



الجمهورية الجزائرية الشعبية الديمقراطية



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : *Biochimie moléculaire et santé***

Intitulé :

**Etude de l'effet des lectines extraites à partir des plantes  
médicinale  
(*zizyphus jujuba* et *calycotome villosa*) sur l'activité immunitaire et  
antioxydant**

**Présenté et soutenu par :**  
❖ BENCHEKHCHOUKH Sara  
❖ BOUTAGHANE Amina

**Le : 02-6-2016**

**Jury d'évaluation :**  
**Présidente du jury : BAHY A. (MCB.UFM Constantine)**

**Rapporteur : NECIB Y. (Pr.UFM Constantine)**

**Examineur : DJEMAI ZOUGHLACHE S. (MAA UFM Constantine)**

***Année universitaire***  
**2015-2016**



## *Remerciement*

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur :*

*Mr. **NECIB . Y** pour son aide et son assistance permanente ainsi que ses fructueux conseils,*

*Nous exprimons notre sincère gratitude à **Mme BAZI . A**, maître-assistante à Université des Frères Mentouri Constantine, pour ses aides techniques et ses orientations. Pour tous les conseils et l'attention qu'elle nous a prodigué tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Pour sa gentillesse, simplicité, sa sympathie nous sommes très honorés que nous ayons la chance de travailler avec lui.*

*A tous nos professeurs, et tout ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation et l'accomplissement de ce travail.*

*Merci .....*





# Dédicace

*Sara*

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers*

*A ma tendre mère **Merieme** qui m'a toujours*

*Inondé de sa tendresse, qui m'a encouragé dans tout ce que j'ai*

*Entrepris et a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A mon cher père **Farid** qui m'a enseigné le sens du devoir et de  
responsabilité*

*, je ne pourrai lui compenser les sacrifices qu'il a consentis pour moi*

*et très cher frère **OUSSAMA** présents*

*Dans tous mes moments par son soutien moral, Ma sœur : **Rayouna***

*A ma binôme : **BOUTAGHANE AMINA***

*MA COPINE : **MOUNA BOULBERHANE***

*A MES COLLAGUES **SARSOURA** et **SOUHAÏLA***

*A tous les étudiants de biochimie et particulièrement la promotion*

*2016*

*A tous les gens que j'aime ....*





# Dédicace

*Amina*

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers*

*A ma tendre mère **MASSOUDA** qui m'a toujours*

*Inondé de sa tendresse, qui m'a encouragé dans tout ce que j'ai*

*Entrepris et a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A mon cher père **AMAR** qui m'a enseigné le sens du devoir et de  
responsabilité*

*, je ne pourrai lui compenser les sacrifices qu'il a consentis pour moi*

*A mes frères, **MOUNIR** a son petite belle fille **MAYA** et très cher frère  
**BOUBAKEUR** présents*

*Dans tous mes moments par son soutien moral, a son fils **SALOUHA** et  
leurs femmes **NOUHA ET WARDA***

*Mes sœurs : **rafica, hayat, ilham, nouha**, leurs maries et leur enfants*

*Mon fiançait **KAMEL** et tous la famille fateh*

*A ma binôme : **BENCHAKHCHOUKHE SARA***

*A ma voisine **MOUNA BOULBERHANE***

*A MES Collègues **SARSOURA ET ISMAHAN***

*A tous les étudiants de biochimie et particulièrement la promotion  
2016*

*A tous les gens que j'aime .....*



## Résumé

Les lectines forment une famille de protéines et de glycoprotéines hétérogène qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques. Le but de ce travail est de chercher la présence des lectines dans les extraits racinaires de deux plantes médicinales par le test d'héماغglutination et leur étude biologique.

L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par la chromatographie sur colonne et puis par l'activité immunitaire et l'activité antioxydante .

L'activité héماغglutination d'extrait de *calycotome villosa* L a été de 1/9 ( 512) tandis qu'elle a été de 1/8 (256) de *zizyphus jujuba* L.

Les lectines de *zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa* L ne présentent aucune spécificité pour les saccharides testés . Un test des métaux a été réalisé, le lectines de *calycotome villosa* présente une inhibition avec les trois métaux testée , alors montre que notre lectine est une métalloprotéine , contrairement le *zizyphus jujuba* qui n'ont pas été inhibé par les trois métaux . les lectines de deux plantes reste stable toute au long de gamme du pH testée de **1 jusqu'a 12**. Pour Le traitement thermique l'extrait racinaire de *Calycotome villosa* L et *zizyphus jujuba* L, a réduit significativement leur activité héماغglutinante , Mais jusqu' à 90 °C, elle n'a été pas suffisant pour inactiver totalement l'activité héماغglutinante. les lectines de *calycotome villosa* L agglutinent tous les types des groupes sanguins ( ont données une forte sélectivité surtout sur les hématie du groupe A et B ) , par contre les lectines de *zizyphus jujuba* L n'agglutine aucune des types des groupes sanguins.

L'application de la chromatographie sur colonne de séphadex G 25 sur les extraits , *zizyphus jujuba* L et *Calycotome villosa* L ont données un seul pic. Et sur colonne de sephadex G75 sur l'extrait de *zizyphus jujuba* L a donné un seul pic par contre l'extrait de *calycotome villosa* a montré deux pic . Un autre test a montré que plus la dose employée augmente plus le système immunitaire est stimulé, ce qu'il prouve l'effet qu'exerce les lectines de *Calycotome villosa* L et *zizyphus jujuba* L sur le système immunitaire.

l'extrait *calycotome villosa* possède une activité antioxydant maximale par rapport a l'extrait de *zizyphus jujuba*.

**Mots clés:** Lectines, Extraction, Activité héماغglutinante, Plante médicinale, Saccharide, Système ABO , système immunitaire



## ملخص

تعد اللكتينات من عائلة البروتينات والبروتينات السكرية الغير متجانسة والقابلة للتعرف على السكريات قليلة التعدد والسكريات المتعددة والغرض من هذا العمل هو البحث عن وجود اللكتينات واستخلاصها من جذور اثنين من النباتات الطبية من خلال اختبار التراص والدراسة البيولوجية وجاء هذا الاستخراج عن طريق طحن والنقع في محلول ملحي ثم تمريرها عبر الكروماتوغرافي العمودي ثم النشاط المناعي والنشاط المضاد للأكسدة. في حين أبدا مستخلص *calycotome villosa* L حدة تراص تقدر 1/9 (512)

اظهر مستخلص *zizyphus jujuba* L نشاط تراص 1/8 (256)

لكتينات النباتات المدروسة لم تظهر أي توافق مع السكريات المدروسة

اظهر مستخلص *calycotome villosa* تأثيرها على المعادن الثلاثة من خلال تثبيطها وهادا يدل على

لكتيناتنا تعد من البروتينات المعدنية.

في حين لم تظهر لكتينات *zizyphus jujuba* أي تأثير

5NDZ5I@ & NQZ (12-1) ph

ان المعالجة الدية للمستخلصات الاتنين من 40 إلى 90 درجة مئوية لم تكن كافية لتثبيط قدرتها التراصية

اظهرت *calycotome villosa* أظهرت

مجموعتين B و A. في حين لم تظهر لكتينات *Zizyphus jujuba*.

ان تطبيق الكروماتوغرافي العمودي على كلا النوعين باستعمال séphadex G 25 أعطى ذروة واحدة

وباستعمال séphadex G75 على مستخلص *Zizyphus jujuba* أعطى ذروة واحدة في حين أعطى ذروتين على

مستخلص *calycotome villosa*

اظهر اختبار آخر انه كلما ارتفعت الجرعة المستخدمة زاد تحفيز الجهاز المناعي وهادا يثبت تأثير لكتينات النباتات المدروسة على الجهاز المناعي

اعطى مستخلص *Calycotome villosa* *zizyphus jujuba*

الكلمات المفتاحية: اللكتينات, استخلاص, نشاط التراص, نبتة طبية, سكر, نظام ABO, الجهاز المناعي

## Abstract

Lectins are a family of proteins and heterogeneous glycoproteins which recognize certain oligosaccharide structures. The aim of this work is to look for the presence of lectins in the root extracts of two medicinal plants through the test of hemagglutination and their biological study.

The extraction was made by grinding and maceration in a buffer solution, followed by column chromatography and then by the immune activity and the antioxidant activity.

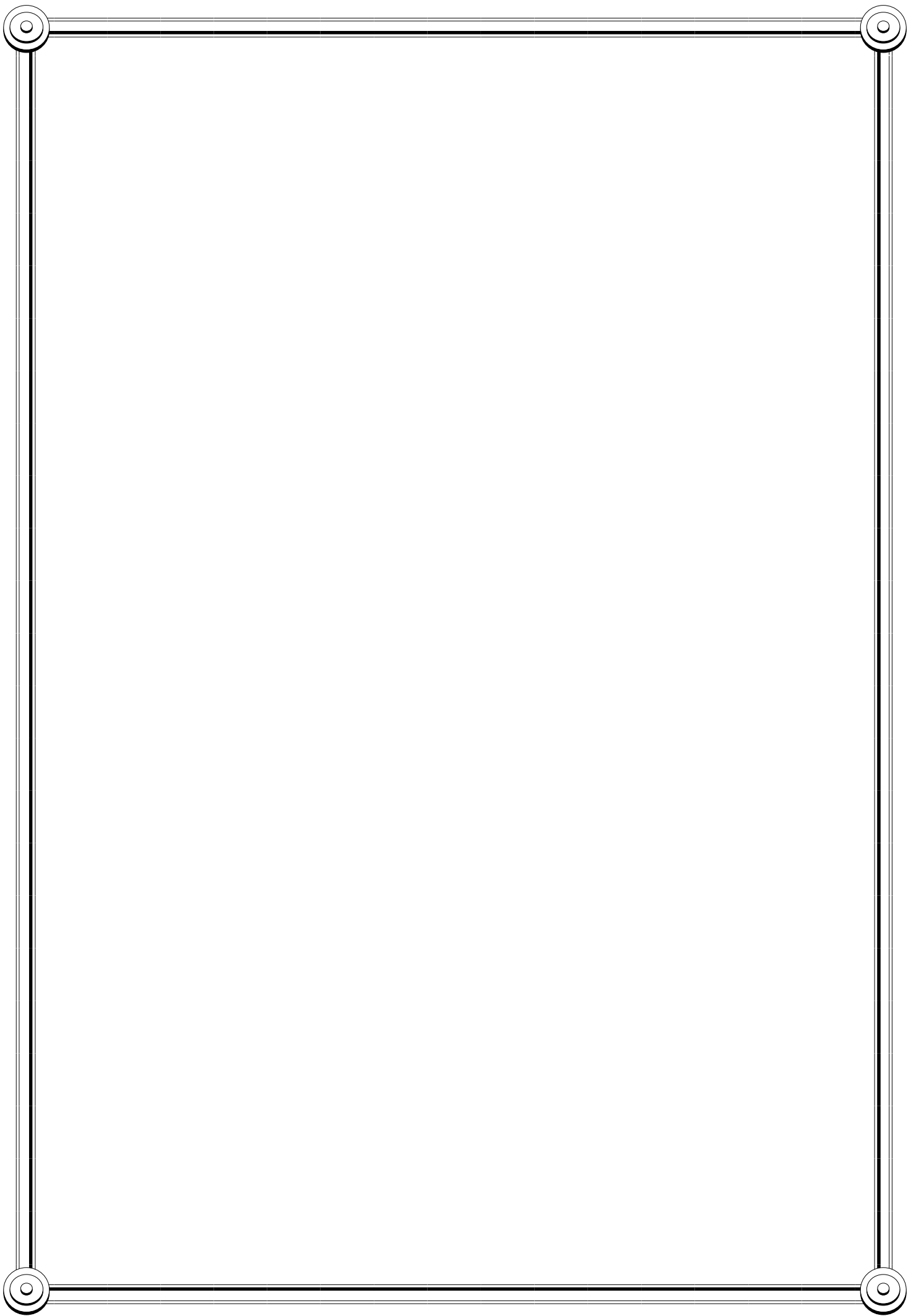
The hemagglutination activity of the extract *Calycotome villosa* L was 1/9 (512) while it was 1/8 (256) of *Zizyphus jujuba* L.

Lectins *Zizyphus jujuba* and *Calycotome villosa* L do not present any specificity for the tested saccharides. A test of the metals has been achieved; the lectins of this *Calycotome villosa* present an inhibition with the three tested metals. It shows then that our lectin is a metalloprotein, unlike the *Zizyphus jujuba* which has not been inhibited by the three metals. The lectins of the two plants remain stable throughout the entire range of tested pH of 1 up to 12. Concerning the heat treatment, the root extract of *Calycotome villosa* L and L *Zizyphus jujuba*, significantly reduced their hemagglutinating activity, but up to 90 ° C, it was not enough to inactivate the hemagglutinating activity completely. Lectins *Calycotome villosa* L agglutinates all types of blood groups (have shown a high selectivity especially on the red cells of the group A and B); contrariwise, the lectins of *Zizyphus jujuba* L do not agglutinate anything from the types of blood groups.

The application of chromatography on the column of Sephadex G 25 on the extracts of *Zizyphus jujuba* L and *Calycotome villosa* have given a single peak. And on the column of Sephadex G75 on the extract of *Zizyphus jujuba* L has given a single peak; however, the extract of *Calycotome villosa* has shown two peaks. Another test has shown that the more employed dose increases, the more the immune system is stimulated. This proves the effect that exerts the lectins of *Calycotome villosa* L and L *Zizyphus jujuba* on the immune system.

the extracts of *Zizyphus jujuba* L and *Calycotome villosa* have given a maximum antioxidant activity

**Keywords: Lectins, Extraction, hemagglutinating activity, Medicinal plant, saccharide, ABO system, immune system ,**





# Sommaire



# Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

**Introduction ..... 01**

## **Section I :Etude Bibliographique**

### ***Chapitre I : Généralités sur les lectines***

**1- Définition des lectines.....03**

**2- Historique.....04**

**3- La structure des lectines .....07**

3-1 -Les lectines simple .....07

3-2- les lectines en mosaïques.....08

3-3- Les assemblages macromoléculaires.....08

**4- Les sites de liaisons des lectines.....09**

**5- La spécificité et l'affinité des lectines .....09**

**6- La Classification des lectines .....11**

6-1- Chez les animaux.....11

a) Les lectines extracellulaires.....11

## Sommaire

---

b) Les lectines intracellulaires.....	11
6-2- Chez les végétaux .....	11
a) Les mérolectines .....	11
b) Les hololectines.....	11
c) Les chimérolectines.....	12
d) Les superlectines.....	12
<b>7- Distribution des lectines dans le monde de vivant .....</b>	<b>12</b>
7-1- Les lectines animales.....	13
7-2- Les lectines des plantes.....	14
7-3- Les lectines des microorganismes.....	15
<b>8-Fonction biologique des lectines .....</b>	<b>16</b>
8-1-Chez les plantes .....	16
8-2- Chez l'homme.....	17
<b>9-Propriétés des lectine .....</b>	<b>17</b>
9-1- L'interaction lectine–glucide .....	17
9-2- L'agglutination des cellules .....	18
9-3- L'activités mitogène .....	18
9-4- Effets mimétiques des hormones.....	18
9-5- Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses.....	18
9-6- La propriété antivirales .....	19
9-7- La propriété antibactérienne .....	19
9-8- Autres propriétés.....	19
<b>10- L'intérêt des lectines .....</b>	<b>19</b>
10-1- En biochimie et protéomique.....	20

## Sommaire

---

10-2-Dans le domaine biomédical .....	20
a) <i>Hématologie</i> .....	20
b) <i>Immunologie</i> .....	20
c) <i>Biologie cellulaire</i> .....	20
d) <i>Cancérologie</i> .....	21
10-3-Dans le domaine agronomique .....	21

<b>11-Le rôle des lectines dans l'immunité.....</b>	<b>21</b>
---	-----------

### ***Chapitre II : Le système sanguin***

#### **Les groupes sanguins**

<b>1-Historique.....</b>	<b>23</b>
<b>2-Le système ABO.....</b>	<b>23</b>
<b>3-Facteur rhésus .....</b>	<b>24</b>
<b>4-Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO.....</b>	<b>24</b>
<b>5-Détermination du groupe sanguin.....</b>	<b>25</b>

### ***Chapitre III : Le stress oxydant***

<b>1-Définition.....</b>	<b>26</b>
<b>2-Les espèces réactives de l'oxygène.....</b>	<b>27</b>
<b>3- Les cibles biologiques du stress oxydant.....</b>	<b>28</b>
3-1- Les lipides.....	29
3-2- Les protéines.....	30

## Sommaire

3-3- Les acide nucléiques.....	31
<b>4- Le stress oxydant et les pathologies.....</b>	<b>33</b>
<b>5-Systèmes de défenses antioxydants.....</b>	<b>33</b>
5-1- Les systèmes enzymatiques.....	34
a) La Supe oxyde dismutase .....	34
b) La catalase .....	35
c) Les glutathions peroxydases et réductases .....	35
d) Les systèmes antioxydants non enzymatiques	
5-2- Les systèmes antioxydants non enzymatiques .....	35
5-2-1- Le Glutathion réduit (GSH).....	36
5-2-2- La Vitamine E.....	36
5-2-3- La Vitamine C.....	36
5-2-4- Les métallothionèines (MTS).....	36
5-2-5- Le Sélénium.....	37

### ***Chapitre VI : Les plantes médicinales***

<b>1. <i>Zizyphus jujuba (L) Lam</i> .....</b>	<b>38</b>
1.1. Généralité .....	38
1.2. Nom commun .....	38
1.3. La Classification scientifique de <i>Zizyphus jujuba (L) Lam</i> .....	38
1.4. La Description botanique de <i>Zizyphus jujuba (L) Lam</i> .....	39
1.5. Utilisation médicinales.....	40



## Sommaire

<b>2. Le <i>Calycotome villosa</i> Link</b> .....	<b>41</b>
2.1. Généralité .....	41
2.2 . Nom commun .....	41
2.3. La Classification scientifique de <i>Calycotome villosa link</i> .....	41
2.4. La Description botanique de <i>Calycotome villosa link</i> .....	42
2.5. L'utilisation médicinales .....	43

### Section II : Matériels et méthodes

<b>1-Matériels et méthodes des tests phytochimiques</b> .....	<b>44</b>
1-1- Matériel végétale.....	44
1-2- Les méthodes .....	44
<b>1-2-2 L'Extraction des plantes</b> .....	<b>45</b>
a) Le Principe .....	45
b) La Technique d'extraction .....	45
<b>1-2-3 Le test d'hémagglutination</b> .....	<b>47</b>
1-2-3-1 La Préparation des hématies à 3%.....	47
a) Lavage des hématies .....	47
b) La dilution des hématies.....	47
1-2-3-2 La technique d'hémagglutination.....	47
<b>1-2-4 La limite d'hémagglutination</b> .....	<b>47</b>
<b>1-2-5 L'effet de la température sur l'hémagglutination</b> .....	<b>48</b>
<b>1-2-6 L'effet du pH sur l'hémagglutination</b> .....	<b>48</b>

# Sommaire

---

<b>1-2-7 Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides .....</b>	<b>48</b>
<b>1-2-8 Le test de la limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides ....</b>	<b>48</b>
<b>1-2-9 Le Test des métaux (oligoéléments) .....</b>	<b>49</b>
<b>1-2-10 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....</b>	<b>49</b>
<b>1-2-11 La purification des lectines par la chromatographie échangeuse d'ions ...</b>	<b>49</b>
<b>1-2-12 L'activité antioxydante des lectines in vitro.....</b>	<b>50</b>
1.2.12.1 Dosage de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD) .....	50
1.2.12.2 Effet scavenger du radical DPPH in vitro.....	50
1.2.12.3 Dosage de l'activité de fer ferrique .....	50
1.2.12.3 Dosage des protéines .....	50
<b>2. Matériels et méthodes des tests biologiques.....</b>	<b>50</b>
2.1. Matériel biologique et conditions d'élevage .....	51
2.2. Le Traitement des souris.....	51
<b>3. Analyse statistique .....</b>	<b>53</b>
<b>Les résultats d'étude et la discussion .....</b>	<b>54</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>73</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>74</b>



