

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Constantine1

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie & Biologie Cellulaire et Moléculaire

N° ordre

N° Série



MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de magistère
Option : Biologie Appliqué

Thème

**L'extraction des lectines À partir de quelques plantes
médicinales et leurs études biologiques**

Présenté par : M^{elle} MESSAI Alima

Soutenu le : 13 / 02 / 2014

Devant le jury :

Président : D. KEHLIFI
Directeur de thèse : Y.NECIB
Examineurs : S. ZERIZER
: T. NOUADRI

Pr. Université Constantine1
MC. Université Constantine1
Pr. Université Constantine1
MC. Université Constantine1

Année universitaire 2013/2014

Remerciements

Mes remerciements sont d'abord au Dieu de m'avoir donné la force et le courage nécessaire pour mener ce travail à bout.

Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans la participation de nombreuses personnes, je vais m'essayer à trouver les mots justes pour exprimer spécifiquement mes reconnaissances à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Aux honorables membres du CPM (comité pédagogique du magistère) : (Pr. MERGEM RACHIDEM , M^{me} ZERIZER SAKINA ET M^{elle} YEKHLEF NADIA) d'avoir ouvert ce magistère.

A mon encadreur Monsieur NECIB YOUCEF, Maître de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie Université Constantine1, pour son attention, sa simplicité, sa sympathie et sa générosité scientifique. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de toute

Mes remerciements vont aussi aux membres de mon jury de mémoire :

A notre maître et président du jury Monsieur KHELIFI DOUADI Professeur au département de Biochimie, de l'Université Constantine1. Honorable maître, c'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider

notre jury de mémoire. Votre rigueur scientifique, votre humilité et vos qualités humaines ne font l'ombre d'aucun doute.

Veillez accepter cher Professeur, mes sentiments de sincère reconnaissance.

Je remercie M^{me} ZERIZER SAKINA Professeur au département de Biologie Animal, de l'Université Constantine1 pour l'honneur qu'il me fait de participer au jury de ce mémoire.

Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur NOUADRI TAHAR maître de conférence au département de Biochimie Université Constantine1 d'avoir accepté de jury ce modeste travail.

Je ne terminerai pas ces remerciements sans me tourner vers ma famille qui m'a toujours soutenue tout au long de mes études.

Merci à tous.

A la mémoire de mon père

Sommaire

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Section : Revue bibliographique

Chapitre I : lectines

.1 Généralité.....	3
.2 Histotique.....	5
.3 Spécificité.....	6
.4 Les sites de liaisons.....	7
.5 Intérêt des lectines.....	8
.6 Distribution des lectines dans le monde vivant.....	9
.6.1 Chez les microorganismes.....	9
.6.2 Chez l'animale.....	10
.6.3 Chez les plantes.....	10
.7 Le rôle des lectines dans l'immunité.....	12

Chapitre II : Les plantes médicinales

Les plantes médicinale.....	14
.2 <i>Astragalus armatus</i>	14
.3 <i>Ocimum basilicum</i>	16
.4 <i>Peganum harmala</i>	18
.5 <i>Globularia alypum</i>	20

.6 <i>Marrubium vulgare</i>	22
-----------------------------------	----

Chapitre III : Les groupes sanguins

.1 Historique.....	25
.2 Le système ABO.....	25
.3 Facteur Rh.....	25
.4 Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....	26
.5 Détermination du groupe sanguin.....	28
III.6 Lectines spécifiques des groupes sanguins.....	28

Section : Matériels et méthodes

Chapitre I : L'étude phytochimique

I.1

Extraction.....	29
.1.1 Préparation de la plante.....	29
.1.2 Extraction par la solution tampon.....	30
.2 Test d'hémagglutination.....	32
.3.1 Préparation des hématies à 3%	32
.3.2 Technique d'agglutination.....	32
.3 Chromatographie sur colonne.....	33
.4 Spectrophotométrie à UV.....	33
.5 Lyophilisation.....	33

Chapitre II : L'étude biologique

.1 Limites d'hémagglutination.....	34
------------------------------------	----

.2 Test d'agglutination avec les hématies humaines ABO.....	34
.3 Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples.....	34
.4 Effet de température sur l'hémagglutination.....	35
.5 Effet de pH sur l'hémagglutination.....	35
.6 l'effet de <i>Astragalus armatus</i> sur l'activité phagocytaire.....	35
.7 L'analyse statistique.....	37

Section III : Résultats

Chapitre I : L'étude phytochimique

.1 Le test d'hémagglutination.....	38
.2 Chromatographie sur colonne.....	40

Chapitre : l'étude biologique

.1 Les limites d'hémagglutination.....	43
.2 Test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	45
.3 Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples.....	47
.4 L'effet de température sur l'hémagglutination.....	48
.5 L'effet du pH sur l'hémagglutination.....	49
.6 L'effet de <i>Astragalus armatus</i> sur l'activité phagocytaire.....	49

Section V Discussion.....

Conclusion et Perspectives.....

Références Bibliographiques.....

Annexe

Résumé

Liste des tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 01 : les lectines et leurs applications.....	5
Tableau 02 : quelques lectines et leurs récepteurs osidiques	7
Tableau 03 : Exemples d'activités biologiques décrites pour les lectines extraites de légumineuses.....	12
Tableaux 04 : exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins.....	28
Tableau 05 : l'agglutination des hématies du lapin par les extraits des cinq plantes médicinales.....	38
Tableau 06: Activité hémagglutinante des extraits d' <i>Astragalus armatus</i> et d' <i>Ocimum basilicum</i>	43
Tableau 07 : l'agglutination des hématies humaines par des extraits bruts d' <i>Astragalus armatus</i> et <i>Ocimum basilicum</i>	45
Tableau 08 : test d'inhibition des extraits d' <i>Astragalus armatus</i> et d' <i>ocimum basilicum</i> par des sucres simples.....	47
Tableau 09: la concentration minimale en galactose provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i>	48
Tableau 10: l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits des deux plantes	48
Tableau 11 : l'effet du pH sur l'activité hémagglutinante des extraits de deux plantes.....	49
Tableau 12: L'effet de l'extrait d' <i>Astraglus armatus</i> sur l'activité phagocytaire et le taux de clearance de carbone ($t_{1/2}$) dans le sang circulant de souris... ..	50

Liste des figures

Liste des Figures

Figure 01:	Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides	4
Figure 02 :	Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO	27
Figure 03 :	Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres des différentes plantes.....	31
Figure 04 :	la filtration sur colonne de Sephadex G100.....	41
Figure 05 :	la filtration sur colonne de Sephadex G100.....	42
Figure 06 :	effet d'extrait d' <i>Astragalus armatus</i> sur l'activité phagocytaire.....	52
Figure 07 :	l'effet de l'extrait d' <i>Astragalus armatus</i> sur le taux de clearance.....	52

Liste des photos

Liste des photos

Photo 01 :	photo d' <i>Astragalus armatus</i>	15
Photo 02 :	photo d' <i>Ocimum basilicum</i>	17
Photo 03 :	photo de <i>Peganum harmala</i>	19
Photo 04 :	photo de <i>Globularia alypum</i>	21
Photo 05 :	photo de <i>Marrubium vulgare</i>	23
Photo 06 :	l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait d' <i>Astragalus armatus</i> ..	39
Photo 07 :	l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i>	39
Photo 08 :	l'activité hémagglutinante d' <i>Astragalus armatus</i>	44
Photo 09 :	l'activité hémagglutinante d' <i>Ocimum basilicum</i>	44
Photo 10 :	l'agglutination des hématies de groupe A par l'extrait d' <i>Astragalus armatus</i>	46

Liste des abréviations

Liste des abréviations

BanLec : lectine de la banane

CFL : *Cratyla floribunda* lectin

CGL : *Canavalia gladiata* lectin

ConA : Concavaline A lectin

ConBol : *Canavalia boliavana* lectin

ConBr : *Canavalia brasiliensis* lectin

ConM : *Canavalia maritima* lectin

DGL : *Dioclea grandiflora* lectin

DVir : *Dioclea virgata* lectin

Dgui : *Dioclea guianensis* lectin

G : Groupe

Gal : Galactose

GalNAc : N-Acétyl-D-galactosamine

Glc : Glucose

GlcNAc : N-Acétyleglucosamine

Man : Mannose

MBL : mannose binding lectin

NaCl : Chlore de Sodium

Na₂CO₃ : Carbonate de Sodium

SBA : Soybean agglutinin

WGA : Wheat germ agglutinin

Introduction

Introduction

Introduction :

Les lectines sont une classe de protéines, leur seule caractéristique commune étant la capacité de se lier spécifiquement les hydrates de carbone de manière réversible, et d'agglutiner les cellules (**Sharon, 1993**). Elles sont présentes en quantité plus importante chez les végétaux que les animaux. Elles possèdent plusieurs propriétés biologiques notamment: l'agglutination des cellules, l'activité mitogène (stimulation lymphocytaire), l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses, les actions antivirales et les effets immunitaires. Ces diverses propriétés sont à la base de l'utilisation des lectines dans le domaine biomédical (hématologie, immunologie, cancérologie, biologie cellulaire et agronomie «défense des plantes contre les agents pathogènes ».) (**Meite et al., 2006**).

Les premières lectines furent identifiées chez les plantes au début du vingtième siècle mais la communauté scientifique ne commença à s'intéresser à cette classe de protéines qu'à partir des années soixante, en concomitance de la glycobiologie.

En 1970, les lectines sont devenues des outils extrêmement utiles pour l'étude des hydrates de carbone sur la surface des cellules.

Dans les années suivantes de nombreuses lectines ont été isolées à partir de plantes ainsi que des micro-organismes et des animaux, au cours des deux dernières décennies, les structures de certaines d'entre elles ont été mises en place. En même temps, il a été montré que les lectines fonctionnent comme des molécules de reconnaissance dans les interactions cellule-molécule et la cellule-cellule.

Les lectines comportent généralement plusieurs sites de liaisons, par conséquent, leur interaction avec les glucides à la surface des érythrocytes cause l'agrégation d'un grand nombre de ces cellules. Ce phénomène, qui est appelé **hémagglutination**. Il est possible d'inhiber les réactions d'agglutination et de précipitation des lectines par les glucides spécifiques pour ces protéines. Les lectines sont présentes dans tous les organismes vivants.

L'intérêt était motivé surtout par l'utilisation des lectines dans la détection, l'isolation et la caractérisation d'oligosaccharides, tels que les déterminants des groupes

Introduction

sanguins et de glycoconjugués, surtout des glycoprotéines. La découverte majeure que certains états physiologiques et pathologiques étaient associés à un changement de l'état de glycosylation des cellules fut possible Grâce à l'utilisation des lectines (**Sharon et Lis, 2004**).

L'objectif principal de ce travail est de chercher la présence de lectine dans les racines de cinq plantes médicinales, l'extraction des lectines à partir des plantes médicinales et leur étude biologique.

Notre travail sera réparti en quatre parties: la première partie est une étude bibliographique. Le premier chapitre est consacré à une revue non exhaustive de la lectine, en particulier une généralité, historique, spécificité, distribution et leur rôle dans l'immunité.

Nous avons ensuite abordé au second chapitre les plantes médicinales sur lesquelles nous avons travaillées et sa place en médecine traditionnelle

Nous avons enfin, dans un dernier chapitre, fait un survol bibliographique sur le système sanguin humain ABO et la structure de leurs antigènes.

La seconde partie décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental qui comportent deux chapitres:

Le premier chapitre sur l'étude phytochimique. Dans ce chapitre, nous avons récupéré des substances à partir d'une poudre de racine à l'aide d'une solution tampon, l'extrait brut que nous avons obtenu est d'abord testé sur les hématies, puis passé dans la colonne, ensuite, la lyophilisation.

Le second chapitre sur l'étude biologique, nous avons étudié les limites d'agglutination, test ABO, test d'inhibition, effet de température, effet de pH et l'activité phagocytaire.

La troisième et la quatrième partie regroupe les principaux résultats obtenus et leur discussion

Et enfin une conclusion permet de faire une synthèse des résultats obtenus.

Revue
Bibliographique

Chapitre I :
Lectines

Chapitre I : lectines

.1 Généralité

Les lectines initialement connues sous le nom d'hémagglutinines, sont des protéines qui possèdent la propriété d'agglutiner les cellules rouges du sang (**Berk, 1993**). La faculté des lectines à agglutiner les globules rouges, s'explique par leur capacité d'établir des liaisons croisées avec les résidus glucidiques (**Figure:01**) de plusieurs globules rouges, l'agglutination des hématies est toujours le test principal permettant de détecter les lectines. Les lectines sont relativement petites, leurs masses moléculaires étant comprises entre 50 et 120 KD. Elles sont habituellement formées de deux (dimères) ou quatre (tétramères) sous-unités identiques (**Ghopkins et Evrard, 2003**). Les lectines sont parfois des protéines membranaires complètement incluses dans la membrane, l'utilisation de détergent puissants est donc nécessaire pour leur dissolution. D'autres lectines sont d'emblée des protéines solubles (**Kamoun, 2003**).

A l'inverse des anticorps, qui ne sont formés que suite à un stimulus, les lectines sont, comme les immunoglobulines des substances présentes naturellement dans les organismes (**Nultsch, 1998**). Leurs capacités à distinguer entre soi et non-soi rend partie du système de l'immunité innée (**yang et al., 2011**).

Les lectines provoquent l'hypertrophie de l'intestin grêle et du pancréas et l'atrophie de la rate et de thymus. Ces effets néfastes des lectines sont inactivés (principalement) par leur traitement thermique dont l'efficacité est fonction de la température et de la durée de traitement (**Meite et al., 2006**). Bien qu'il existe des lectines thermorésistantes (**Guillaume, 1993**).

Alors qu'à l'origine le terme lectine désignait essentiellement les phytohémagglutinines, la découverte de molécules similaires chez les invertébrés, puis les vertébrés, enfin chez les hommes, a nécessité sa redéfinition. Ainsi, selon I.J.Golstein et coll, un lectine est une protéine ou une glycoprotéine d'origine non immunitaire qui agglutine des cellules et/ou précipite des glycoconjugués (**Caron et Faure, 1982**).

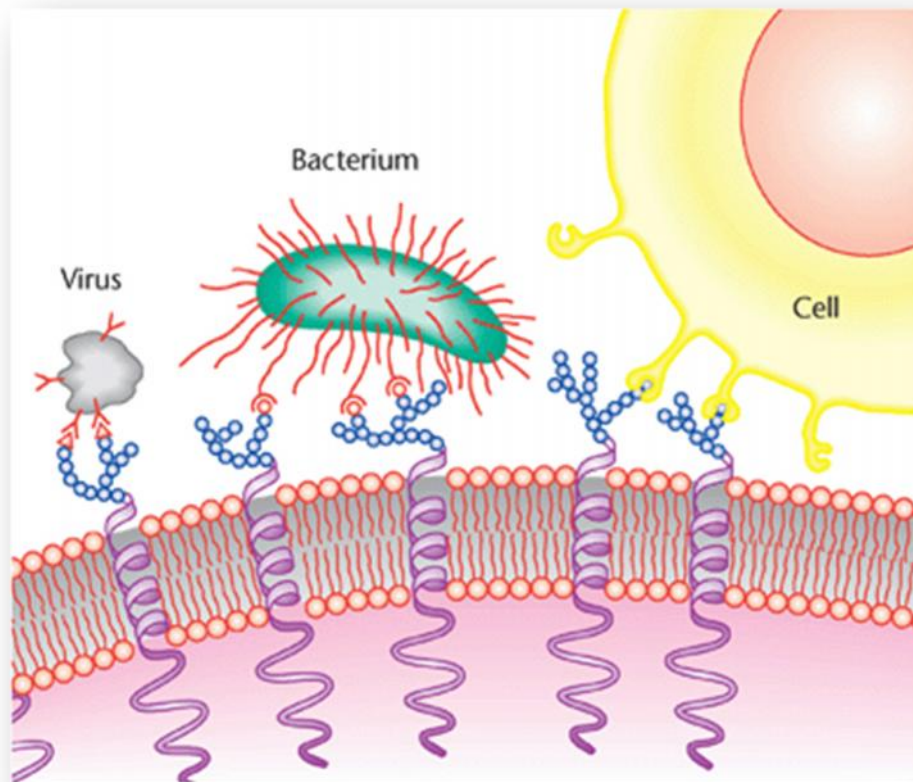


Figure 01 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (**Sharon et Lis, 1993**)

Chapitre I : lectines

Quelques lectines importants

Quelques lectines importantes sont énumérées dans le **Tableau:01**

Tableau 01 : les lectines et leurs applications (**Bothan et Weil, 2011**).

Lectines	Exemples et commentaires
Lectine de légumes	concanavolineA, lectine de pois
Agglutinine de germe de blé	Fréquemment utilisée dans l'étude des surfaces ou membranaires de cellules normales ou cancéreuses
Ricine	Glycoprotéines cytotoxiques provenant des graines de ricin
Toxines bactériennes	Entérotoxine thermolabile d'E.coli et toxine du choléra
Hémagglutinine de virus de la grippe	Responsable de l'attachement à la cellule hôte et de la fusion membranaire
Lectine de type S	Lectine animales se lient les B-galactose, elles ont des rôles dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire

.2 Historique

La première lectine a été découverte par Peter Hermann Stillmark en 1888 qui décrit dans sa thèse de doctorat présentée à l'université de Doprát (maintenant Tartu, Estonie) que des extraits de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes (**Sharon et Lis, 2004**). A partir de ce moment là, d'autres substances d'origine végétale possédant une activité hémagglutinines ont été découvertes. En 1919, James B. Sumner, de l'université Cornell (Ithaca, New York), isola à partir du pois (*Canavalia ensiformis*) la première hémagglutinine pure, la concanavoline A (**Sumner, 1919**). Il fallut patienter presque vingt ans et les travaux de Sumner et Howell en 1936 pour que la spécificité de ces protéines pour les sucres soit mise en évidence avec

l'inhibition de l'héماغglutination de la concanavaline A par des saccharoses (**Sumner et Howell, 1936**). En 1954, Boyd & Sharpleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytaires humains d'un groupe sanguin donné (**Boyd et Sharpleigh, 1954**). L'étape importante dans l'histoire des héماغglutinines est la découverte que certaines d'entre elles agglutinent les globules rouges appartenant uniquement à un groupe sanguin donnée (système ABO) sans affecter les cellules sanguines des autres groupes. Cette découverte amène Boyd à remplacer le terme d'héماغglutinine par celui de lectine (de latin, legere : choisir – préférer) (**Sharon et Lis, 2007**).

