable possédant un électron célibataire localisé sur l'atome d'azote, lui conférant une teinte violette et un pic d'absorbance maximal à 517 nm. Lorsqu'un antioxydant est présent, cet électron célibataire peut être neutralisé par appariement, provoquant la réduction du DPPH[•] en DPPH-H, accompagnée d'un changement de couleur du violet au jaune. Cette décoloration traduit ainsi l'aptitude de l'échantillon à piéger le radical DPPH (Lemaoui, 2018).

Le test de neutralisation du radical DPPH repose sur le transfert d'électrons provenant des antioxydants pour neutraliser le radical libre DPPH. Ce processus entraîne une modification de la coloration du DPPH, généralement mesurée à 517 nm, où l'intensité de la décoloration reflète le niveau d'activité antioxydante (Munteanu et Apetrei, 2021).

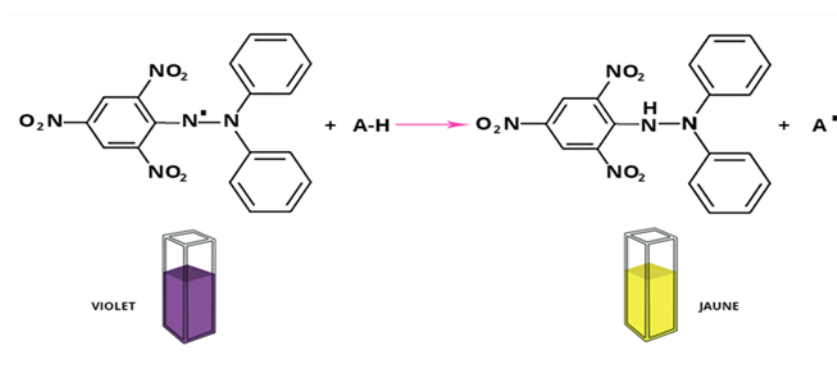


Figure 10. Réaction du piégeage du radical libre DPPH (Al-Kufaishi *et al.*, 2020)

II.3.3.1.2. Protocole

La capacité anti radicalaire des extraits analysés a été évaluée en utilisant la méthode DPPH suivant le protocole établi par Sanchez-Moreno (Zbadi *et al.*, 2018).

- 800 µL d'une solution éthanolique de DPPH (0,1 mM) ont été ajoutée à 200 µL de différentes dilutions des extraits (0-0,4 mg/mL).
- Les mélanges ont été incubés pendant 30 minutes à l'obscurité.
- l'absorbance a été mesurée à 517 nm contre un blanc d'éthanol.

- Les échantillons et le BHT (hydroxytoluène butylé) sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition (%PI) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{PI (\%)} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

PI (%) : pourcentage d'inhibition du radicale DPPH.

Abs DPPH : absorbance du blanc.

Abs extrait : absorbance d'extrait

- **Concentration inhibition de 50% (IC_{50})** : aussi appelée EC_{50} (efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radicale DPPH. les IC_{50} sont calculées graphiquement en représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de concentration des extraits testée.

L'échantillon qui présente l' IC_{50} la plus faible est celui qui présente l'activité anti-radicalaire (AAR) la plus importante.

Chapitre III. Résultats et Discussion

III. Résultats et discussions

III.1. Caractérisation de l'extrait polysaccharidiques hydrosolubles des fruits de *Ziziphus lotus*

III.1.1. Rendement de l'extraction

Les résultats de l'analyse physico-chimique de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Z. lotus*, révèlent un rendement massique de 6,40%. Ce résultat est supérieur à celui rapporté par **Boual en 2009**, qui a obtenu un rendement de 3,7% à partir des feuilles séchées de la même espèce. Cette différence de rendement peut s'expliquer par la variation de la partie végétale utilisée, les fruits contenant généralement plus de polysaccharides que les feuilles.

études ont évalué l'impact des méthodes d'extraction assistée par ultrasons (UAE) sur la récupération des polysaccharides. **Hammi et al. (2016)** ont obtenu un rendement de 18,88% de polysaccharides à partir de la pulpe et de la peau de *Z. lotus* en utilisant un procédé direct d'UAE sous des conditions optimales (3h 15min à 91,2°C et un rapport eau/solide de 39 mL/g) **Adeli et Samavati (2015)** ont également étudié l'effet de l'UAE sur l'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des fruits de *Z. lotus* et ont rapporté un rendement de $13,398 \pm 0,019\%$ sous des conditions optimisées (88,77 W, 29,96 min, 77,73°C, ratio eau/matière première de 24,44 mL/g). Tandis que, les travaux de **Qu et al.** ont montré que l'UAE est également efficace pour l'extraction des polysaccharides de *Ziziphus jujuba* Mill., avec un rendement de 8,18%. Ces résultats semblent supérieurs à celui de PSZL extrait par macération à chaud.

En revanche, **Lin et al. (2018)** ont également démontré que l'UAE permet d'obtenir un rendement inférieur que PSZL; soit $1,05 \pm 0,08\%$ à partir des graines de *Z. jujuba* Mill. var. *spinosa* sous des conditions optimales.

Cela suggère que le taux de l'extraction des polysaccharides dépend largement des paramètres expérimentaux utilisés, en particulier la température, la durée d'extraction et la nature du solvant.

III.1.2. Taux en oses totaux

La teneur en oses totaux de l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Z. lotus* est de $73,18 \pm 0,034\%$, ce qui est nettement supérieur aux valeurs rapportées

par **Boual (2009)** pour les feuilles, qui indiquent une teneur moyenne de $40,87 \pm 0,83\%$. Cette différence peut être attribuée aux variations dans les parties de la plante utilisées, les fruits étant généralement plus riches en polysaccharides que les feuilles, ainsi qu'aux conditions d'extraction spécifiques.

Ailleurs, les résultats obtenus pour les feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) par **Diallo et al. (2004)** montrent une variation notable en oses totaux (OT) selon la méthode d'extraction. Le décocté aqueux, réalisé à une température élevée, a permis d'extraire 36,87% en OT, tandis que le macéré à froid ne contenait que 27,18% de sucres totaux. Ces résultats confirment l'impact des conditions d'extraction sur le rendement en OT, où les températures élevées favorisant une meilleure libération des composés hydrosolubles.