# Liste des abréviations

## Liste des abréviations

---

**ACA** : *Amaranthuscaudatus*

**CDMPR** : la lectine bovine

**Con A** : Concavaline A lectine

**ConBr** : la lectine de *Canavaliabrasilensis*

**ConM** : *Canavaliamaritima*

**CRD** : *Carbohydrate Recognition Domain*

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène

**Fuc** : le Fucose

**Gal** : le Galactose

**GalNAc** : N acetylgalactosamine

**GlcNAc** : le N-acetylglucosamine

**GNA** : *Galanthus nivalis* agglutinine

**Glu** : glucose

**GR** : La glutathion réductase

**4-HNE** : 4-hydroxynonéal

**HSP** : Heat Shock Protein

**LTLs** : lectines humain de type L

**Man** : Mannose

**MBL** : mannose binding lectin

**MDA** : le malondialdéhyde

**MTS** : Les métallothionéines

**NeuAc** : acide N-acetylneuraminique

**RIPs** : Ribosomes inactivant les protéines

**RL** : radicaux libres

**ROS** : reactive oxygen species

**SOD** : superoxyde dismutase

**VSP** : végétatif stockage protéines







# Liste des Tableau

## Liste des Tableau

---

<b>Tableau 01</b> : les lectines et leurs applications .....	04
<b>Tableau 02</b> : Historique de la découverte des lectines .....	05
<b>Tableau 03</b> : La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines .....	10
<b>Tableau 04</b> : La classification structurale des lectines des plants .....	12
<b>Tableau 05</b> : Les Lectines spécifiques des groupes sanguins.....	25
<b>Tableau 06</b> : Composition du régime alimentaire pour 1 kg d'aliment .....	51
<b>Tableau 07</b> : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut du <i>calycotome villosa L</i> , <i>zizyphus jujuba L</i> .....	54
<b>Tableau 08</b> : L'activité hémagglutinante des extraits <i>zizyphus jujuba L</i> , <i>calycotome villosa L</i> .....	55
<b>Tableau 09</b> : Le test d'inhibition des extraits bruts avec le glucose, galactose, mannose, et le Lactose.....	57
<b>Tableau 10</b> : Le test d'inhibition des extraits bruts avec le Ca ++, Magnésium , Manganèse.....	58
<b>Tableau 11</b> : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante des extraits de <i>zizyphus jujuba L</i> et de <i>calycotome villosa L</i> .....	59
<b>Tableau 12</b> : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits de <i>Calycotome villosa L</i> <i>zizyphus jujuba L</i> .....	61
<b>Tableau 13</b> : L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut de <i>zizyphus jujuba L</i> , <i>calycotome villosa L</i> .....	62
<b>Tableau 14</b> : La concentration en protéines dans lectine brut et purifié de <i>Zizyphus jujuba et Calycotome villosa</i> .....	68

<b>Tableau 15 :</b> le teste anti radicalaire de lectines purifiées de <i>zizyphus jujuba et calycotome villosa</i> .....	70
---	----



# Liste des figures

## Liste des figures

---

### Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de <i>canavaliensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde .....	07
<b>Figure 02</b> : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique .....	08
<b>Figure 03</b> : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie <i>d'Escherichia coli</i> .....	08
<b>Figure 04</b> : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides ....	09
<b>Figure 05</b> : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) .....	13
<b>Figure 06</b> : Tétramère de la protéine ConM de <i>Canavaliamaritima</i> complexée avec le tréhalose .....	15
<b>Figure 07</b> : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO .....	24
<b>Figure 08</b> : Stress oxydant .....	27
<b>Figure 09</b> : Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie .....	28
<b>Figure 10</b> : Réactions de la peroxydation lipidique .....	30
<b>Figure 11</b> : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire .....	31
<b>Figure 12</b> : Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires .....	32
<b>Figure 13</b> : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants .....	34
<b>Figure 14</b> : : Schéma résume le mécanisme de détoxification enzymatique .....	35

## Liste des Figures

---

<b>Figure 15</b> : Le schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires des plantes .....	46
<b>Figure 16</b> : Schéma récapitulatif du protocole expérimental de dosage de l'activité phagocytaire et l'index phagocytaire corrigé $\alpha$ .....	52
<b>Figure 17</b> : Filtration de extrait de <i>zizyphus jujuba</i> et <i>calycotome villosa</i> sur colonne de sephadex <b>G25</b> .....	63
<b>Figure 18</b> : Filtration de extrait de <i>zizyphus jujuba</i> et <i>calycotome villosa</i> sur colonne de sephadex <b>G75</b> .....	64
<b>Figure 19</b> : Filtration de extrait de <i>zizyphus jujuba</i> et <i>calycotome villosa</i> sur colonne de Na cl .....	65
<b>Figure 20</b> : Effet des lectines extraites de <i>zizyphus jujuba</i> et <i>calycotome villosa</i> sur l'activité phagocytaire .....	66
<b>Figure 21</b> : Effet de lectines extraites de <i>zizyphus jujuba</i> et <i>calycotome villosa</i> sur la demi-vie $t_{1/2}$ du carbone dans le sang .....	67
<b>Figure 22</b> : Effet de lectines extraites de <i>zizyphus jujuba</i> ( <i>J</i> ) et <i>calycotome villosa</i> ( <i>c</i> ) sur indice phagocytaire corrigé.....	68





***Liste des photos***

## Liste des photos

<b>Photo 01</b> : <i>Zizyphus jujuba</i> (L) Lam .....	39
<b>Photo 02</b> : Rameau, feuilles et greffon d'un jujubier .....	40
<b>Photo 03</b> : <i>Calycotome villosa</i> (poir) Link .....	42
<b>Photo 4</b> : les deux plantes médicinales récoltées de la région de Ouad Mila .....	44
<b>Photo 05</b> : racines sèches des deux plantes médicinales .....	45
<b>Photo 06</b> : Poudre des deux plantes .....	45
<b>Photo 07</b> : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait du <i>calycotome villosa</i> L	54
<b>Photo 08</b> : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait de <i>zizyphus jujuba</i> L .....	55
<b>Photo 09</b> : la limite d' hémagglutination de <i>zizyphus jujuba</i> L .....	56
<b>Photo 10</b> : la limite d' hémagglutination de <i>calycotome villosa</i> L .....	56
<b>Photo 11</b> : Le test d'inhibition d'hémagglutination par de métaux de l'extrait de <i>zizyphus jujuba</i> L ( <b>J</b> ) et de <i>calycotome villosa</i> L ( <b>C</b> ) avec trois métaux ; Ca <sup>++</sup> , Mg <sup>++</sup> , Mn <sup>++</sup> .	58
<b>Photo 12</b> : : le teste de l'effet du ph sur l'hémagglutination de l'extrait du <i>Calycotome villosa</i> L ( <b>c</b> ) , de <i>zizyphus jujuba</i> L ( <b>J</b> ) .....	60
<b>Photo 13</b> :L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits <i>zizyphus jujuba</i> L , <i>calycotome villosa</i> L .....	61
<b>Photo 14</b> : L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par les deux extraits bruts , <i>zizyphus jujuba</i> L ( <b>J</b> ) , <i>calycotome villosa</i> L ( <b>C</b> ) .....	62



A decorative scroll graphic with a purple outline, featuring a rolled-up top edge and a hanging bottom edge. The word "Introduction" is centered within the scroll.

# *Introduction*



## Introduction

---

### Introduction

Les lectines constituent un groupe de protéines ou de glycoprotéines d'origine non-immunitaire, qui se lient de façon réversible aux hydrates de carbone et le plus souvent agglutinent les cellules ou précipitent les polysaccharides et des glycoconjugués. (**Goldstein et al, 1980**). Les lectines ont été redéfinies par Peumans & Van Damme en 1995 tant que protéines possédant au moins un domaine non catalytique, qui se lie de façon réversible à un mono ou oligosaccharide spécifique. Toutefois, selon Cummings (1997), des protéines à activité enzymatique liés à des hydrates de carbone ne peuvent être considérés comme des lectines. En conséquence de leurs propriétés chimiques, ils sont devenus un outil dans plusieurs domaines de la recherche biologique (immunologie, biologie cellulaire, structure de la membrane, recherche sur le cancer et le génie génétique). Les lectines sont présentes dans un large éventail d'organismes de la bactérie aux animaux, étant présentes dans toutes les classes et les familles, mais pas dans tous les genres et espèces (**Lis et Sharon, 1994**). Beaucoup de plantes à fleurs de groupes taxonomiques divers s'accumulent de grandes quantités de ce qu'on appelle VSP (végétatif stockage protéines) dans divers organes de stockage végétatif. Ces VSP jouent un rôle primordial dans l'accumulation d'azote, le stockage et la distribution dans les plantes bisannuelles et vivaces, et en conséquence, on pense à contribuer à la survie de la plante dans son environnement naturel (**Staswick, 1994**). En outre, certains VSP avec une activité enzymatique particulière ou autre activité biologique agissent comme des protéines de défense contre les animaux herbivores spécifiques ou des invertébrés phytophages par exemple, et peut donc jouer un double rôle de stockage / défense (**Peumans et Van Damme, 1995 ; Yeh et al, 1997**).

Plusieurs arbres de légumineuses non seulement ont démontré l'apparition de VSP spécifique à écorce abondante, mais aussi conduit à l'identification de certains de ces VSP d'écorce.

La présente étude a été réalisée afin d'étudier la présence des lectines dans les racines de *Zizyphus jujuba* (L) Lam et *Calicotome villosa* (Poir.) Link. Ces plantes n'ont été jamais étudiées en Algérie sur l'extraction des lectines, raison pour laquelle nous avons fixé les objectifs suivants :

- Etude la présence des lectines par le test hémaagglutination avec le sang des lapins.
- Etude l'effet de la température, pH et métaux sur l'activité de ces lectines.

## Introduction

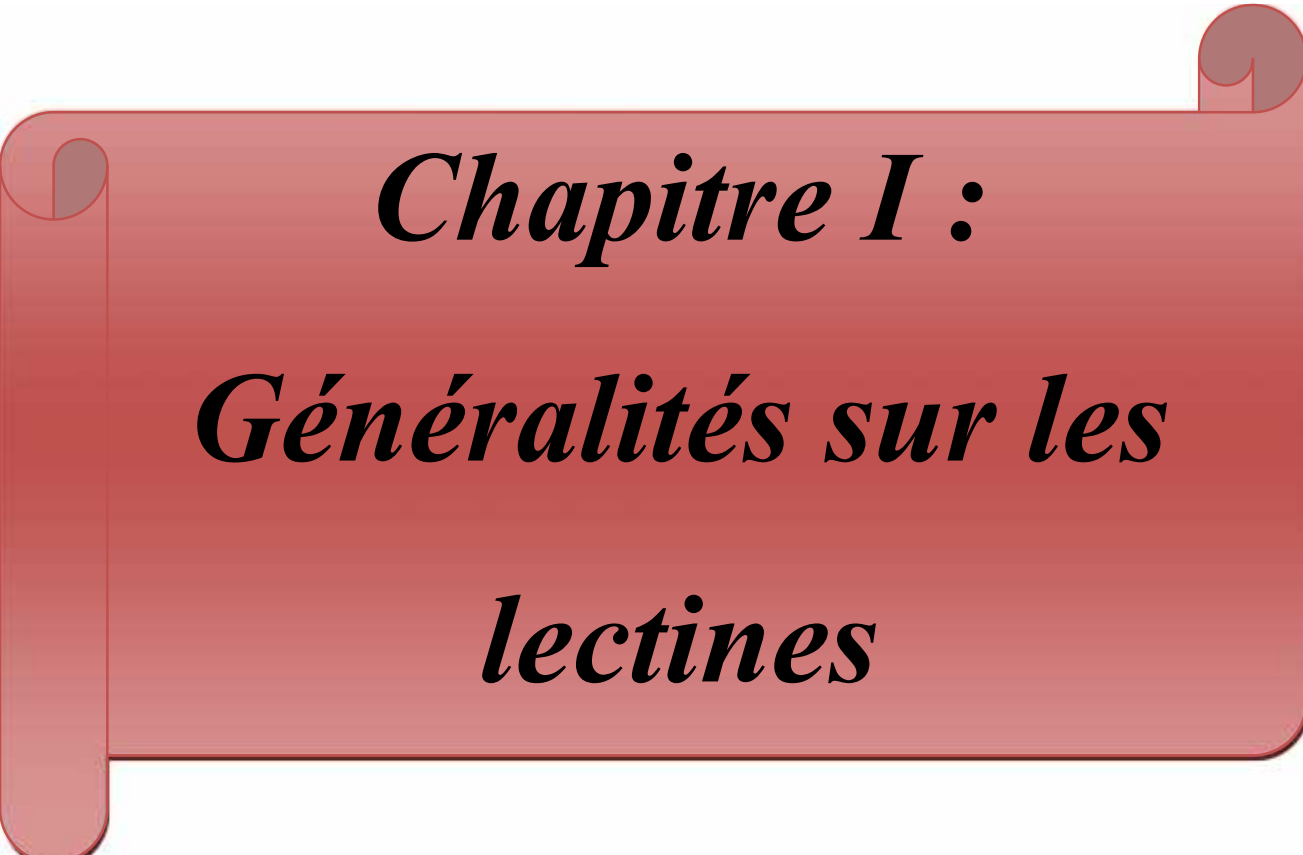
---

- Etude l'affinité de ces lectines vers le glucide et les glycoprotéines par le test d'inhibition d'une part et vers les globules rouges de l'être humain par le test ABO d'autre part.
- Etude de L'activité anti-oxydante des lectines in vitro.
- Etude l'effet de ces lectines sur l'activité immunitaire.





*Partie*  
*Bibliographique*

A decorative red scroll graphic with rounded corners and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

***Chapitre I :***  
***Généralités sur les***  
***lectines***

### Chapitre I : Généralités sur les lectines

#### 1. Définition des lectines

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capables de reconnaître des glucides complexes de manière spécifique et réversible. Ces protéines ne montrent aucune activité enzymatique vis-à-vis de leur ligand (**Lis et Sharon , 1998**). Cette classe des protéines est dénommée par Boyd en 1954, sous le nom «lectine» dérivée du mot latin «lectus» qui est le participe passé du verbe «légère», qui veut dire «sélectionner» ou «choisir» (**Lieneret al., 1986**). 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**) Elles sont aussi appelées agglutinines car elles sont capables d'agglutiner les cellules (comme les érythrocytes) et les glycoconjugués. Cette caractéristique très importante des lectines est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes , car elles possèdent au moins deux sites de reconnaissances par molécule, ce qui permet d'expliquer pourquoi elles vont précipiter des polysaccharides, des glycoprotéines ou des glycolipides et induire l'agglutination de cellules diverses( **Liener et al, 1986**). 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 (**Meiteet al., 2006**). Bien qu'il existe des lectines thermorésistants (**Guillaume, 1993**). Quelques lectines importantes sont énumérées dans le **tableau 1**

## Chapitre I : Généralités sur les lectine

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

Lectines	Exemple et commentaire
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 ricine
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 le B-galactose, elles ont des rôles dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire

### 2. Historique

En 1888, P. H Stillmarka découvre la première lectine qui décrit dans sa thèse de doctorat présentée à l'université de Dopratt (maintenant Tartu, Estonie) que des extraits de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes. (Sharon et Lis, 2004). . A partir de ce moment, d'autres substances d'origine végétale possédant une activité hémagglutinante ont été découvertes. Ensuite P. Ehrlich découvre la même activité dans l'extrait du pois rouge (*Abrus precatorius*).

En 1919, James B. Sumner, de l'université Cornell (Ithaca, New York), isole 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

## Chapitre I : Généralités sur les lectine

l'inhibition de l'hémagglutination de la concanavaline A par des saccharoses (**Sumner et Howell, 1936**).

En 1954, Boyd & Sharples ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytes humains d'un groupe sanguin donné (**Boyd et Sharples, 1954**). L'étape importante dans l'histoire des hémagglutinines est la découverte que certaines d'entre elles agglutinent les globules rouges appartenant uniquement à un groupe sanguin donné (système ABO) sans affecter les cellules sanguines des autres groupes.

**Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines (renato et col, 1991)**

Année	Auteur	Découvertes
1884	Warden & Waddel /Bruyllant & Venneman	Toxicités de la graine d'Abrus Precatorius
1886	Dixson	Toxicités de la graine de Ricinus communis
1888	Stillmark	Activité hémagglutinante de la graine de Ricinus communis Toxicités de la graine de Croton tiglium
1890	Erlich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activité hémagglutinante de la graine de Abrus Precatorius
1897	Elfstrand	Introduction du terme d'"hémagglutinine

## Chapitre I : Généralités sur les lectine

1902	Landsteiner	La réversibilité de l'hémagglutination par la Chaleur
1919	Sumner	Isolement et cristallisation de la Concanavalina A (Con A)
1926-7	Marcusson-Begun/Siever	Application des lectines sur les groupes sanguins
1947-9	Boyd & Reguera /Renkonen	Spécificité groupe de sang des plantes a Hémagglutinines
1949	Liener	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolusvulgaris
1949	Jaffe	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolusvulgaris
1952	Watkins & Morgan	L'inhibition de lectines par les sucres simples Démonstration avec l'aide de lectines que les sucres sont des déterminants de groupe sanguin
1954	Boyd & Sharpleigh	Introduction du terme de lectine
1960	Nowell	La stimulation mitogénique des lymphocytes par la lectine de Phaseolusvulgaris
1965	Agrawal & Golstein	Chromatographie d'affinité pour la purification des lectines
1966	Boyd	Lectines dans les algues

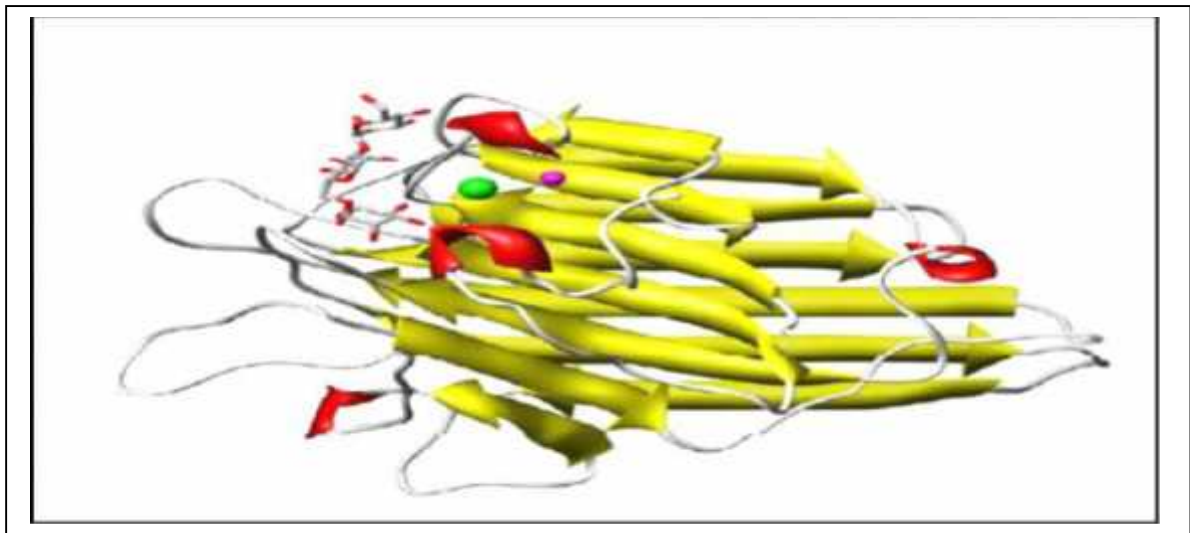
1981	Reinsner et al.	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse
1990	Yamauchi&Minamikawa	Expression de Con A dans les cellules d'Escherichia coli

### 3. La structure des lectines

Les lectines sont classées en trois grandes classes :

#### a. Les lectines simple :

Ces lectines sont formées de plusieurs monomères (pas forcément identiques), dont la masse moléculaire généralement ne dépasse pas 40KDa. Cette classe comprend pratiquement toutes les lectines végétales, les lectines bactériennes solubles et les galectines (une famille de lectines animales spécifique pour le galactose) (Lenka, 2006) (figure 01)



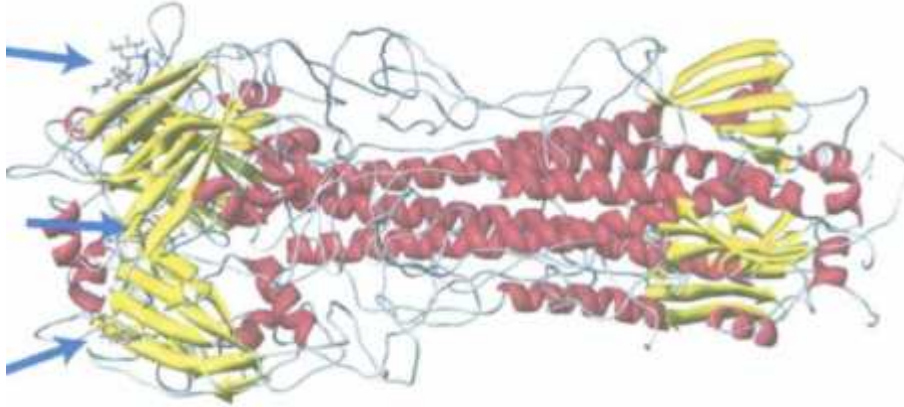
**Figure 01** : Représentation graphique d'un monomère de concanaviline A de *canavaliensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (Lenka, 2006).