.3 Spécificité

La spécificité d'une lectine est généralement définie par les sucres qui inhibent le mieux ses propriétés d'agglutination ou de précipitation (**Robert, 2008**). Il est intéressant de noter que la plupart des lectines sont spécifiques pour un petit nombre de sucres et que, dans la majorité des cas, ces sucres sont présents dans et sur la surface des cellules, surtout sous la forme de glycoconjugués. On peut identifier deux classes de lectines par rapport à leur spécificité : celle qui reconnaissent un monosaccharide et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (**Kumar et al., 2012**). L'affinité des lectines pour les monosaccharides est généralement assez faible (Kd de l'ordre de 1mM) en comparaison avec leur affinité pour les oligosaccharides (de l'ordre du μM) (**Dam et Brewer, 2002; Bianchet et al., 2009**).

Certaines lectines possèdent deux ou plusieurs sites de fixation. On peut classer les lectines en trois catégories selon la nature de leur domaine de reconnaissance glucidique : type P reconnaissant le mannose 6-phosphate. Type S reconnaissant le -galactoside. Type C reconnaissant divers sucres par une liaison impliquant le Ca^{+2} (**Kamoun, 2003**).

Parmi les monosaccharides le plus souvent reconnus par les lectines on retrouve le Mannose, le fucose, le galactose/*N*-acetylgalactosamine (GalNAc) et la *N*-acetylglucosamine (GlcNAc). Très peu des lectines reconnaissent l'acide sialique sous la forme de monosaccharide (**Lis et Sharon, 1998**). (**Tableau:02**)

La sélectivité des lectines vis-à-vis de leurs ligands est relativement importante. Par exemple, les lectines spécifiques du galactose ne réagissent pas avec le glucose, son épimère en C₄ ou avec le mannose ; épimère du glucose en C₂. De la même manière, les

Chapitre I : lectines

lectines spécifiques du mannose, ne reconnaissent pas le galactose. Cependant, ces règles ne sont pas toujours vérifiées (**Goldstein et Poretz, 1986**). Par exemple, la plupart des lectines qui fixent le galactose, dont l'agglutinine de soja (SBA), reconnaissent aussi son homologue N-acétylé.

La plupart des lectines sont des protéines multivalentes. Elles sont capables de se lier à plusieurs molécules de glucides. La multivalence peut provenir de la répétition de type

« Tandem » de domaine lectines dans un polypeptide, de l'association de plusieurs monomères ou de la présentation de plusieurs lectines sur une surface cellulaire. Les interactions multiples entre d'une part les lectines multivalentes et d'autre part les glycoconjugués, sont impliquées dans les processus de reconnaissance (**Lee et Lee, 1995**).

Tableau 02 : quelques lectines et leurs récepteurs osidiques.

Espèce d'origine	Motif osidique	Référence
<i>Concanavalline ensiformis</i> (ConA)	.D-Glc	(Delaunay, 1988)
<i>Triticum vulgare</i> (WGA)	GlcNac	
<i>Dolichus biflorus</i>	.D-GalNac	
<i>Lens culinaris</i>	.D-GalNac et .D-man	
<i>Helix pomatia</i> (variété d'escargot)	D-GalNac	
<i>Allium sativum</i>	Mannose	(Lam et Ng, 2011)
<i>Astragalus monghlicus</i>	D-galactose et Lactose	

.4 Les sites de liaisons

Le site de liaison d'une lectine est généralement constitué par un creux sur la surface de la protéine, dont la forme ne varie pas beaucoup après la liaison du ligand. La lectine interagit avec le ligand par un réseau de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes (**Goldstein et Poretz, 1986**). Les interactions de type salin ne sont généralement pas impliquées dans les interactions lectine-sucre sauf pour des glucides chargés comme l'acide sialique (**Pontet, 1996**).

Les lectines ne modifient pas biochimiquement les hydrates de carbone aux quels se lieent (**Gabius, 1995**).

.5 Intérêt des lectines

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'évènements et fonctions dans ses organismes vivants. Ces interactions ont une grande importance car elles se retrouvent impliquées dans des processus biologiques ainsi que dans des processus pathologiques (**Lis et Sharon, 1998**). Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical.

-Elles son utilisées en pratique clinique pour distinguer les types du sang (A, B et O), exemple : la lectine de haricot de lima (*Phaseolus lunatus*) se lis à N-acétyl-D-galactosamine et agglutine seulement des globules rouges de type A (**Goker et al., 2008**).

-Elles sont utilisées comme ligands d'affinités pour purifier des polysaccharides, des protéoglycanes et des glycoprotéines par des interactions hydrophiles spécifiques de groupes glycaniques (**Kamoun, 2003**).

-Les lectines ont également été utilisées pour isoler et analyser des glucides complexes et pour séparer des cellules isolées en se basant sur la présence de glucides spécifiques sur leurs surfaces (**Ghopkins et Evrard, 2003 ; Genten et al., 2010**).

-Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (**Alencar et al., 2005 ; Gomes et al., 2012**).

-Certaines lectines purifiées à partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histo-chimiques puisque certaines maladies tel le cancer sont associées à une modification des glycannes présents sur les cellules (**Guillot et al., 2004, Zang et al., 2010**).

La récente découverte suggère que les cellules malignes sont plus facilement agglutinées par des lectines que les cellules normales. Ces agglutinations sélectives pourraient être utilisées dans le traitement du cancer (**Chaudhary et Sood, 1998; Voet et Voet, 2005**). La lectine dans le son de riz démontre in vitro la capacité d'inhiber la croissance de cellules cancéreuses humaines puisque cette lectine résiste bien à son passage dans l'estomac, on croit qu'elle pourrait demeurer active chez l'humain et ainsi conserver ses propriétés (**Jodoin, 2010**).

-De nombreux lectines sont utiles comme des inhibiteurs viraux, tels que la lectine extraite de la racine de l'*Ortie urtica* (**Suttisrisung et al., 2011**).

Les travaux in vitro ont permis de découvrir que BanLec (la lectine de la banane) a une efficacité anti-VIH. BanLec est capable de se lier à la protéine gp120 de la capsid virale de VIH empêchant le liant avec la cellule hôte et donc l'entrée du VIH dans les cellules (Swansaon *et al.*, 2010; Gupta, 2012).

.6 Distribution des lectines dans le monde vivant

Initialement décrites dans le règne végétal où elles sont particulièrement abondantes, notamment chez les légumineuses et les graminées, les molécules sont en fait des molécules universelles. Elles sont en effet largement répandues dans le monde vivant puisque l'on en rencontre même chez les virus et les bactéries. À titre d'exemple, le virus grippal présente des spicules d'hémagglutinine qui permettent son ancrage à la surface des cellules épithéliales de l'oropharynx. Des lectines sont également décrites chez les protozoaires tels que *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*, on en rencontre même chez les animaux supérieurs, notamment chez l'homme où elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques (Bouchara et Trouchin, 2003).

.6.1 Chez les microorganismes

Dans la nature, les lectines exercent diverses fonctions et participent notamment à la reconnaissance des cellules de l'hôte par les microorganismes pathogènes (Bouchara et Trouchin, 2003). L'adhérence aux tissus constitue une étape cruciale dans le développement de l'infection (Bouchara et Trouchin, 1999).

Les infections sont toujours initiées par l'attachement du microorganisme aux tissus de l'hôte. Ce phénomène implique la reconnaissance des cellules de l'hôte le microorganisme, et nécessite la présence à la surface des deux protagonistes de molécules complémentaires de type récepteur-ligand (Bouchara et Trouchin, 2003).

Les microorganismes pathogènes, virus, bactéries, champignons ou parasites eucaryotes, utilisent fréquemment des lectines pour reconnaître les sucres présents sur la surface des cellules hôtes. Ces interactions lectines – sucres jouent également un rôle dans l'adhésion sur les tissus richement glycosylés présents dans les voies respiratoires, digestives ou dans l'appareil urogénital (Sharon, 1996; Imberty et Varrot 2008).

Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice polymère hydraté qu'elles produisent, et donc forment un biofilm (Imberty, 2011).

Chapitre I : lectines

Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriées (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (**Imberty et al., 2005**).

Entamoeba histolytica est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes via un mécanisme dépendant du contact. Cette assassinat implique la protéine de surface amibienne dénommé le Gal / Gal Nac lectine se lie au galactose et au N-acétylgalactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (**Boettner et al., 2002**).

.62 Chez l'animale

Les lectines animales sont des protéines qui se lient au glucide exprimées dans une variété de tissus. Ils sont excrétés ou des protéines membranaires (**Bianchet et al., 2009**).

Les lectines animales sont assez nombreuses et ont probablement des fonctions biologiques importantes (**David, 1995**). Ils peuvent être impliqués dans l'adhérence cellules-cellules et la différenciation (**Basu et Appukuttan, 1983 ; Yuriev et Ramsland, 2013**). Elles impliquent aussi dans les réponses innée aux pathogènes (**Bianchet et al., 2009**). Ils ont des rôles particulièrement importants dans la croissance et dans le développement des organismes supérieurs. Chez l'oursin, l'acrosome contient une protéine qui se combine à des glucides, une lectine appelée bindine liant le spermatozoïde à la membrane vitelline située à la surface de l'ovocyte (**Wehner et al., 1999**).

Les lectines animales sont réparties dans des familles très différentes, les trois familles les plus étudiées sont les galectines, les lectines de type C et les sigles. Les lectines de type C, parmi lesquelles les sélectines, nécessitent la présence de calcium dans le milieu pour se fixer à leur ligand et présentent fréquemment une forme insoluble le plus souvent associée aux membranes cytoplasmiques (**Soussi, 2000; De Franco, 2009**), à l'inverse, les lectines de type S ou galectines, plus petites, sont solubles et ne requièrent pas la présence de calcium pour l'activité de liaison. Elles sont appelées « galectine » en raison de leur affinité particulière pour les beta-D-galactose (**Pontet, 1996; Soussi, 2000**). Leur structure est défini par la présence d'une séquence d'acides aminée appelée « domaine lectine » ou « CRD » pour Carbohydrates Recognition Domain (**Soussi, 2000**). Les Siglecs reconnaissent spécifiquement les acides sialiques (**Zhuravleva et al., 2008**).

.6.3 Chez les plantes

Les lectines ont été décrites dans tous les grands groupes taxonomiques, que se soit des plantes à fleurs ou des cryptogame (**Ghopskins et Evrard, 2003**). Ils se trouvent principalement dans les graines, cependant, ils sont également présents dans les organes végétatifs tels que : des feuilles, racines, rhizomes, bulbes, tubercules, écorces, fleurs et autres (**Cadava et al., 1994**). Les plantes contiennent une quantité maximale de lectine durant la phase embryonnaire et la phase de maturation des graines, concentrées principalement dans le corps protéiques de l'albumen et des cotylédons et disparaissant graduellement au cours de la germination (**Marouf et Reynaud, 2007**). De nombreuses fonctions ont été proposées pour les lectines végétales (**Tableau:03**), telles que la protection contre les pathogènes et les insectes (**Imbert, 2006**), le transport et le stockage des glucides et la reconnaissance cellulaire (dans la cellule, entre les cellules ou entre organismes). Elles ont été également considérées comme des protéines de réserve ou comme des régulateurs de croissance (**Pustzai, 1991**). Elles sont impliquées dans le développement et la différenciation de la plante (**Anatharam; et al, 1985**) et la reconnaissance de rhizobium par des légumineuses (**Stacey et al., 1980 ; Chandrika et Shaila, 1987 ; Corbaz, 1990**).

Les lectines de légumineuses représentent le groupe le plus étudié parmi les lectines végétales (**Mann et al., 2001**). Elles constituent une grande famille de protéines étroitement liées, présentes dans les espèces représentant la famille léguminosae.

Les lectines d'algues diffèrent des lectines de plantes supérieurs dans une variété de propriétés. En générale, les lectines d'algues ont un faible poids moléculaire de lectines de plantes supérieurs et n'ont aucune affinité pour les sucres simples (**Joshir et Srisudha, 2012**).

Chapitre I : lectines

Tableau 03 : Exemples d'activités biologiques décrites pour les lectines extraites de légumineuses

Lectine	Rôle	Référence
Dgui (<i>Dioclea guianensis</i>)	Activité antifongique	Araujo-Filho et al., 2010
ConBr (<i>Canavalia brasiliensis</i>), CFL (<i>Cratyla floribunada</i>), Dgui, DGL (<i>D.grandiflora</i>), Dvir (<i>D.virgata</i>)	Effet toxique sur les mollusques	Santos et al., 2010
CGL (<i>Canavalia gladiata</i>)	Activité anti-inflammatoire et analgésique	Nunes et al., 2009
ConBol (<i>Canavalia boliavana</i>)	Activité antioceptive	Figueiredo et al., 2009
ConBr, CGL, ConM (<i>Canavalia maritima</i>)	Effet vasodilateur	Assreuy et al., 2009
ConM	Relaxation de l'aorte et libération d'oxyde nitrique	Gadelha et al., 2005
ConBr, DGL, DVL (<i>Dioclea violacea</i>)	Activation des lymphocytes	Barbosa et al., 2001
ConBr	Activité antidépresseur	Barauna et al., 2006
ConA(<i>Canavalia ensiformis</i>) , ConBr, CFL, DVL, DGL	Interférence dans le processus de formation des biofilms microbiens	Teixira et al., 2006

.7 Le rôle des lectines dans l'immunité

Les lectines sont utilisées en immunologie par Paul Ehrlich au début des années 1890, comme antigène. Les changements morphologiques et biochimiques qui se produisent dans les lymphocytes stimulé par les lectines in vitro ressemblent à la plupart des réactions immunitaires provoqués par un antigène qui se déroulent in vivo (**Sharon, 1983**).

Chapitre I : lectines

Dans les cellules animales les lectines jouent un rôle dans la défense dans le cadre d'une réponse de l'immunité innée (**De Hoff *et al.*, 2009**).

Le système du complément, son activation peut être initiée par des complexes immuns (voie classique), par des oligosaccharides microbiens (voie des lectines) ou par divers composants de surface des pathogènes (voie alterne) (**Cavaillon, 2005**). La voie lectine est initié par la fixation de diverses lectines, telles la MBL, sur des résidus glucidiques de membranes microbiennes, cette interaction permet de l'activation des protéases MASP_s (MBL-Associated Serine Protéase) (**Ayméric et Lefranc, 2009**). La lectine liant le mannose (mannose binding lectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie lectine du complément qui joue un rôle dans l'immunité innée (**Roos *et al.*, 2007**).

Les invertébrés n'ont pas un système immunitaire adaptatif et les lectines jouent un rôle important dans leurs systèmes immunitaires innés en reconnaissant microbes ou agents pathogènes (**Kawsar *et al.*, 2010**).

La phagocytose se produit lorsque les microorganismes entrent en contact avec les membranes cellulaires des phagocytes. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytes grâce à l'existence de lectines de surface. Ces lectines reconnaissent des structures glucidiques présentes sur les glycoprotéines ou des glycolipides des membranes externes notamment bactériennes : récepteur de mannose – fucose, récepteur de galactose et récepteur de -glucane (**Guénard *et al.*, 2001**).

Chapitres II :
Plantes médicinales

Chapitre II : Les plantes médicinales

Les plantes médicinales

Ce sont toutes plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (Sofowora, 2010). Donc, une plante dite « médicinale » est une plante qui a des propriétés thérapeutiques (Catier et Roux, 2007).

L'utilisation des plantes ou « simple » est très ancienne, et pendant très longtemps elle a représenté pratiquement le seul moyen de soigner, basé sur l'empirisme. Actuellement grâce aux progrès scientifiques considérables enregistrés depuis la fin du XIX^e siècle (essor de la chimie, technique d'analyse et l'extraction etc.). La thérapeutique est a beaucoup évolué pour arriver à sa forme actuelle qui utilise certains plantes comme matières premières (Catier et Roux, 2007).

.2 *Astragalus armatus*

.2.1 Généralité

Le mot astragale est d'origine grec, il désigne l'os de la cheville ou plus exactement l'un des os de l'articulation tibiotarsienne. La dénomination d'astragale vient de la ressemblance du bruit des graines séchées de la plante avec celui de l'os, quand ils tombent sur surface solide (James *et al.*, 1981).

Ce genre de légumineuses compte quelque deux milles espèces d'annuelles, de vivaces et d'arbustes rencontrés dans une grande partie de la zone tempérée de l'hémisphère nord. (Burnie *et al.*, 2006).

La croissance des espèces de genre *Astragalus* se produit de l'automne au printemps elles demeurent verte pendant l'hiver quand l'herbe est peu disponible (Colegate *et al.*, 1985).

.2.2 Position systématique

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Astragalus</i>
Espèce	<i>Astragalus armatus</i> L (Sell <i>et al.</i> , 2002)



Photo 01 : photo d'*Astragalus armatus*.