En comparant ces données, il apparaît que les fruits de *Ziziphus lotus* constituent une source particulièrement riche en oses totaux, et que les techniques d'extraction influencent fortement la composition des extraits polysaccharidiques. Ces observations soulignent l'importance du choix des méthodes d'extraction et de la partie de la plante étudiée pour maximiser le rendement en composés d'intérêt.

III.1.3. Teneur en oses neutres

Dans notre étude, les résultats montrent que les oses neutres représentent $31 \pm 0,05\%$ des polysaccharides hydrosolubles extraits des fruits de *Z. lotus*. Cette teneur reflète une proportion modérée d'oses neutres dans la composition globale des polysaccharides.

Comparativement, une analyse chimique menée par **Boual en 2015** a révélé que les polysaccharides hydrosolubles extraits des feuilles séchées de *Z. lotus* contiennent une proportion beaucoup plus élevée d'oses neutres, soit $64,81 \pm 0,42\%$. Cette différence significative peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment les variations dans la nature des tissus végétaux étudiés (feuilles vs fruits), les méthodes d'extraction, ou encore la composition intrinsèque des polysaccharides selon l'organe de la plante.

III.1.4. Teneur en protéines

Le taux des protéines obtenus dans cette étude révèle une teneur de $4 \pm 0,11\%$ dans l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Ziziphus lotus*. Cette valeur est inférieure aux résultats rapportés par **Boual (2009)** pour les feuilles de *Z. lotus*, avec une teneur moyenne de $27,28 \pm 0,58\%$. Cette divergence peut s'expliquer par des différences dans les parties de la plante analysées, les feuilles étant généralement plus riches en protéines que

les fruits. De plus, les conditions environnementales et les méthodologies d'extraction appliquées peuvent également influencer ces résultats.

En comparaison, la teneur en protéines rapportée par **Li et al. (2007)** dans les extraits de polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Ziziphus jujuba* est de $5,01 \pm 0,05\%$. Cette valeur est légèrement supérieure à celle obtenue dans notre étude, mais reste dans une gamme comparable. Ces variations pourraient être attribuées aux différences interspécifiques entre *Z. lotus* et *Ziziphus jujuba*, ainsi qu'aux techniques spécifiques utilisées pour la quantification.

Donc, les résultats obtenus dans cette recherche confirment que les fruits de *Z. lotus* présentent une teneur modérée en protéines, tandis que les feuilles sont une source plus concentrée. Ces données mettent en évidence l'importance de la partie de la plante étudiée et des méthodologies adoptées pour évaluer les composés biochimiques.

III.1.5. Teneur en polyphénols

L'analyse a révélé que l'extrait polysaccharidique (PSZL) contenait $1,5 \pm 0,007\%$ de polyphénols totaux, une proportion faible, cette faible teneur indique une pureté notable de l'extrait en polysaccharides, puisque la présence limitée de polyphénols suggère que la plupart des composés phénoliques solubles ont été éliminés lors des étapes de purification, notamment la précipitation à l'éthanol et à l'acétone.

III.1.6. Caractérisation de hydrolysats des polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Ziziphus lotus* par CCM

Un seul traitement acide a été réalisé pour l'hydrolyse de l'extrait polysaccharidique, en utilisant l'TFA avant l'analyse par CCM. Afin d'identifier les oses constitutifs de l'extrait PSZL, deux systèmes chromatographiques distincts ont été appliqués. Ce type d'hydrolyse a permis de mettre en évidence des taches présentant des rapports frontaux (*R_f*) variés.

La détermination des valeurs de *R_f* (**Tableau 5**) des étalons permet d'identifier partiellement les principaux oses constitutifs de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles issus des fruits de *Z. lotus*.

Tableau 5. Rapports frontaux (R_f) des oses étalons et de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des fruits de *Ziziphus lotus* (PSZL) pour le deuxième système de chromatographie sur couche mince (CCM).

Type d'ose	Système II
Arabinose	0,47
Fru	0,44
Galactose	0,39
Glucose	0,43
Mannose	0,46
Ribose	0,51
Xylose	0,54
Gal A	0,35
Glc A	0,48
PSZL	0,05
	0,15
	0,29
	0,45
	0,51

Cette identification repose sur la comparaison des rapports frontaux des tâches observées avec ceux des oses étalons (**Figure 11**).

Dans le deuxième système (n-butanol, méthanol, acide acétique et eau), le profil de CCM (**Figure 12**) révèle la présence de 5 spots pour la fraction PSZL avec des R_f de 0,05 ; 0,15 ; 0,29 ; 0,45 ; 0,51 qui correspond au Gal.A , Man et Rib .

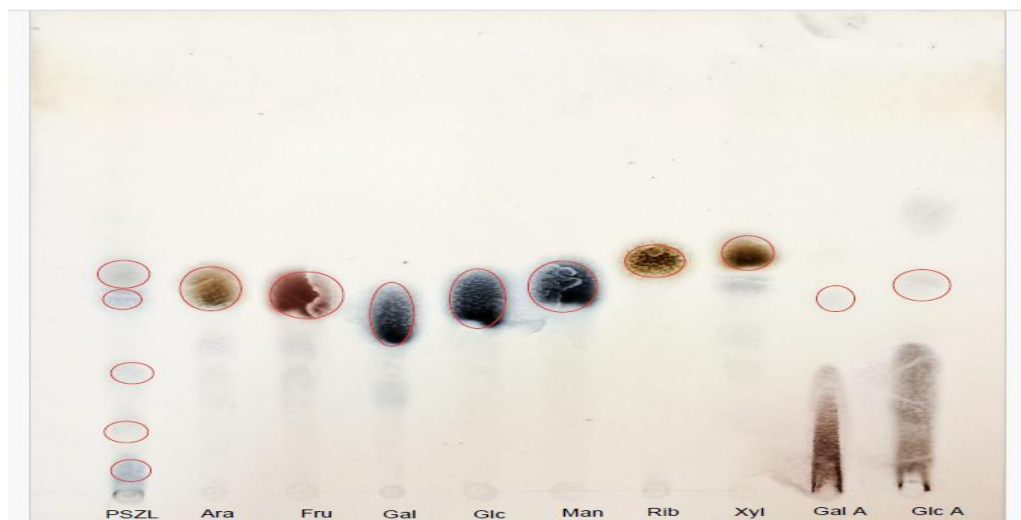


Figure 11. Caractérisation par CCM des hydrolysats de polysaccharides hydrosolubles extraits des fruits de *Ziziphus lotus* par l'acide trifluoroacétique (2 M), durant 4 heures à 100°C (Deuxième système) (**Photo originale**).