La protéine est représenté par un ruban rouge pour les hélices  $\alpha$  ,un ruban jaune pour les brins  $\beta$  et un fil pour les autres zones le sucre est représenté sous forme de bâton et les cations en boule (Lenka,2006)



### b. les lectines en mosaïques

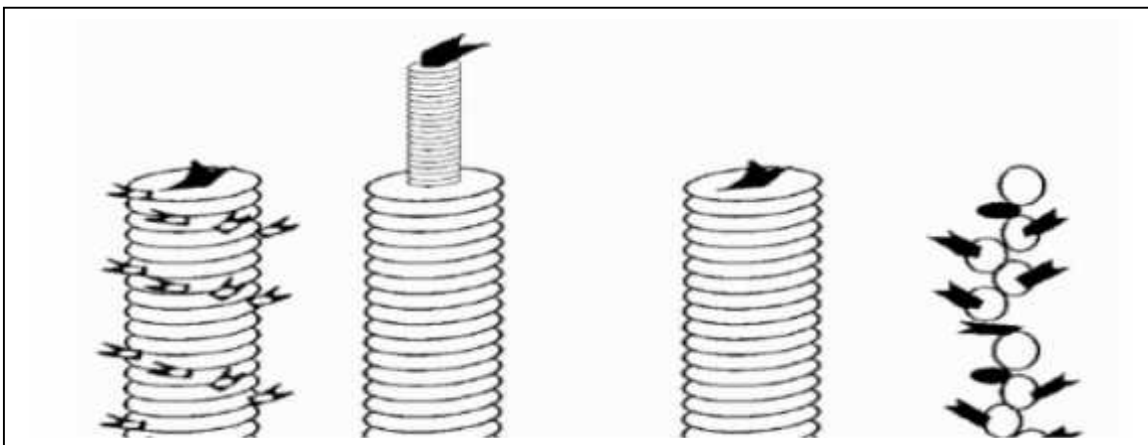
Cette classe regroupe diverses lectines de différentes sources (animale, virus) il s'agit de molécules complexe composée de plusieurs type de domaines ou modules, dont un seul possède le site de liaison (**Lenka *et al.*, 2006**).



**Figure 2:** Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (**Lenka *et al.*, 2006**).

### c. Les assemblages macromoléculaires

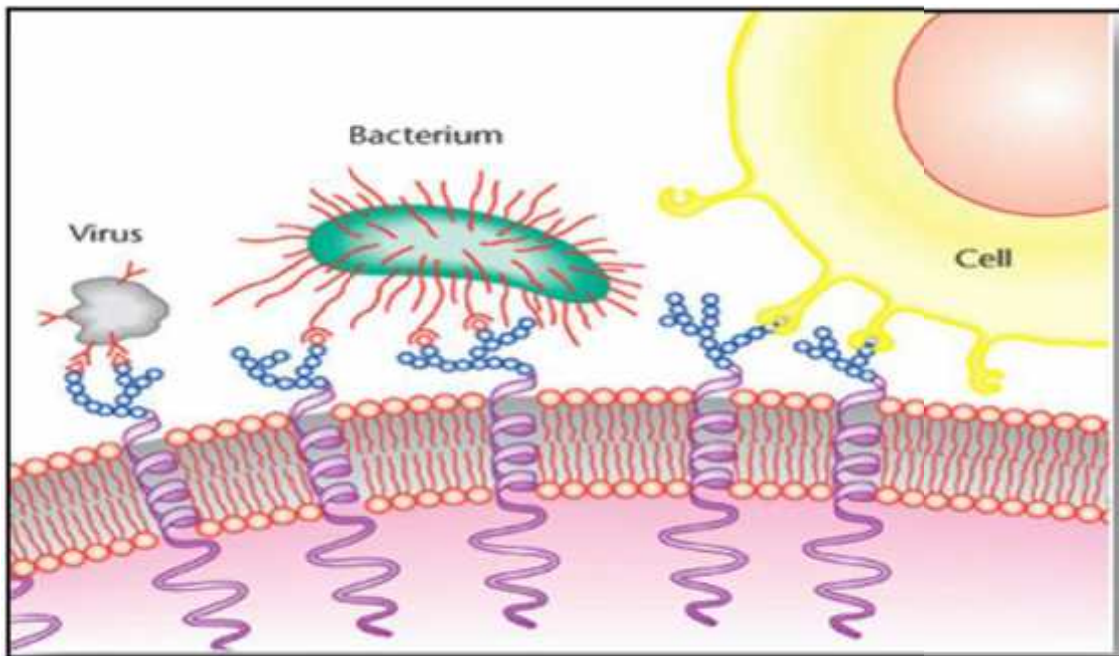
Les lectines de ce type sont fréquemment trouvées chez les bactéries, où elles forment des structures filamenteuses de 3 à 7 nm de diamètre et jusqu'à 100nm de longueur, appelées fimbriae ou pili. La plus grande partie d'un filament fimbrial est formée par la polymérisation d'une unité prédominante, qui ne jusqu'un rôle structural. Seul un type d'unités, généralement une composante minoritaire, possède le site de liaison pour les glucides et donc est responsable de la capacité d'adhésion du fimbriae (**Lenka, 2006**) (**Figure03**).



**Figure 03:** Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie *d'Escherichia coli*

### 4. Les sites de liaisons des lectines

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, 1985**).



**Figure 04** : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (**Sharon et Lis, 1993**)

### 5. La spécificité et l'affinité des lectines

La spécificité d'une lectine est généralement définie par les sucres qui inhibent le mieux ses propriétés d'agglutination ou de précipitation (**Robert, 2008**). 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 : celles qui reconnaissent un

## Chapitre I : Généralités sur les lectine

monosaccharide spécifique et celles qui reconnaissent exclusivement des oligosaccharides (**Sharon, 2003**). Les protéines spécifiques pour des monosaccharides sont classifiées en cinq groupes, selon le sucre pour lequel la lectine présente la plus forte affinité : le Mannose (Man), le Galactose(Gal)/N acetylgalactosamine (GalNAc), le N-acetylglucosamine(GlcNAc), le Fucose (Fuc), l'Acide sialique (acide N-acetylneuraminique, NeuAc) (**Lis et Sharon ,1998**). Cette reconnaissance est souvent désignée comme la spécificité primaire des lectines. Ces monosaccharides et leurs dérivés sont ceux qui sont le plus souvent présents sur les epitopes glycaniques des surfaces cellulaires. La plupart des lectines peuvent se lier à des monosaccharides, mais leur affinité sera en général plus forte pour certains oligosaccharides. (**Dam et Brewer , 2002**).

**Tableau 03 : La Spécificité osidique de certaines plantes à lectines (Renato et coll,1991)**

Espèces	Spécificité
<i>Abrus precatorius</i>	Gal
<i>Adenidigitata</i>	Gal
<i>Aleuriaaurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavaliabrasilensis</i>	Man >Glc
<i>Canavaliaensiformis</i>	Man >Glc
<i>Dolichosbiflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolusvulgaris</i>	GalNAc
<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulexeuropaeus I</i>	L Fuc
<i>Momordicacharantia</i>	GalNAc
<i>Cytissussessilifolia</i>	GlcNac>Fuc>Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNAc

### 6. La Classification des lectines :

#### 6.1 Chez les animaux :

##### a) Les lectines extracellulaires

Les lectines extracellulaires comprenant toutes les autres familles, comme les lectines de type C et R, ainsi que les galectines. Ces lectines sont généralement impliquées dans la signalisation et l'adhésion cellulaire, la clairance de glycoprotéines ou encore dans la reconnaissance des pathologies (**Chabrol *et al.*, 2012**).

##### b) Les lectines intracellulaires

Les lectines intracellulaires sont composées de quatre groupes ; les calnexines, les lectines de type M, P et L. ces lectines jouent des rôles essentielles dans le trafic intracellulaire, l'adressage des glycoprotéines ou encore dans leur dégradation (**Chabrol *et al.*, 2012**).

#### 6.2 Chez les végétaux :

##### a) Les mérolectines

Les mérolectines sont de petits peptides, formés d'une seule chaîne polypeptidique et ne possédant qu'un seul domaine de liaison aux glucides, dit monovalentes (exemple : héveine ,protéines d'orchidées), et ils sont incapables de précipiter les glycoconjugués ou d'agglutiner les cellules, donc non agglutinantes (**Peumans *et Van Damme*, 1995**).

##### b) Les hololectines

Les hololectines sont des lectines di ou multivalentes c'est à dire ils contiennent deux domaines (ou plus) de liaison aux glucides quasi- identiques ou du moins très homologues. Les hololectines peuvent précipiter les glycoconjugués et agglutiner les cellules. Elles

présentent la majorité des lectines de plantes (exemple: ConBr la lectine de *Canavaliabrasilensis*) (Van Damme *et al.*, 1998).

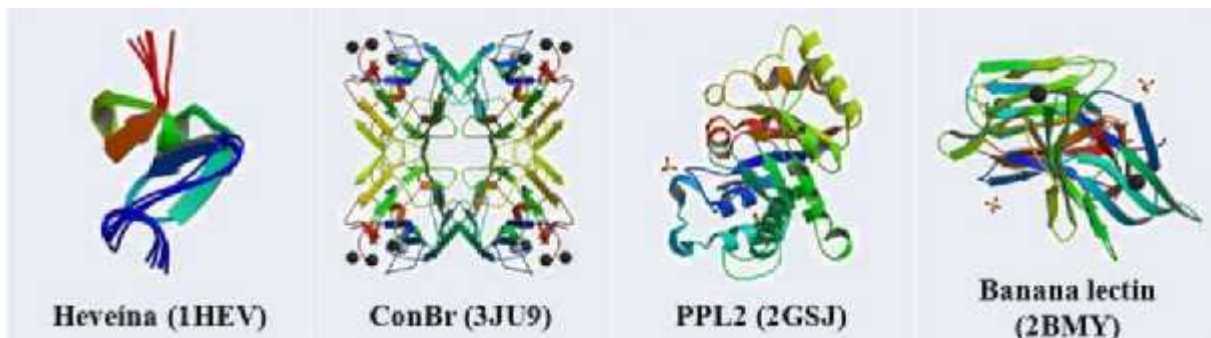
### c) Les chimérolectines

Les chimérolectines sont des protéines de fusion ayant une activité de reconnaissance glycanique, car ils possèdent un ou plusieurs domaines de liaison aux glucides, ainsi qu'un domaine avec une activité catalytique bien définie et agissant indépendamment du site de liaison (Van Damme *et al.*, 1998). Selon le nombre de liaison aux glucides, les chimérolectines se comportent comme des mérolectines (exemple : chitinase classe I) ou comme des hololectines (exemple : type 2-Rip ribosominactivatingproteine ; protéine inactivant les ribosomes comme la ricine) (Peumanset Van Damme, 1995).

### d) Les superlectines

Les superlectines sont des oligomères poly-spécifiques constitués de plus de quatre monomères, elles sont considérées comme un groupe spécial de chimérolectines composé de deux domaines différents structuralement et fonctionnellement (Van Damme *et al.*, 1998).

**Tableau 04 :** La classification structurale des lectines des plants (Van Damme *et al.*, 1998).



## 7 Distribution des lectines dans le monde de vivant

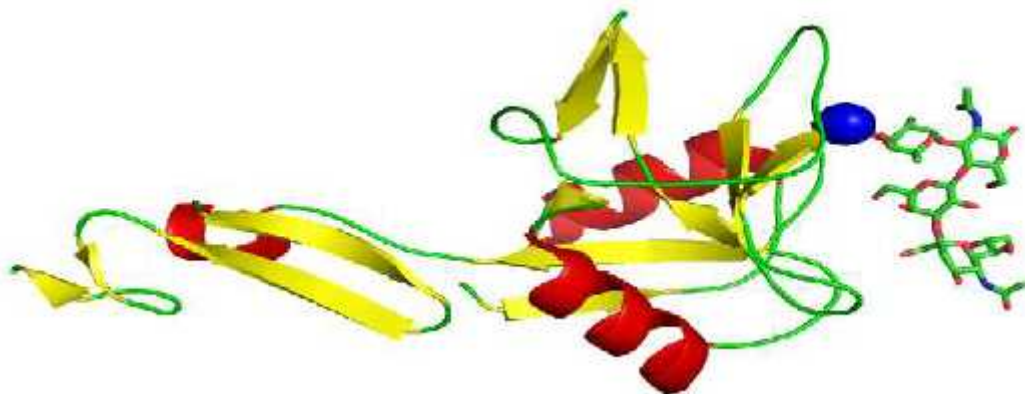
Initialement décrites dans le règne végétal où elles sont particulièrement abondantes, notamment chez les légumineuses et les graminées, les molécules sont en fait des molécules universelles. Elles sont en effet largement répandues dans le monde vivant puisque l'on en rencontre même chez les virus et les bactéries. A 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 *Entamoebahistolytica* et *Entamoebadispar*, 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).

### 7.1 Les lectines animales

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 *siglecs*.

- Les structures de *galectines* sont relativement simples. Ces protéines sont spécifiques pour le  $\beta$ -galactose et plus précisément pour le lactose ( $\beta$  Gal1-4Glc) et le Nacetyllactosamine ( $\beta$  Gal1-4GlcNAc) (Leffler *et al*, 2004).
- Les lectines du *type C* présentent un CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) bien conservé qui implique un atome de calcium dans l'interaction protéine-sucre (Drickamer, 1993). Les lectines de type-C sont soit en circulation dans le plasma, soit attachées aux surfaces cellulaires par la présence d'un segment transmembranaire. Un exemple de la structure 3-D d'une lectine du type C est la E-selectine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al*, 2000) (Figure 5).



**Figure 5 : Représentation graphique de la structure de la E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl LewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al*, 2000). Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.**



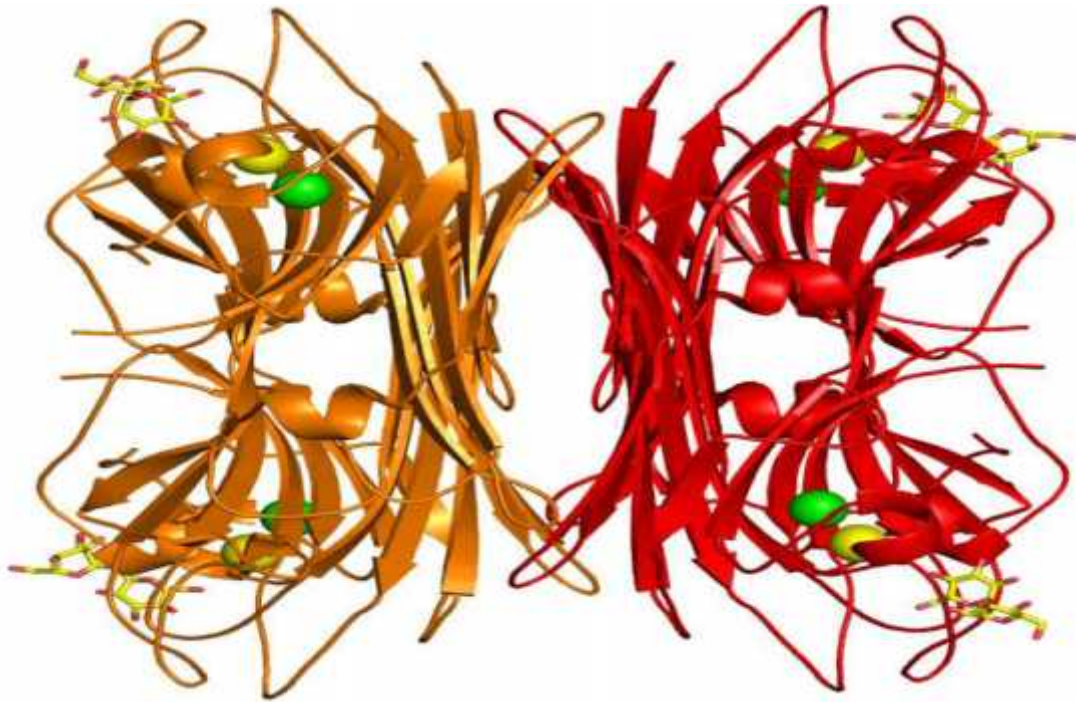
- Les *Siglecs*, ou lectines de type I, constituent une famille de lectines qui reconnaissent l'acide sialique (**Crocker, 2002**).
- Les autres classes de lectines animales comprennent les lectines du *type P* qui sont formées par les lectines qui fixent le mannose-6-phosphate, comme la lectine bovine CDMPR(**Roberts et al, 1998**). Les *pentraxines* qui sont une famille des lectines capables de se lier à des ligands de manière  $Ca^{2+}$  dépendante (**Emsley et al, 1994**) La plupart des lectines des vertébrés ont une localisation extracellulaire et sont capables de détecter les modifications de glycosylation sur les cellules environnantes. Elles jouent donc un rôle dans la vie sociale des cellules et sont impliquées dans des processus tels que la fécondation, la migration et le développement cellulaire (**Aragao, 2009**).

Par exemple, dans le processus de fécondation, un glycoconjugués de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermadhésine) du spermatozoïde (**Topfer-Peterse et al, 1998**)

### 7.2 Les lectines des plantes

Historiquement, les lectines de légumineuses telle que la concanavaleine A (ConA) ont été les premières à être caractérisées. La première structure cristallographique d'une lectine de légumineuses (la ConA) a été déterminée en 1972 (**Edelman et al. , 1972 ; Hardman et Ainsworth ,1972**)





**Figure 6 : Tétramère de la protéine ConM de *Canavaliamaritima* complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) (Delatorre *et al*, 2006). Les cations sont représentés par des sphères (Calcium en jaune et Manganèse en vert) et les ligands par des bâtonnets**

La famille des Monocotylédones présente des lectines spécifiques pour le mannose, la première structure 3-D a été la *Galanthusnivalis* agglutinine (GNA) (Wright C.S. et Hester, 1996). La famille de Moraceae est formée par les lectines qui fixent le galactose telle que la jacaline isolée des graines de *Artocarpus integrifolia* (Sankaranarayanan *et al*, 1996). La famille Amaranthaceae contient la lectine ACA de *Amaranthuscaudatus* qui a été cristallisée avec le Gal $\beta$ 1-3GalNAc (Transue *et al*, 1997).

Les lectines de plantes semblent être impliquées dans la défense contre les phytopathogènes et les prédateurs, certaines ayant des activités insecticides (Chrispeels et Raikhel, 1991 ; Rudiger et Gabius, 2001).

### 7.3 Les lectines des microorganismes

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 hôte. 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 (**Imberty et Varrot, 2008 ; Sharon, 1996**) L'exemple le plus marquant de lectine de virus est l'hémagglutinine du virus de la grippe (Influenza virus). Cette hémagglutinine interagit avec un récepteur de la surface des cellules hôtes, l'acide 5-N-acétylneuraminique (l'acide sialique). Sa structure 3-D a été résolue

en complexe avec son récepteur naturel et avec 12 analogues de ligands (**Weis et al, 1990**). Les bactéries qui s'attachent aux surfaces s'agglutinent dans une matrice polymerehydrate qu'elles produisent, et donc forment un bio film (**Imberty, 2011**). Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriaies (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (**Imberty et al., 2005**) *Entamoebahistolytica* 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 Nacétylgalactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (**Boettner et al., 2002**). Les lectines des champignon ont principalement des propriétés pharmacologiques intéressantes, par exemple la stimulation du système immunitaire contre l'hypertension et contre l'hypercholestérolémie mais aussi antivirales et anticancéreuses (**She et al., 1998 ; Szeet al., 2004**).

## 8 Fonction biologique des lectines

### 8.1 Chez les plantes

Fonction dans l'élongation des parois cellulaires ; fonction de cofacteurs enzymatiques agissant avec des enzymes glycoprotéiques ; intervention dans le transport des glucides et dans leur mise en réserve dans les graines ; contrôle de la division cellulaire (mitogénicité) et de la germination ; intervention dans les processus de reconnaissance de cellule à cellule (**Etzler, 1986 ; Kaminski et coll., 1987**). d'autres études, suggèrent que les lectines favorisent l'invasion des plantes par des pathogènes en servant de récepteurs pour des phytotoxines, ou de molécules d'adhésion pour le pathogène. L'infection de la canne à sucre

par le champignon *Helminthosporium sacchari* est un exemple de ce type de pathogenèse (Etzler, 1986).

### 8.2 Chez l'homme

Les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche et dans le secteur biomédical. Elles sont utilisées lors du test d'hémoagglutination en pratique clinique pour distinguer les types du sang (A, B et O), exemple : la lectine de haricot de lima (*Phaseolus lunatus*) se lie à N-acétyl-D galactosamine et agglutine seulement des globules rouges de type A (Goker *et al*, 2008). Certaines lectines purifiées à partir des graines de légumineuses présentent des propriétés anti-inflammatoires (Alencar *et al*, 2005 ; Gomes *et al*, 2012). Elles contrôlent les niveaux des protéines dans le sang (Rydz *et al*, 2013) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (Sutapa *et Gopa*, 2013). Les lectines ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses, 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 (Voet *et Voet*, 2005)

## 9 Propriétés des lectine

Les propriétés biologiques des lectines sont multiples et variées :

### 9.1 L'interaction lectine–glucide

Les lectines sont toutes constituées d'au moins une cavité de reconnaissance glycanique qui possède une plasticité et leur permet d'interagir plus spécifiquement avec certains glycoconjugués que d'autres (Jain *et al*, 2001), ces glycanes interagissent par des liaisons non-covalentes avec les acides aminés formant la cavité de reconnaissance saccharidique de la lectine (Jeyaprakash *et al*, 2003). La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés avoisinant la cavité de reconnaissance (Jeyaprakash *et al*, 2003).

### 9.2 L'agglutination des cellules

C'est la manifestation la plus visible de l'interaction des lectines avec les cellules. Pour qu'elle se produise, les lectines doivent posséder au moins deux sites de reconnaissance et de liaison avec des saccharides de surface des cellules animales ou autres (bactéries, virus, mycoplasme, champignon). Les lectines monovalentes a un seul site de reconnaissance ne provoquent pas d'agglutination (**Peumans et coll., 1995 ; Wang et coll., 1998**).