Chapitre II : Les plantes médicinales

.2.3 Description botanique

Plante vivace très épineuse, à tiges ligneuses dressées, ne dépasse guère 60 cm de haut. Feuilles pétiolées, imparipennées, composées de folioles étroites d'un vert foncé. Fleurs médiocres axillaires (Ntetws, 1984). (Photo:01)

.2.4 Utilisation

En Tunisie, il est utilisé comme tonique, stimulant et en cas d'anémie (Khalfallah *et al.*, 2011). Augmenter l'endurance et les défenses immunitaires de l'organisme. Les racines séchées de cette plante sont de plus en plus prescrites, en Europe pour prévenir les rhumes et les infections virales et pour soulager les douleurs menstruelle (Hans, 2007)

.3 *Ocimum basilicum*

II.3.1 Généralité

Le Basilic (du grec basileus qui signifie Roi), plante originaire des Indes Orientales et d'Afrique, jouit de prestige de « plante sacrée ». Il a été répandu en Inde, en Perse, en Grèce. En Europe de l'ouest sur l'initiative de médecins arabes, puis en Afrique. C'est une plante aromatique « Royale » qui se cultive en divers pays, dont la France. D'ailleurs, étymologiquement, okimon (mot grec) signifie « plante à parfum » et basilikon se traduit par « Royal » (Boullard, 2001). Ce genre compte trente cinq espèces d'annuelles frileuses (Burnie *et al.*, 2006).

Chapitre II : Les plantes médicinales

.3.2 Position systématique

Règne :	Plantae
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Lamiales
Famille :	Labiées / lamiaceae
Sous Famille :	Strachyoidés
Genre :	Ocimum
Espèce :	<i>Ocimum basilicum</i> L (Sell <i>et al.</i> , 2002).



Photo 02 : photo d'*Ocimum basilicum*.

.3.3 Description

Le Basilic, élément obligé de tout jardin d'herbes, est une annuelle fragile atteignant une hauteur de 30 à 60 cm. Les feuilles ont une forme, une couleur, une saveur et un arôme qui varient selon les cultivars. De manière générale, elles sont vertes foncées et luisantes, leurs bords sont entiers ou dentés en scie, et elles ont un arôme caractéristique à la fois chaud, épicé et parfumé qui rappelle celui du girofle, avec des notes piquantes (Small et Deutsch, 2001). Les fleurs sont blanches, parfois teintées de violet pâle. Elles sont très petites (environ 6mm de longueur), disposées en verticilles autour de la hampe (Goutier, 2009). (Photo:02)

.3.4 Utilisation médicinale

Le Basilic est tout particulièrement recommandé dans les spasmes gastriques par nervosité : sensation de « mauvaise » digestion avec sensation de lourdeur, lenteur et envie de dormir (Verbois, 2009). Est un anti-inflammatoire et antalgique (Roux-Sitruk *et al.*, 2008). Ses feuilles combattent la toux, la migraine et la nervosité. Elles sont utilisées aussi contre les maux d'estomac et pour combattre les nausées (Wilson et Girard, 2008). Le thé de basilic pris chaud est efficace pour traiter nausées, flatulence et la dysenterie. Son huile a été jugée bénéfique pour le soulagement de la fatigue mentale, les rhumes, les spasmes, la rhinite, et comme traitement de premiers soins pour les morsures de serpent (Zcan et Chalchat, 2002).

.4 *Peganum harmala*

.4.1 Généralité

Peganum harmala (Zygophyllaceae) connu localement sous le nom de harmel (Idrissi et Hermas, 2008). Plante endémique des zones semi- arides, se développe dans les zones sahariennes du nord du continent africain et se prolonge jusqu'au nord de l'inde et en nord de la chine (Abbassi *et al.*, 2003).

Chapitre II : Les plantes médicinales

.4.2 Position systématique

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapinodales
Famille	Zygophyllaceae
Genre	Peganum
Espèce	<i>Peganum harmala</i> L (Dunster et Dunster, 1996).



Photo 03 : photo de *Peganum harmala*.

.4.3 Description botanique

Est une plante herbacée, vivace glabre, pouvant atteindre 30 à 100 cm (**Mahmoudian et al., 2002**). Elle porte de feuilles duveteuses en cœur et montre, à partir de la deuxième année, du milieu de l'été jusqu'en début d'automne, des bouquets de petites fleurs blanches (**Burnie et al., 2005**). Le fruit du harmel est une capsule sphérique, entouré par le calice persistant et libérant des grains dont le tégument renferme un colorant rouge (**Boullard, 2001**). (**Photo:03**)

.4.4 Utilisation médicale

Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle et en pharmacologie, elle est antimicrobienne (**Abbassi, 2003**), elle calme les déprimés, les neurasthéniques et les enfants insomniques (**Boullard, 2001**), elle s'emploie comme vermifuge (**Jain, 2004**), ses graines sont utilisées comme narcotiques, et dans certains cas contre les rhumatismes et l'asthme (**Idrissi, 2008**), elle est utilisée contre les affections oculaires, ces racines sont prescrites contre les troubles nerveux (**Hans, 2007**). La plante sert aussi à dissiper les troubles provoqués par le mauvais œil. Elle traite également les convulsions des enfants (**Benchelah et al., 2000**).

.5 Globularia alypum

.5.1 Généralité

Est un arbuste vivace trouve dans toutes les régions méditerranéennes (**Harzallah et al., 2010**). Le genre de *Globularia* possède 24 espèces (**Emberger, 1960**). Le nom choisi pour souligner le regroupement sommital des fleurs en têtes sphériques (**Boullard, 2001**).

.5.2 Position systématique

Régne	Plantae
Sous-régne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Scrophulariales
Famille	Globulariaceae
Genre	Globularia
Espèce	<i>Globularia alypum</i> L (Dunster et Dunster, 1996).



Photo 04 : photo de *Globularia alypum*.

.5.3 Description botanique

Globularia alypum est un petit arbuste à feuilles persistantes originaires de Grèce, portant des feuilles bleu lilas dans les têtes globeuleuses (**Bertsouklis et Papafotiou, 2010**). Les fleurs sont violettes, et formant au sommet des ramifications une tête globuleuse (**Wahlem, 1827**). (Photo:04)

.5.4 Utilisation médicinale

Les feuilles de *Globularia alypum* pourraient être utilisé comme une source potentielle d'antioxydants naturels (**Khelifi et al., 2005; Ben Mansour et al., 2012**). Elles sont utilisées aussi dans le traitement des maladies de la peau, et des troubles digestifs, y compris, l'estomac, douleur intestinales (**Ben Mansour et al., 2012**). Ses feuilles traditionnellement utilisées comme agent hypoglycémiant, laxatif, cholagogue, stomachique, sudorifique et purgative (**Merghache et al., 2013**). Elle est utilisée en médecine populaire pour le traitement des rhumatismes, la goutte, la typhoïde, la fièvre intermittente et le diabète (**Ferhi et Aiache, 2010**).

.6 *Marrubium vulgare*

.6.1 Généralité

Ce genre de quarante espèces de vivaces aromatiques se rencontre dans les régions tempérées : d'Europe et d'Asie, souvent le long des routes et dans les terres incultes. On pense que le nom de ce genre provient du mot herbeu marob, jus amer (**Burnie et al., 2005**).

Marrubium vulgare (Marrube blanc ou Marrube commun) appelé localement « Marriout » (**Boudjelal et al., 2012**).

Chapitre II : Les plantes médicinales

.6.2 Position systématique

Régne	Plantae
Sous-régne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiaceae
Famille	Lamiaceae
Genre	Marrubium
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i> L (Sell <i>et al.</i> , 2002).



Photo 05 : photo de *Marrubium vulgare*.

.6.3 Description botanique

Haute d'au moins 45cm, elle porte de feuilles duveteuses en cœur et montre, à partir de la deuxième année, du milieu de l'été jusqu'en début d'automne, des bouquets de petites fleurs blanches (**Burnie et al., 2005**). D'aspect blanchâtre, à odeur forte, pénétrante, agréable, légèrement musquée, de saveur à la fois chaude et amère (**Bouterfas et al., 2013**). (Photo:05)

.6.4 Utilisation médicinale

Le *Marrubium vulgare* est donc un agent Toni-stimulant et antispasmodique, il est utilisé contre les affections des poitrines et traitement de la fièvre (**Asselin et Masson, 1827**). Il est utilisé aussi dans le traitement de trouble gastro-intestinale, les infections intestinales et processus inflammatoire (**De Souza et al., 1998; Stulzer et al., 2006**), il est employé aussi depuis l'antiquité contre la bronchite et la toux rebelle (**Lacoste, 2012**). Les racines et les parties aériennes sont utilisées pour le traitement des maladies du rein, de fièvre et des lésions cutanées (**Schlemper et al., 1996**).

Chapitre III :
Groupes sanguins

Chapitre III : Les groupes sanguins

.1 Historique

En 1900 le médecin Autrichien Karl Landsteiner (1868-1943) démontre que les sangs humains ne sont pas tous semblables ni tous compatibles entre eux. Il découvrit le système ABO, suivant lequel le sang se partage en quatre groupes : A, B, AB ou O, selon les antigènes que l'on trouve associés aux globules rouges des personnes (**Boucher, 2008; Danic et Lefrère, 2011**). Un autre antigène important des globules rouges est le facteur rhésus Rh identifié en 1940 par Landsteiner et Weiner (**Brooker, 2001**).

.2 Le système ABO

Le système de groupe sanguin ABO se définit à la fois par la présence d'antigène sur les hématies et par la présence d'anticorps naturels réguliers dans le plasma. La présence sur les globules rouges d'un antigène exclut la présence dans le plasma de l'anticorps qui lui correspond, exemple : si, dans le sang d'un individu, les hématies sont porteuses de l'antigène A, le plasma ne peut pas posséder d'anticorps anti A. sinon la réaction antigène-anticorps provoquerait une agglutination (**Ramè et Naccache, 2001**).

On peut déterminer ainsi 4 phénotypes courants :

- groupe AB (antigène A et antigène B présents et absence d'anticorps): 4% de la population française ;
- groupe O (antigène A et antigène B absents et anticorps anti A et anti B présents): 43% de la population française ;
- groupe A (antigène A présent et anticorps anti B présent): 42% de la population française ;
- groupe B (antigène B présent et anticorps anti A présent): 11% de la population française (**Béziat et al., 1996**).

.3 Facteur Rh

Les antigènes de système Rh sont aussi importants que ceux de système ABO. Le facteur Rh (rhésus). Ainsi nommé parce qu'il a d'abord été étudié dans le sang du singe Rhésus. Est un système composé principalement des antigènes C, D et E (**Ganong, 2005**). Les personnes dans le sang desquelles cet antigène est sont dites Rh⁺, tandis que les autres sont Rh⁻ (**Boucher, 2008**).

.4 Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO

Les antigènes de du système ABO proviennent d'une famille de glycolipides présents à la surface des globules rouges. Leur structure de base est constituée de lipide céramide auquel est attaché un oligosaccharide composé d'un glucose (Glu), d'un galactose (Gal), d'une N-acétyl-galactosamine (Gal Nac), d'un galactose (Gal) et d'une fucose (Fuc). Les sujets du groupe O ne produisent que ce glycolipide. Les sujets du groupe A ont un enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligosacchridique pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (**Parham, 2000**). (**Figure:02**)

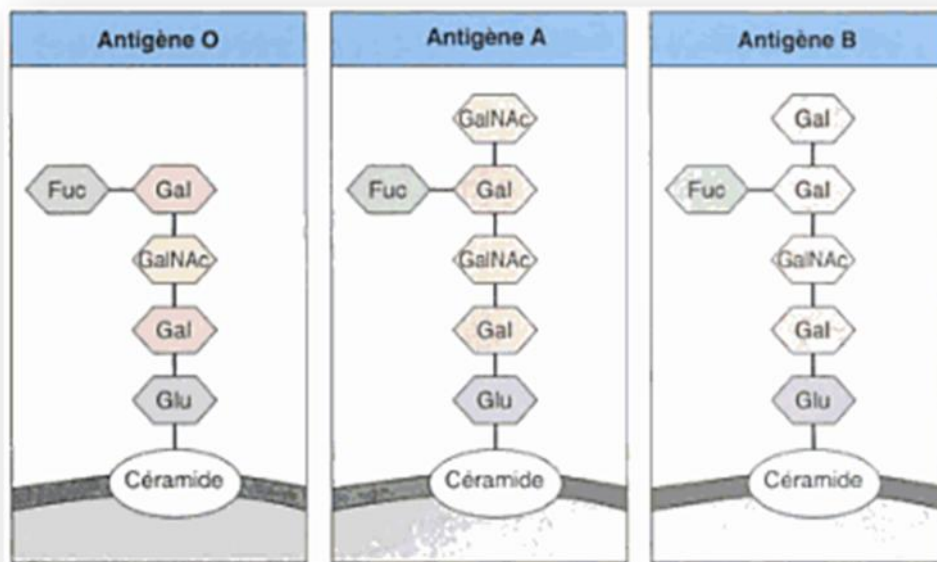


Figure 02 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Parham, 2000).

.5 Détermination du groupe sanguin

La détermination des groupes sanguins ABO se fait à l'aide de deux épreuves : L'épreuve globulaire dite de Beth-Vincent (consiste à détecter les antigènes présents sur les globules rouges du patient grâce à des anticorps de spécificité connue = sérum test) et l'épreuve sérique dite de Simonin (consiste à détecter les anticorps naturels présents dans le plasma grâce à des globules rouges de groupe connu (globules tests). La détermination du groupe sanguin ABO d'un patient est systématiquement associée à la recherche de l'antigène D (Béziat *et al.*, 1996).

.6 Lectines spécifiques des groupes sanguins

La spécificité des lectines aux groupes sanguins est présentée dans le **Tableau:04**.

Tableaux 04 : exemples des lectines spécifiques des groupes sanguins.

Origine de lectine	Groupe spécifique	Référence
<i>Bandereira simplicifolia-I</i>	B	Richard, 1998
<i>Sophora japonica</i>	A, B	
<i>Vicia villosa</i>	A	
<i>Nelumbo vucifea</i>	B	Goker <i>et al.</i>, 2008

Matériels et Méthodes

Partie : Matériels et méthodes

Chapitre I : L'étude phytochimique

I.1 Extraction

.1.1 Préparation de la plante

.1.1.1 Récolte des plantes

Nos travaux ont été effectués sur les racines de cinq plantes médicinales. Il s'agit de :

-*Astragalus armatus*

-*Ocimum basilicum*

-*Peganum harmala*

-*Globularia alypum*

-*Marrubium vulgare*

Les racines de *Peganum harmala* et *Marrubium vulgare* ont été récoltées de la montagne d'Ouled Rechache à Khenchela au mois de septembre 2011.

Les racines d'*Astragalus armatus* et *Globularia alypum* ont été récoltées de la montagne d'Ouled Rechache à Khenchela au mois de mars 2012.

En ce qui concerne les racines d'*Ocimum basilicum* ont été récoltées de la région Sidi-Mezghiche à Skikda au mois de mars 2012.

Les racines des plantes ont été collectées et séchées à température ambiante.

.1.1.2 Broyage

Les racines ont été concassées minutieusement dans le mortier puis broyées dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre, cette dernière a été tamisée, et conservé dans un emballage fermé.

.1.2 Extraction par la solution tampon

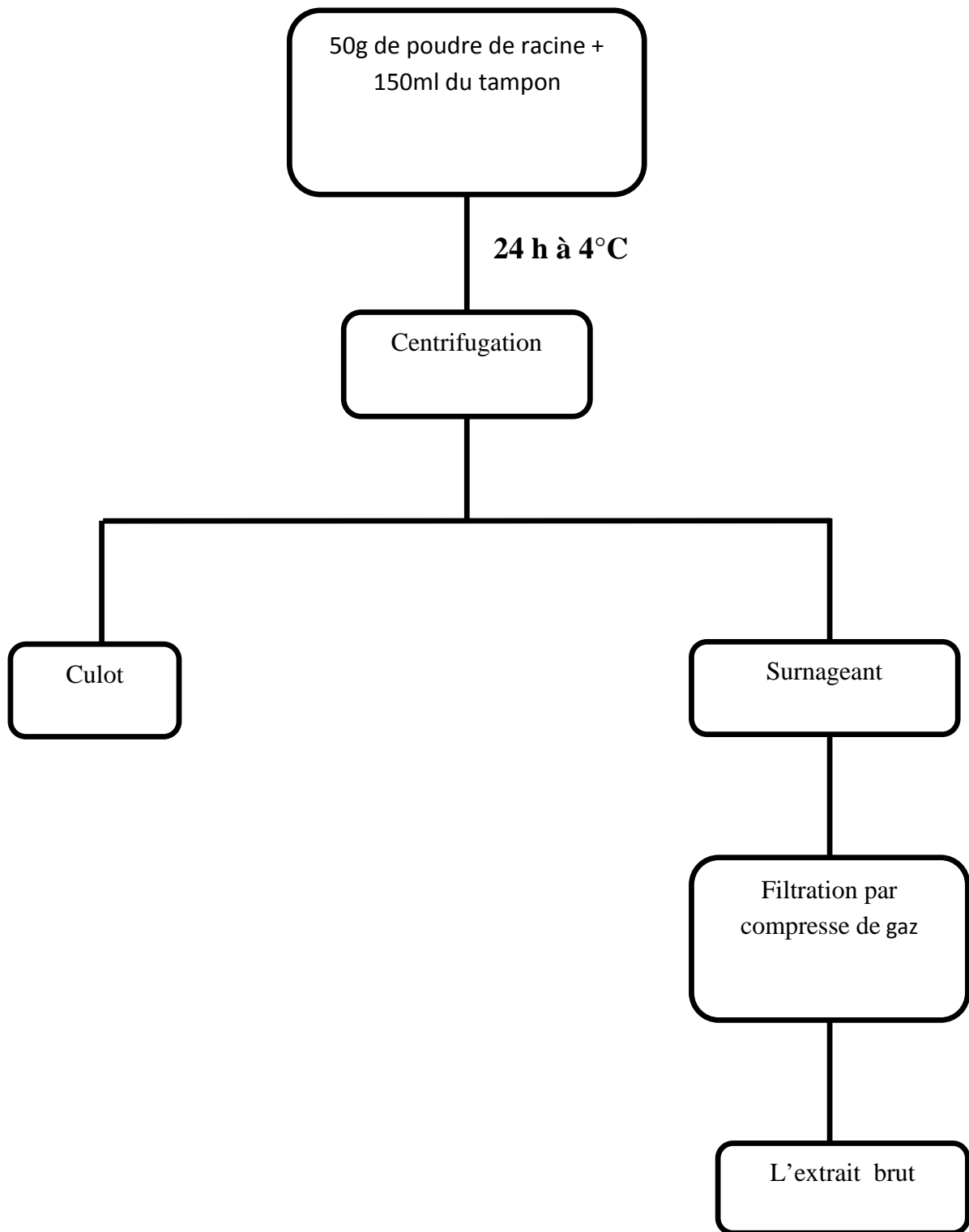


Figure 03 : Schéma d'extraction des lectines à partir des poudres des différentes plantes

Matériels et Méthodes

Afin de récupérer des substances hydrosolubles à partir d'une poudre de racines à l'aide d'une solution tampon.