La migration des étalons est plus efficace avec le deuxième système en comparaison au premier système. Cela peut être expliqué par la variation de polarité des différents éluants, ainsi que par l'affinité spécifique de chaque échantillon envers les solvants (**Audigie et al., 1980**)

Ces résultats semblent proches à ceux de **Chouaibi et al. (2012)** qui ont utilisé la méthodologie de surface de réponse pour l'optimisation de l'extraction des polysaccharides de *Zizyphus lotus*. Ils ont signalé que les principaux oses, par ordre décroissant de concentration, étaient le glucose, l'arabinose, le mannose et le rhamnose. D'autres oses neutres, tels que le galactose et le xylose, étaient également présents mais en faibles quantités.

L'étude de **Hammi et al. en 2016** montre que les polysaccharides hydrosolubles de PSZL comprenaient six monosaccharides principaux : arabinose, rhamnose, glucose, fructose, galactose et xylose. En comparaison, notre extrait PSZL s'est révélé la présence de mannose, ribose, ainsi que des acides uroniques tels que l'acide galacturonique (Gal. A).

III.2. Activité antioxydante des PSZL

Cette partie montre et analyse les résultats tirées de l'évaluation du pouvoir antioxydant des polysaccharides hydrosolubles dérivés des fruits de *Z. lotus*. La capacité antioxydante a été déterminée par le test de neutralisation du radical libre DPPH, une

technique spectrophotométrique employée pour évaluer la compétence d'un composé à attaquer les espèces réactives de l'oxygène. Les valeurs de l' IC_{50} déterminées ont permis d'évaluer l'efficacité de l'extrait examiné et de le mettre en comparaison avec d'autres polysaccharides végétaux mentionnés dans divers publications.

Les données obtenues dans les **Figures 13** et **14** indiquent que PSZL révèle une activité antioxydante dose-dépendante et un taux d'inhibition qui augmente avec la concentration en comparaison avec l' IC_{50} de BHT = 23,39 $\mu\text{g/mL}$ utilisé comme référence. Une activité antioxydante modérée a été déterminée avec une concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) de $79,51 \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$.

Tableau 6. Concentration inhibitrice médiane (IC_{50})PSZL

L'extrait	
IC_{50} Extrait PSZL	$79,51 \pm 0,45 \mu\text{g /mL}$

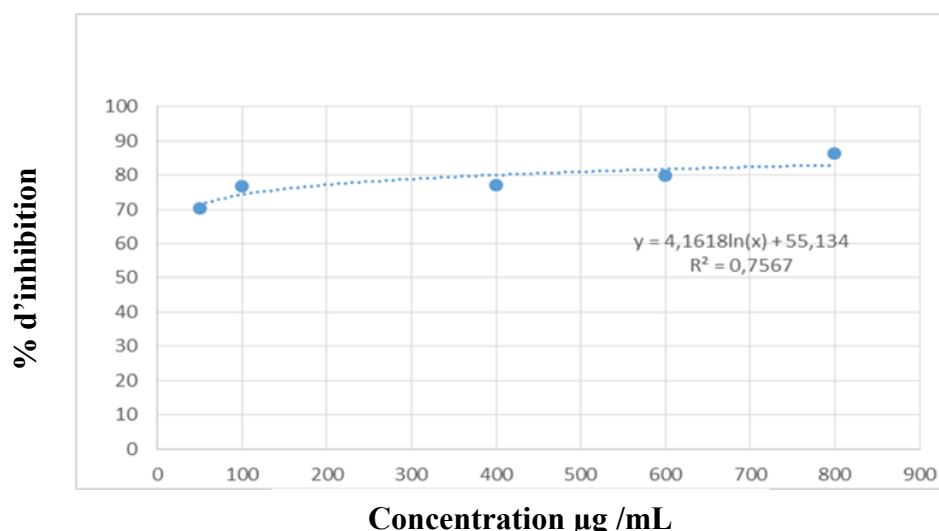


Figure 12. Pourcentage d'inhibition du BHT du radicale libre DPPH

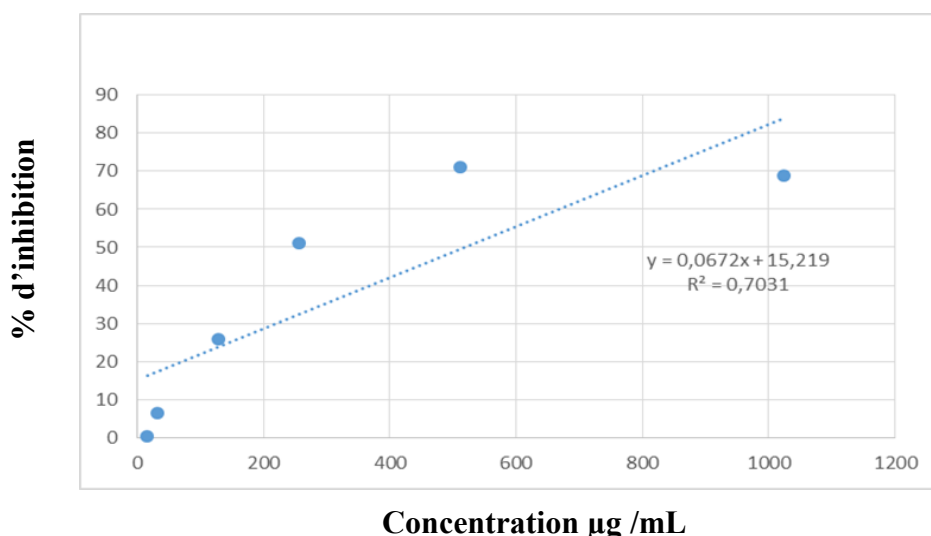


Figure 13. Pourcentage d'inhibition du PSZL du radicale libre DPPH

Ces résultats dépassent de manière significative ceux mentionnés dans d'autres recherches concernant les polysaccharides de *Z. lotus*. L'analyse menée par **Hammi et al. (2020)** qui examine le pouvoir antioxydant des polysaccharides dérivés du *Z. lotus*, tout en comparant diverses versions traitées par ultrasons pendant des périodes distinctes (ZLP0 = sans ultrasons, ZLP30, ZLP60, etc.). Pour les polysaccharides de *Z. lotus* qui n'ont pas été soumis à un traitement par ultrasons, une IC_{50} de 518 µg/mL a été mesurée. En revanche, pour les fractions soumises à ce procédé (ZLP120), une IC_{50} de 205 µg/mL a été obtenue. Par conséquent, l'échantillon que nous avons analysé montre une activité antioxydante plus élevée ; soit $79,51 \pm 0,45$ µg/mL, même en l'absence de traitement physique.