### 9.3 L'activités mitogène

Une des propriétés les plus étonnantes des lectines réside dans leur pouvoir de transformer les petits lymphocytes du sang en cellules blastiques. Cette transformation lymphoblastiques résulte du pouvoir mitogène des lectines mais en général elle ne s'exerce que sur les lymphocytes T (**Nachbar et Oppenheim, 1980 ; Falasca, 1989 ; Babosa, 2001**).

### 9.4 Effets mimétiques des hormones

Les lectines des graines d'haricot rouge (*Phaseolus vulgaris*), qui ont une haute réactivité avec les membranes cellulaires et leurs récepteurs peuvent mimer les effets des hormones. En effet, les lectines pures des graines de haricot rouge sont connues pour avoir une activité insuline-like sur les grosses cellules isolées (**Greer et coll., 1985**).

### 9.5 Inhibition de la croissance des cellules cancéreuses :

Les travaux de Valentier et coll. (2003) suggèrent que les lectines alimentaires pourraient inhiber la croissance cellulaire des cellules du cancer du sein de l'homme in vitro. Les lectines peuvent être injectées dans la circulation sanguine à des doses non toxiques pour l'organisme afin d'induire spécifiquement la mort de cellules tumorales par apoptose, autophagie ou en activant les défenses immunes anticancéreuses (**Poiroux, 2011**). Egalement ils inhibent leur migration (**Banwell, 1983**).

### 9.6 La propriété antivirales

Les lectines peuvent avoir des actions antivirales comme celles observées par les RIPs (Ribosomes inactivant les protéines) (Wang et coll, 1998). Les lectines mannose-spécifiques isolées de bulbes de 15 espèces sauvages du genre *Narcissus* cultivées en Espagne ont une activité inhibitrice anti-VIH1. L'activité anti-VIH-1 la plus efficace est obtenue avec les extraits de l'espèce *Narcissustortifolious* (Lopez, 2003).

### 9.7 La propriété antibactérienne

Les lectines sont des outils de régulation de la migration et l'adhésion des cellules bactériennes (Tanne et Neyrolles , 2010) . Les lectines animales comme les lectines récepteurs des kinases (LecRKs) sont impliquées dans la résistance aux bactéries (Singh et al., 2012) aussi bien pour les lectines de type C qui résistent contre la bactérie *Listeria monocytogenes* (Mukherjee et al., 2014). Concernent les lectines humain de type L (LTLs), elles ont la capacité d'agglutinées les bactéries par une manier calcium dépendent ou par leurs opsonisation en fixent sur les glycoconjugués de ces micro-organismes (Zhang et al., 2012 ; Huang et al., 2014 ; Xu et al., 2014)

### 9.8 Autres propriétés

Les lectines expriment diverses activités biologiques telles que la précipitation des glycoprotéines, l'activation de la voie alterne du complément et l'agrégation des immunoglobulines (Nachbar et coll, 1980), l'induction de la libération de l'histamine a partir des cellules basophiles et des mastocytes (Gomes, 1994), les effets pro et anti inflammatoires (Assreuy , 1997) l'induction de l'apoptose (Kulkarni ,1998).

## 10 L'intérêt des lectines

Les lectines peuvent interagir avec des systèmes biologiques et développer une diversité d'événements et fonctions dans ces 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, dans le secteur biomédicale et dans le domaine agronomique.

### 10.1 En biochimie et protéomique

Les lectines fournissent des outils pour étudier les glycoprotéines (anticorps , cytokines , hormones , facteur de croissance , enzymes , récepteurs et même toxines et virus ) pour les purifier (par affinité , une fois couplés à un support chromatographique ) ;pour les détecter (une fois marqué par un fluorophore ou un une enzyme , immuno-blotting , immuno-précipitation ...). Les glycoprotéines éventuellement après clivage enzymatique , peuvent ainsi être caractérisées quantitativement .(structure des complexe et interaction) . **(DOLE.A.et LINDEBERG . S. ,2005)**

### 10.2 Dans le domaine biomédical

#### *a) Hématologie*

Certaines lectines reconnaissent spécifiquement les antigènes des groupes sanguins humains **(Boyd et Sharpleigh, 1954)** et sont utilisées pour leur identification dans des banques de sang.

#### *b) Immunologie*

De par leur spécificité, les lectines immobilisées sur colonne peuvent et réutilisées pour l'identification et la purification des glycoconjugués aussi bien que pour leur caractérisation **(Hirabayashi , 2004)**. Les lectines mitogènes sont employées pour déceler les allergies médicamenteuses, pour reconnaître les déficiences immunologiques congénitales ou acquises, pour étudier les sensibilisations dues aux maladies infectieuses et pour juger des effets de diverses manipulations immunosuppressives et immun thérapeutiques **(Jaffe, 1980)**.

#### *c) Biologie cellulaire*

Les lectines sont des outils pour étudier la nature, les structures, la dynamique des membranes cellulaires (possédant des résidus saccharidiques) sous des conditions normales et pathologiques (Jaffe,1980).

### *d) Cancérologie*

Certaines lectines purifiées partir d'invertébrés terrestres ou marins sont employées comme marqueurs histochimiques puisque certaines maladies tel le cancer sont associées une modification des glycannes présents sur les cellules (Guillot *et coll*, 2004 ; Kenoth *et al*, 2001) rapportent qu'en raison de leur agglutination préférentielle aux cellules cancéreuses, les lectines sont suggérées comme transporteuses pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses.

### 10.3 Dans le domaine agronomique

Les lectines peuvent être utilisées dans la lutte contre les agents pathogènes (nuisibles) des plantes telles que les insectes, les nématodes du sol, les vers parasites qui commettent d'importants dégâts dans des cultures (Murdock *et coll.* , 2002).

### 11. 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). 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 MASPS (MBL-Associated Serine Protéase) (Ayméric *et Lefranc*, 2009). La lectine liant le mannose (mannose bindinglectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la



## Chapitre I : Généralités sur les lectine

---

voie lectine du complément qui joue un rôle dans l'immunité inné (**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 phagocytoses. La première étape consiste en l'adhésion des microorganismes à la membrane des phagocytoses 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  $\beta$ -glucane (**Guénard *et al.*, 2001**).



A decorative red scroll graphic with rounded corners and a slight shadow, containing the chapter title in a black serif font.

*Chapitre II : Le  
système sanguin*

### Chapitre II : Le système sanguin

#### 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**).

Les antigènes A et B détectés par des anticorps spécifiques définissent quatre groupes sanguins principaux : A, B, AB, O (**Ramata, 2010**).

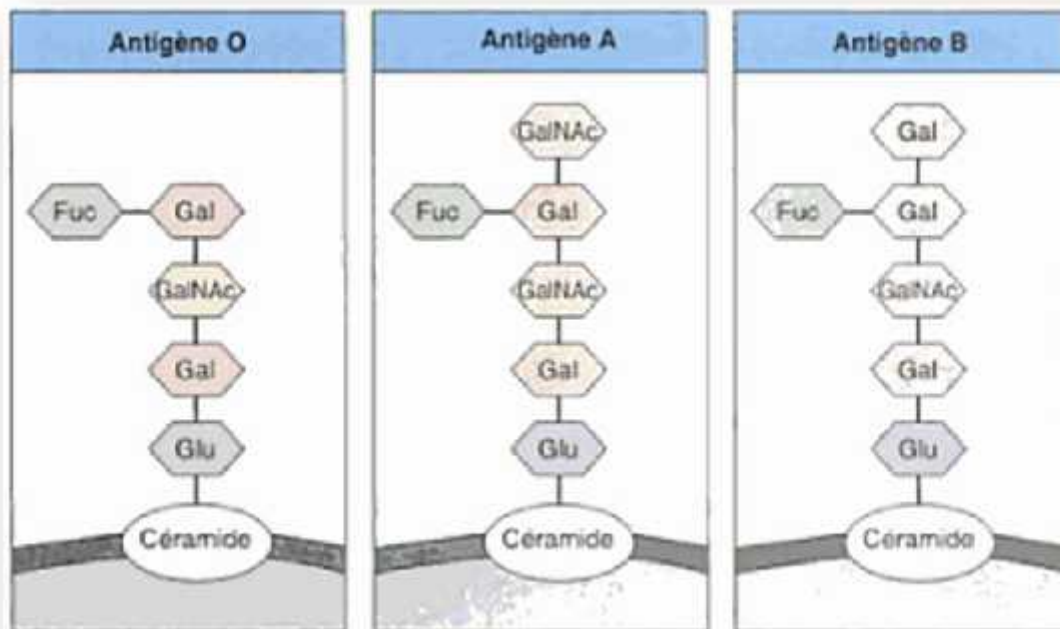
- ✓ groupe O (antigène A et antigène B absents et anticorps anti A et anti B présents): 43% de la population française ;
- ✓ groupe B (antigène B présent et anticorps anti A présent): 11% de la population française;
- ✓ groupe A (antigène A présent et anticorps anti B présent): 42% de la population française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

### 3. Facteur rhésus

Le facteur R est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO, ses antigènes (C, D et E) sont aussi importants que ceux de système ABO. 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 du système ABO proviennent d'une famille des 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 une enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligosaccharidique 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 allo-anticorps ne sont pas produits contre le groupe O (**Parham, 2000**) (**figure 7**)



**Figure 07** : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (**Parham, 2000**).

## Chapitre II : Le système sanguin

### 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). (Tableau 05).

**Tableau 05: Les Lectines spécifiques des groupes sanguins**

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



***Chapitre III :***  
***stress oxydatif***

### Chapitre III : stress oxydatif

#### 1-Définition

Lorsque l'un des systèmes protectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (**Durackova, 2008**).

La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite « stress oxydant » (**figure 08**). Ce terme est défini initialement comme étant « Un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers » (**Baskin et al., 1994 ; Barouki , 2006 ; Jenkins et al., 2007** ). Cette définition ne signale aucun effet délétère d'un tel changement sur la fonction des tissus et n'indique pas l'origine de ce déséquilibre s'il est dû à une augmentation de la production des oxydants ou à une diminution de la capacité réductrice des tissus (**Kehrer , 1993 ; Barouki , 2006**). D'autres chercheurs ont dit que le stress oxydant désigne un état caractérisé par une augmentation de la génération des ROS (reactive oxygen species) en ajoutant que ce terme est synonyme du dommage (**Kehrer, 1993**).

Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (**Durackova, 2008**) et à des dégâts cellulaires irréversibles (**Pincemail et al., 1999 ; Abuja et al., 2001**)».

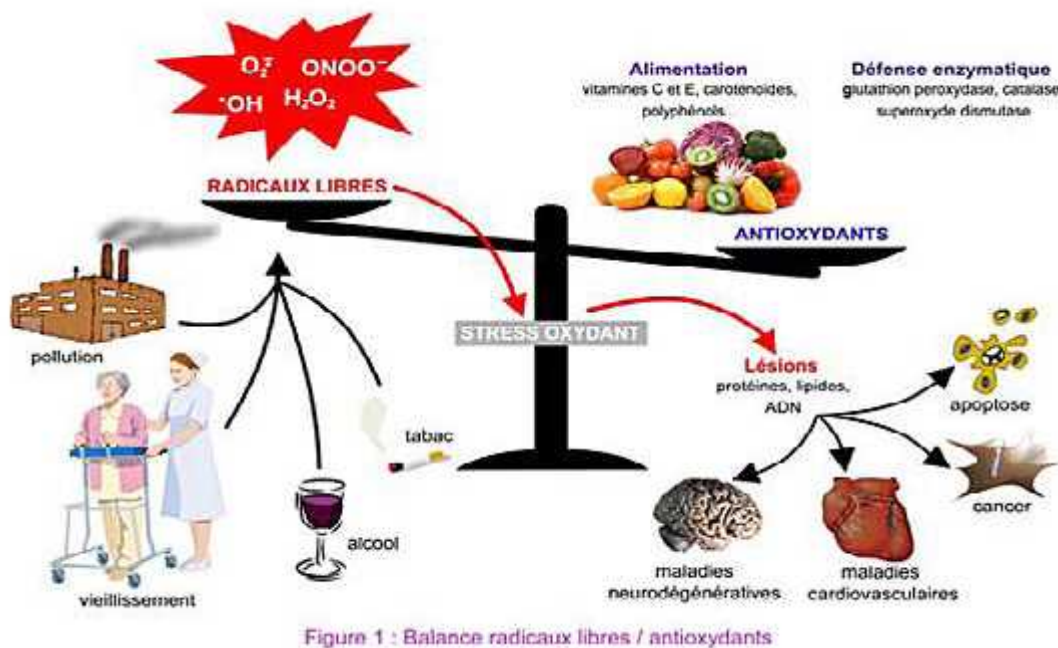


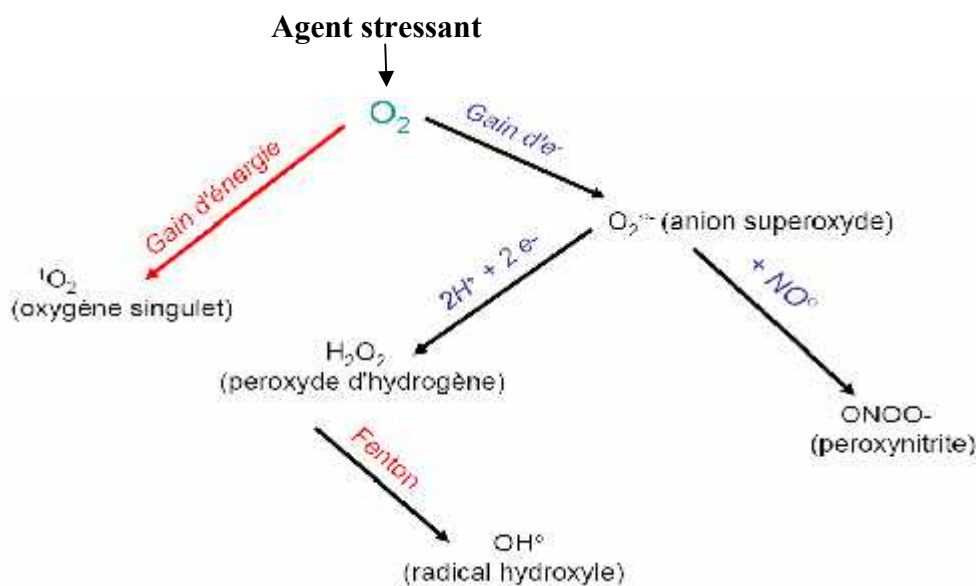
Figure 08 : Stress oxydant (Durackova, 2008)

### 2- Les espèces réactives de l'oxygène

L'oxygène représente, après l'azote, le deuxième élément le plus abondant dans l'atmosphère (21%). Il a été caractérisé en 1772-1774 par Lavoisier, un chimiste français. L'oxygène est un élément indispensable à la vie des organismes aérobies. Ces organismes utilisent l'oxygène pour oxyder les substrats riches en carbone et en hydrogène. Cependant, quand on oxyde les molécules avec l'oxygène, ce dernier est réduit et forme des intermédiaires radicalaires, très réactifs connus sous le nom espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les ERO sont des molécules contenant de l'oxygène mais dont la réactivité est bien supérieure à celle de la molécule d'O<sub>2</sub>. Ces ERO comprennent des radicaux tels l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) ou le radical hydroxyle (HO<sup>•</sup>) et les espèces non radicalaires telles le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), l'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (Simonian et Coyle, 1996 ; Garrel *et al.*, 2007). L'anion superoxyde et le radical hydroxyle sont très instables par comparaison au H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui diffuse librement et possède une durée de vie plus longue. La réactivité d'un radical dépend de sa nature. Ainsi, parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) n'est pas très réactif mais constitue un des radicaux précurseurs pouvant être activés en d'autres espèces plus réactives. Sa faible réactivité (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) permet son utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques. Par contre,

## Chapitre III : stress oxydatif

les radicaux comme les peroxydes ( $\text{ROO}^\circ$ ) ou surtout le radical hydroxyle ( $\text{HO}^\circ$ ), sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules biologiques. Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant faible et peu réactif en absence des métaux de transition. Cependant, en présence du cuivre cuivreux ou du fer ferreux, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  peut se décomposer en  $\text{HO}^\circ$  et  $\text{HO}^\circ$  selon la réaction de Fenton. Le radical  $\text{HO}^\circ$  a une vitesse de réaction très grande avec la majorité des molécules, si bien qu'il réagit à l'endroit même où le métal catalyse sa formation (figure 09) (Favier, 1997).



**Figure 09** : Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003)

L'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) est une autre espèce oxygénée très réactive. C'est une molécule à l'état excité qui peut réagir avec différents accepteurs d'électrons pour produire des peroxydes. L'oxygène singulet n'apparaît que dans des cas particuliers comme pendant les processus de photosensibilisation où une molécule excitée transfère son énergie à l'oxygène et l'active en oxygène singulet. Il a pour cible biologique les membranes, les acides nucléiques et les protéines (Favier, 2003).

### 3- Les cibles biologiques du stress oxydant

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des radicaux libres est particulièrement fragile (Pincemail, 2003). La production de ces radicaux peut être régulée par notre organisme (Sies, 1991). Les systèmes de régulation se composent d'enzymes, de protéines, de



molécules antioxydantes de petite taille et d'oligoéléments indispensables pour l'activité des enzymes. Un déséquilibre de la balance antioxydante en faveur de la production des ERO constitue le stress oxydant. Le stress oxydant va dénaturer les lipides, les protéines, l'ADN et provoquer des pathologies (**Gutteridge, 1992 ; Curtin *et al.*, 2002**).

### 3-1 Les lipides

Les premières cibles privilégiées de l'attaque radicalaire sont les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés, qui sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation.

La peroxydation lipidique débute par une phase d'initiation qui implique l'attaque des espèces réactives surtout le radical hydroxyle ( $^{\circ}\text{OH}$ ), entraînant l'arrachement d'un hydrogène du l'acide gras (LH), ceci aboutit à la formation d'un radical diène conjugué, qui après addition avec l'oxygène moléculaire donne le radical peroxyde ( $\text{LOO}^{\circ}$ ). Ensuite, ce radical peut réagir avec un autre acide gras polyinsaturé et former un hydroperoxyde ( $\text{LOOH}$ ), c'est la phase « Propagation » de la peroxydation lipidique. Ces hydroperoxydes appartiennent à la famille des peroxydes lipidiques qui peuvent soit être réduits et neutralisés « phase de Terminaison » par la glutathion peroxydase et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (**Esterbauer *et al.*, 1992 ; Beaudoux *et al.*, 2003 ; Favier, 2003**) (**figure 10**). Ou, continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messagers secondaires toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Parmi ces aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), qui sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique, ces deux derniers produits (MDA, 4-HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (**Marnett, 1999**).

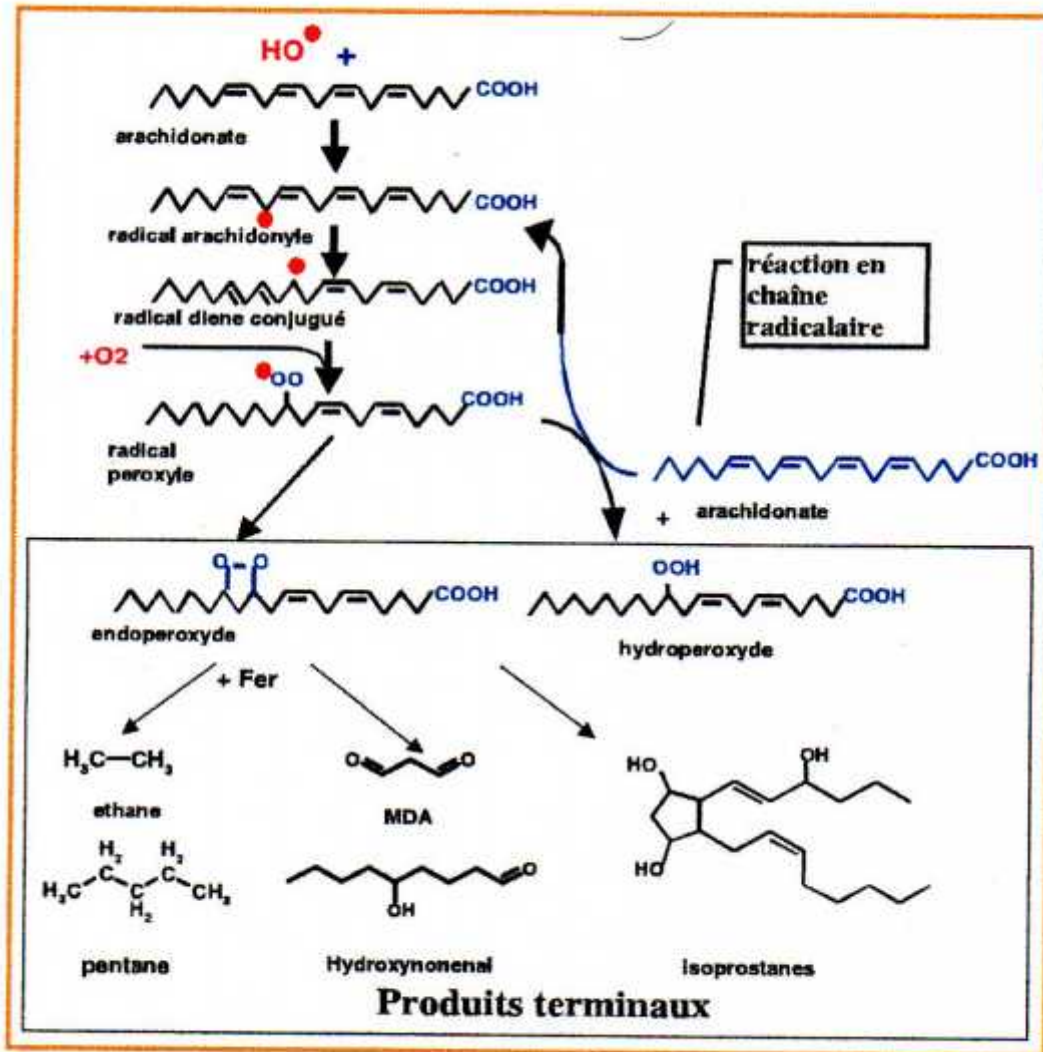


Figure10 : Réactions de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

### 3-2 Les protéines

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible des réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications, ces modifications provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans les protéines. Ces réactions d'oxydations, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $\text{Cu}^{2+}$  et le  $\text{Fe}^{2+}$  (Levine, 2002). Nous pouvons classer les réactions d'oxydations des protéines en deux catégories : D'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique. Et d'autre part, les modifications des peptides par l'addition des produits issus de la peroxydation lipidiques comme le 4-HNE. Ces changements sont elles qui conduisent généralement à une perte de la fonction catalytique, ou structurale des protéines affectées (Levine, 2002) (figure 11). Les protéines comportant un pont sulfhydryque sont les plus sensibles aux attaques

## Chapitre III : stress oxydatif

radicales, c'est le cas de nombreuses enzymes antioxydantes et les protéines de transport, qui contiennent très souvent des groupements thiols (SH) (Sen, 2001). Les protéines modifiées par l'oxydation, vont être prises en charge par des protéines spécifiques dites protéines de stress (Heat Shock Protein, HSP) connues pour leur rôle cytoprotecteur, où elles prennent en charge les protéines dénaturées et participent à la restauration de la fonction de ces protéines (Welch, 1992). Les HSP permettent à la cellule de répondre à des stress de façon rapide, et la synthèse des HSP pourrait ainsi compléter les capacités de défenses antioxydantes lorsque les protéines intracellulaires sont endommagées par les ROS (Essig and Nosek, 1997).