150 ml du tampon à pH=7,2 a été ajouté à 50g de poudre des racines, l'ensemble est agité, et laissé pendant 24h. Après la centrifugation de cette suspension à 6000 tours /minute pendant 30minutes, le surnageant a été recueilli dans un bécher, puis filtré sur la compresse de gaze. Ce surnageant formé, représente l'extrait brut. Qui est d'abord a été testé sur les hématies, puis passé dans la colonne de chromatographie

.2 Test d'hémagglutination

Ce test a été porté sur les hématies du lapin :

Les hématies utilisées sont issues de sang du lapin provenant d'élevage de ferme.

Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination, et donc de la précipitation des érythrocytes en présence de lectine. Il a été réalisé afin d'effectuer la présence des lectines.

(Annexe:01)

.2.1 Préparation des hématies à 3%

Les hématies du lapin sont collectées pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits, et les hématies de groupe sanguins humains ABO pour tester la spécificité de la lectine de les extraits au groupe sanguin ABO.

Les hématies collectées ont été au préalable soumises à un lavage, puis à une dilution.

.2.1.1 Lavage des hématies

Une quantité de sang (environ 3cc) a été posé dans un tube, ensuite une solution physiologique a été ajouté au sang jusqu'au trait limite de tube. Après avoir bien bouché, le mélange a été centrifugé à 4000 tours/minute pendant 15 minutes. Le surnageant a été versé puis de nouveau l'eau physiologique a été ajouté aux hématies tassées au fond du tube, et enfin le mélange a été centrifugé. Cette opération de lavage a été reprise quatre fois dans les mêmes conditions.

.2.1.2 Dilution des hématies

Après le quatrième lavage les globules rouges sont diluées avec d'eau physiologique à raison de 1,5ml des hématies dans un 48,5 ml d'eau physiologique, afin d'obtenir d'hématies à 3%.

.2.2 Technique d'hémagglutination

Dans chaque puits d'une microplaque 50µl des hématies du lapin ont été ajoutés à 50µl d'extraits bruts de chaque plante. Après 1h l'agglutination est observée par l'œil nu et le microscope optique (Grossissement × 1000).

Après le test d'hémagglutination seuls les extraits positifs ont été retenus pour notre étude.

.3 Chromatographie sur colonne

Cette étape a été réalisée pour éliminer les impuretés, et améliorer la pureté de notre extrait.

Le gel séphadex G100 (domaine de fractionnement : 40-150 KD) a été percolé jusqu'à la moitié de la colonne, et lavé avec de tampon pH 7,2. Ensuite l'extrait brut a été versé lentement et en petites fractions dans la colonne. Enfin l'extrait a été recueilli par l'élution avec le tampon (pH= 7,2) dans des tubes secs (5 ml par tube).

L'extrait ainsi récupéré a été testé sur les hématies du lapin. Pour assurer que l'activité hémagglutinante est améliorée après la chromatographie sur colonne.

.4 Spectrophotométrie à UV

Les extraits issus de la chromatographie sur colonne sont placés dans le spectrophotomètre à UV afin de mesurer l'absorbance à longueur d'onde 280 nm, puis on a tracé la courbe d'absorbance en fonction de tube.

.5 Lyophilisation

C'est une technique de déshydratation à basse température et sous vide qui consiste à transformer des extraits initialement liquide en poudre (lyophilisat).

Une quantité des extraits élués sont d'abord congelés, puis placés au lyophilisateur.

Cette étape a été effectuée afin de réaliser le test immunologique.

Chapitre II : L'étude biologique

.1 Limites d'hémagglutination

Ce test permet de déterminer le pouvoir agglutinante, et en déduire le titre en lectine.

Dans une première étape, 50µl de tampon ont été déposés dans chaque puits, ensuite, un volume de 50µl d'extrait a été ajouté au premier puits, puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants. Un volume de 50µl des hématies a été ajouté aux 50µl d'extrait dans chaque puits.

La lecture d'activité hémagglutinante a été réalisée après 1 heure à température ambiante.

L'activité hémagglutinante est exprimée en titre qui est la réciproque du plus grand rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination.

.2 Test d'agglutination avec les hématies humaines ABO

L'étude a été effectuée sur les hématies humaines :

Il faut noter qu'il existe plusieurs antigènes du groupe sanguin humain, mais les études sont effectuées sur les antigènes des hématies humaines appartenant au système du groupe sanguin ABO.

La spécificité de groupe sanguin de l'extrait a été établie à l'aide des érythrocytes des différents groupes du système ABO.

Dans un puits d'une microplaque, 50 l des hématies de chaque groupe a été ajouté à 50µl d'extraits de plante. Après 1heure d'incubation, la lecture est faite à l'aide d'un microscope optique (Grossissement $\times 1000$).

.3 Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples

La spécificité de sucre de la lectine a été étudiée par la capacité d'une série de sucres simples à inhiber l'agglutination des érythrocytes.

Dans un puits d'une microplaque, 50µl de solution de sucre (glucose, Galactose, Maltose, fructose, lactose) (100mg du sucre dissout dans 1ml d'eau distillée) sont ajoutées à 50µl d'extrait, le mélange est incubé pendant 1h à température ambiante, cela permettre au

Matériels et Méthodes

lectine de reconnaître le sucre, ensuite 50µl des hématies du lapin ont été ajoutées. Après 1h la lecture est faite à l'aide d'un microscope optique (Grossissement $\times 1000$).

Le témoin de notre plaque ne contient pas d'inhibiteurs et est là pour attester du bon fonctionnement de l'expérience.

Pour les sucres qui inhibent l'agglutination, la concentration minimale à laquelle a lieu l'inhibition de l'agglutination (MIC) est mesurée.

50µl du tampon ont été déposés dans chaque puits d'une microplaque, ensuite 50µl de solution de sucre (200g de Galactose dissout dans 1ml d'eau distillée) sont ajoutées au premier puits, puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants, un volume de 50µl a été ajouté dans chaque puits, et le mélange est incubé pendant 1heure à température ambiante. Ensuite un volume de 50µl des hématies a été ajouté dans chaque puits. Après 1heure à température ambiante la lecture a été faite par l'observation microscopique (Grossissement $\times 1000$).

.4 Effet de température sur l'hémagglutination

Sept tubes à essai, contenant chacun une aliquote de l'extrait brut ont été incubé à des températures différentes (50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120°C) dans un bain marie pendant une heure de temps. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à la température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été fait.

.5 Effet de pH sur l'hémagglutination

L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante a été déterminé par la mise en œuvre de test hémagglutinante de la lectine en utilisant les tampons à différent valeurs de pH en allant de 1 à 12, chaque tampon a été mélangé avec la poudre de racine. Après 24 heures la centrifugation a été faite, et le surnageant a été récupéré, puis le test d'hémagglutination est fait.

.6 L'effet d'extrait d'*Astragalus armatus* sur l'activité phagocytaire

L'étude de l'activité phagocytaire a été effectuée sur un groupe de souris mâles (28 souris), du genre (*Mus*) espèce (*Mus musculus*), âgés (2 à 2,5 mois), ayant un poids entre 20 à 30 g.

Matériels et Méthodes

L'élevage des animaux a été réalisé dans des cages au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine, la température ambiante est de 25°C. Durant la période de cette expérimentation, toutes les souris sont alimentées avec l'aliment et de l'eau. **(Annexe:02)**

Traitements des souris

L'étude de l'activité phagocytaire a été réalisée sur un groupe de 28 souris réparties sur 4 lots (chaque lot comprend 7 souris).

Les souris ont été injectées (injection intra péritonéale) par l'extrait des racines lyophilisé dissout dans 0,9% NaCl, selon les doses suivants : 10mg/kg, 30mg/kg, 50mg/kg.

Les doses de l'extrait de la plante ont été calculées selon le poids de chaque souris

Groupe 1 : (7 souris) les témoins ont été injectés par 0,5ml NaCl 0,9%.

Groupe 2 : (7 souris) ont été injecté par l'extrait avec une dose de 10mg/kg.

Groupe 3 : (7 souris) ont été injectés par l'extrait avec une dose de 30 mg/kg.

Groupe 4 : (7 souris) sont injectés par l'extrait avec une dose de 50mg/kg.

Après 48 heures, les souris ont été injectées par une solution de carbone (3ml d'encre de chine, 4ml de NaCl 0,9% et 4ml de Gélatine 3%), à une dose de 0,1ml/10g à travers la veine caudale. les doses ont été toujours calculées selon le poids de chaque souris.

Prélèvements sanguins

Chaque étape de traitement a été suivie par le prélèvement sanguin au niveau de sinus veineux de souris à l'aide des tubes capillaires en verre après 5 min et 15 min.

Puis le sang prélevé a été collecté dans des tubes secs contient Na_2CO_3 0,1% (à raison de 14 gouttes de sang avec 4ml de Na_2CO_3 0,1% dans chaque tube).

Le mélange du sang a été mis dans les cuves, et placé dans un spectrophotomètre visible afin de mesurer l'absorbance à la longueur d'onde 675nm.

Activité phagocytaire

L'activité phagocytaire a été exprimée par l'index phagocytaire K qui mesure toutes la fonction de l'ensemble des cellules de système réticulo-endothélial au contact du

sang circulant. Le taux de clairance a été exprimé par la période de demi-vie du carbone dans le sang ($t_{1/2}$, min), permet de calculer la vitesse de disparition du carbone du sang.

Les activités sont calculées d'après les formules de **(Biozzi *et al*, 1953)**.

$$K = \frac{\ln DO_1 - \ln DO_2}{t_2 - t_1}$$

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k}$$

Où DO_1 et DO_2 sont des densités optiques à des moments t_1 et t_2 respectivement

.7 L'analyse statistique

Les résultats de l'activité phagocytaire et le taux de clearance de carbone sont présentés sous forme de moyennes et écart-types. Le traitement statistique a été réalisé par le test One-Way ANOVA et le test Tukey's multiple comparisons (logiciel SPSS version 9.0) pour étudier la différence entre les groupes. Cette différence est considérée selon le risque d'erreur (p) comme :

- Non significative si $p > 0,05$.
- Significative* si $0,05 > p > 0,01$.
- Hautement significative** si $0,01 > p > 0,001$.
- Très hautement significative*** si $p < 0,001$.

Résultats

Résultats

Partie : Résultats

Chapitre I : L'étude phytochimique

.1 Le test d'hémagglutination

La plupart des lectines sont capables d'interagir avec des globules rouges. Si une solution des hématies est placée dans un puits, la sédimentation naturelle conduit à un dépôt des hématies au fond du puits. L'ajout d'une lectine permet la formation d'un réseau entre les hématies et les lectines, ces interactions forment une suspension gélatineuse homogène ; ceci correspond au phénomène d'hémagglutination.

Tableau 05 : l'agglutination des hématies du lapin par les extraits des cinq plantes médicinales

Plante	Tests d'agglutination
<i>Astragalus armatus</i>	+++
<i>Ocimum basilicum</i>	+++
<i>Peganum harmala</i>	-
<i>Marribium vulgare</i>	-
<i>Globularia alypum</i>	-

+++ : Très forte agglutination

- : absence d'agglutination

Parmi les extraits de ces cinq plantes utilisées, deux sont fortement agglutinées les hématies (*Astragalus armatus* et *Ocimum basilicum*). Les trois autres extraits n'ont données aucune agglutination décelable, ni à l'œil nu ni au microscope optique. (Tableau:05)

Photo:06 et **07** montrent l'observation microscopique de l'agglutination de deux extraits qui nous ont donné un test positif.

Résultats

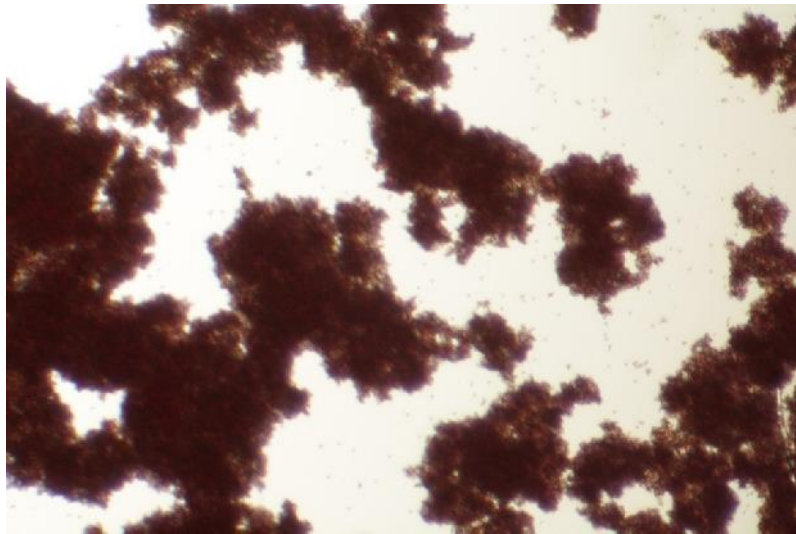


Photo 06 : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait d'*Astragalus armatus*.

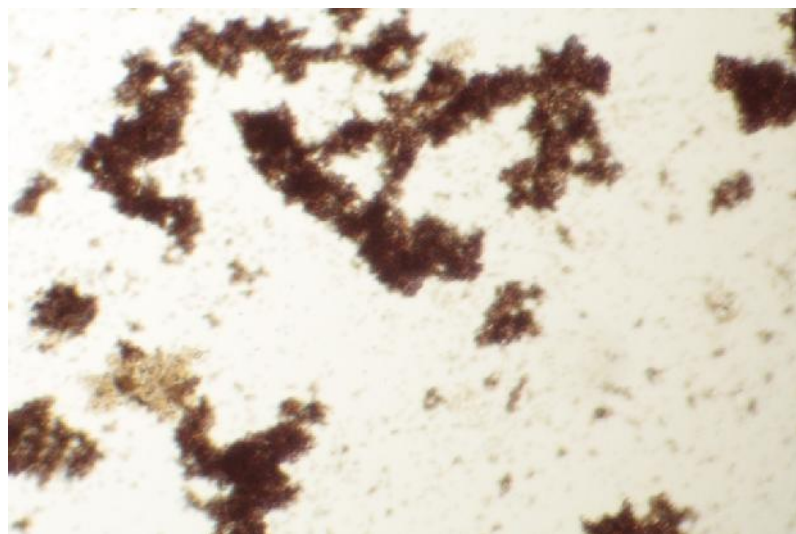


Photo 07 : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait d'*Ocimum basilicum*.

Résultats

.2 Chromatographie sur colonne

.2.1 *Astragalus armatus*

La **figure : 04** nous a montré la courbe d’Absorbance de l’extrait d’*Astragalus armatus* après leur passage à travers la colonne de la chromatographie.

La valeur maximale d’Absorbance à 280 nm se trouve dans le tube n° 2. (**Figure:04**)

.2.2 *Ocimum basilicum*

La **figure : 05** nous a montré la courbe d’Absorbance de l’extrait d’*Ocimum basilicum* après leur passage à travers la colonne de la chromatographie.

La valeur maximale d’Absorbance à 280 nm se trouve dans les tubes de 8 à 16. (**Figure:05**)

Les agglutinations obtenues avec les extraits issus de la chromatographie sur colonne étaient plus rapidement apparues et un peu plus forte que celles des extraits bruts.

Résultats

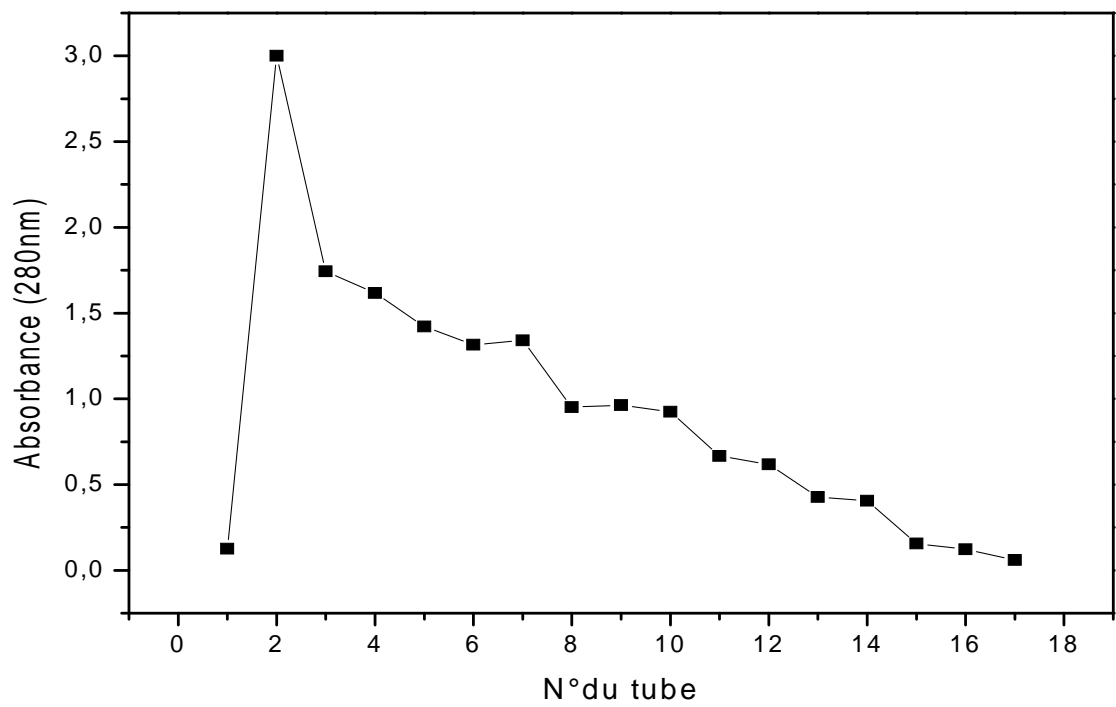


Figure 04 : la filtration de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur colonne de Sephadex G100.