Berkani et al. (2020) améliorent l'extraction des polysaccharides de la pulpe et de la peau du fruit *Z. lotus* en utilisant la méthodologie RSM (*Response Surface Methodology*) une technique mathématique destinée à déterminer les conditions expérimentales optimales. Il a été trouvé que une concentration inhibitrice médiane IC_{50} de 518 µg/mL. Néanmoins, l'extrait que nous avons étudié dans ce travail présente une activité antioxydante supérieure.

L'évaluation de l'activité antioxydante menée par **Hammi et al. (2016)** ont montré que la concentration inhibitrice médiane IC_{50} était de $68 \pm 0,10$ µg/mL, indiquant une capacité antioxydante plus élevée que celle de PSZL.

Conclusion

Ce travail de recherche a porté sur l'extraction, la caractérisation biochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des polysaccharides hydrosolubles extraits des fruits de *Ziziphus lotus*, une plante spontanée à usage médicinal traditionnellement reconnue dans la pharmacopée du sud Algérien.

L'extraction a été réalisée à l'eau ultrapure à 60 °C, donnant un rendement massique de polysaccharides hydrosolubles lyophilisé (PSZL) égale à 6,40%.

L'étude de la composition de l'extraits bruts des polysaccharides hydrosolubles PSZL, révèle une teneur élevée en oses totaux ; soit $73,18 \pm 0,034\%$, moyenne en oses neutres ; soit $31 \pm 0,05\%$ et faibles en protéines et en polyphénols ; soient $4 \pm 0,11\%$ et $1,5 \pm 0,007\%$, respectivement.

L'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM) de la composition en oses des PSZL montre la présence de mannose, ribose, ainsi que des acides uroniques tels que l'acide galacturonique (Gal. A).

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH• a montré un pouvoir antiradicalaire notable avec une valeur d'IC₅₀ de $79,51 \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$, indiquant que l'extrait possède une capacité appréciable à neutraliser les radicaux libres.

L'ensemble de ces résultats met en évidence le potentiel biologique important des polysaccharides extraits des fruits de *Z.lotus*, en particulier pour leurs propriétés antioxydantes. Cette étude indique également que les fruits, par rapport à d'autres parties de la plante comme les feuilles, représentent une source intéressante de biomolécules bioactives.

Toutefois, quelques limites subsistent, notamment en ce qui concerne l'évaluation d'autres activités biologiques telles que l'effet antidiabétique et anti-inflammatoire.

Par conséquent, ce travail ouvre la voie pour des perspectives encourageantes, notamment :

- La purification des polysaccharides actifs ;
- L'analyse de leur structure détaillée ;
- L'évaluation en conditions réelles (*in vivo*) pour vérifier son potentiel dans le traitement de maladies ;

- Ou encore leur valorisation dans des domaines tels que la pharmacie, l'alimentation ou la cosmétique.

Pour conclure, les polysaccharides hydrosolubles dérivés de *Z.lotus* constituent une ressource naturelle précieuse dont la richesse biochimique et les propriétés biologiques méritent d'être plus approfondies dans le contexte de la recherche en biotechnologie et en santé naturelle.

Références bibliographiques

1. Adeli, M. et Samavati, V. (2015). Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Ziziphus lotus* fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 580-587.
2. Al-Kufaishi, A. M., Al-Mashhedy, L. A. et Al-Rubaie, B. J. (2020). Estimation of Antioxidants Activity Through DPPH Inhibition Levels in Patients with Chronic HPV 16 Cervicitis. Jinu. M, Thankamma. P. George, NA Balaram, Sujisha. SS 2. Profile of Burn Deaths: A Study Based on Postmortem Examination of Burn Cases at RNT, 20(3), 464.
3. Apostolidis, E., Karayannakidis, P. D., Kwon, Y.-I., Lee, C. M. et Seeram, N. P. (2011). Seasonal Variation of Phenolic Antioxidant-mediated α -glucosidase Inhibition of *Ascophyllum nodosum*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(4), 313-319.
4. asteriscus. (2023, 3 juin). Lotus of the Lotophages (*Ziziphus lotus*). iNaturalist. iNaturalist. Atlas-Sahara. (2015, 23 juillet).
5. Audigie, C., Figiralla, J. et Zonszain, F. (1980). Manuel d'analyses biochimiques. Ed. Doin, Paris, 270.
6. Balaban, R. S., Nemoto, S. et Finkel, T. (2005). Mitochondria, Oxidants, and Aging. *Cell*, 120(4), 483-495.
7. Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species: Critical Care Medicine, 33(Suppl), S498-S501.
8. Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
9. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. et Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
10. Bohin, J.-P. (2000). Osmoregulated periplasmic glucans in Proteobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 186(1), 11-19.

11. Borgi, W. et Chouchane, N. (2009). Anti-spasmodic effects of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. extracts on isolated rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(3), 571-573.
12. Boual, Z., Kemassi, A., Chouana, T. et Michaud, P. (2015). Chemical Characterization and Prebiotic Effect of Water-Soluble Polysaccharides from *Zizyphus lotus* Leaves, 9(12).
13. Burton, G. J. et Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25(3), 287-299.
14. Cadet, J., Ravanat, J.-L., Helen, G. W., Yeo, H. C. et Ames, B. N. (1994). [8] Singlet oxygen DNA damage: Chromatographic and mass spectrometric analysis of damage products. Dans *Methods in enzymology* (vol. 234, p. 79-88). Elsevier.
15. Cai, Z., Li, W., Wang, H., Yan, W., Zhou, Y., Wang, G., Cui, J. et Wang, F. (2012). Anti-tumor and immunomodulating activities of a polysaccharide from the root of *Sanguisorba officinalis* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(4), 484-488.
16. Cecarini, V., Gee, J., Fioretti, E., Amici, M., Angeletti, M., Eleuteri, A. M. et Keller, J. N. (2007). Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1773(2), 93-104.
17. Chatgililoglu, C. et O'Neill, P. (2001). Free radicals associated with DNA damage. *Experimental Gerontology*, 36(9), 1459-1471.
18. Chevolot, L., Foucault, A., Chaubet, F., Kervarec, N., Sinquin, C., Fisher, A.-M. et Boisson-Vidal, C. (1999). Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydrate Research*, 319(1), 154-165.