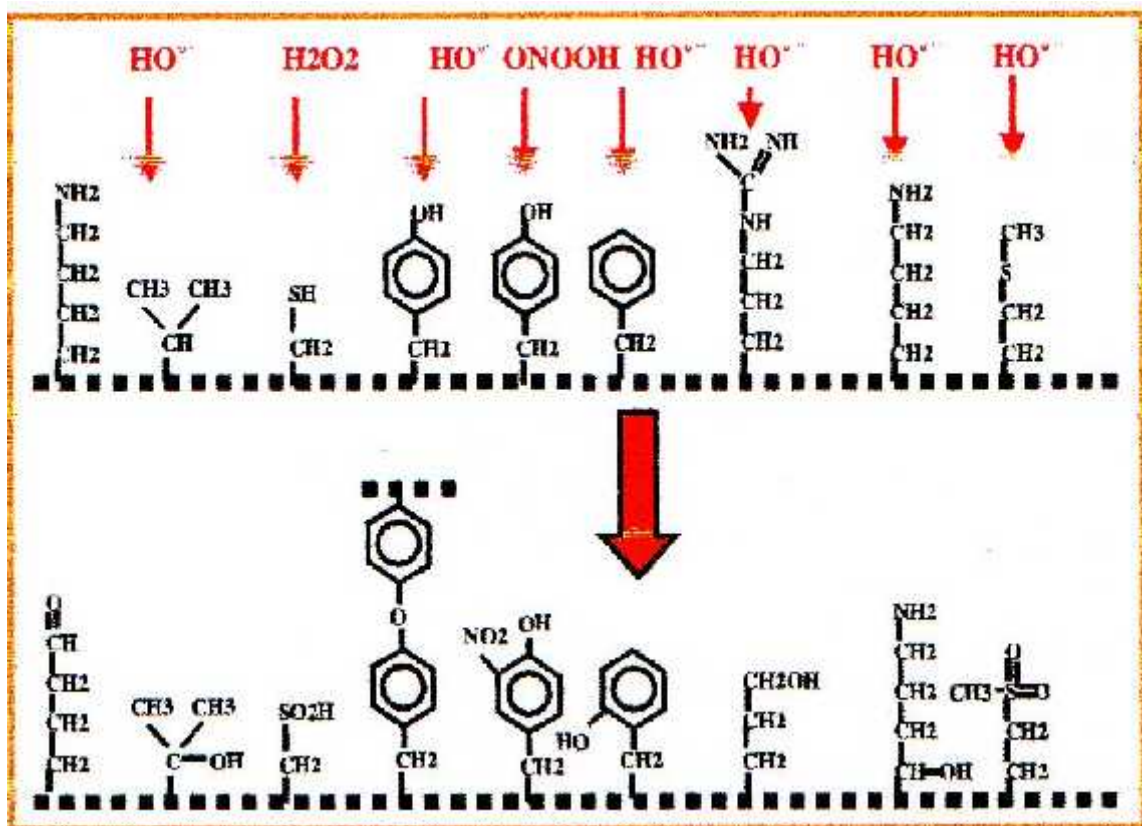


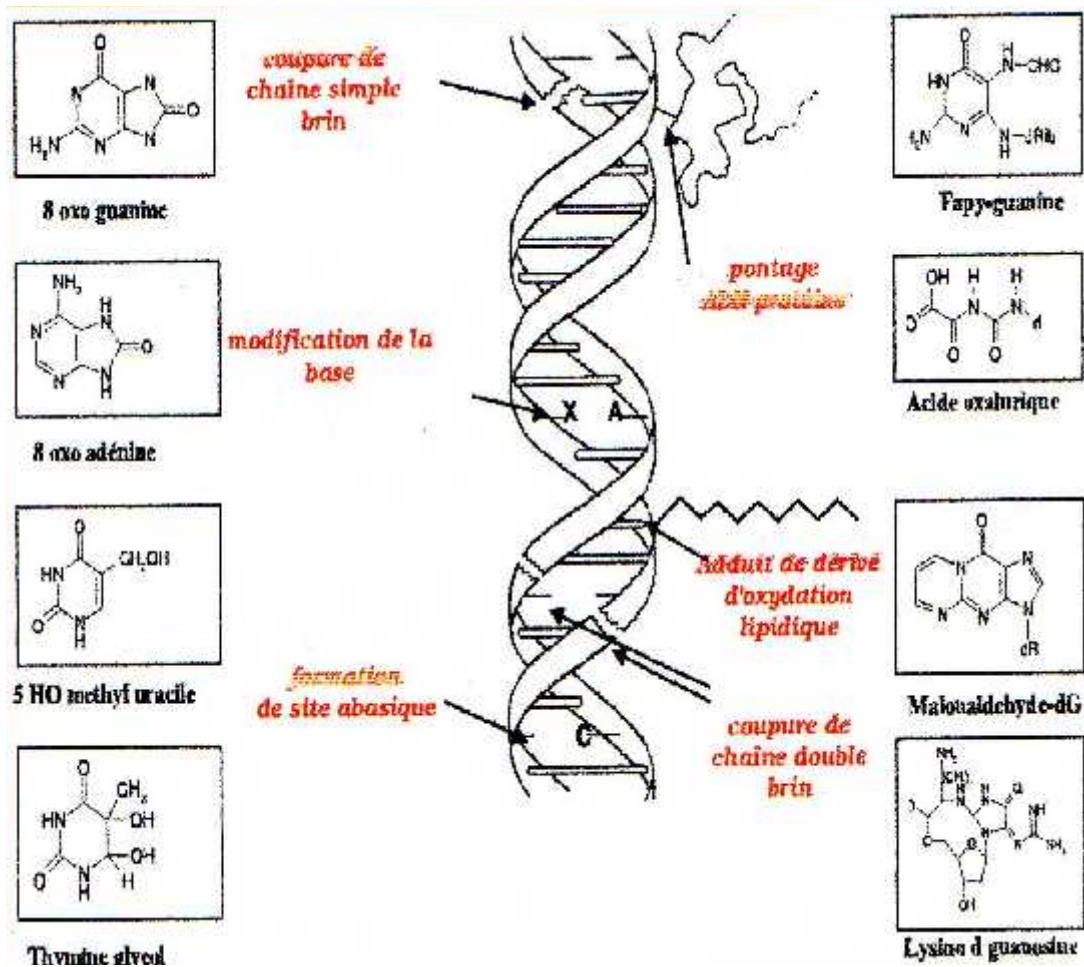
Figure 11 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003)

### 3-3 Les acide nucléiques

L'ADN nucléaire et ADN mitochondrial. Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les ROS, du fait sa proximité directe de l'une des principales sources de ROS cellulaires : la chaîne respiratoire mitochondriale (Stevnsner, 2002).

## Chapitre III : stress oxydatif

Les réactions d'oxydation de l'ADN créant un grand nombre de dommages de l'ADN, et on peut noter quatre classes principales des dommages : les coupures simples et doubles brins, les bases modifiées comme la 8-OHdG (qui est un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN), les pontages ADN-ADN et les pontages ADN-protéines (**figure 12**) (**Hayakawa *et al.*, 1991**). Les bases puriques sont plus sensibles aux ROS (surtout l' $^{\circ}\text{OH}$  et le peroxy-nitrite), en particulier la guanine (base qui présente le potentiel d'oxydation le plus bas), qui est facilement transformée en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OHdG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces systèmes sont défaillants, La 8-OHdG s'accumulera au sein de l'ADN (**Cadet, 1999**). Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique dont le MDA et le 4-HNE peuvent s'ajouter au groupe amine des bases de l'ADN et constituer ainsi une autre classe de dégâts oxydatifs de l'ADN (**Marnett, 1999 ; Nair *et al.*, 1999**).



**Figure 12 :** Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires (**Favier, 2003**)

### 4- Le stress oxydant et les pathologies

Le stress oxydant est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant, ou associé à des complications lors de leur évolution. Ces pathologies peuvent découler d'intoxications chimiques et médicamenteuses, d'exposition à des rayonnements, d'un syndrome d'hyper oxygénation, de phénomènes inflammatoires. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress oxydant vient du fait que de nombreux organes ou tissus peuvent devenir la cible d'un stress oxydant (**Bonnefont- Rousselot *et al.*, 2001 ; Sohal *et al.*, 2002 ; Delattre *et al.*, 2005**).

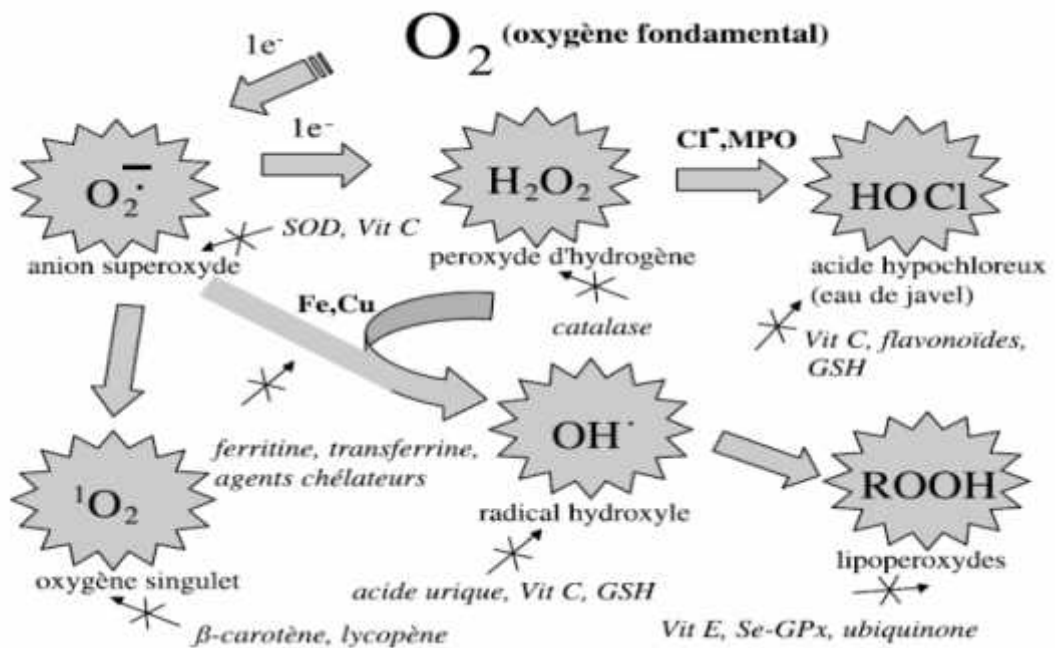
Le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies comme : le cancer, les maladies neuro - dégénératives et le vieillissement accéléré. Il est admis que le stress oxydant est un facteur potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, et la maladie d'Alzheimer (**Montagnier *et al.*, 1998**).

Si le stress oxydant est réellement un facteur déclenchant ou participant au déclenchement de ces pathologies, il est logique de penser que la prise d'antioxydant peut retarder, prévenir l'apparition de telles maladies. De même, des études (**Holzenberger *et al.*, 2003 ; Delattre *et al.*, 2005**) ont montré que le vieillissement s'accompagne d'une diminution des défenses antioxydantes, d'une augmentation de la production des ROS, et d'une diminution des systèmes de réparation et de dégradation des constituants oxydés. Une étude épidémiologique (**Bonnefont-Rousselot, 2001**) a montré très clairement que la consommation régulière des antioxydants permet de diminuer l'incidence de l'apparition d'un stress oxydant et ces maladies.

### 5-Systèmes de défenses antioxydants

Le maintien d'un niveau non cytotoxique des EOR est assuré par des systèmes d'antioxydants. Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (**figure 13**). La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (**Goudable et Favier, 1997**).





**Figure13** : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer *et al.*, 2008).

### 5.1. Les systèmes enzymatiques

Il s'agit principalement de trois enzymes, (I) la superoxyde dismutase (SOD), (II) la catalase (CAT) et (III) la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du  $O_2^{\bullet -}$  et du  $H_2O_2$ , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

#### a) La Supe oxyde dismutase :

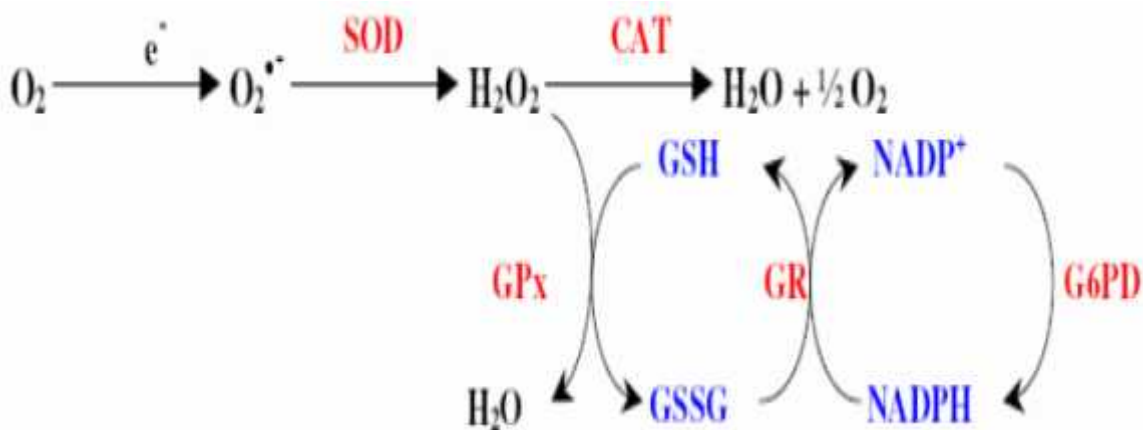
Comme l'indique son nom, la superoxyde dismutase (SOD) accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, Il existe plusieurs iso enzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Zelko *et al.*, 2002).

### b) La catalase

Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dis-mutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Sorg, 2004).

### c) Les glutathions peroxydases et réductases

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) qui joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH). La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur (Martínez-Cayuela, 1995 ; Sorg, 2004). Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans cette détoxification enzymatique peut être résumé dans le schéma suivant :



**Figure 14 :** Schéma résume le mécanisme de détoxification enzymatique (Piquet et herbuterne, 2007).

### 5-2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le Cytochrome C et les vitamines E et C (Favier, 2003).

### 5.2.1. Le Glutathion réduit (GSH)

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GSH-Px). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique (**Packer *et al.*, 1997 ; Power and Lennon, 1999**). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (**Ji *et al.*, 1992**).

### 5-2-2 La Vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable. L' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' $\alpha$ -tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO<sub>2</sub> (**Singh *et al.*, 2005**).

### 5-2-3 La Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (**Singh *et al.*, 2005**).

### 5-2-4 Les métallothionéines (MTS)

Les métallothionéines sont des protéines intracellulaires de faible poids moléculaire (6000-7000 Da) (**Kagi, 1993**). Ils possèdent une composition spéciale d'acides aminés. En effet, elles ne possèdent pas d'acides aminés aromatiques dont le tiers des résidus sont des cystéines servant comme ligand aux métaux. La synthèse des MTS est induite par des facteurs divers, tels que les métaux, les glucocorticoïdes et les radiations ionisantes (**Cherian, 1995**). Les MTS sont supposés jouer des rôles physiologiques multiples, incluant la détoxification



## Chapitre III : stress oxydatif

---

des métaux potentiellement toxiques (Pb, Cd, Ni...), la régulation des métaux essentiels à l'état de trace, tels que le zinc, le cuivre et le chrome et la participation dans les systèmes cellulaires de défense antioxydante (**Diana, 1999**). A cause de leur teneur élevée en groupements sulfhydriques, les MT peuvent réagir avec les radicaux libres ERO et les électrophiles (**Lazo et pitt, 1995**).

### 5-2-5 Le Sélénium

Le sélénium est un antioxydant qui intervient dans l'activité du système enzymatique protecteur, le glutathion peroxydase qui accélère la transformation des radicaux libres et des peroxydes lipidiques en métabolites non- toxiques (**Galan et al., 1997**)

*Chapitre IV :*  
*Les plantes médicinales*



### Chapitre IV : Les plantes médicinales

#### 1. *Zizyphus jujuba* (L) Lam

##### 1.1. Généralité

« Le Jujubier est évoqué dans le **Coran** sous le nom de (Sidr) ». Les jujubiers sont des petits arbres fruitière forestière locale de la famille des Rhamnacées, originaires des pays de l'est de l'Asie et d'Afrique du Nord comme l'Algérie ( surtout dans la région d'Annaba (surnommée en arabe **Madinat Al Unnab** (la ville des jujubes) et les zones sahéliennes Burkina Faso, du Cameroun, de la Gambie, de la Guinée, du Mali ( **Bréhima Koné et al. , 2009** )

##### 1.2. Nom commun

- **Arabe** : sidr
- **Français** : Jujubier.
- **botaniques (scientifique)** : *Zizyphus jujuba* (L) Lam
- **Noms anglais** : Black date, ber, jujube plum, red date.

##### 1.3. La Classification scientifique de *Zizyphus jujuba* (L) Lam

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Trachebionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Ramnales
<b>Famille</b>	Rhamnacées
<b>Genre</b>	<i>Zizyphus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Zizyphus jujuba</i> (L) Lam



**Photo 1 :** *Zizyphus jujuba* (L) Lam

### 1.4. La Description botanique de *Zizyphus jujuba* (L) Lam

Le jujubier appartient au genre *Zizyphus*, à la famille des Rhamnacées et à l'ordre des Rhamnales. Il est décrit comme un arbuste épineux et sarmenteux, un buisson ou petit arbre de 3-4 à 10-16 m de haut (les arbres de 20 m sont très rares), à cime arrondie avec les branches retombantes. L'écorce est grise à brune, peu fissurée, à tranche rose à rougeâtre. Les rameaux sont tomenteux, blanchâtres, en zigzag. Les épines sont disposées par deux à l'aisselle des feuilles : l'une, plus ou moins droite et effilée, un peu orientée vers le haut, atteint 1,8 cm de long. Les feuilles sont alternes, à forme très variable, elliptiques, ovales ou suborbiculaires, de 1,3-7 × 1-4 cm, à bord finement crénelé, à sommet arrondi et mucroné, à base arrondie ou subcordée, symétrique ou presque ; limbe vert et plus ou moins brillant dessus (face supérieure), grisâtre et pubescent dessous (face inférieure). Le pétiole pubescent a 0,5-1,2 cm de long. Le fruit est une drupe globuleuse, glabre, de 1,2-1,5 cm de diamètre, brunâtre ou violette à maturité et contenant un gros noyau enveloppé dans une pulpe blanchâtre plus ou moins farineuse. ( **Photo : 2** ) ( **Bréhima Koné et al. , 2009**).