Eluant était : BPS pH 7,2

Absorbance à 280nm

La taille de la fraction était : 5ml

Résultats

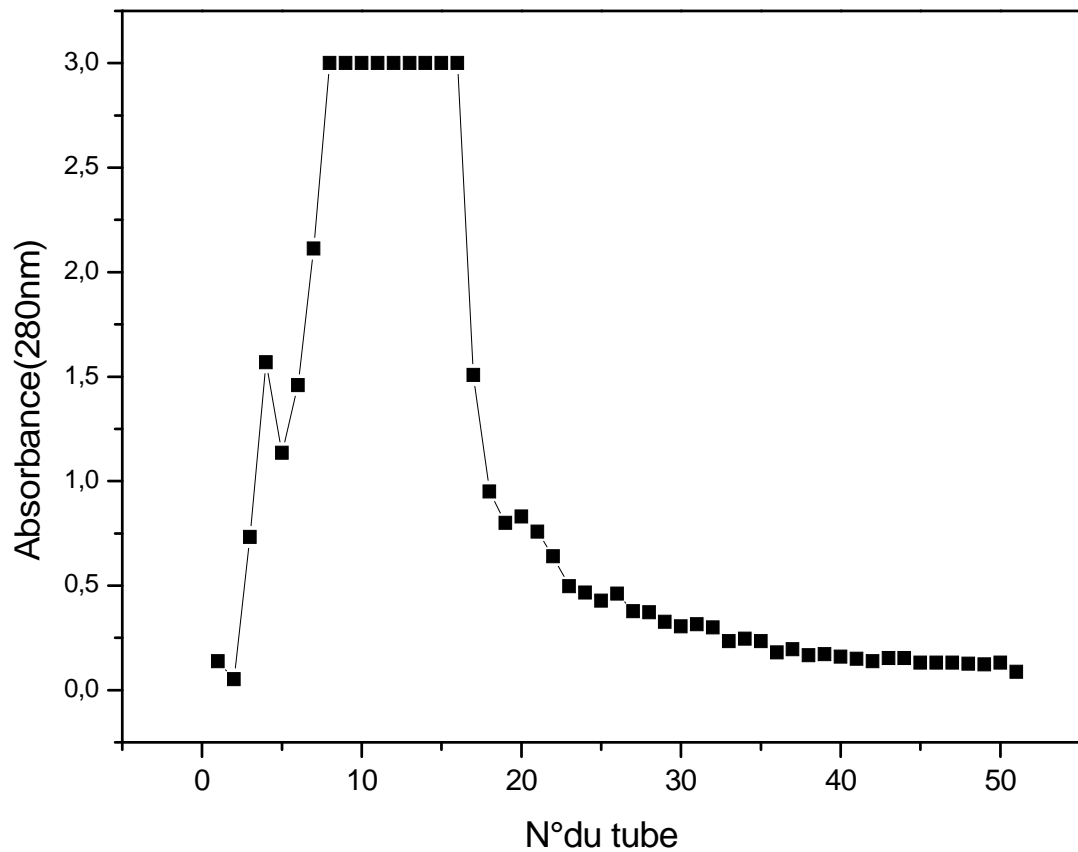


Figure 05 : la filtration de l'extrait d'*Ocimum basilicum* sur colonne de Sephadex G100.

Eluant était : BPS pH 7,2

Absorbance à 280nm

La taille de la fraction était : 5ml

Résultats

Chapitre : l'étude biologique

.1 Les limites d'hémagglutination

L'activité hémagglutinante est exprimée en titre qui est la réciproque du plus grand rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination

Tableau 06 : Activité hémagglutinante des extraits d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum*

dilution extrait	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
<i>Astragalus armatus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-

+++ : Très forte agglutination

- : absence d'agglutination

+ : faible agglutination

++ : Forte agglutination

L'activité hémagglutinante d'extrait d' *Astragalus armatus* a été 1:9(512) (**Photo:08**)

L'activité hémagglutinante d'extrait d' *Ocimum basilicum* a été 1:7(128) (**Photo:09**)

Résultats

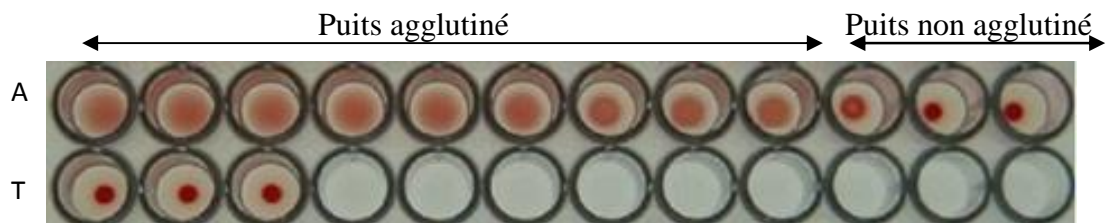


Photo 08 : l'activité hémagglutinante d'*Astragalus armatus*.

A : *Astragalus armatus*

T : Témoin

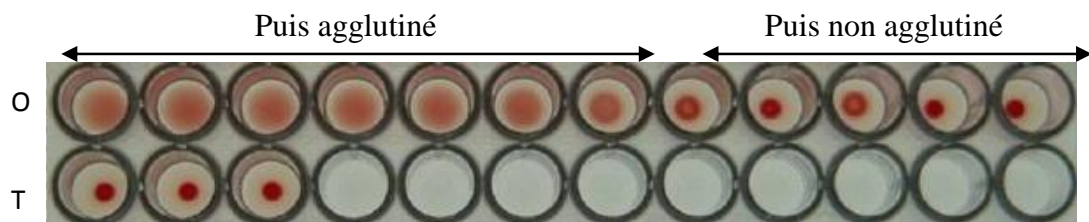


Photo 09 : l'activité hémagglutinante d'*Ocimum basilicum*.

O : *Ocimum basilicum*

T : Témoin

Résultats

.2 Test d'agglutination sur les hématies humaines ABO

Le tableau 07 : l'agglutination des hématies humaines par des extraits bruts d'*Astragalus armatus* et *Ocimum basilicum*.

Les groupes sanguins Les plantes	A	B	O
<i>Astragalus armatus</i>	+++	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	+++	+++	+++

L' extrait d'*Astragalus armatus* n'agglutine que le groupe A, il était très forte agglutination. **(Photo:10)**

L'extrait d' *Ocimum basilicum* agglutine tout les types des groupes sanguins.

Résultats

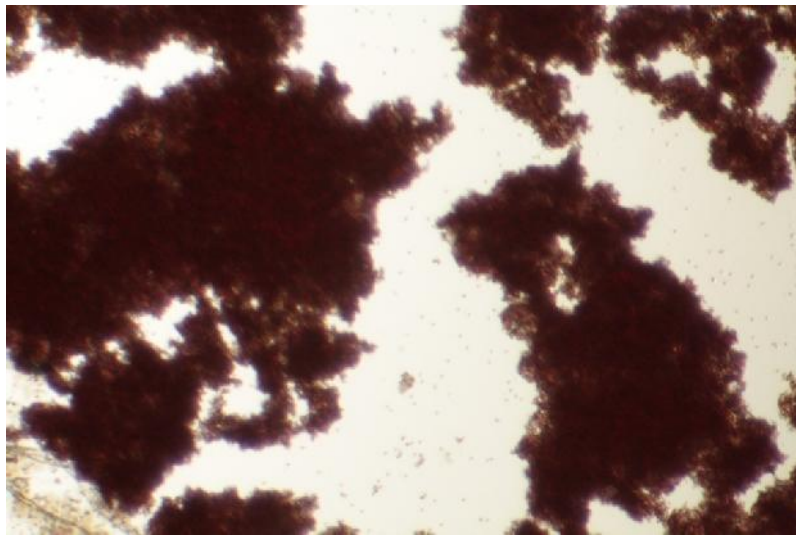


Photo 10 : l'agglutination des hématies de groupe A par l'extrait d'*Astragalus armatus*.

Résultats

.3 Test d'inhibition d'agglutination par des sucres simples

Le test d'inhibition a été effectué avec certains sucres simples (glucose, galactose, fructose, maltose, lactose) pour déterminer la spécificité des extraits en sucre.

L'agglutination ne se fait pas dans le cas où la lectine va fixer l'inhibiteur plutôt que les hématies, les résultats obtenus ont été décrit dans **le tableau : 08**.

Tableau 08 : test d'inhibition des extraits d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum* par des sucres simples.

Sucre Extrait	Glucose	Galactose	Fructose	Maltose	Lactose	Témoin
<i>Astragalus armatus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	-	+	-	-	-	-

+ : inhibition

- : pas d'inhibition

L'extrait d'*Astragalus armatus* n'a pas été inhibé par des sucres tests

L'extrait d'*Ocimum basilicum* a été spécifiquement inhibé par le galactose

Pour la concentration minimale en galactose provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait d'*Ocimum basilicum*, les résultats obtenus ont été présenté dans **le Tableau : 09**.

Résultats

Tableau 09: la concentration minimale en galactose provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait d'*Ocimum basilicum*

Dilution Extrait	1:2	1:4	1 :8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
<i>Ocimum basilicum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++

- : absence d'agglutination

+ : faible agglutination

++ : Forte agglutination

+++ : Très forte agglutination

La concentration la plus faible de galactose pour inhiber l'hémagglutination a été 0,781mg/ml.

.4 L'effet de température sur l'hémagglutination

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différent température ont été présentés dans le **tableau : 10**.

Tableau 10: l'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum*.

Température (°C) Extrait	50	60	70	80	90	100	110	120
<i>Astragalus armatus</i>	+++	+++	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum basilicum</i>	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-

+++ : Très forte agglutination

++ : Forte agglutination

+ : faible agglutination

Résultats

- : absence d'agglutination

Le traitement thermique d'extrait des racines d'*Ocimum basilicum* à 90°C a réduit significativement leur activité hémagglutinante. Lorsque le chauffage a été atteint 110°C l'activité hémagglutinante d'*Ocimum basilicum* est devenue nulle.

En revanche, le traitement thermique d'*Astragalus armatus* à 70°C a été suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante.

.5 L'effet du pH sur l'hémagglutination

Tableau 11 : l'effet du pH sur l'activité hémagglutinante des extraits d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum*.

pH \ Extrait	pH												
	1	1,5	2	3	4	5	6	7,5	8	9	10	11	12
<i>Astragalus Armatus</i>	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-	-
<i>Ocimum Basilicum</i>	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-

- : absence d'agglutination

+ : faible agglutination

+++ : Très forte agglutination

L'extrait d'*Astragalus armatus* a été remarquablement stable dans la gamme de pH de 3 à 7,5 l'activité cependant, est tombé assez rapidement par la suite, avec la quasi-totalité perte d'activité à pH 10. Tandis que l'extrait d'*Ocimum basilicum* a été stable dans la gamme de 2 à 7,5, elle a perdue leur totale activité à pH 9.

.6 L'effet de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur l'activité phagocytaire

Effet de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur l'activité phagocytaire et le taux de clearance de carbone a été présenté dans le **tableau : 12**.

Résultats

Tableau 12: L'effet de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur l'activité phagocytaire et le taux de clearance de carbone ($t_{1/2}$) dans le sang circulant de souris. Les données représentent: la moyenne \pm écart type (n=7).

Les groupes	Les doses	N de souris	Index phagocytaires (K)	Moyenne de l'index phagocytaires (K)	Demi-vie ($t_{1/2}$, min)	Moyenne de Demi-vie ($t_{1/2}$, min)
Groupe 1 Témoin (Saline)	0,5 ml	7	0,034 0,016 0,034 0,078 0,046 0,034 0,017	0,037 \pm 0,007	20,309 41,869 20,159 08,929 14,912 20,527 39,747	23,77 \pm 4,67
Groupe 2	10 mg/Kg	7	0,052 0,085 0,053 0,046 0,042 0,043 0,100	0,060 \pm 0,006	13,389 08,126 13,083 14,882 16,536 15,947 06,926	12,69 \pm 1,47
Groupe 3	30 mg/Kg	7	0,053 0,076 0,055 0,026 0,089 0,054 0,030	0,055 \pm 0,008	12,941 09,056 12,474 26,056 07,791 12,772 22,738	14,83 \pm 2,60
Groupe 4	50 mg/Kg	7	0,056 0,109 0,046 0,089 0,090 0,097 0,096	0,08 \pm 0,009	12,299 05,873 06,369 07,753 07,643 07,131 07,181	7,74 \pm 0,80

Résultats

II.6.1 L'index phagocytaire (K)

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une différence dans les moyens de l'index phagocytaire (K) entre les groupes (G1, G2, G3, G4). (**Tableau:12**) (**Figure:06**)

L'analyse statistique de l'effet d'extrait sur l'activité phagocytaire montre que l'augmentation de l'index phagocytaire dans les groupe a été hautement significative quand elle est comparée avec le groupe de contrôle G1. $P=0,007^{**}$.

Le test Tukey, révèle une différence dans l'indice phagocytaire entre le groupe 1 et le groupe 2 et entre le groupe1 et le groupe3 mais n'est pas significative ($p=0,240$), ($P=0,451$) respectivement et hautement significative entre le groupe1 et le groupe4 ($P^{**}=0,004$).

II.6.2 Le taux de clearance de carbone

Le Tableau : 12 et la figure : 07, nous montrent qu'il y a une différence entre les groupes dans les moyennes de taux de clearance.

L'analyse statistique de l'effet de notre extrait sur l'activité phagocytaire montre que la diminution de taux de clearance dans les groupe a été hautement significative quand elle est comparée avec le groupe de contrôle G1. $P^{**}=0,004$.

Le test Tukey montre aussi qu'il y a une différence dans le taux de clearance significative entre le groupe1 et le groupe2 ($P^*=0,046$), n'est pas significative entre le groupe1 et le groupe3 ($P=0,135$) et hautement significative entre le groupe1 et le groupe4 ($P^{**}=0,002$).

Nous avons remarqué une corrélation de Pearson négative et significative d'index phagocytaire(K) avec la clearance dans les groupes G1, $r=-0,873^*$ et $P=0,10$, G2, $r=-0,983^{**}$ et $P=0,000$ et G3, $r=-0,940^{**}$ et $P=0,002$.

Résultats

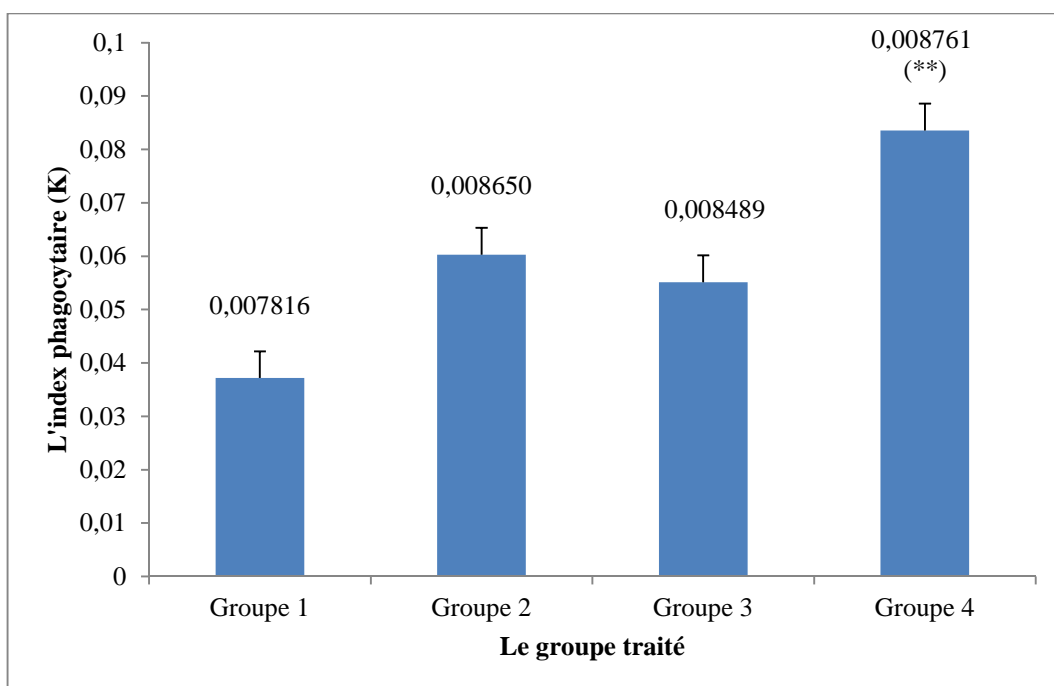


Figure 06 : l'effet de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur l'index phagocytaire.