19. Chouaibi, M., Rezig, L., Ben Daoued, K., Mahfoudhi, N., Bouhafa, H. et Hamdi, S. (2012). Extraction of Polysaccharide From Zizyphus Lotus Fruits. *International Journal of Food Engineering*, 8(3).
20. Costa, L. S., Fidelis, G. P., Cordeiro, S. L., Oliveira, R. M., Sabry, D. A., Câmara, R. B. G., Nobre, L. T. D. B., Costa, M. S. S. P., Almeida-Lima, J., Farias, E. H. C., Leite, E. L. et Rocha, H. A. O. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64(1), 21-28.
21. Costa, V. M., Amorim, M. A., Quintanilha, A. et Moradas-Ferreira, P. (2002). Hydrogen peroxide-induced carbonylation of key metabolic enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*: the involvement of the oxidative stress response regulators Yap1 and Skn7. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(11), 1507-1515.
22. David, J. H. et Hazel, P. (1998). *Analytical biochemistry*, 3ème Edition. Ed. Prentice Hall, Angleterre.
23. Deters, A. M., Lengsfeld, C. et Hensel, A. (2005). Oligo-and polysaccharides exhibit a structure-dependent bioactivity on human keratinocytes in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(3), 391-399.
24. Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K. et Maïga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de *Zizyphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10-11), 1073-1080.
25. Diao, Y. L., Jiang, W., Zhu, T., Meng, D. L. et Shan, J. J. (2011). Antidiabetic activities of natural plant polysaccharides and their advances. *J Int Pharm Res*, 38, 275-279.

26. Dizdaroglu, M. (1994). [1] Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. Dans *Methods in enzymology* (vol. 234, p. 3-16). Elsevier.
27. Ebringerová, A., Kardošová, A., Hromádková, Z. et Hříbalová, V. (2003). Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, 74(1-2), 52-61.
28. Erdmann, K., Cheung, B. W. et Schröder, H. (2008). The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of nutritional biochemistry*, 19(10), 643-654.
29. Ezraty, B., Grimaud, R., Hassouni, M. E., Moinier, D. et Barras, F. (2004). Methionine sulfoxide reductases protect Ffh from oxidative damages in *Escherichia coli*. *The EMBO Journal*, 23(8), 1868-1877.
30. Fan, S., Zhang, J., Nie, W., Zhou, W., Jin, L., Chen, X. et Lu, J. (2017). Antitumor effects of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* against human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 102, 53-62.
31. Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390-396.
32. Forcados, G. E., James, D. B., Sallau, A. B., Muhammad, A. et Mabeta, P. (2017). Oxidative Stress and Carcinogenesis: Potential of Phytochemicals in Breast Cancer Therapy. *Nutrition and Cancer*, 69(3), 365-374.
33. Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A. et Gómez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology advances*, 18(7), 549-579.
34. George, J. et and Struthers, A. D. (2009). Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress. *Vascular Health and Risk Management*, 5, 265-272.

35. Ghosh, J. et Myers, C. E. (1998). Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(22), 13182-13187.
36. Guina, T., Biasi, F., Calfapietra, S., Nano, M. et Poli, G. (2015). Inflammatory and redox reactions in colorectal carcinogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1340(1), 95-103.
37. Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.
38. Guyton, K. Z. et Kensler, T. W. (1993). Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *British medical bulletin*, 49(3), 523-544.
39. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C. et Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
40. Halliwell, B. et Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press.
41. Hammi, K. M., Hammami, M., Rihouey, C., Le Cerf, D., Ksouri, R. et Majdoub, H. (2016). Optimization extraction of polysaccharide from Tunisian *Zizyphus lotus* fruit by response surface methodology: Composition and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 212, 476-484.
42. Hasnain, M. S. et Nayak, A. K. (2018). Alginate-inorganic composite particles as sustained drug delivery matrices. Dans *Applications of Nanocomposite materials in drug delivery* (p. 39-74). Elsevier.
43. Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T. et Tew, K. D. (2020). Oxidative Stress in Cancer. *Cancer Cell*, 38(2), 167-197.
44. Holland, S., Lodwig, E., Sideri, T., Reader, T., Clarke, I., Gkargkas, K., Hoyle, D. C., Delneri, D., Oliver, S. G. et Avery, S. V. (2007). Application of the comprehensive set

- of heterozygous yeast deletion mutants to elucidate the molecular basis of cellular chromium toxicity. *Genome Biology*, 8(12), R268.
45. Holmström, K. M. et Finkel, T. (2014). Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(6), 411-421.
46. Hwang, E.-S. et Bowen, P. E. (2007). DNA Damage, a Biomarker of Carcinogenesis: Its Measurement and Modulation by Diet and Environment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1), 27-50.
47. Ishikawa, K., Takenaga, K., Akimoto, M., Koshikawa, N., Yamaguchi, A., Imanishi, H., Nakada, K., Honma, Y. et Hayashi, J.-I. (2008). ROS-Generating Mitochondrial DNA Mutations Can Regulate Tumor Cell Metastasis. *Science*, 320(5876), 661-664.
48. Keeling, P. L., & Myers, A. M. (2010). Biochemistry and genetics of starch synthesis. *Annual review of food science and technology*, 1(1), 271-303.
49. Krause, K.-H. (2007). Aging: a revisited theory based on free radicals generated by NOX family NADPH oxidases. *Experimental gerontology*, 42(4), 256-262.
50. Lemaoui, A. (2018). Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de nigella sativa. L Algérienne [phd thesis]. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2198>
51. 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, 1-11.
52. 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.