**Photo2** : Rameau, feuilles et greffon d'un jujubie

### 1.5.Utilisation médicinales

- Les rameaux sont anticancéreux. ( **Bréhima Koné et al., 2009**)
- les fruit sont très riche en vitamines A et C, en phosphore, en protéines et riche en sels minéraux. ( **Bréhima Koné et al., 2009**). riche en vitamine B ,C, bêta carotène , calcium , fer , et autre substance bénéfique pour la santé (**Mr plantes , 2015**)
- Les feuilles du jujubier contiennent des molécules aux propriétés : antibactériennes, cicatrisantes et antidiabétiques , antioxydant, calmante ,hypoglycémique ,tonique, expectorante , Le miel qui est produit est réputé pour son goût et ses propriétés aphrodisiaques (**Marc Beyrouthy, 2015** ).
- Des études suggèrent que les feuilles de jujubier purifie le corps et nettoie les impuretés sur notre corps, il rééquilibre la tension artérielle (hypertension) , Il soigne les estomacs fragiles, hydrate la peau et adoucie les rides , utilise aussi dans le

traitement les maladie oculaire, la gale , les maladie du foie (**Herboristerie de bleunwenn , 2013**)

- Les résultats d'essais sur des animaux indiquent que le jujubier a des effets anti-inflammatoires marqués( **Pizzorno JE Jr et Murray Michael T , 2006**) ce qui pourrait expliquer son usage traditionnel pour soulager la rhinite allergique et l'asthme.( **Therapeutic Research Faculty , 2006**)
- Les effets sédatifs de la plante seraient attribuables à sa teneur en tri terpènes (**Dharmananda Subhuti ,2006**) Un des composants du noyau de son fruit, le jujuboside A, réduirait l'hyperactivité des neurones (**McGuffin , 2006** ).
- D'après une étude scientifique effectué chez des rats diabétique, une supplémentation de ce fruit pendant deux semaines a occasionné une protection de l'organisme contre les changements et histo-pathologique causé par les maladie (**Mr plantes , 2015**).

## 2. Le *Calycotome villosa* Link

### 2.1. Généralité

C'est un arbuste épineux affichant fleurs jaunes au printemps ( **Greuter , 1989**) . Il est largement distribué dans les régions méditerranéennes, surtout en Algérie (**Chikhi, 2014**).

### 2.2.Le Nom commun

- **Nom vernaculaire** : Genêt épineux ou Calicotome épineux.
- **Nom Français** : Calicotome velu ( **Jean-François LÉGER – 2007**)
- **Nom arabe** : Guendoul (**Damerdji et Djeddid, 2012**).

### 2.3La Classification scientifique de *Calycotome villosa* link

## Chapitre IV : Les plantes médicinales

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Fabales (Légumineuses)
<b>Famille</b>	Fabacées (= Papilionacées)
<b>Genre</b>	<i>Calycotome</i>
<b>Espèce</b>	<i>villosa</i> (Poir.) Link = <i>Cytisus laniger</i>



**Photo 3:** *Calycotome villosa* (poir) Link

### 2.4 La Description botanique de *Calycotome villosa* link

*Calycotome villosa* link est un arbuste épineux d'environ 1 m de hauteur, caractérisée par la fleur dont le calice ovoïde, couronné par 5 petites dents, complètement clos dans le bourgeon et se rompant circulairement par le milieu au moment de la floraison ; étendard dressé, carène recourbée ; style arqué, gousse comprimée, à suture ventrale élargie

et étroitement ailée de chaque côté graine non caronculée ils sont très-épineuse, à feuilles 3 folioles, à fleurs jaunes . (Julve , 2015).

### 2.5 L'utilisation médicinales

- ✓ La première étude chimique de cette espèce a conduit à l'isolement et l'élucidation de la structure des deux Molécules glycosides flavonoïdes des fleurs et des feuille ( **Bohm,1998** )
- ✓ *Calycotome villosa* utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires (**Larit et al., 2012**) et dans le cas de l'accouchement Parce qu'il arrête l'hémorragie (**Al-Qahtani , 2013**)
- ✓ Les fleurs et les feuilles possèdent des effets biologiques variés et ont été identifiés comme étant des agents anti tumoraux, des antioxydants et capteurs de radicaux libres (**Santos ,1988 ; Bors w , 1990**).
- ✓ Le genêt épineux a des propriétés antioxydants et anti inflammatoires (**Larit et al., 2012**).
- ✓ Des études suggèrent que *Calycotome villosa* contiennent toutefois plus de Zn et de Pb . (**Ben Ghnayal et al., 2013**)





***Matériel Et  
Méthodes***

### MATÉRIELS ET MÉTHODES

#### 1. Matériels et méthodes des tests phytochimiques :

##### 1.1. Matériel végétale

Nos travaux ont été effectués sur les racines de deux plantes médicinales. Il s'agit de : *Zizyphus jujuba* (L) Lam, *Calycotome villosa* (Poir.) Link, Les racines de *Zizyphus jujuba* (L) Lam, *Calycotome villosa* (Poir.) Link ont été récoltées de la région de Ouad Mila a MILA au mois de Février 2016.



*Zizyphus jujuba* (L) Lam



*Calycotome villosa* (Poir.)

**Photo 4:** les deux plantes médicinales récoltées à la région de Ouad Mila

##### 1.2. Les méthodes

###### 1-2-1 La Préparation des plantes

**Lavage :** Les racines ont été bien rincées avec l'eau et débrassées de toute impureté.

**Séchage :** Les racines des plantes ont été séchées à température ambiante pendant 15 jours.



*Zizyphus jujuba (L) Lam*



*Calycotome villosa (Poir.)*

**Photo 5:** Les racines sèches des deux plantes médicinales.

**Broyage :** Les racines ont été coupées, puis ils sont broyées dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre. (photo6)



*Zizyphus jujuba (L) Lam*



*Calycotome villosa (Poir.)*

**Photo 6:** Poudre des deux plantes

### 1-2-2 L'Extraction des plantes

#### a. Le Principe

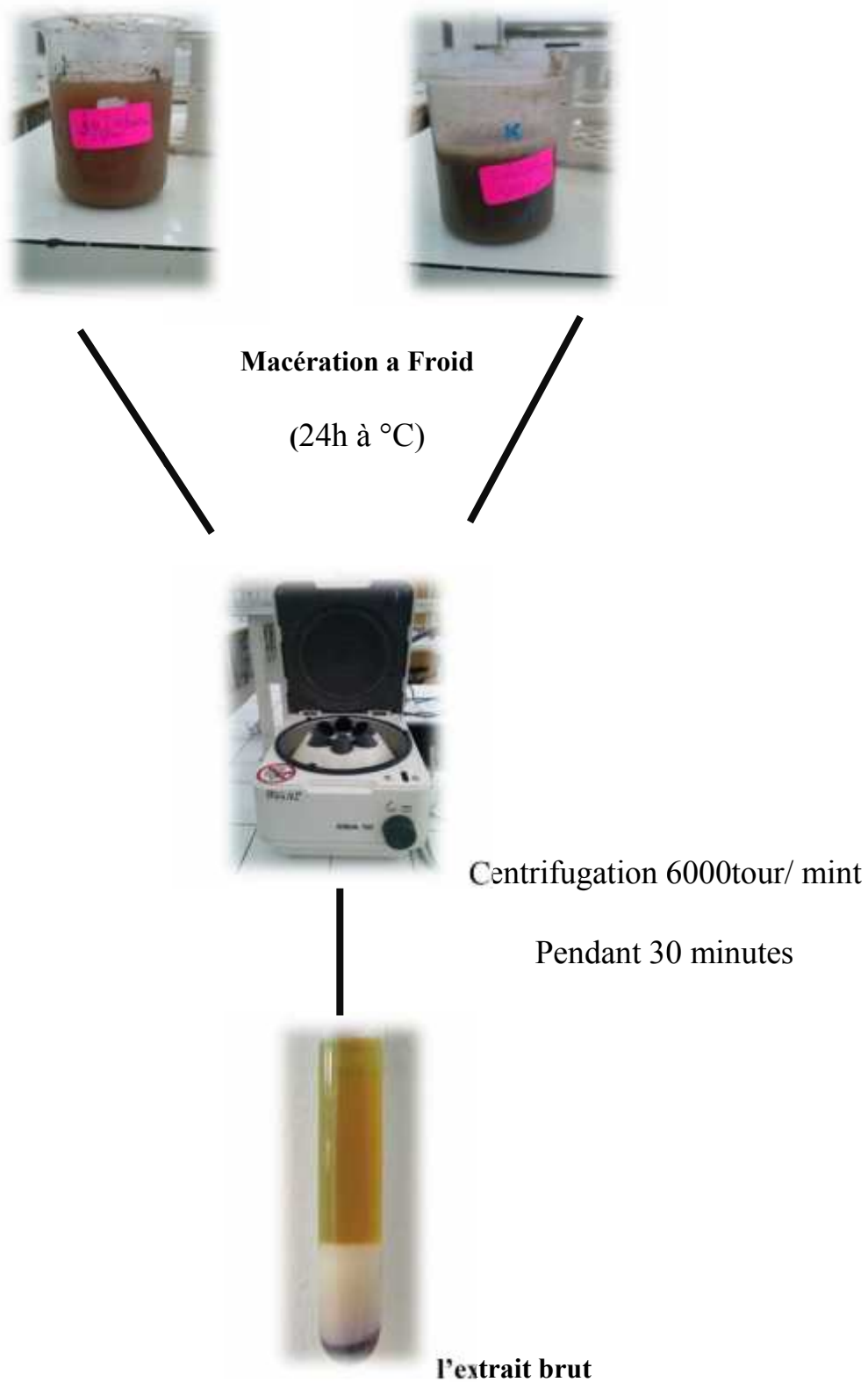
C'est une opération visant à récupérer des substances hydrosolubles à partir de la poudre de plantes à l'aide d'une solution tampon

#### b. La Technique d'extraction

9g des poudre obtenues à partir des deux plantes ont été mises dans des flacons contenant chaque un une 30 ml solution tampon PBS (0.1M pH 7.2) (**annexe 1**) pendant 24h,

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

après la centrifugation de la suspension à 6000 tr/min pendant 30 min le surnageant est récupéré et conservé pour la réalisation des test souhaités (**Figure 15**).



**Figure 15:** Le schéma d'extraction des lectines à partir des poudres racinaires des plantes.

### 1-2-3 Le test d'héماغglutination

Ce test a été porté sur les hématies du lapin et permet d'affirmer la présence des lectines dans les extraits. Il se base sur l'observation de l'agglutination, et par conséquent de la précipitation des érythrocytes en présence des lectines.

#### 1-2-3-1 La Préparation des hématies à 3%

Le sang humain est collecté à partir de laboratoire d'analyse médicale polyclinique Dr hocine ben kadri, le sang du lapin est collecté à partir des lapin provenant au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine1. 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 des lectines des extraits au groupe sanguin ABO. Les hématies collectées ont été au préalable soumises à un lavage, puis à une dilution.

##### a) Lavage des hématies

Le tube contenant une quantité de sang (1.5 ml) a été centrifugé à 4000tr /min pendant 10 min .le surnageant résultant est versé et une solution d'eau physiologique est ajouté au culot ;après avoir bien mélangé le tube est soumis à nouveau à une centrifugation .l'opération est répété 3 fois jusque l'obtention d'un surnageant claire.

##### b) La dilution des hématies

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globule rouge est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1.5 ml des hématies dans 48.5 ml d'eau physiologique afin d'obtenir des hématies à 3%.

#### 1-2-3-2 La technique d'héماغglutination :

Dans chaque puits d'une microplaque , 50 µl d'extrait brute de notre plantes ont été déposés tout en ajoutant 50 µl des hématies du lapin . Après 1h, l'agglutination est observée à l'œil nu.

#### 1-2-4 La limite d'héماغglutination

Dans chaque puits, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés suivis de 50 µl de l'extrait brute (*Zizyphus jujuba (L) Lam, Calycotome villosa* ) qui lui, est placé uniquement au

niveau du premier puits. puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants. Ensuite, 50 µl des hématies du lapin ont été ajoutés dans tous les puits. L'observation de l'activité hémagglutinante a été effectuée à l'œil nu après 1 h d'incubation à une température ambiante (25° C).

### **1-2-5 L'effet de la température sur l'hémagglutination**

Les aliquotes de l'extrait brute ont été versés dans 5 tubes à essai , ces derniers ont été incubés à des degrés différents de température (40, 60, 80 et 90°C) dans un bain marie durant 1h de temps . Après le temps requis, l'extrait brute chauffé a été refroidi à température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été effectué.

### **1-2-6 L'effet du pH sur l'hémagglutination**

Dans 12 tubes à essai une petite quantité de poudre de notre plantes a été mis tout en ajoutant un petit volume de tampon phosphate à différent valeurs de pH en allant de 1 à 12, Après 24 h d'incubation à 4 °C, le test d'hémagglutination a été effectuée sur le surnageant.

### **1-2-7Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides**

Dans chaque puits d'une microplaque 50 µl de l'extrait a été déposé , tout en ajoutant 50 µl de solution de saccharides ou de glycoprotéine (0,1g/1ml de Na Cl 0,9%) (Glucose , Galactose , Mannose , Lactose ) . Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permettre au lectine de reconnaitre le sucre, 50 µl des hématies du lapin à 3% ont été rajoutées. après une heure la lecture a été faite à l'œil nu.

### **1-2-8Le test de la limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides**

Ce test a été effectué pour les sucres qui inhibent l'agglutination, il a été réalisé afin de déterminer la concentration minimale à laquelle a lieu l'inhibition de l'agglutination est mesurée. Dans chaque puits d'une microplaque, 50 µl de tampon phosphate ont été déposés , puis 50 µl des inhibiteurs (0,1g/ml) (**Annexe 01**) sont rajoutées au premier puits seulement, ensuite une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants, l'incubation de ce mélange a été effectué pendant 1h à température ambiante . Finalement, 50 µl des hématies à 3% ont été ajoutés dans chaque puits. L'observation de l'hémagglutination a été faite à l'œil nu après une heure de temps.

### **1-2-9Le Test des métaux (oligoéléments)**

Premièrement, l'EDTA est ajouté à l'extrait de *Zizyphus jujuba* (L) Lam, *Calycotome villosa* (1V-1V respectivement) . Après 1h, 50 µl de notre composé ont été déposés dans un puits tout en ajoutant 50 µl de l'un des métaux (MgCl<sub>3</sub>, CaCl<sub>3</sub> , MnCl<sub>3</sub> ).enfin 50 µl de sang de lapin sont ajoutés au mélange, la lecture a été faite à l'œil nu après 1h d'incubation .

### **1-2-10 Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO**

La spécificité de groupe sanguin de l'extrait a été établie à l'aide des érythrocytes des différents groupes du système ABO. L'étude a été effectuée sur les antigènes des hématies humaines appartenant au système du groupe sanguin ABO. 50 µl d'extraits de plantes ont été déposés dans un puits d'une microplaque suivis de 50 µl des hématies d'un groupe du sang humain préparés au part avant. Après 1h l'observation a été faite à l'œil nu.

### **1-2-11 La purification des lectines par la chromatographie échangeuse d'ions**

Le surnageant de l'extrait brute a été récupéré puis réparti en trois fraction, la première est versé au niveau de la colonne contenant le Gel cellulose DEAE, l'élution a été faite par un tampon phosphate (0,1M, pH7,2), les fractions de séparation ont été recueillies dans des tubes secs (5ml/tube). La mesure de l'absorbance des extraits issus d'échangeuse d'ions a été réalisé dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est 280 nm, lorsque l'absorbance atteindre le 0, la lecture est arrêté. Ensuite, une 2<sup>ème</sup> élution a été effectués par l'Na Cl a une concentration croissante (0,1M ; 0,2M ; 0,3M ) ( **annexe 01**) Les fractions ont été recueillie dans des tubes secs (5ml/tube). L'absorbance des extraits issus d'échangeuse d'ions a été mesurée dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est 280 nm. Finalement, on a tracé la courbe d'absorbance en fonction des tubes. Les fractions récupérés ont été testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité hémagglutinante est améliorée.

- **L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Sephadex G75 et G25**

- **La préparation de la colonne de Sephadex G75 et G25**

4 g de Sephadex G75 et G25 ont été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,2). Le mélange a été incubé pendant 48 h à température ambiante. Puis il a été coulé dans une colonne. Le surnageant de l'extrait brute de notre plantes a été versé lentement dans la colonne Sephadex G25 et G75 , puis il a été recueilli par l'élution avec le tampon phosphate (0,1M ; Ph7,2) dans des tubes secs (5ml/tube) . Les fractions récupérés ont été



testés sur les hématies du lapin, pour assurer que l'activité hémagglutinante est améliorée. L'absorbance des extraits récupéré à partir de la chromatographie sur colonne a été mesurée dans le spectrophotomètre à UV dont la longueur d'onde est de 280 nm. Puis on a tracé la courbe d'absorbance en fonction des tubes.

### **1-2-12 L'activité antioxydante des lectines in vitro**

Toutes les fractions récupérées par la chromatographie sur colonne de sephadex G25, G75 et échangeuse d'ion sont lyophilisé ensuite conservé pour mesuré l'activité antioxydante des lectines in vitro.

#### **1-2-12-1 Dosage de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)**

Le dosage de la superoxyde dismutase (SOD) est réalisé selon la méthode de Asada *et al* (1974) (Annexe 02) .

#### **1-2-12-2 Effet scavenger du radical DPPH in vitro**

Selon le protocole décrit par Kirby *et al* (2005). Dans ce test les antioxydant réduisent le diphenyl picryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphenyl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sauchez, 2002) (Annexe 02).

#### **1-2-12-3 Dosage de l'activité de fer ferrique**

Le dosage de la l'activité de fer ferrique est réalisé selon la méthode de Yıldırım *et al* (2000) (Annexe 02).

#### **1-2-12-4 Dosage des protéines**

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode de Bradford (1976) (Annexe 02) (Annexe 03 )

## **2. Matériels et méthodes des tests biologiques**

L'objectif de cette partie a été focalisé sur l'étude de l'effet immun modulateur de lectine extraite par les plantes *Zizyphus jujuba* (L) Lam, *Calycotome villosa*.

### **2.1. Matériel biologique et conditions d'élevage**



## MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'étude de l'activité phagocytaire a été effectuée sur des souris ayant un poids entre 29 et 35 g , L'élevage des animaux a été réalisé dans des cages au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine, dans des bonnes conditions d'hygiène à une température ambiante de 25°C . Ils ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré, dont la composition est détaillée dans le tableau

**Tableau 6 : Composition du régime alimentaire pour 1 kg d'aliment (Upreti *et al*, 1989).**

Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
<i>Mais</i>	420	42
<i>Soja</i>	260	26
<i>saccharose</i>	210	21
<i>Huile</i>	20	2
<i>Son</i>	60	6
<i>VMV</i>	30	3

### 2.2. Le Traitement des souris

La **figure 16** illustre les différentes étapes du protocole expérimental :

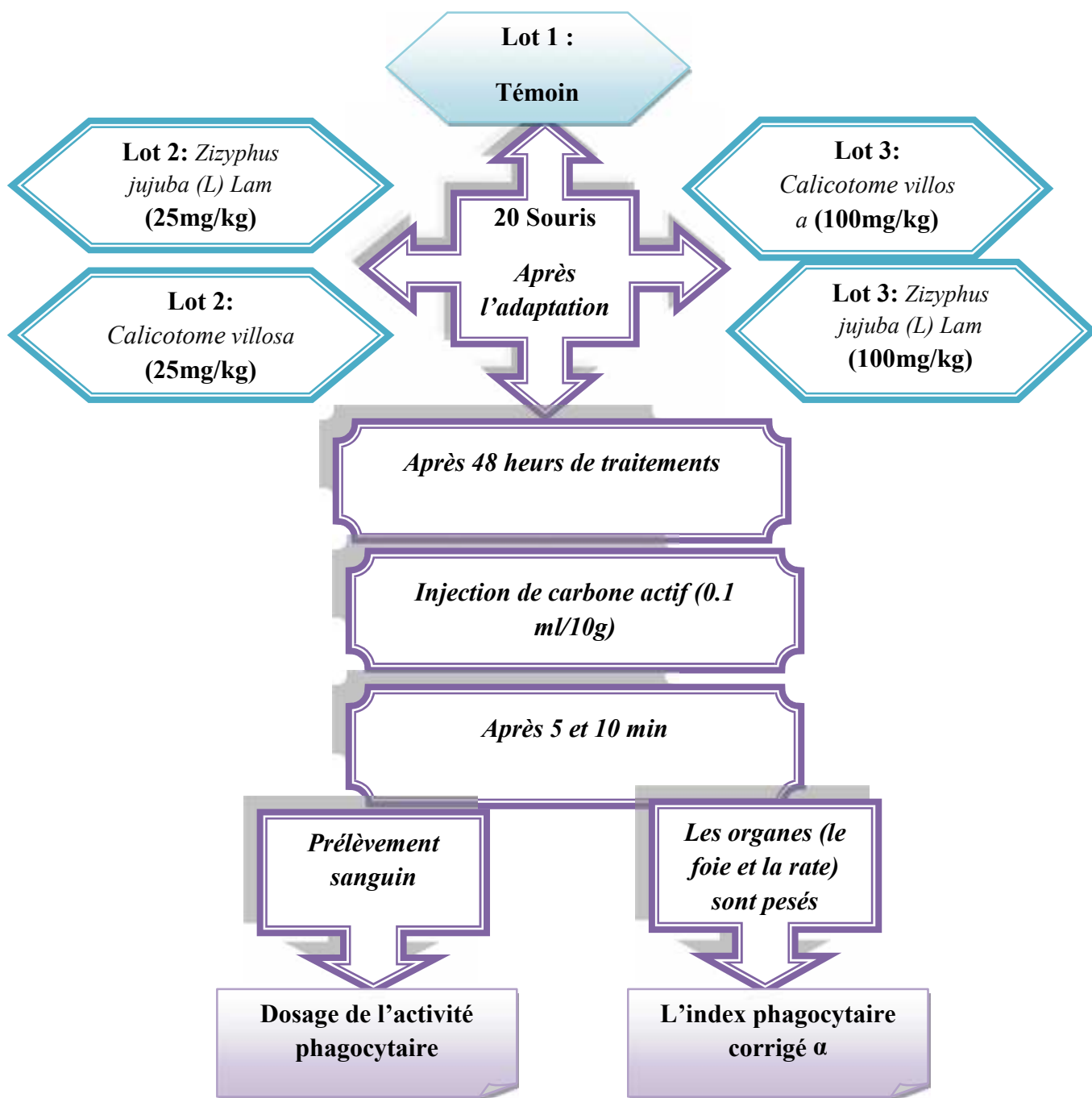


Figure 16 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental de dosage de l'activité phagocytaire et l'index phagocytaire corrigé  $\alpha$

L'activité phagocytaire a été exprimée par l'indice phagocytaire K qui mesure toutes les fonction de l'ensemble des cellules de système réticulo-endothélial au contact du sang circulant et par l'index phagocytaire corrigé  $\alpha$  qui exprime cette activité par unité de poids des organes actifs : le foie et la rate. 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).

$$K = \frac{\ln OD_1 - \ln OD_2}{t_2 - t_1}, \quad t_{1/2} = \frac{0.693}{k} \quad \alpha = \sqrt{K} \frac{\text{les poids des corps}}{\text{le poids (foie + rate)}}$$

Où DO1 et DO2 sont les densités optiques à des moments t1 et t2 respectivement.