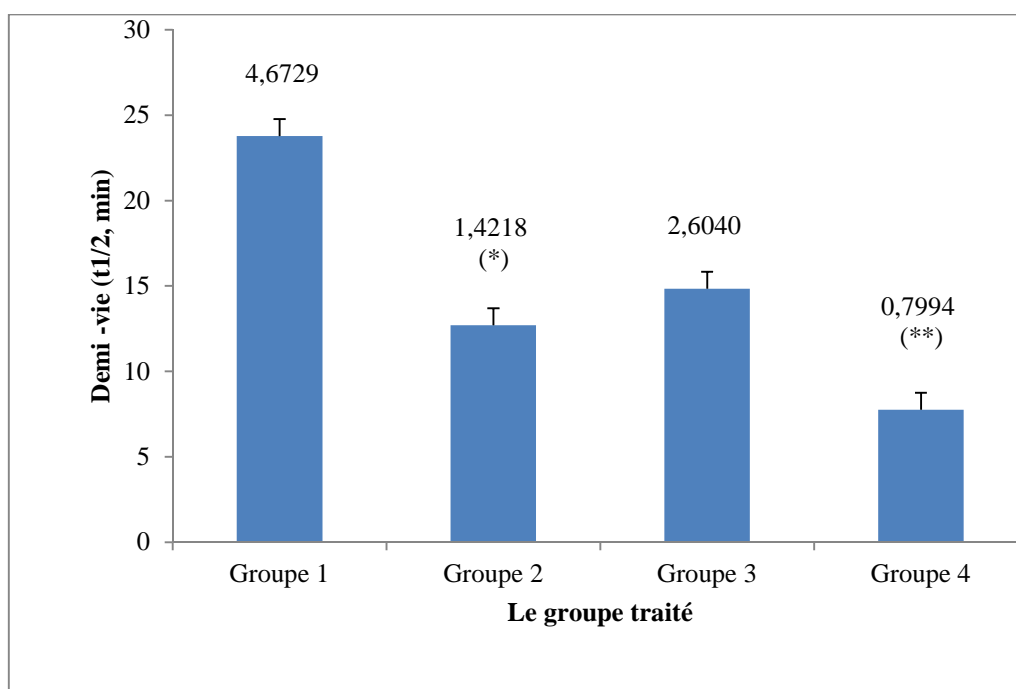


Figure 07 : l'effet de l'extrait d'*Astragalus armatus* sur le taux de clearance.

Discussion

Partie V Discussion :

Les phyto-hémagglutinines ou agglutinines végétales sont des substances extraites des plantes qui ont la propriété d'agglutiner les globules rouges humains ou animaux. La plupart des phyto-agglutinines connues se trouvent dans les graines d'où on peut les obtenir par extraction aqueuses, mais quelques-unes existent aussi dans les feuilles, les tiges, les racines ou les tubercules. En générales, il s'agit de légumineuses, mais il en existe aussi dans les plantes d'autres familles végétales (**Saint-Paul, 1961**).

Le nombre de travaux publiés sur les lectines a vu une grande croissance principalement grâce à l'abondance des lectines dans tous les organismes vivants, accompagné d'une certaine facilité de purification

Au cours des dernières années, les lectines ont été reconnus comme des sondes utiles pour les enquêtes structurales des polysaccharides et les glucides complexes sur la surface des cellules, certaines lectines sont hautement spécifiques de certains groupes sanguins et peuvent donc être utilisés pour la détermination du groupe sanguin, elles sont aussi utilisées dans différents domaines biologique et médical (**Levene et al., 1994**).

Le travail que nous avons réalisé, rentre dans le cadre de chercher la présence de lectines et leur extraction et aussi l'étude biologique de phytoagglutinines qui sont les lectines.

Dans un premier temps, nous avons testé l'existence de lectine au niveau des racines de cinq plantes médicinales. Nous avons utilisé les hématies de lapin incubé avec les extraits bruts que nous avons récupéré à partir des racines de plantes à l'aide d'une solution tampon selon le schéma que nous avons décrit. Un foie cette présence des lectines a été établie, nous avons procédé à la chromatographie sur colonne. Ensuite des tests biologiques ont été effectués.

Les lectines ont été découvertes par leur capacité à agglutiner les érythrocytes, et reste toujours la méthode la plus simple et la plus pratique pour détecter la présence des lectines (**Laija et al., 2010**).

Nous avons observé l'activité hémagglutinante des extraits de cinq plantes médicinales dont deux ont donné un test positif, il s'agit des extraits d'*Ocimum basilicum* et d'*Astragalus armatus*. Les trois autres extraits n'ont pas agglutiné les hématies.

Discussion

Ces résultats indiquent que l'*Ocimum basilicum* et l'*Astragalus armatus* contiennent effectivement des substances à activité agglutinante sur les hématies.

Les extraits bruts d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum* ont pratiquement les mêmes degrés d'agglutination sur les hématies du lapin.

Dans le but d'améliorer l'activité hémagglutinante des extraits, nous avons procédé à leur purification par la chromatographie sur colonne.

En effet, les extraits obtenus à la chromatographie sur colonne ont eu une activité supérieure à celle des extraits initiaux.

Ce résultat pourrait insinuer que l'extrait issu de la chromatographie sur colonne contient moins d'impureté sans être un extrait pur de lectine, car l'obtention d'extrait pur de lectine n'est pas facile à réaliser.

En tout cas, une augmentation de l'activité des extraits est importante pour la suite de nos investigations.

Ainsi, nous avons procédé à la lyophilisation des extraits pour éviter leur détérioration lors de la conservation et leur utilisation dans le test phagocytaire.

Dans le but d'évaluer l'activité hémagglutinante des extraits de deux plantes nous avons réalisé le test de limite d'hémagglutination.

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Ocimum basilicum* est 128 ce résultat est en accord avec celle de l'extrait de *Cyllus sp* (Meite *et al.*, 2008). Tandis que l'extrait d'*Astragalus armatus* a une activité hémagglutinante plus élevée (512).

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Ocimum basilicum* est faible par rapport à celle de l'extrait d'*Astragalus armatus* et de l'extrait de *Phaseolus vulgaris* (1024) (Meite *et al.*, 2008).

Dans le but d'étudier la spécificité de nos extraits à des hématies humaines et de trouver un extrait spécifique à un seul groupe et par conséquent, leur utilisation comme nouveau réactif nous avons réalisé le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.

L'extrait d'*Ocimum basilicum* est agglutiné assez fortement tout les types de groupe sanguins humains, nous pouvons alors classer l'*Ocimum basilicum* dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, qui sont généralement désignées comme non spécifique. Cette résultat est en accord avec les études de Kumar *et al.*, 1982 ; Kuku et Oladiran., 2004 ; Bashir *et al.*, 2010 ; Joshir

Discussion

et **Srisudha., 2012** réalisées par les lectines extraites de *Kalanchose crenata*, *Glycin max*, *Artrocarpus integra* et *Padina gymnospora* respectivement.

Cette polyagglutinabilité est due au fait que la lectine reconnaît le même sucre sur la membrane globulaire des différents groupes sanguins.

L'extrait d'*Astragalus armatus* est montré une spécificité pour les globules rouges de type A, ce résultat a été en accord avec les lectines d'haricot de lima (*Phaseolus lumatus*) qui agglutine seulement des globules rouges de type A (**Goker et al., 2008**). En effet, de nombreux auteurs ont déjà montré que les lectines pouvaient discriminer des groupes sanguins humains (**Saint-Paul, 1961**). Ce résultat indique que nous pourrions utiliser la lectine d'*Astragalus armatus* comme réactif pour le groupage.

Sur le plant qualitatif, le test d'inhibition d'agglutination a permis de faire une évaluation des extraits relative à leur spécificité à des sucres. Et aussi, pour identifier le sucre qu'on peut utiliser pour sa purification.

Les lectines ont une spécificité de glucides précis et peuvent être bloqués par les sucres simples et les oligosaccharides (**Laija et al., 2010**). Pour déterminer la spécificité de nos extraits vers une structure glucidique particulière, on a réalisé un test d'inhibition.

L'extrait d'*Ocimum basilicum* a été spécifiquement inhibé par le galactose et cette inhibition due à l'occupation du site de reconnaissance par le galactose. Par conséquent, il est possible d'utiliser le galactose comme ligand dans la matrice d'affinité pour sa purification.

Pour déterminer la concentration minimale en ligand (MIC) pour inhiber le phénomène d'héماغglutination, des doubles dilutions d'un ligand en présence d'une concentration constante d'extraits de plante et des globules rouges ont été effectuées.

Notre résultat de la concentration minimale en galactose pour inhiber l'héماغglutination d'extrait d'*Ocimum basilicum* indique que le galactose est un fort inhibiteur.

La plupart des molécules protéiques ne conservent leur activité biologique ou leur capacité fonctionnelle qu'à l'intérieur d'une étroite limite de pH et de température en particulier (**Cuq, 1992**). Les températures élevées rompent les interactions faibles qui stabilisent la forme repliée ou native d'une protéine et convertissent cette structure en un état dénaturé (**Ringe, 2009**). Les pH extrêmes peuvent modifier la charge des chaînes

Discussion

latérales d'acide aminé et rompre les liaisons ioniques et hydrogènes (**Baltimore et al., 1997**). l'état dénaturé est généralement défini de manière empirique soit par la perte de l'activité biologique ou biochimique de la protéine (**Cuq, 1992**). Cette dénaturation entraîne la perte totale ou partielle de l'activité biologique (**Eckert et al., 1999**). Dans le cas d'une lectine, la dénaturation détruit ces capacités d'agglutination.

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet de température sur les lectines.

Cao et al (2010) ont montré que la lectine *Musca domestica* est stable jusqu'à 65°C pendant 60min.

Suseelan et al (1997) ont montré que la lectine de *Vigna mungo* est stable à 50°C pendant 60min.

Silva et al (2001) ont montré que la lectine de *Bauhinia pentandra* est stable à 70°C pendant 60min

Oliveira et al (2002) ont trouvé que la lectine de *Pterocladia capillacea* est stable à 60°C pendant 30min.

L'extrait d'*Astragalus armatus* est stable à des températures jusqu'à 60°C pendant 60 min. Ce résultat n'est pas en accord avec les études de plusieurs auteurs.

L'extrait d'*Ocimum basilicum* est stable à des températures jusqu'à 80°C pendant 60 min, cette situation contraste fortement avec les études de plusieurs auteurs elle est plus résistante par rapport aux autres études.

Aussi, l'extrait d'*Ocimum basilicum* est plus résistant à des températures élevées par rapport à l'extrait d'*Astragalus armatus*.

La diminution de l'activité hémagglutinante des lectines avec l'augmentation de la température indique que son activité dépend de la conformation native de la protéine.

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet de pH sur les lectines.

Kuku et Oldian (2004) ont montré que la lectine de *Kalanchoe crenata* est stable au pH 2-7,5.

Sun et al (2011) ont montré que la lectine de l'haricot (*Arachis hypogaea*) est stable au pH 5-11.

Chaudhary et Sood (2008) ont montré que la lectine de *Ricinus communis* est stable au pH 3-7.

Discussion

L'extrait d'*Astragalus armatus* est remarquablement stable dans la gamme de pH de 3 à 7,5. Tandis que, l'extrait d'*Ocimum basilicum* est stable dans la gamme de pH 2 à 7,5. Ces résultats sont en accord avec certains auteurs.

L'activité hémagglutinante diminue avec la diminution du pH vers acide, et l'augmentation de pH vers base avec pratiquement aucune liaison au dessus de pH=9 pour l'extrait d'*Astragalus armatus* et pH= 8 pour l'extrait d'*Ocimum basilicum*.

La faible agglutination à pH 2, 8 et 9 pour l'extrait d'*Astragalus armatus*, et à pH 1.5 et 8 pour l'extrait d'*Ocimum basilicum* peut être dû à la modification du site de liaison du sucre en raison de la forte charge sur la lectine à ce pH.

Aucune liaison à pH 1, 1.5, et 10 à 12 pour l'extrait d'*Astragalus armatus*, et à pH 1, 9 à 12 pour l'extrait d'*Ocimum basilicum* pourrait être due à la dénaturation de la lectine ou la modification de leur structure secondaire ou tertiaire et aussi la dissociation des ses sous unités, comme la cancanavaine A, l'association de ses sous-unités est dépendante du pH: en dessous d'un pH de 5,6 seules deux sous-unités s'associent pour former un dimère. A ce pH, le dimère conserve sa spécificité osidique mais ne précipite plus les polysaccharides, alors que pour les valeurs supérieures la forme de tétramérique est observée (**Glodstein et Poretz, 1986**).

Toute modification de pH est donc associée à un changement dans l'état d'ionisation de la molécule, qui est à son tour détermine la force de liaison entre la lectine et le sucre.

Ainsi, les deux extraits sont plus stables dans la gamme de pH neutre et acide qu'à pH alcalin. Ces résultats sont en accord avec la lectine extraite d'*Astocarpus hirsuta* (**Gaikwad et Islamkhan, 2003**).

Dans le but d'étudier l'intervention de la lectine dans le mécanisme de défense immunitaire, nous avons réalisé le test de l'activité phagocytaire.

Les macrophages sont des éléments importants des défenses de l'hôte contre l'infection virale en inhibant la réplication intracellulaire du virus et en tuant les cellules infectées par le virus. Lorsqu'il est activé, une variété d'oxygène ou d'azote intermédiaires et les cytokines sont libérés à partir de macrophages et de participer à divers fonction biologique importante. Telles que les activités inflammatoires et anti-tumorales (**Hou et al., 2010**). Par conséquent, l'activité phagocytaire des macrophages est un indicateur important des fonctions immunitaires de l'organisme,

Discussion

L'élimination est la phase qui assure la disparition d'une substance de l'organisme soit parce qu'elle est excrétée, soit parce qu'elle est transformée en d'autres produits qui ne sont plus décelables. La vitesse de disparition peut être exprimée par la constante d'élimination, la demi-vie biologique ou la clairance. La demi-vie est le temps nécessaire après la fin d'une exposition pour réduire la moitié de la quantité de substance présente dans l'organisme (**Silbergeld, 2000**).

Dans notre étude le traitement par l'extrait d'*Astragalus armatus* peuvent augmenter l'activité phagocytaire. Aussi, il a amélioré la vitesse d'élimination du carbone dans le sang par rapport au groupe témoins et cela confirme l'augmentation de l'activité phagocytaire des macrophages mononucléaires et de l'immunité non spécifique, ce qui en accord avec les expériences de **Hou et al., 2010 ;Necib et al., 2013 et Benmebarek et al., 2013** réalisé chez des souris traité par la lectine de l'aricot rouge avec le polysaccharide d'*Astragalus mongholicus*, *Argania spinosa* et *Stachys mialhesi* respectivement.

Aussi, il ya une relation entre la dose d'extrait d'*Astragalus armatus* injectée et l'index phagocytaire, ainsi avec le taux de clearance. L'activité phagocytaire augmente avec l'augmentation de la dose. Tandis que le taux de clearance diminue avec l'augmentation de la dose.

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives :

Nous avons extrait des substances à effet agglutinante sur les hématies que nous appelons lectine.

Au terme de nos investigations ayant porté sur les extraits de cinq plantes seuls deux ont donné une activité hémagglutinante, il s'agit de ceux d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum*.

L'extrait d'*Ocimum basilicum* a montré leur pouvoir à agglutiner toutes les hématies sans spécificité de groupe sanguin dans le système ABO. L'extrait d'*Astragalus armatus* a montré une spécificité de groupe sanguin A.

L'extrait d'*Ocimum basilicum* est inhibé par le Galactose, cette affinité de la lectine pour ce sucre peut être utilisée pour sa purification.

L'extrait d'*Ocimum basilicum* est thermorésistant et plus résistant à la température par rapport à l'extrait d'*Astragalus armatus*.

Les deux extraits sont plus stables dans la gamme de pH neutre et acide qu'à pH alcalin.

L'extrait d'*Astragalus armatus* augmente l'activité phagocytaire et améliore la vitesse d'élimination ces substances étrangères du sang.

Les perspectives de ces travaux sont nombreuses. Les résultats promoteurs que nous avons obtenus à travers ces deux plantes encourageant la poursuivre des évaluations biologiques.

L'amélioration de la qualité de l'extraction et la purification peut faire des lectines d'*Astragalus armatus* des réactifs de groupages d'origines végétales.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

- 1-Abbassi K., Mergaoui L., Atay Z., Kadiri A., Stambouli A., Ghaout S.** (2003) Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pérlerin (*Schistocerca gregaria* forskal, 1975). *Zool. Baetica* **13/14** : 203-217.
- 2-Alencar N.M., Cavlcante C. F., Vasconcelos M. P., Leite K.B., Aragao K. S., Assreuy A. M., Nogueira N. A., Cavada B. S., Vale M. R.** (2005) Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J PharmaPharmacol* **57** :919-922 .
- 3-Ananthram V., Patanjali S R., Surolia A.** (1985) A chitotetrose specific lectin from *Luffa acutangula*: Physicochemical properties and the assignment of orientation of sugars in the lectin binding site. *Proc. Int. Symp. Biomol. Struct. Interaction. Suppl. J. Biosci* **Vol 8(1&2)** : 403-411.
- 4-Araujo-Filuo J.H., Vasconcelos I.M., Martins-Miranda A.S., Gondim D.M.F., Oliveivera T.T.A.** (2010) A ConA-like lectin from *Dioclea guianensis* Benth. Has antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides*, unlike its homologues, ConM and ConA. *J. Agric. Food chem* **58 (7)**: 4090-4096.
- 5-Asselin P., Masson G.** (1827) Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales. 2^{ème} série. 5^{ème} tome. Paris : 144.
- 6-Assreuy A. M. S., Fontenele S. R., Pires A. F., Fernandes D. C., Rodrigues N. V., Bezerra E. H., Moura T. R., Do Nascimento K.S., Cavada B. S.** (2009) Vasodilator effects of Diocleinae lectins from the *Canavalia* genus. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* **380(6)** : 509-521.
- 7-Ayméric J-L., Lefranc G.** (2009) Immunologie Humaine. De Boeck & Laccier S.A. Paris : 24.
- 8-Baltimore L., Zipursky., Darnell M.** (1997) Biologie moléculaire de la cellule. 1^{ère} édition. De BOECK Université : 73.
- 9-Barauna S. C., Kaster M. P., Heckert B. T., Do Nascimento K.S., Rossi F. M., Teixeira E.H., Cavada B. S., Rodrigues A.L., Leal R. B.** (2006) Antidepressant like effect of lectin from *Canavalia brasiliensis* (ConBr) administered centrally in mice. *Pharmacol. Biochem. Behavior* **85**: 160-169.