53. Luo, A., Ge, Z., Fan, Y., Luo, A., Chun, Z. et He, X. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium denneanum*. *Molecules*, 16(2), 1579-1592.
54. SEDDIKI, M., BOUAL, Z., MICHAUD, P., & OULD EL HADJ, M. D. EXTRACTION ET CARACTÉRISATION PARTIELLE DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DE FEUILLES DE L'ESPÈCE DE *Zygophyllum album* L. RÉCOLTÉE AU SAHARA ALGÉRIEN.
55. Maraghni, M., Gorai, M. et Neffati, M. (2010). Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Ziziphus lotus*. *South African Journal of Botany*, 76(3), 453-459.
56. Maran, J. P., Nivetha, C. V., Priya, B., Al-Dhabi, N. A., Ponmurugan, K. et Manoj, J. J. B. (2016). Modeling of polysaccharide extraction from *Gossypium arboreum* L. seed using central composite rotatable design. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 857-864.
57. Martínez, A., Portero-Otin, M., Pamplona, R. et Ferrer, I. (2010). Protein Targets of Oxidative Damage in Human Neurodegenerative Diseases with Abnormal Protein Aggregates. *Brain Pathology*, 20(2), 281-297.
58. Maxwell, E. G., Colquhoun, I. J., Chau, H. K., Hotchkiss, A. T., Waldron, K. W., Morris, V. J. et Belshaw, N. J. (2016). Modified sugar beet pectin induces apoptosis of colon cancer cells via an interaction with the neutral sugar side-chains. *Carbohydrate Polymers*, 136, 923-929.
59. Magalhães, S., Fernandes, C., Pedrosa, J. F., Alves, L., Medronho, B., Ferreira, P. J., & Rasteiro, M. D. G. (2023). Eco-friendly methods for extraction and modification of cellulose: an overview. *Polymers*, 15(14), 3138.

60. Medicherla, B. et Goldberg, A. L. (2008). Heat shock and oxygen radicals stimulate ubiquitin-dependent degradation mainly of newly synthesized proteins. *The Journal of cell biology*, 182(4), 663-673.
61. Meng, F., Zhou, B., Lin, R., Jia, L., Liu, X., Deng, P., Fan, K., Wang, G., Wang, L. et Zhang, J. (2010). Extraction optimization and in vivo antioxidant activities of exopolysaccharide by *Morchella esculenta* SO-01. *Bioresource technology*, 101(12), 4564-4569.
62. Merghem, R. (2009). *Élément de biochimie végétale*. Bhaeddine Editions, Algérie.
63. Migdal, C. et Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
64. Munteanu, I. G. et Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.
65. Murata, M., Thanan, R., Ma, N. et Kawanishi, S. (2012). Role of Nitrate and Oxidative DNA Damage in Inflammation-Related Carcinogenesis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1-11.
66. Navard, P. (2012). The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE): research initiatives and results. Springer Science & Business Media.
67. Nayak, A. K. et Hasnain, M. S. (2019). Plant Polysaccharides in Drug Delivery Applications. Dans *Plant Polysaccharides-Based Multiple-Unit Systems for Oral Drug Delivery* (p. 19-23). Springer Singapore.
68. Ngo, D.-H. et Kim, S.-K. (2013). Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 70-75.

69. Ngo, D.-H., Wijesekara, I., Vo, T.-S., Van Ta, Q. et Kim, S.-K. (2011). Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: An overview. *Food Research International*, 44(2), 523-529.
70. Noda, S., Funami, T., Nakauma, M., Asai, I., Takahashi, R., Al-Assaf, S., Ikeda, S., Nishinari, K. et Phillips, G. O. (2008). Molecular structures of gellan gum imaged with atomic force microscopy in relation to the rheological behavior in aqueous systems. 1. Gellan gum with various acyl contents in the presence and absence of potassium. *Food Hydrocolloids*, 22(6), 1148-1159.
71. Pal, D. et Nayak, A. K. (2017). Plant polysaccharides-blended ionotropically-gelled alginate multiple-unit systems for sustained drug release. *Handbook of composites from renewable materials*, 6, 399-400.
72. PARIS M. et HURABIELLE M., 1981- Matière médicale (pharmacognosie). Ed. Masson, T. 1, Paris: 26-67.
73. Pérez, S. (2000). Structure et morphologie de la cellulose. *Initiation à la Science des Polymers; Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales—CNRS—Associé à l'Université Joseph Fourier: Grenoble, France*, 1-43.
74. Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. et Defraigne, J. O. (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4(4), 6-11.
75. Preiser, J. (2012). Oxidative Stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147-154.
76. Qu, C., Yu, S., Jin, H., Wang, J. et Luo, L. (2013). The pretreatment effects on the antioxidant activity of jujube polysaccharides. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 114, 339-343.

77. Quezel, P. et Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Eds. du Centre Nat. de la Recherche Scientifique.
78. Raposo, M. F. de J., De Morais, R. M. S. C. et Bernardo de Morais, A. M. M. (2013). Bioactivity and Applications of Sulphated Polysaccharides from Marine Microalgae. *Marine Drugs*, 11(1), 233-252.
79. Raposo, M. F. de J. et de Morais, A. M. M. B. (2015). Microalgae for the prevention of cardiovascular disease and stroke. *Life Sciences*, 125, 32-41.
80. Roberfroid, M. B., & Delzenne, N. M. (1998). Dietary fructans. *Annual review of nutrition*, 18(1), 117-143.
81. Rogovin, S. P., Anderson, R. F. et Cadmus, M. C. (1961). Production of polysaccharide with *Xanthomonas campestris*. *Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering*, 3(1), 51-63.
82. Rsaissi, N. et Bouhache, M. (2002). La lutte chimique contre le jujubier. *Transfert de technologie en agriculture*, 94, 1-4.
83. Singh, R. S., Kaur, N., Rana, V. et Kennedy, J. F. (2017b). Pullulan: A novel molecule for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 171, 102-121.
84. Singh, V., Kumar, P. et Sanghi, R. (2012a). Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides—A review. *Progress in polymer science*, 37(2), 340-364.
85. Smestad Paulsen, B. et Barsett, H. (2005). Bioactive Pectic Polysaccharides. Dans T. Heinze (dir.), *Polysaccharides I* (vol. 186, p. 69-101). Springer-Verlag.
86. Staples, G. W. et Jacquemoud, F. (2005). Typification and nomenclature of the Convolvulaceae in NL Burman's Flora Indica, with an introduction to the Burman collection at Geneva. *Candollea*, 60(2), 445.