### 3. Analyse statistique

Les résultats de l'activité anti oxydantes de lectines in vitro , l'activité phagocytaire , le taux de clearance du carbone et les protéines sont représentés sous forme de moyennes et écart-type. La comparaison entre les différents groupes est effectuée par le test *t* de student .

\* : Différence significative comparant au témoin  $P \leq 0.05$

\*\* : Différence hautement significative comparant au témoin  $P \leq 0.01$

\*\*\* : Différence très hautement significative comparant au témoin  $P \leq 0.001$

An orange scroll graphic with a white background, featuring a dark orange border and a dark orange shadow. The scroll is unrolled, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the white background.

# *Résultats et Discussion*

## Résultats et discussion

### Résultats et discussion

#### 1. Le test d'hémagglutination :

Le **tableau 07** présente l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de *Calycotome villosa L*, *Zizyphus jujuba L*

Plante	Tests d'agglutination
<i>Calycotome villosa L</i>	+++
<i>Zizyphus jujuba L</i>	+ ++

**Tableau 7 :** L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut du *calycotome villosa L* , *zizyphus jujuba L*

✓ +++ : Très forte agglutination.

l'extrait du *Calycotome villosa L* , *Zizyphus jujuba L* montre une très forte agglutination vis-à-vis des hématies du lapin qui a été observée à l'œil nu . cette observation qui provoque la présence des lectines dans les deux plantes médicinales . Ils 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.



**Photo 7 :** L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait du *calycotome villosa L*

## Résultats et discussion



**Photo 8** : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait de *zizyphus jujuba L*

La lectine au niveau de deux plantes s'attache au récepteur sur la surface des hématies, et parce qu'il est polyvalent, forme un réseau de globules rouges qui se déposent en couche fine, rosée, alors on parle d'hémagglutination positive (**Photo 07, 08**). En absence de lectine, les cellules roulent au fond du puits où elles s'accumulent en un bouton rouge dense: l'hémagglutination est négative. Le potentiel d'hémagglutination des lectines a été étudié en utilisant des érythrocytes natifs de lapin ce qui a montré une bonne hémagglutination. C'est résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes de *Moringa G* et *Moringa M* et qui ont montré également de très fortes agglutinations lors de l'addition de la suspension d'érythrocytes de lapin (**Necib et al, 2014**).

### 2. Le teste de limite 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. **Le Tableau 08** montrent les résultats obtenus lors du test de limite d'hémagglutination.

**Tableau08** : L'activité hémagglutinante des extraits *zizyphus jujuba L*, *calycotome villosa L*

Dilution Extrait	Dilution										
	1/2	¼	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
<i>zizyphus jujuba L</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>calicotome villosa L</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-



## Résultats et discussion

### 3. Le teste d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides :

Le test d'inhibition a été effectué avec certains saccharides (glucose, galactose, mannose, lactose) pour déterminer la spécificité des extraits aux glucides.

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 suivant :

**Tableau09** : Le test d'inhibition des extraits bruts avec le glucose, galactose, mannose, et le Lactose

Saccharide	Lactose	Glucose	Mannose	Galactose
<b>Extrait brut</b>				
<i>zizyphus jujuba L</i>	-	-	-	-
<i>calycotome villosa L</i>	-	-	-	-

✓ -: pas d'inhibition

• L'extrait de *zizyphus jujuba L* et *calycotome villosa L* n'ont pas été inhibé par des saccharides testés.

Les extraits d' *zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa L* ne présentent aucune spécificité pour les saccharides testés.

C'est résultats ont été similaires à ceux des lectines purifiées à partir des graines de *Phaseolus acutifolius* (Valadez *et al.*, 2011). Par contre *Astragalus monghlicus* présentent une spécificité pour le D-galactose et le lactose (Lam *et Ng*, 2011).

### 4 .Le test d'inhibition d'hémagglutination par des métaux :

Le test d'inhibition a été effectué avec certains métaux (Calcium , Manganèse , Magnésium)



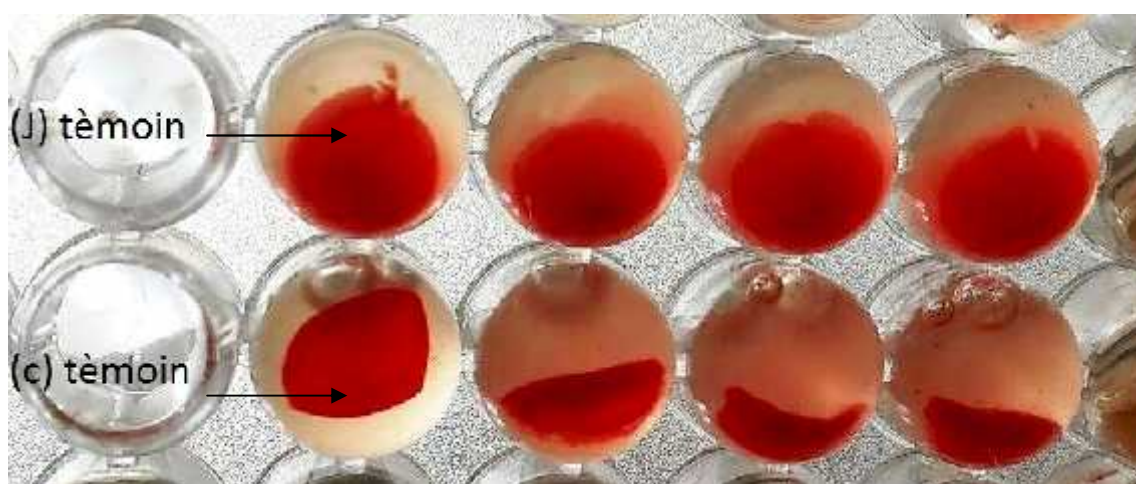
## Résultats et discussion

Métaux	Métaux			
	EDTA	Calcium	Magnésium	Manganèse
Extrait brut				
<i>zizyphus jujuba L</i>	++	+	+	+
<i>calycotome villosa (L)</i>	++	-	-	-

**Tableau 10:** Le test d'inhibition des extraits bruts avec le Calcium , Magnésium , Manganèse

- ✓ ++ : forte agglutination
- ✓ + : faible agglutination
- ✓ : Inhibition

• L'extrait de *zizyphus jujuba L* n'ont pas été inhibé par des métaux testés contrairement L'extrait *Calycotome villosa L* a été inhibé par les trois métaux testés.



**Photo 11 :** Le test d'inhibition d'hémagglutination par de métaux de l'extrait de *zizyphus jujuba L* (J) et de *calycotome villosa L* (C) avec trois métaux ; Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Mn<sup>++</sup>

Le *calycotome villosa* présente une inhibition avec les trois métaux testée , alors montre que notre lectine est une métalloprotéine. contrairement le *zizyphus jujuba* qui n'ont pas été inhibé par les trois métaux qui eux ont présenté une agglutination lors du contact avec

## Résultats et discussion

l'extrait . Ces résultats ont été similaires a red alga (*Pterocladia Capillacea* )qui ne présente aucune activité avec les métaux ce qui fait d'elle une lectine non métalloprotéine (Necib *et al*, 2014)..

### 5. L'effet de pH sur l'hémagglutination :

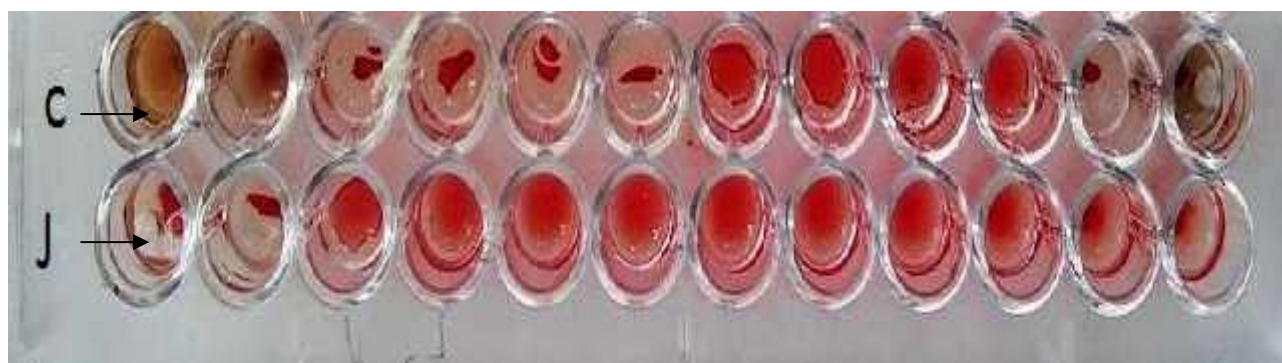
**Tableau11** : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante des extraits de *zizyphus jujuba L* et de *calycotome villosa L*

extrait \ pH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>zizyphus jujuba L</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>calycotome villosa L</i>	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

- ✓ +++ : Très forte agglutination
- ✓ ++ : Forte agglutination
- ✓ + : Faible agglutination

- L'extrait de *Calycotome villosa L* et de *zizyphus jujuba L* reste stable toute au long de gamme du pH testée de **1 à 12**.

## Résultats et discussion



**Photo 12** : le teste de l'effet du pH sur l'hémagglutination de l'extrait du *Calycotome villosa L* (C) , de *zizyphus jujuba L* (J)

L'extrait de *Calicotome villosa L* et de *zizyphus jujuba L* reste stable toute au long de gamme du pH testée de 1 à 12. ces résultats ont été comparés çà ceux de **necib et al , 2015** qui ont montré que la lectine de *Pteroclatiella capillacea* et *Cyperus rotundus* est stable au pH [2-12].

### 6. L'effet de température sur l'hémagglutination :

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différent température sont présentés dans le tableau suivant :

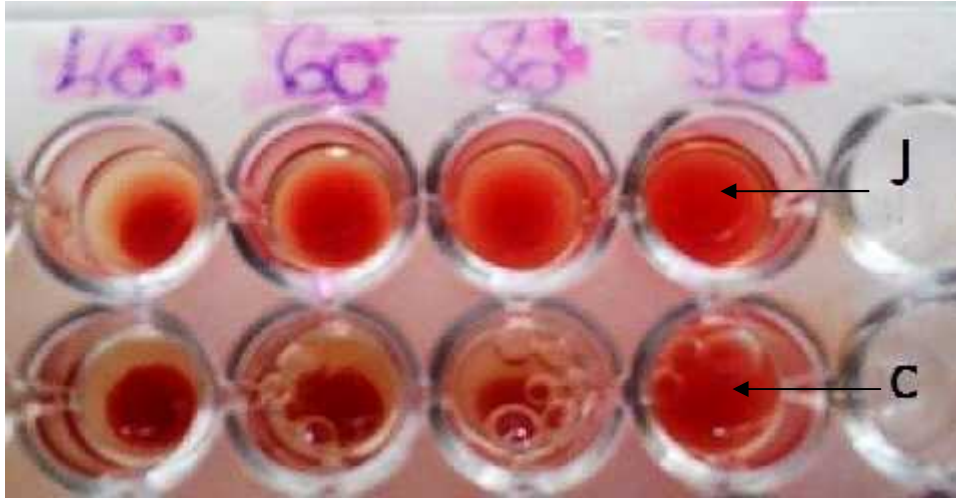
**Tableau 12** : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits de *Calycotome villosa L* *zizyphus jujuba L*

Extrait \ T°(°C)	40	60	80	90
<i>zizyphus jujuba L</i>	+++	++	+	+
<i>Calycotome villosa L</i>	+++	+++	+++	+

- ✓ + : faible agglutination
- ✓ ++ : Forte agglutination
- ✓ +++ : Très forte agglutination

## Résultats et discussion

Le traitement thermique d'extrait racinaire de *Calycotome villosa L* et *zizyphus jujuba L*, a réduit significativement leur activité hémagglutinante, jusqu'à 90 °C, elle n'a été pas suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante.



**Photo13 :** L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante des extraits *zizyphus jujuba L*, *calycotome villosa L*

Le traitement thermique d'extrait racinaire de *Calycotome villosa L* et *zizyphus jujuba L* de 40 jusqu'à 90 °C pendant 2h, elle n'a été pas suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante. Ce résultat indique que nos hémagglutinines sont très résistants à la température (thermorésistant), comme est le cas des lectines extraites à partir de l'algue rouge *Pterocliadiella capillacea* qui pousse jusqu'à 100°C (Necib *et al.*, 2015).

### 7. Le test d'agglutination sur les hématies humaines ABO :

**Tableau 13:** L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut de *zizyphus jujuba L*, *calycotome villosa L*.

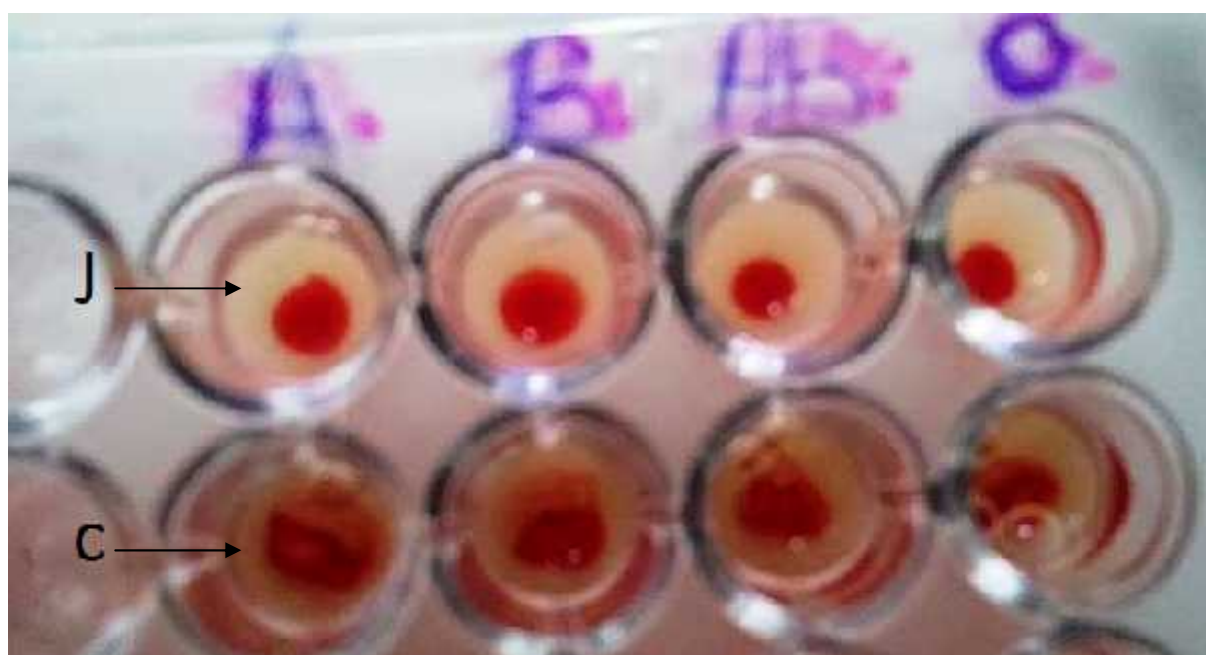
Le Tableau suivant montrent les résultats obtenus lors du test d'agglutination sur les hématie ABO .

## Résultats et discussion

Groupe sanguin	A	B	AB	O
Extrait brut				
<i>zizyphus jujuba L</i>	-	-	-	-
<i>Calycotome villosa L</i>	+++	+++	++	++

- ✓ - : absence d'agglutination
- ✓ ++ : forte agglutination
- ✓ +++ : très forte agglutination

• l'extrait de *calycotome villosa L* agglutine tous les types des groupes sanguins du système ABO tandis que l'extrait de *zizyphus jujuba L* n'agglutine aucune des types des groupes sanguins.



**Photo 14 :** L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par les deux extraits bruts *zizyphus jujuba L* (J), *calycotome villosa L* (C)

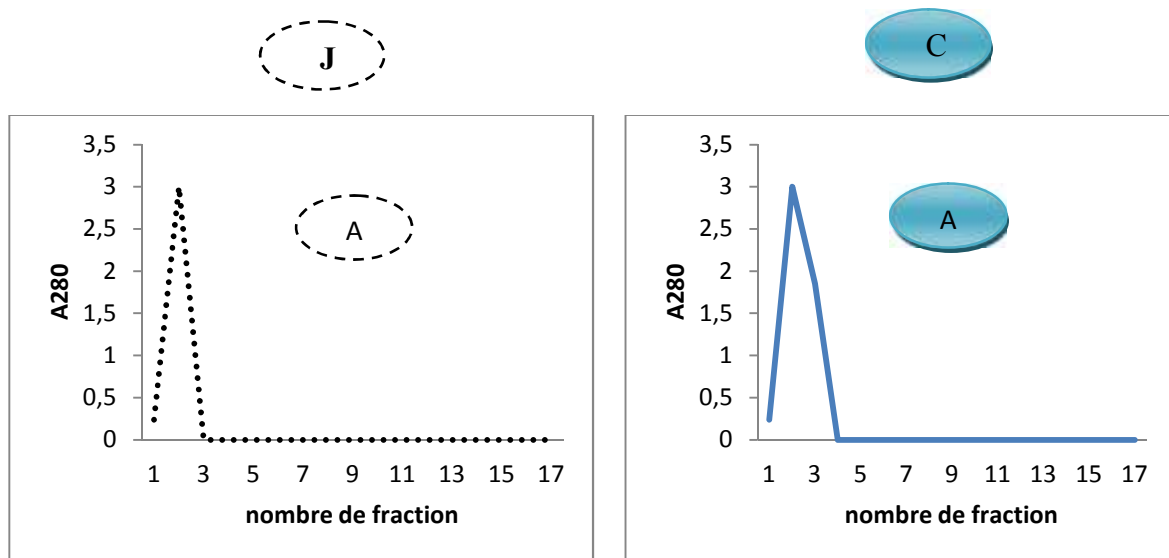
## Résultats et discussion

L' extrait de *Calycotome villosa* L agglutine fortement tous les types de groupe sanguins humains, Ce résultat est en accord avec les études réalisées sur *Geotrupes stercorarius* et sur *Diplotaxis assurgens* et *Raphanus sativus* qui ont la même propriété (Devi *et al.*, 2014 ; Deeksha *et al.*, 2015). Alors nous pouvons classer les lectines de *Calycotome villosa* L dans la catégorie des lectines agglutinent les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, qui sont généralement désignées comme non spécifique.

Au contraire l'extrait de *zizyphus jujuba* L n'agglutine aucun type des groupes sanguins humains, donc ces lectines ne présentent aucune sélectivité pour les groupes du système ABO. Ces résultats sont identiques aux celles trouvées sur l' espèce de *Brassica napus* L et une espèce voisin *Brassica rappa* (Deeksha *et al.*, 2015). des résultats similaires sont obtenus avec le EHL et la lectine de l'algue *Bryopsis plumosapre* (Shaista *et al.*, 2014 ; Han *et al.*, 2010).

### 8.La purification des lectines par la chromatographie échangeuse d'ions

#### 8.1 La Chromatographie sur colonne de sephadex G25



**Figure17** :Filtration de extrait de *zizyphus jujuba* ( J) et *calycotome villosa* ( C) sur colonne de sephadex **G25**

Le volume de rétention : 5 ml. L'éluant : PBS , pH 7,4. La longueur d'onde :  $\lambda=280\text{nm}$ .