Références Bibliographiques

- 10-Barbosa T., Arruda S., Cavada B., Grangeiro T. B., Freitas L. A. R., Barral-Netto M.** (2001) In vitro lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the *Diocleinae* subtribe. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **96** (5): 673-678.
- 11-Bashir H., Khan T., Masood A., Hamid R.** (2010) Isolation purification and characterization of a lectin from a local Kashmiri variety of Soybean (*Glycine max*). *Asian Journal of Biochemistry* **5**(3): 145-153.
- 12-Basu Debkumar., Appukuttan P. S.** (1983) Plant lectins specific for N-acétyl-B-D-galactosamine. *Biosci* **5. Supp 1**:131-135.
- 13-Benchelah A-C., Bouziane H., Maka M., Ouahès C.** (2000) Fleurs du Sahara: Voyage ethnobotanique avec les touaregs du tassili. IBIS Press, Atlantic, Paris : 223.
- 14-Ben Mansour R., Gargouri B., Elloumi N., Ben Haj J. I., Gharbi-Gammar Z., Lassoued S.** (2012) Investigation of antioxidant activity of alcoholic extract of *Globulaire alypum L.* *Journal of Medecinal plants Research* **6**(25): 4193-4199.
- 15-Benmebarek A., Zerizer S., Laggoune S., Kabouche Z.** (2013) Immunostimulatory activity of *Stachys mialhesi* de Noé. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* **9-2. DOI : 10.1186/1710-1492.**
- 16-Berk Z.** (1993) Technologie de Production de Farine alimentaire et de Produits protéiques. FAO : 14.
- 17-Bertsouklis K.F., Papafotiou M.** (2010) Studies on propagation of *Globularia alypum L.* *I.S.H.S* **885** : 73-77.
- 18-Béziat D., Courbil R., Faure C., Meudec J-M.** (1996) La thérapeutique transfusionnelle comprendre pour réussir. HEURES DE FRANCE : 226.
- 19-Bianchet M. A., Ahmed H., Vasta G. R., Amzel L.M.** (2009) Structural aspects of lectin-ligand interaction In Vasta G0 R., Amzel L. M. *Animal lectins: a functional view.* TAYLOR&FRANCIS. LLC: 13-14.
- 20-Biozzi G., Benacerraf B., Halperm B.N.** (1935) : *Br J Exp Pathol*, 34:441-457.
- 21-Boettner D. R., Huston C., Petri JR., William A.** (2002) Galactose/ N-acétylgalactosamine lectin : the coordinator of host cell killing. *J. Biosci* **27** : 553-557.
- 22-Bothan M. B., Weil K. R.** (2011) Biochimie de harper. 4^{ème} édition. DE BOECK : 510.
- 23-Bouchara J. P., Tronchin G.** (1999) Adhésion et Pathogénicité dans les infections aspergillaires. *Méd. Mal. Infect* **29**: 705-711.
- 24- Bouchara J-P ; Trouchin G.** (2003) Lectines fongiques et adhérence In *Les Mycoses.* ELSEVIER, Paris: 167.

Références Bibliographiques

- 25-Boucher C.** (2008) Une brève histoire des idées de Galilée à Einstein. FIDES: 94-95.
- 26-Boudjelal A., Henchiri Ch., Siracusa L., Sari M., Ruberto G.** (2012) Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare L.* infusion. *Fitoterapia* **83**: 286-292.
- 27-Boullard B.** (2001) Plantes médicinales du monde: Réalité et croyances. ESTEM : 660.
- 28-Bouterfas K., Mehdadi Z., Latrech A., Hazem Z., Bouredja N.** (2013) Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare L.* du mont de Tessela (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les Technologies de Laboratoire* **8** : 34-41.
- 29-Boyd W.C., Shapleigh E.** (1945) Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins). *Science* **119** : 419
- 30-Brooker C.** (2001) Le corps humain: étude, structure et fonction, le rôle infirmer dans la pratique clinique. 2^{ème} édition, DE BOECK : 196.
- 31-Burnie G., Forrester S., Greige D., Guest S., Harmony M., Hobley S., Jack S. G., Lavarack R., Macoboy S., Molyneux B., Moodie D., Moore J., Newman D., North T., Pienaar K., Purdy G., Ryan S., Schien G., Silk J.** (2006) Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture plus de 10000 plantes du monde entier. PLACE DES VICTOIRES : 552-611.
- 32-Cadava B. S; Grangeiro T. B; Ramos M. V; Crisostomo C. V; Sliva L. M; Moreira R. A., Oliveira J. T. A.** (1994) Lectin from *Dioclea guianensis* var. *Lasiophylla* duke seeds mobilization during growth in the dark. *R. Bras. Fisiol. Veg* **6(1)** : 21-25.
- 33-Cao X., Sun Y., Wang C., Zeng B.** (2010) Purification and characterization of a new D-galactose specific lectin from the housefly, *Musca domestica*, and its antiproliferative effect on human K562 and MCF-7 tumorcells. *Journal of Insect Science* **10(79)** :1-12.
- 34-Caron M., Faure A.** (1982) Intérêt biologique des réactions entre lectines et glycoconjugués chez l'homme. *Revue Française de transfusion et immuno-hématologie*. TomeXXV **5** : 527-539.
- 35-Catier O., Roux D.** (2007) Botanique Pharmacognosie Phytothérapie.3^{ème} édition. WOLTERS KLUWER : 13.
- 36-Cavaillon J-M.** (2005) Médiateurs de l'inflammation In Vincent J-L., Martin C. *Sepsis sévère et choc septique*. SPINGER-VERLAGE. France:23.
- 37-Chandrika R., Shaila M.S.** (1987) Isolation and propriétés of a lectin from the seeds of *Aimosa invisia L.* *J. Biosci* **12(4)** : 383-391.

Références Bibliographiques

- 38-Chaudhary H., Sood N.** (2008) Purification and partial characterization of lectins from in vitro cultures of *Ricinus communis*. *Plant Tissue Cult & Biotech* **18(2)** : 89-102.
- 39-Colegate S. M., Petter D. P. R., Hux T. C. R.** (1985) The isolation and determination of a toxic principle from, *Swansonia canescens*. *Biochem. J* **191**: 649- 651.
- 40-Corbaz R.** (1990) Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Press Polytechniques et Universitaires Romandes : 91.
- 41-Cuq J-L.** (1992) Qualité de nos aliments et technologies In *Alimentation et nutrition humaines*. ESF : 1240.
- 42-Dam T.K., Brewer C.F.** (2002) Thermodynamic studies of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry. *Chem. Rev* **102** : 387-429.
- 43-Danic B., Lefrère J-J.** (2011) La transfusion sanguine et le don de sang traité par le cinéma. *Hématologie* **17(16)**:402-409.
- 44-David S** (1995). Chimie moléculaire et supramoléculaire des sucres: introduction chimique aux glycoprotéines. CNRS : 245.
- 45-De Franco A. L., Robertson M., Locksley R. M., Cunin R.** (2009) Immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. DE BOECK. Paris : 32.
- 46-De Hoff P. L., Brill L. M., Hirsch A. M.** (2009) Plant lectins : the ties that bind in root symbiosis and plant defense. *Mol. Genet. Genomics* **282** : 1-5.
- 47-Delaunay Jean.** (1988) Biochimie. Hermann, Paris: 194.
- 48-De Souza M., De Jesus R. A. P., Cechinel-Filho V., Schlemper V.** (1998) Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. *Phytomedicine* **5(2)** : 103-107.
- 49-Dunster J., Dunster K.** (1996) Dictionary of natural resource management: the comprehensive, single source guide to natural resource management terms. UBC : 343-344.
- 50-Eckert R., Randall D., Burrggren W.** (1999) Physiologie animal : mécanismes et adaptations. Fourth édition. DE BOECK. Paris : 90.
- 51-Emberger L.** (1960) Les végétaux vasculaires In Chadfaud M. *Traité de botanique (Systématique)*. Tome . MASSON ET C^{ie} : 810.
- 52-Ferhi B., Aiache J-M.** (2010) Effet of *Globulria alypum L.* on the gastrointestinal tract. *Journal of Naturel Products* **3** : 141-146.
- 53-Figueiredo J. G., Bitencourt F. S., Besserra I. G., Teixeira C. S., Luz P. B., Bezerra E. H.S., Mota M. R. L., Assrey A. M. S., De Queiroz C. F., Cavada B. S.,**

Références Bibliographiques

- De Alencar N. M.** (2009) Antinociceptive activity and toxicology of the lectin from *Canavalia boliviana* seeds in mice. *Naunyn-Schemied Arch. Pharmacol* **380**: 407-414.
- 54-Gabius H. J** (2005): Protéin-Zucker-Erkennung. *Naturwissenschaften* **82**: 533-543.
- 55-Gadelha C. A., Moreno F. B., Santi-Gadelha T., Cajazeiras J. B., Rocha B. A., Assreuy A. M.** (2005) Native crystal structure of a nitric oxide-releasing lectin from the seeds of *Canavalia maritima*. *Journal of Structural Biology* **152** : 185-194.
- 56-Gaikwad S. M., Islamkhan M.** (2003) pH-dependente aggregation of oligomeric *Artrocarpus hirsuta* lectin on thermal denaturation. *Elsevier INC* **311** : 245-257.
- 57-Ganong W. F.** (2005) Physiologie médicale. 2^{ème} édition, DE BOECK : 507.
- 58-Gapta G.S.** (2012) Animal lectins: from, function and clinical application. Volum1. SPRINGER-VELAGE WIEN : 21.
- 59-Genten F., Terwinghe E., Danguy A.** (2010) Illustrée du Poisson. QUAE : 17.
- 60-Ghopkins W., Evrard C-M.** (2003) Physiologie Végétale. DE BOECK, 1ère édition : 104-105.
- 61-Goker H., Haznedaroglu I.C., Ercetin S., et al.** (2008) Haemostatic actions of the folcloric medicinal plant extract ankaferd blood stoooper. *Jint. Med. Res* **36** : 163-170.
- 62-Goldstein I. J., Poretz R. D.** (1986) Isolation physico-chimical, characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins In Liener I. *The lectin: properties, function and applications in biologie and médecine*. ELSEVIER. INC: 49-50.
- 63-Gomes B. S., Siqueira A. B. S., Maria R. C. C., Teisceira V. G. E. H., Anuda F. V. S., Naximmento K. S. D., De Lima A. N., Souza-Motta M., Porto A. L. F.** (2012) Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. *Braz. J. Microbiol* **43(2)** : 770-778.
- 64-Goutier J.** (2009) L'herbier des jardins de curé: collection de plantes viviers aromatiques, médicinales et ornementales. La Maison Rustique : 34.
- 65-Guénard H et al.,** (2001) Physiologie humaine. 3^{ème} édition. PARDEL : 497.
- 66-Guillaume J.** (1993) Nutrition et Alimentation des Poisson et Crustacés. Terrain: 396.
- 67-Guillot J., Guerry M., Kanska G., Caldefie-Chezet F., De Lateur M., Penault-Llorca F.** (2004) Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation: cas des carcinomes mammaires. *Bull cancer* **91** : 141-158.
- 68-Hans W. K.** (2007) 1000 Plantes aromatiques et médicinales. TERR : 229.
- 69-Harzallah H. J., Neffati A., Skandrani I., Maaloul E., Chekir-Ghedira L., Mahjoub T.** (2010) Antioxydant and antigenototoxic activities of *Globularia alypum* leaves extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* **4(9)** : 2048-2053.

Références Bibliographiques

- 70-Hou Y., Hou Y., Yanyan L., Qin G., Li Ji.** (2010) Extraction and purification of lectin from red kidney bean and preliminary immune function studies of the lectin and four chinese herbal polysaccharides. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **ID217342** : 1-9.
- 71-Idrissi H. L.M., Hermas J.** (2008) Effet de l'alimentation en *Peganum harmala L.* (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* forsk (Orthoptera, Acrididae). *Zool. Baetica* **19** : 71-84.
- 72-Imbert Michel.** (2006) Traité de cerveau. ODILE JACOB : 267.
- 73-Imbert Anne.** (2011) Les bactéries aiment nos sucres : approche structurale et thermodynamique des interactions protéines et glucides In « *De la recherche à l'enseignement 8 Septembre 2012* ». Société Chimique de France. *Paris Tech* : 1-12.
- 74-Imberty A., Mitchell E.P., Wimmerová M.** (2005) Structural basis for high affinity glycan recognition by bacterial and fungal lectins. *Curr. Opin. Struct. Biol* **15**: 525-534.
- 75-Imberty A., Varrot A.** (2008) Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates. *Curr. Opin. Struct. Biol* **18** : 567-576
- 76-Jain B.** (2004) Pocket Medical dictionary for homoeopaths. LTD : 340.
- 77-James L. F., Hartely W. J., Van Kampen K. R.** (1981) Syndromes of Astragalus poisoning in livestock. *J. Am. Vet. Med. Assoc* **178 (2)**: 146- 150.
- 78-Jodoin M.** (2010) Entre fourchette et baguettes: plaisir et sagesse au menu. TRAFFORD: 390.
- 79-Joshir N. V. M., Srisudha S.** (2012) Biochemical characterization, haemagglutinating activity of and cytotoxic activity of *Padina gymnospora* (Kützinger) Sonder. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research* **3(8)** : 956-961.
- 80-Kamoun P.** (2003) Oses et Polysaccharides In *Biochimie et Biologie Moléculaire*. Médecin-Sciences/Flammarion : 62.
- 81- Kawsar S. A., Aftabuddin S., Yasuimitsu H., Ozeki Y.** (2010). The cytotoxic activity of two D-galactose binding lectins purified from marine invertebrates. *Arch. Biol. Sci. Belgrade* **62(4)**: 1027-1034.
- 82-Khalfallah A., Karioti A., Berrehal D., Kabouche A., Lucci M., Kabouche Z., Bilal A.** (2011) Flavonoid triglycosides from *Astragalus armatus*. *Planta Med* **77-PG47**. DOI: **10.1055/s-0031-1282531**.

Références Bibliographiques

- 83-Khlifi S., El Hachimi Y., Khalil A., Es-Safi N., El Abbouyi A.** (2005) In Vitro antioxidant effect of *Globularia alypum L.* hydromethanolic extract. *Indian. J. Pharmacol* **37(4)**: 227-231.
- 84-Kumar G.S., Appukuttan P.S., Basu D.** (1982) -D-Galactose-specific lectin from Jack fruit (*Artrocarpus integra*) seed. *J. Biosci* **4(3)** : 257-261.
- 85-Kumar K. K., Chandra K. L. P., Sumanthi J., Reddy G. S., Shekar P. C., Reddy B.V.R.** (2012) Biological rol of lectins. *Journal of Orofacial Sciences* **4** : 20-25.
- 86-Kuku A., Oladiran B. E.** (2004) Purification and partial characterization of a lectin from the fresh leaves of *Kalanchose crenata* (ander) haw. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* **2** : 229-233.
- 87-Lacoste S.** (2012) Ma bible des trucs de santé. LEDVC.S : 102.
- 88-Laija.S.N, Mahesh.S, Smitha. L.S., Remani. P** (2010): Isolation and partial characterization of two plant lectins. *Current Research Journal of Biological Sciences* **2(4)**: 232-237
- 89-Lam S. K, Ng T. B.** (2011) Lectins: production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol* **89**: 45-55.
- 90-Lee Y.C., Lee R.T.** (1995) Carbohydrate-protein interactions: basis of glycobiology. *Acc. Chem. Res* **28** : 321–327.
- 91-Levene C., Gilboa-Garber N., Garber N. C.** (1994) Lectine-blood group interaction in Doyle R.J. Lectin-microorganism interaction. Marcel, Dekker. INC: 327.
- 92-Lis H., Sharon N.** (1998) Lectins: carbohydrate- specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev* **98**: 673-674.
- 93-Mahmoudian M., Jalilpour H., Salehian P.** (2002) Toxicity of *Peganum harmala* . *I.J.P.T* **1**: 1-4.
- 94-Mann K., Farias C. M. S. A., Gallego D. F., Santos C. F., Grangeiro T. B., Nagano C. S., Cavada B. S., Calvete J. J.** (2001) The amino-acide sequence of the glucose/mannose-specific lectin isolated from *Parikia platycephala* seeds reveals three tandely arranged Jacalin related doains. *Eur. J. Biochem* **268** : 4414-4422.
- 95-Marouf A., Reynaud J.** (2007) La Botanique de A à Z. DUNOD, Paris : 165.
- 96-Meite A., Kauame K.G., Kati-Coulibaly S.** (2006) Substances antinutritionnelles. *Méd.Nut* **42(4)**: 179-187.
- 97-Meite A; Kouame K.G; Offoumou A. M.** (2008): Evaluation de l'activité hémagglutinante des lectines des graines des trois espèces de Cucurbitaceae couramment consommées en Côte d'Ivoire. *Science\$Nature*. **5(2)**. 199-204.