87. Storz, G. et Imlay, J. A. (1999). Oxidative stress. *Current Opinion in Microbiology*, 2(2), 188-194.
88. Sun, Y.-D., Wang, Z.-H. et Ye, Q.-S. (2013). Composition analysis and anti-proliferation activity of polysaccharides from *Dendrobium chrysotoxum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 291-295.
89. Sutherland, I. W. (1998). Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Trends in biotechnology*, 16(1), 41-46.
90. Sutherland, I. W. (2001). Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 663-674.
91. Synytsya, A., Kim, W.-J., Kim, S.-M., Pohl, R., Synytsya, A., Kvasnička, F., Čopíková, J. et Park, Y. I. (2010). Structure and antitumour activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida*. *Carbohydrate polymers*, 81(1), 41-48.
92. te Nijenhuis, K. (dir.). (1997). Gellan gum. Dans *Thermoreversible Networks: Viscoelastic Properties and Structure of Gels* (p. 219-235). Springer.
93. Tremellen, K. (2008). Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Human reproduction update*, 14(3), 243-258.
94. WACK M. et BLASCHEK W., 2006- Determination of the structure and degree of polymerisation of fructans from *Echinacea purpurea* roots. *Carbohydrate research*, vol. 341: 1147-1153.
95. 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), 5692852.

96. Woo, H. A., Yim, S. H., Shin, D. H., Kang, D., Yu, D.-Y. et Rhee, S. G. (2010). Inactivation of peroxiredoxin I by phosphorylation allows localized H₂O₂ accumulation for cell signaling. *Cell*, 140(4), 517-528.
97. Wu, Y., Cui, S. W., Tang, J., Wang, Q. et Gu, X. (2007). Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds. *Carbohydrate Polymers*, 70(4), 437-443.
98. Xie, G., Schepetkin, I. A. et Quinn, M. T. (2007). Immunomodulatory activity of acidic polysaccharides isolated from *Tanacetum vulgare* L. *International immunopharmacology*, 7(13), 1639-1650.
99. Xie, J.-H., Jin, M.-L., Morris, G. A., Zha, X.-Q., Chen, H.-Q., Yi, Y., Li, J.-E., Wang, Z.-J., Gao, J., Nie, S.-P., Shang, P. et Xie, M.-Y. (2016a). Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(sup1), S60-S84.
100. Xie, J.-H., Tang, W., Jin, M.-L., Li, J.-E. et Xie, M.-Y. (2016b). Recent advances in bioactive polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill, *Plantago* spp., and *Morus* spp.: Structures and functionalities. *Food hydrocolloids*, 60, 148-160.
101. Xin, M., Ren, L., Sun, Y., Li, H., Guan, H.-S., He, X.-X. et Li, C.-X. (2016). Anticoagulant and antithrombotic activities of low-molecular-weight propylene glycol alginate sodium sulfate (PSS). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 114, 33-40.
102. Xu, H.-S., Wu, Y.-W., Xu, S.-F., Sun, H.-X., Chen, F.-Y. et Yao, L. (2009a). Antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from the roots of *Actinidia eriantha*. *Journal of ethnopharmacology*, 125(2), 310-317.

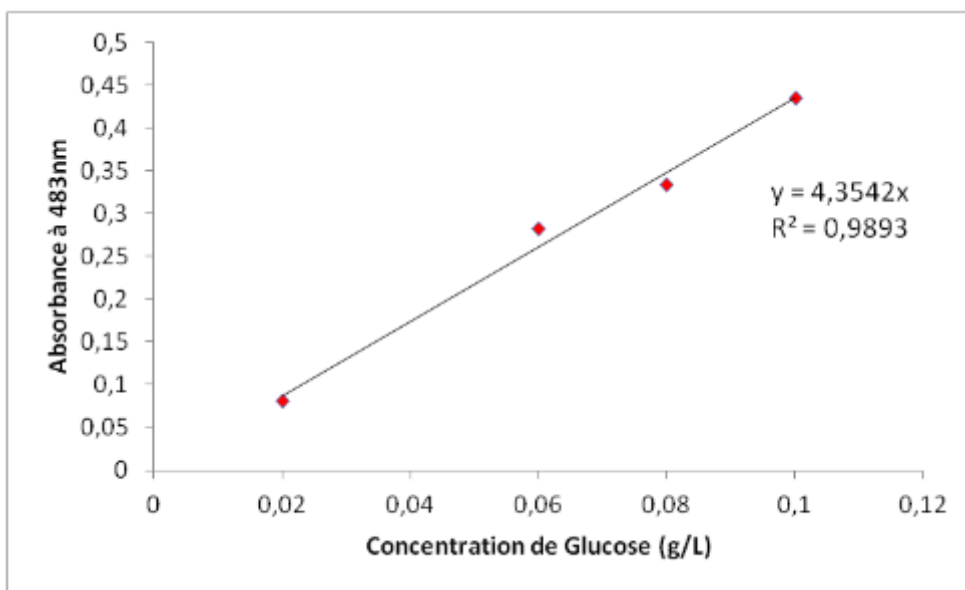
103. Xu, W., Zhang, F., Luo, Y., Ma, L., Kou, X. et Huang, K. (2009b). Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*. *Carbohydrate research*, 344(2), 217-222.
104. Yang, X., Zhao, Y. et Lv, Y. (2008). In vivo macrophage activation and physicochemical property of the different polysaccharide fractions purified from *Angelica sinensis*. *Carbohydrate Polymers*, 71(3), 372-379.
105. Yin, J., Hu, S., Jiang, W., Liu, L., Lan, S., Song, X. et Liu, C. (2010). DNA-triggered aggregation of copper, zinc superoxide dismutase in the presence of ascorbate. *PLoS One*, 5(8), e12328.
106. Yoon, S.-J., Pereira, M. S., Pavão, M. S., Hwang, J.-K., Pyun, Y.-R. et Mourão, P. A. (2002). The medicinal plant *Porana volubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II. *Thrombosis research*, 106(1), 51-58.
107. Yu, W., Zhang, Y., Yao, L., Peng, J., Tu, Y. et He, B. (2024). Research progress on the prevention of tumor by fungal polysaccharides. *Trends in Food Science & Technology*, 147, 104422.
108. Yu, Y., Shen, M., Song, Q. et Xie, J. (2018a). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate polymers*, 183, 91-101.
109. Yu, Y., Shen, M., Song, Q. et Xie, J. (2018b). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*, 183, 91-101.
110. Zbadi, R., Mohti, H. et Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.