Références Bibliographiques

- 98-Merghache S., Zerriouch M., Merghache D., Tabti B., Djaziri R., Ghalem S.** (2013) Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidemic activities of Globularin isolated from *Globularia alypum L.* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Applied Pharmacol Science* **3(04)** : 001-007.
- 99-Michel J.** (2010). Entre Fourchette Et Baguettes plaisir et sagesse au menu. Trafford : 390.
- 100-Necib Y., Bahi A., Zerizer S., Abdenmour Ch., Boulakoud M. S.** (2013) Immunomodulatory activity of argan oil (*Argania spinosa L.*). *American Journal of Immunology* **9(3)** : 85-87.
- 101-Ntetws B.** (1984) Fleurs D'Algérie. Entreprise nationale du livre. Alger : 81.
- 102-Nultsch W.** (1998) Botanique Générale. DE BOECK : 51.
- 103-Nunes B. S., Rensonnet N. S., Dal-Secco D., Vieira S. M., Cavada B. S., Teixeira E. H., Moura T. R., Teixeira C. S., Clemente-Napimoga J. T., Cunha F. Q., Napimoga M. H.** (2009) Lectin extracted from *Canavalia grandiflora* seeds presents potential antiinflammatory and analgesic effects. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **379(6)**: 609-616.
- 104-Oliveira S. R. M; Nascimento A. E; Lima Y. F. M.M; Benevides N. M. B** (2002): Purification and characterisation of a lectin from the red marine alga *Pterocladia capillacea* (S. G. Gmel). *Santel&Hommers. Revista Brasil.* **25(4)** : 397-403
- 105-Özcan M., Chalchat J-C.** (2002) Essential oil composition of *Ocimum basilicum L* and *Ocimum minimum L.* in Turkey. *Czech J. Food Sci* **20** : 223-228.
- 106-Parham P** (2000). Le système immunitaire. De BOECK Université : 340.
- 107-Pontet M.** (1996) Structure et activité biologique d'une nouvelle famille de lectines animales: les galectines. *Immunoanal.Biol. Spéc* **11**: 297-305.
- 108-Pustzai A.** (1991) Plant lectins. Chemistry and Pharmacologie of Naturel Products. Cabridge University Press. Cambridge.
- 109-Ramé A., Naccache P.** (2001) Transfusion sanguine. LAMARRE: 05.
- 110-Richard H. T.** (1998) Application of lectin histochemistry and cytochemistry in diagnostic and prognosis. *Methods molecular medicine* **9** : 73-94.
- 111-Ringe P.** (2009) Structure et fonction des protéines. DE BOECK : 27.
- 112-Robert K. Marry, MD, PhD.** (2008) Les glycoprotéines in Biochimie de Harper. DE BOECK : 527.

Références Bibliographiques

- 113-Roos A., Daha M. R., Vanpelt J., Berger S. P.** (2007) Lectine liant le mannose dans les maladies rénales. *Flammarion-Médecine-Science-Actualités Néphrologiques* **13** : 134-157.
- 114-Roux-Sitruk D., Chaumort J-P., Cieur C., Millet J., Morel M., Tallec D.** (2008) Conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition, WOLTERS KLUWER, France : 67.
- 115-Rüdiger H.** (1993) Purification and characterization of lectin in Gabius Hans-Joachim, *Lectins and Glycobiology*. Springer-Verlag. Berlin. Herdelberg: 43-44.
- 116-Saint-Paul M.** (1961) Les hémagglutinine: transfusion. *T. I. V 1*: 3-37.
- 117-Santos A. F., Cavada B. S., Rocha B. A., Nascimento K. S., Santana A. E.** (2010) Toxicity of some glucose/mannose-binding lectins to *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*. *Bioresour Technol* **101** (2): 794-798.
- 118-Schlemper V., Ribas A., Nicolau M., Filho Cechinel V.** (1996) Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. *Phytomedicine* (2): 211-216.
- 119-Sell Y., Bénézra C., Guérin B.** (2002) Plantes et reactions cutanées. JOHN LIBBEY EUROTEXT, Paris : 135-136.
- 120-Sharon N.** (1983) Lectin receptors as lymphocyte surface markers. *Advances in immunology* **34**: 213-291.
- 121-Sharon N.** (1993) Lectin-Carbohydrate complexes of plants and animals: an anatomic view. *Elsevier Science Publishers*.**0968-0004/93**: 221-226
- 122-Sharon N.** (1996) Carbohydrate-lectin interactions in infectious disease. *Adv. Exp. Med. Biol* **408** : 1-8.
- 123-Sharon N., Lis H.** (1993) Carbohydrate in cell recognition. *Scientific American*. **268**(1): 82-89.
- 124-Sharon N., Lis H.** (2004) History of lectin : from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*.**14**, **53R-62R** : 11.
- 125-Sharon N., Lis H.** (2007) Lectins. Second edition. SPRINGER.13.
- 126-Silbergeld E.** (2000) La toxicologie In *Encyclopédie de sécurité et de santé au travail*. Volume . Bureau International du Travail, France : 33,6.
- 127-Silva A. L. C., Horta A. C. G., Moreira R. A. M.** (2001) Isolation and partial characterisation of a lectin from *Bauhinia pentandra*(bong) vog. Ex. steua. *R. Bras. Fisiol. Veg* **13**(3) : 262-269.
- 128-Small E., Deutsch G.** (2001) Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid.CNRC : 193.

Références Bibliographiques

- 129-Sofowora A.** (2010) Plante médicinales et médecines traditionnelles d'Afrique. 1^{ère} édition. KARTHALA : 22.
- 130-Soussi T.** (2000) Gène: p53 (TP53)-catégorie: gène suppresseur de tumeur.
- 131-Stacey G., Paav A. S., Brill W. J.** (1980) Host recognition in the rhizobium-Soybean symbiosis. *Plant Physiol* **66**: 609-614.
- 132-Stulzer H. K., Tagliari M. P., Zampirolo J. A., Cechinel-Filho V., Schlemper V.** (2006) Antioedematogenic effect of manubium obtained from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology* **108**: 397-384.
- 133-Sumner J. B.** (1919) The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. *J. Biol. Chem.* **37**: 137-142.
- 134-Sumner J. B., Howell S. F.** (1936) Identification of hémagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. *J. Bacteriol.* **32(2)**: 227-237.
- 135-Sun J., Yong Q-l., Bi J., Zhang C-S., Yu L-N., Zhu F** (2011). Purification and identification of a natural lectin from the seed of Peanut *Arachis hypogaea*. *The open Materials Sciences Journal.* **5**: 78-82.
- 136-Suseelan K. N., Bhatia C. R., Mitra R.** (1997) Purification and characterization of two major lectins from *Vingo mungo* (blackgram). *J. Biosci* **22**: 439-455.
- 137-Suttisrisung S., Senapin S., Wrrhhchumnarnkul B., Wongprasert K.** (2011) Identification and Characterization of a novel legum. Lik lectin cDNA sequence from the red marine algae *Gracilaria fisheri*. *J. Biosci* **36**: 833-843.
- 138-Swansanson M. D., Winter H. C., Goldstein I. J., Markovitz D. M.** (2010) A lectin isolated from Bananas is a potent inhibitor of HIV replication. *J. Biol. Chem* **285**: 8646-8655.
- 139-Teixeira E. H., Napimoga M. H., Carneiro V. A., De Oliveira T. M., Cunha R. M., Havt A.; Martins J. L., Pinto V. P., Gonçalves R. B., Cavada B. S.** (2006) In vitro inhibition of Streptococci binding to enamel acquired pellicle by plant lectins. *J Appl Microbiol* **101**:111-116.
- 140-Verbois S.** (2009) La médecine Indienne: Fondements et pratiques de l'Ayurveda. EYROLLES. France : 286.
- 141-Voet D., Voet J. G.** (2005) Biochimie. 2^{ème} édition, DE BOECK : 378.
- 142-Wahlem A.** (1827) Dictionnaire des sciences médicales, composé des meilleurs articles puisés. Tome 7. BRUXELLES : 185.

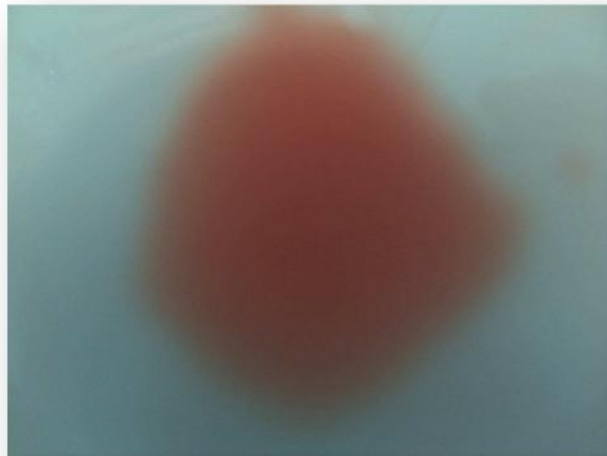
Références Bibliographiques

- 143-Wehner R., Ghring W.J., Meyer C., Kirsch R.** (1999) Biologie et physiologie animales : bases moléculaires, cellulaires, anatomiques et fonctionnelles. 23^{ème} édition, DE BOECK : 180.
- 144-Wilson M., Girard G.** (2008) Fleurs comestibles du jardin à la table. FIDES: 287.
- 145-Yang X., Cheng Y., Wang B.** (2011) Synthetic lectin mimics artificial carbohydrate receptors In Wang B., Booms G-J. *Carbohydrate recognition: Biological problems, methods and applications*. John Wiley and Sons. INC :330.
- 146-Yuriev E., Ramsland P. A.** (2013) Structural glycobiology. TYLOR&FRANCIS. US: 29.
- 147-Zang G., Sun J., Wang H., Ng T. B.** (2010) First isolation and characterization of a novel lectin with potent antitumor activity from a *Russula mushroom*. *Phytomedicine* **17**: 775-781.
- 148-Zhuravela M. A; Tande K; D-Sun P.** (2008) Structural implication of Siglec-5-mediated sialoglycan recognition. *J. Mol. Biol* **375** : 437-447.

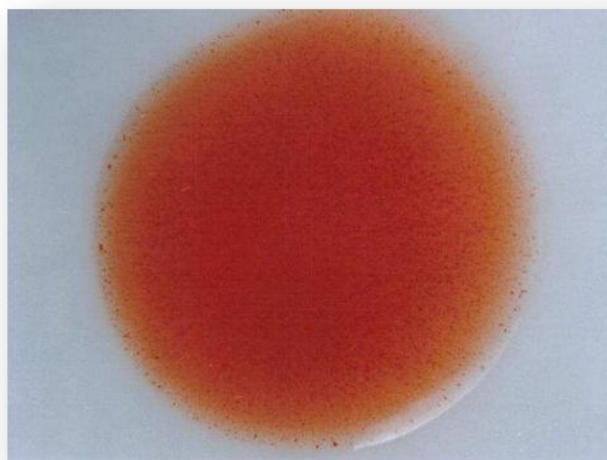
Annexes

Annexes

Annexe 01 : Les différents types d'agglutinations



- = pas d'agglutination.



+ = faible agglutination.



++ = forte agglutination.



+++ = très forte agglutination

Annexe 02: Composition de l'alimentation des souris pour 1 kg d'aliment

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage %
Maïs	620	62
soja	260	26
Phosphate	16	1,6
Calcaire	9	0,9
Cellulose	10	1
Minéraux	10	1
Vitamines	10	1

Annexe 03 :

I. Calcule de la dose :

➤ La dose de l'extrait

○ Groupe 2

10mg d'extrait —————→ 1000g
Xmg d'extrait —————→ poids de souris

$$\text{La dose de l'extrait} = \frac{0,1\text{mg} \times \text{poids de souris}}{10\text{mg}}$$

○ Groupe 3

30mg d'extrait —————→ 1000g
Xmg d'extrait —————→ poids de souris

$$\text{La dose de l'extrait} = \frac{0,1\text{mg} \times \text{poids de souris}}{30\text{mg}}$$

○ Groupe 4

50mg d'extrait —————→ 1000g
Xmg d'extrait —————→ poids de souris

$$\text{La dose de l'extrait} = \frac{0,1\text{mg} \times \text{poids de souris}}{50\text{mg}}$$

➤ La dose de l'INK (solution de carbone) :

0,1ml —————→ 10g
X ml —————→ poids de souris

$$\text{La dose de l'INK} = \frac{0,1\text{ml} \times \text{poids de souris}}{10\text{g}}$$

II. Préparation de NaCl (chlore de sodium à 0,9%)

NaCl : 0,9g

L'eau distillée : 100ml

III. Préparation de gélatine

Gélatine : 0,3g

L'eau distillée : 100ml

IV. Préparation de Na₂CO₃ (carbonate de sodium)

Na₂CO₃ : 0,1g

L'eau distillée : 100ml

V. Préparation de L'INK

NaCl : 4ml

L'ancre de chine (carbone) : 3ml

Gélatine : 4ml

Résumé

Les lectines sont des substances protéiques extraits des plantes ou d'animaux.

Le but de ce travail était de chercher la présence de lectines dans des extraits des racines de cinq plantes médicinales par le test d'hémagglutination, d'extraire des lectines et leur étude biologique.

L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par la chromatographie sur colonne, puis une quantité d'extrait a été lyophilisée.

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Astragalus armatus* a été 1:9(512). Et celle d'*Ocimum basilicum* a été 1:7(128).

Les lectines des extraits d'*Astragalus armatus* ont données une forte sélectivité sur les hématies du groupe A. l'extrait d'*Ocimum basilicum* n'a montré aucune capacité à distinguer les groupes sanguins humains.

Pour certains nombre de sucre seul galactose inhibe l'activité hémagglutinante des lectines d'*Ocimum basilicum*.

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Astragalus armatus* a été stable dans la gamme pH 3-7,5 et jusqu'à 60°C pendant une heure. Tandis que d'*Ocimum basilicum* a été stable dans la gamme pH 2-7,5 et jusqu'à 80°C pendant une heure.

L'extrait d'*Astragalus armatus* a un effet immunitaire

Mots clés : *Astragalus armatus* L, *Ocimum basilicum* L, Lectine, Extraction, Hémmagglutination, Activité phagocytaire.

Abstract

Lectins are proteins substances extracted from plants or animals.

The objective of this study was to investigate the presence of lectins in extracts of five medicinals plants by the haemagglutination test, extract lectins and their biological study.

The extraction was made by crushing and macération in a buffer solution was followed by chroatology column, and then an amount of extract was lyophilized.

The haemagglutinating activity of *Astragalus armatus* was 1:9(512). And the *Ocimum basilicum* was 1:7(128).

Lectins extracts of *Astragalus armatus* have given a highly selective groupe A erythrocytes. *Ocimum basilium* extract showed no ability to distinguish human blood groups.

For some number of single sugar galactose inhibe the haemagglutinating activity of *Ocimum basilicum* lectins.

The extract *Astragalus armatus* was stable in the pH range of 3-7,5 and heat stable up to 60°C. The extract *Ocimum basilicum* was stable in the pH range of 2-7,5 and heat stable up to 80°C.

The extrct of *Atragalus armatus* have immune effect.

Key words: *Astragalus armatus* L, *Ocimum basilicum* L, Lectin, Extraction, Hémagglutination, Phagocytic activity.

اللكتينات هي مواد بروتينية ستخلص من النباتات أو الحيوانات.

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة وجود اللكتينات في مستخلص جذور خمسة نباتات طبية و ذلك عن طريق اختبار التراص ثم استخراجها و دراستها بيولوجيا.

الاستخلاص يكون عن طريق طحنها و نقعها في محلول ملحي ثم تمريرها عبر بعملية التجميد و التجفيف .

Astragalus armatus نتيجة نشاط التراص كانت (512): 1 ,

Ocimum basilicum (128): 1 .

اللكتينات *Astragalus armatus* أعطت انتقائية عالية على الكريات الدموية الحمراء للمجموعة,

بينما مستخلص *Ocimum basilicum* ليس له القدرة على التمييز بين مجموعات الكريات الدموية الحمراء البشرية.

من بين السكريات المستعملة له القدرة على تثبيط عملية تراص اللكتين المستخلص

. *Ocimum basilicum*

عملية التراص لمستخلص *Astragalus armatus* pH 3-7,5 60°C

, بينما *Ocimum basilicum* فإن استقرارها يكون في نطاق pH 2-7,5 80°C

Astragalus armatus له تأثير مناعي.

الكلمات المفتاحية : *Ocimum basilicum* L, *Astragalus armatus* L , لكتين,

NOM : MESSAI

DATE DE SOUTENANCE

PRENOM : Alima

13/ 02/ 2014

Thème : EXTRACTION DES LECTINES Á PARTIR DES PLANTES MEDICNALES
ET LEURS ETUDES BIOLOGIQUES

Option : Biologie Appliqué

Résumé:

Les lectines sont des protéines ou des glycoprotéines d'origines : animale, végétales, champignon et bactéries. Certains lectines sont utilisées dans des banques de sang pour la détermination du groupe sanguin.

Les extractions des lectines ont été réalisés à partir des cinq plantes médicinales.

Après des tests par des hématies de lapins, les limites d'agglutination d'*Astragalus armatus* et d'*Ocimum basilicum* ont été 1 :9(512) et 1 :7(128) respectivement.

Les lectines des extraits d'*Astragalus armatus* ont données une forte sélectivité sur les hématies du groupe A. l'extrait d'*Ocimum basilicum* n'a montré aucune capacité à distinguer les groupes sanguins humains.

Pour certains nombre de sucre seulle galactose a inhibé l'activité hémagglutinante des lectines d'*Ocimum basilicum*.

L'activité hémagglutinante d'extrait d'*Astragalus armatus* a été stable dans la gamme de pH 3-7,5 et jusqu'à 60°C pendant une heure. Tandis que d'*Ocimum basilicum* a été stable dans la gamme pH 2-7,5 et jusqu'à 80°C pendant une heure.

L'extrait d'*Astragalus armatus* a un effet immunitaire.

Mots clés: *Astragalus armatus* L, *Ocimum basilicum* L, Lectine, Extraction, Hémagglutination, Activité phagocytaire.

LABORATOIRE DE RECHERCHE: Laboratoire d'Immunologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Constantine1

Président : D. KHELIFI Pr. Université Constantine1

Directeur de thèse : Y. NECIB MC. Université Constantine1

Examineurs : S. ZRIZER Pr. Université Constantine1

T. NOUADRI MC. Université Constantine1