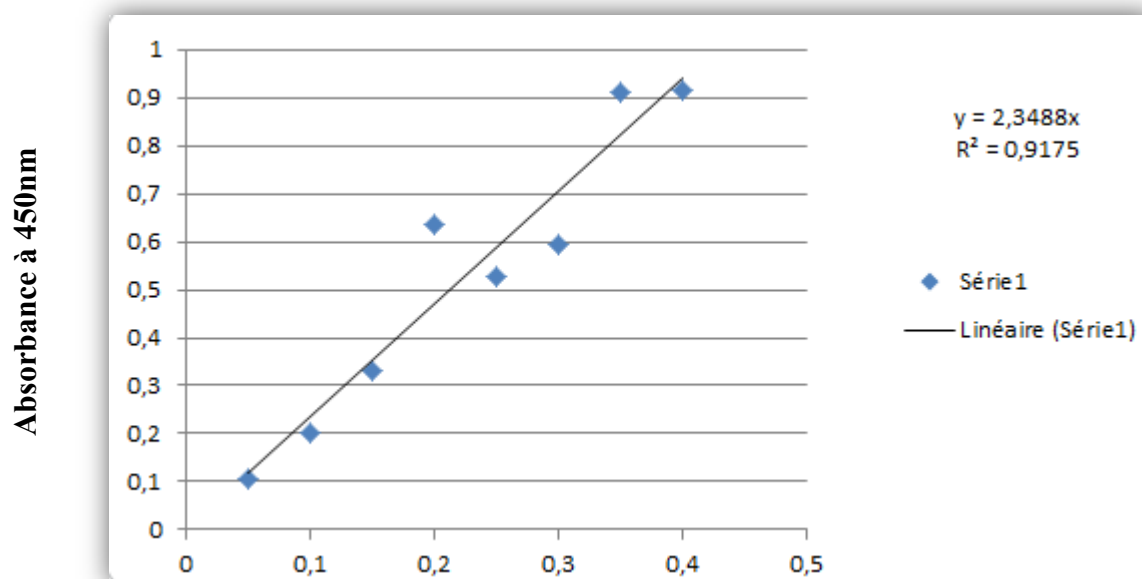
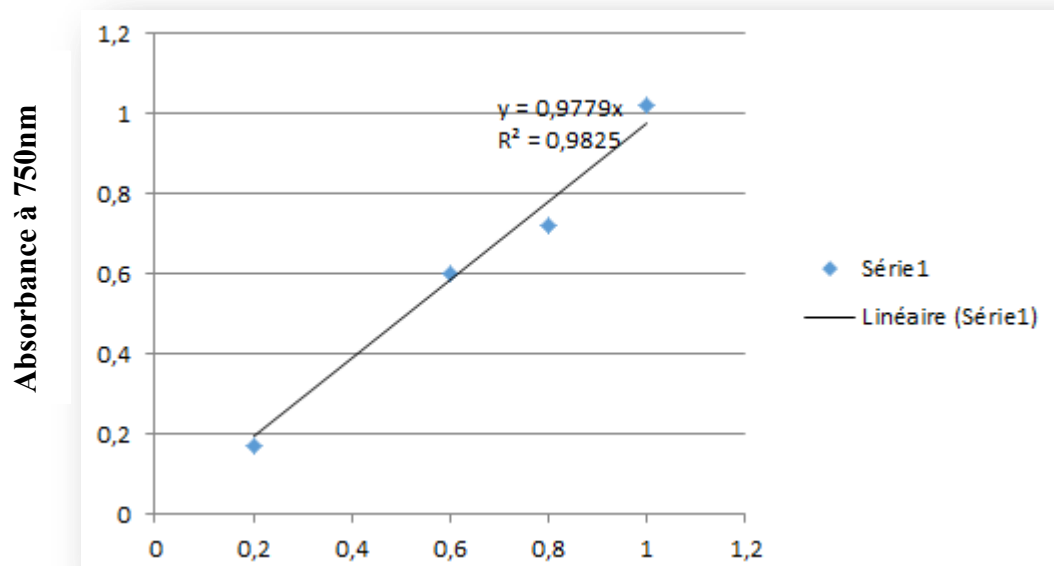
111. Zhang, J., Wen, C., Duan, Y., Zhang, H. et Ma, H. (2019). Advance in Cordyceps militaris (Linn) Link polysaccharides: Isolation, structure, and bioactivities: A review. International journal of biological macromolecules, 132, 906-914.
112. Zhang, L., Liu, Y., Ke, Y., Liu, Y., Luo, X., Li, C., Zhang, Z., Liu, A., Shen, L., Chen, H., Hu, B., Wu, H., Wu, W., Lin, D. et Li, S. (2018). Antidiabetic activity of polysaccharides from Suillellus luridus in streptozotocin-induced diabetic mice. International Journal of Biological Macromolecules, 119, 134-140.
113. Zhou, J., Xu, G., Yan, J., Li, K., Bai, Z., Cheng, W. et Huang, K. (2015). Rehmannia glutinosa (Gaertn.) DC. polysaccharide ameliorates hyperglycemia, hyperlipemia and vascular inflammation in streptozotocin-induced diabetic mice. Journal of Ethnopharmacology, 164, 229-238.
114. Zhou, J., Yan, J., Bai, Z., Li, K. et Huang, K. (2015). Hypoglycemic activity and potential mechanism of a polysaccharide from the loach in streptozotocin-induced diabetic mice. Carbohydrate polymers, 121, 199-206.

Annexes

Annexe I. Préparation des réactifs des dosages colorimétrique

- **Préparation de phénol à 5%**
 - Préparé en dissolvant 5 g de phénol dans 100 mL d'eau distillée.
- **Préparation de 10 mL d'une solution de resorcinol à 0,6%**
 - Dissoudre 60 mg de résorcinol dans 10 mL d'eau distillée
- **Préparation d'acide sulfurique à 80% à partir d'acide sulfurique concentré à 96%**
 - Sous la hotte et avec précaution, versez d'abord **6,66 mL** d'eau distillée dans un bécher placé dans un bain de glace. Ensuite, ajoutez lentement **33,33 mL** d'acide sulfurique concentré à l'eau, en remuant doucement pour éviter les projections .

Annexe II. Courbe d'étalonnage des oses totaux

Annexe III. Courbe d'étalonnage des oses neutre**Annexe IV. Courbe d'étalonnage des composée phénolique**

Annexe V. Courbe d'étalonnage des protéines