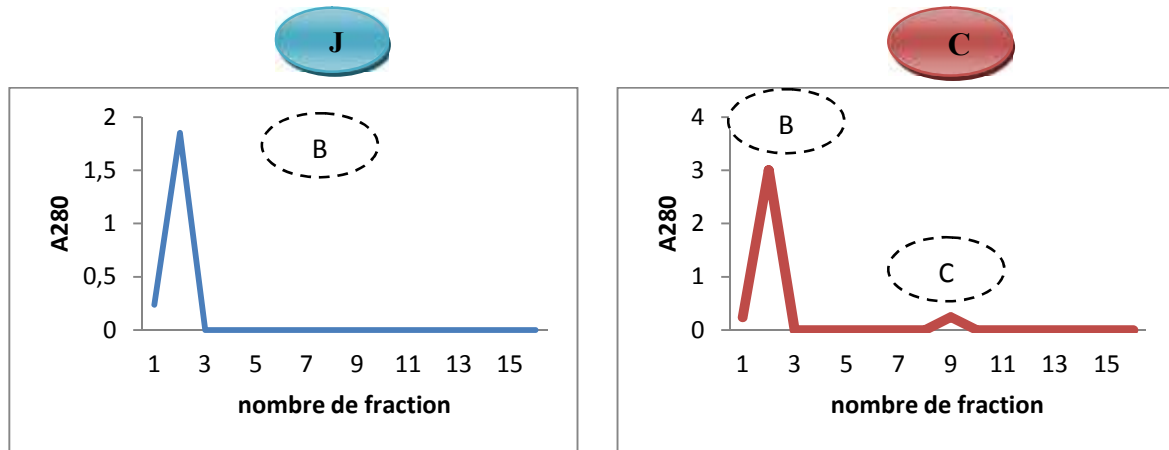
La filtration de l'extrait de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* sur colonne de sephadex G25 et la lecture à 280nm a montré un pic (**Figur17**). Afin de confirmer la présence



## Résultats et discussion

des lectines au niveau de ces deux tubes dans l'extrait de *zizyphus jujuba* et de ces trois tubes dans l'extrait de *calycotome villosa*, un test d'hémagglutination a été effectué avec les hématies de lapin selon le protocole décrit dans le chapitre précédent. Alors Les résultats obtenus ont réellement confirmé la présence de lectines avec une très forte hémagglutination.

### 8.2 La Chromatographie sur colonne de sephadex G75



**Figure 18** : Filtration de l'extrait de *zizyphus jujuba* (J) et *calycotome villosa* (C) sur colonne de sephadex G75

Le volume de rétention : 5 ml. L'éluant : PBS, pH 7,4. La longueur d'onde :  $\lambda=280\text{nm}$ .

La filtration de l'extrait de *zizyphus jujuba* sur colonne de sephadex G75 et la lecture à 280 nm a montré un seul pic qui correspond à la présence d'un seul type de lectine par contre l'extrait de *calycotome villosa* a montré deux pics, probablement qui correspondent à la présence de deux types de lectine. (**Figure 18**)

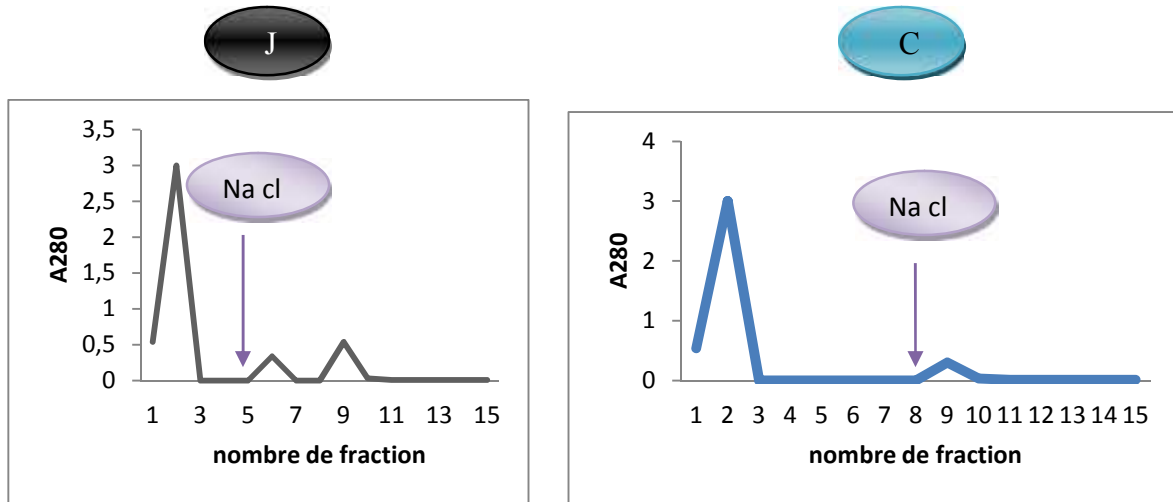
*zizyphus jujuba* a donné un seul pic, qui correspond au premier et deuxième tube comme est le cas des lectines de *Pterocladia capillacea* séparées par chromatographie sur colonne de séphadex G 75 (Necib *et al.*, 2015),

contrairement *calycotome villosa* a donné deux pics, qui correspondent au premier et deuxième et troisième tubes ces résultats similaires ont été obtenus avec les lectines de *Clarias gariepinus* fractionnées sur le gèle sephadex G 150 avec un volume de rétention de 4 ml (Odekanyin *et Kuku*, 2014).

les deux tubes pour *zizyphus jujuba* et trois tubes pour *calycotome villosa* ont été mélangés et lyophilisés pour être utilisés dans le test de l'activité phagocytaire.

## Résultats et discussion

### 8.3 La Chromatographie d'échangeuse d'ion



**Figure 19 :** Filtration de l'extrait de *Zizyphus jujuba* (J) et *Calycotome villosa* (C) sur une colonne de NaCl

Le volume de rétention : 5 ml. L'éluant : PBS, pH 7,4. La longueur d'onde :  $\lambda=280\text{nm}$ .

La filtration de l'extrait de *Zizyphus jujuba* sur une colonne de NaCl et la lecture à 280 nm ont montré trois pics, contrairement à l'extrait de *Calycotome villosa* qui a montré deux pics. (Figure 19)

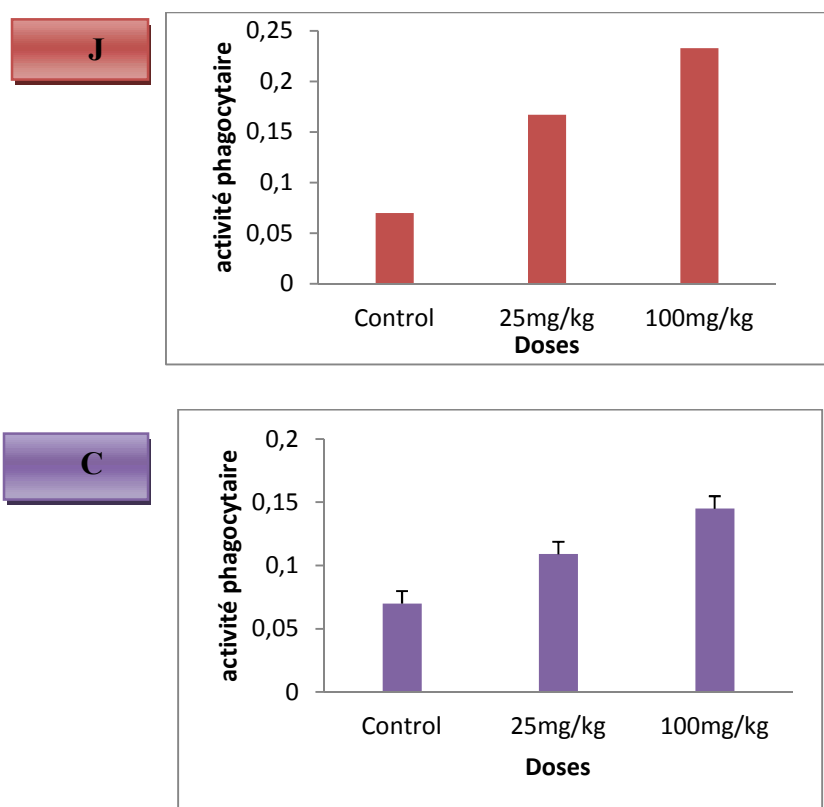
Afin de confirmer la présence des lectines au niveau des 2<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> tubes dans l'extrait de *Zizyphus jujuba* et des 2<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> tubes dans l'extrait de *Calycotome villosa*, un test d'hémagglutination a été effectué avec les hématies de lapin. Alors les résultats obtenus ont confirmé la présence de lectines avec une très forte hémagglutination pour l'extrait de *Zizyphus jujuba* par contre une faible agglutination pour l'extrait de *Calycotome villosa*. Par la suite les tubes de deux extraits ont été mélangés et lyophilisés pour être utilisés dans le test de l'activité phagocytaire.



## Résultats et discussion

### 9. Etude de l'activité phagocytaire

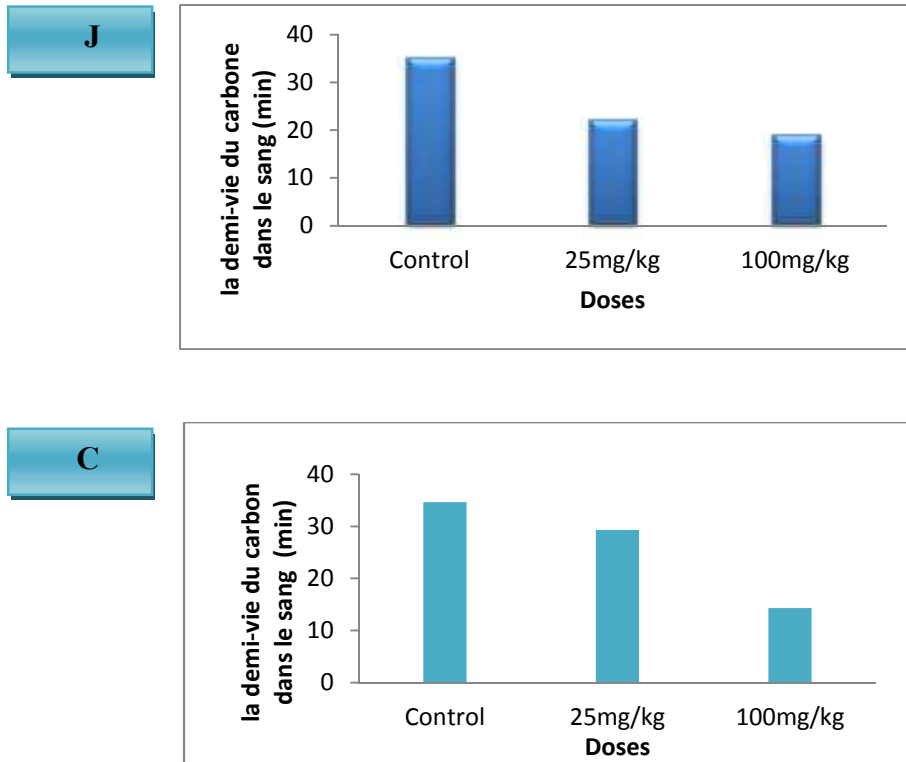
Afin de déterminer le rôle des lectines de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* dans le système immunitaire, un test d'activité phagocytaire (**Figure 20**), a été réalisé où la vitesse d'élimination du carbone a été calculée (**Figure 21**).



**Figure 20** : Effet des lectines extraites de *zizyphus jujuba* (**J**) et *calycotome villosa* (**C**) sur l'activité phagocytaire.

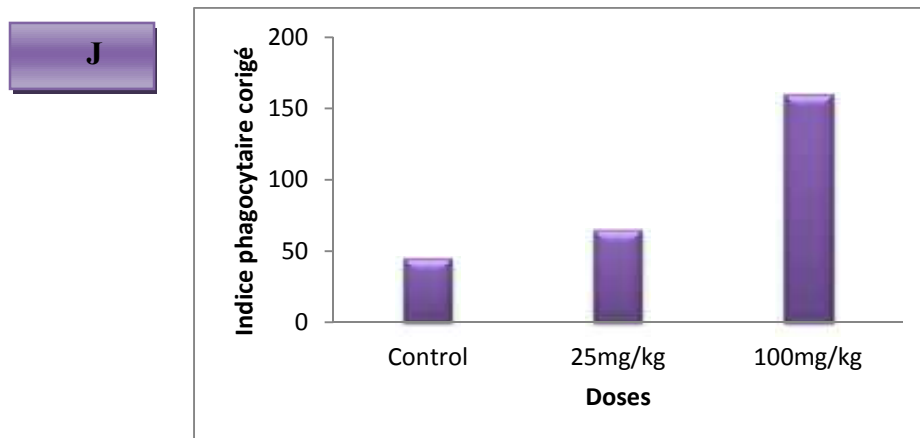
La figure 20 montre une augmentation de l'activité phagocytaire de l'extrait de deux plantes dépendant de la dose dans le groupe traité respectivement par rapport au témoin. ( l'activité phagocytaire de l'extrait *zizyphus jujuba* plus élevée que l'extrait de *calycotome villosa* ).

## Résultats et discussion

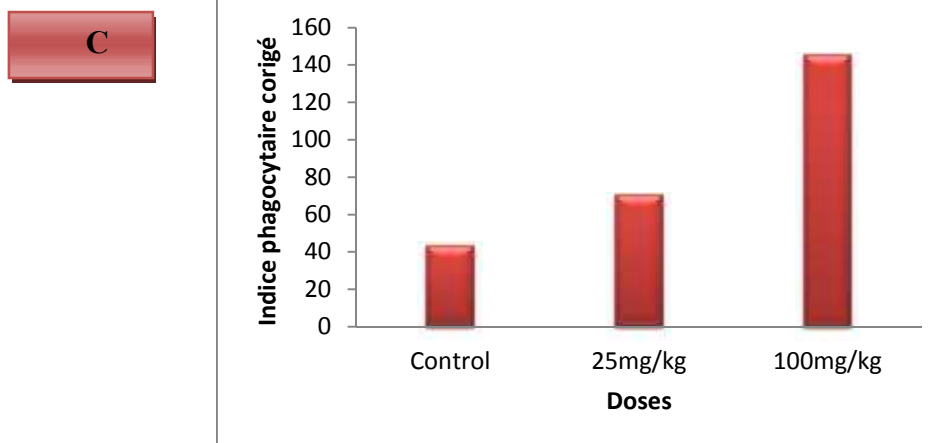


**Figure 21** : Effet de lectines extraites de *zizyphus jujuba* (*J*) et *calycotome villosa* (*C*) sur la demi-vie  $t_{1/2}$  du carbone dans le sang.

Par contre **La figure 21** montre une diminution du temps de demi- du carbone dans le sang dépendant de la dose dans le groupe traité respectivement par rapport au témoin.



## Résultats et discussion



**Figure22** : Effet de lectines extraites de *zizyphus jujuba* (J) et *calycotome villosa* (C) sur indice phagocytaire corrigé

La figure 22 montre une augmentation de l'Indice phagocytaire de l'extrait de deux plantes dépendant de la dose dans le groupe traité respectivement par rapport au témoin.

Le système réticulo-endothélial (R.E.S) sont constitués par la rate, le thymus et d'autres tissus lymphoïdes, ainsi que les cellules qui tapissent les sinus de la rate, la moelle osseuse, et les ganglions lymphatiques et les capillaires du foie endothélium (cellules de Kupffer) et des glandes surrénales et de l'hypophyse ceux-ci comprennent les cellules fixes ou macrophages, sont transportés par les fluides corporels ou de se promener à travers les tissus. Le RES est définie la meilleure fonctionnellement par sa capacité à piéger les débris ou autres matières étrangères et forme première ligne de défense. Alors que l'activité phagocytaire des macrophages est un indicateur important des fonctions immunitaires de l'organisme, et ce qu'il a été remarqué dans notre étude : au fur et à mesure qu'on augmente la dose on a une augmentation parallèle de l'activité phagocytaire. 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 autres produits qui ne sont plus décelables. Pour confirmer l'effet de la lectine extraite de *Zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa* sur l'activité phagocytaire, un test (clairance du carbone) a été réalisé et a ainsi révélé que de plus en plus la dose est injectée ; le temps de clairance du carbone dans le sang diminue graduellement. Ceci indique que la lectine extraite de deux plantes influence le mécanisme de phagocytose mais on observe que l'extrait de *Calycotome villosa* influence plus que l'extrait de *Zizyphus jujuba*, qui sont

## Résultats et discussion

largement distribués par les monocytes, macrophages ou RES qui se traduisent par une augmentation significative de l'indice phagocytaire du test de clairance de carbone, c'est résultat en accord avec celle trouvée avec la lectine de *Illicium Verum* (Necib *et al* , 2015)

### 10. L'activité antioxydante des lectines in vitro

#### 10.1 Détermination de la concentration en protéines

Les lectines purifiées présentent une grande concentration de la protéine après purification avec des valeurs de 0.085 et 0.252 mg / ml dans l'extrait de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* respectivement. Mais on trouve la concentration de la protéine de *calicotome villosa* plus forte que la concentration de la protéine de *zizyphus jujuba* (tableau 14 ). C'est résultats ont été similaires à ceux des lectines extraites des racines des plantes *Morus nigra*, *Ruta graveolens* et *Cyperus rotundus* (Necib *et al*, 2015).

**Tableau 14** : La concentration en protéines dans lectine brut et purifié de *Zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa*

	Les raciness des plantes	La concentration de proteine (mg/ml)
Brut	<i>Zizyphus jujuba</i>	1.79±0.02
	<i>Calycotome villosa</i>	2.19±0.01
Lectine purifier	<i>Zizyphus jujuba</i>	0.085±0.002
	<i>Calycotome villosa</i>	0.252±0.001

## Résultats et discussion

### 10.2 L'activité antioxydante in vitro de lectines de *Zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa*

**Tableau 15** : le teste anti radicalaire de lectines purifiées de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa*

Plantes	Le pourcentage de scavenger des radicaux libres (%).		
	DPPH	SOD	Fer- ferrique
<b><i>Zizyphus jujuba</i></b>			
<b>A G25</b>	17.02±0.09	12.4±0.1	26.2±0.1
<b>B G 75</b>	23.29±0.1	21.3±0.1	35.8±0.12
<b>C G75</b>	55.49±0.15	68.1±0.15	68.2±0.15
<b>D (lectines partiellement purifier)</b>	76.3±0.15	70.9±0.15	68.9±0.12
<b><i>Calycotome villosa</i></b>			
<b>A (G 25)</b>	62.63±0.15	70.2±0.12	53.9±0.13
<b>B G 75</b>	29.66±0.1	27.3±0.1	35.6±0.1
<b>C G 75</b>	41.15±0.1	33.7±0.1	47.1±0.1
<b>D (lectines partiellement purifier)</b>	76.7±0.12	70.7±0.12	55.2±0.13
<b>Standard (Ascorbique)</b>	79.19±0.12	76.17±0.17	71.47±0.13

## Résultats et discussion

---

Nous avons remarqué que les valeurs de la fraction de *Calycotome villosa* A et D sont les plus élevées par rapport au standard présentes les valeurs suivantes respectivement : 62.63% , 76.7% , 79.19% pour le Dpph , 70.2%,70.7%,76.17% pour le SOD 53.9%,55.2%,71.47% pour le Fer ferrique.

Les valeurs de la fraction de *Zizyphus jujuba* C et D sont les plus élevées par rapport au standard présentes les valeurs suivantes respectivement : 55.49 % , 76.3%,79.19% pour le DPPH , 68.1%,70.9%,76.17% pour le SOD , 68.2%,68,9%,71.47% pour le Fer ferrique.

les lectines purifiées (fraction D) des plantes *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* ont montré une 'activité antioxydant maximale très proche avec des valeurs de 76.3 % et 76.7 % ,respectivement. Pour le DPPH.

Les valeurs de l'activité anti-oxydante déterminées par l'anion superoxyde procédé de piégeage des radicaux suivent le même ordre que celui de l'essai DPPH. les deux lectines purifiées(fraction D) à partir des racines de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* ont montré une activité anti oxydante proches avec des valeurs 70.9% et 70.7 % respectivement

Le dosage de réduction de puissance est souvent utilisé pour évaluer la capacité d'un antioxydant pour donner de l'électron. Dans son analyse de la capacité des lectines purifiées à partir des racines des deux plantes pour réduire  $Fe + 3$  à  $Fe + 2$  ont été déterminées. Parmi les deux lectines purifiées ,l'activité antioxydante de *zizyphus jujuba* est plus élevée que celle de *calycotome villosa* avec des valeurs de 68.9 % , 55.2%, respectivement.

## Résultats et discussion

---

Le pouvoir antioxydant de nos différents extraits testés ont été estimés par différent méthode , le DPPH ; c'est celle qui est utilisée dans le monde entier **Scherver R. et Godoy H. T., 2009**) et la plus populaire pour le dé pistache de l'activité anti radicalaire d'un composé unique ou un mélange de composés. Cette méthode est considérée, à partir d'un point de vue méthodologique, l'une des plus faciles, plus précise et productive de l'activité antioxydante des extraits de plantes . **(Pereira Nunes X., et al., 2012)**.

le fer ferrique considérer comme une méthode de mesure de la capacité des substances de nos extraits qui à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . Alors on montre que C'est une technique rapide ,et facile et reproductible( **Karagozler et coll., 2008**).La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle **(Yang et coll., 2008)**.alors que ont indique que il ya une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants des extrait des plantes , et ce qu'il a été remarqué dans notre étude.

## Résultats et discussion

---





***Conclusion et  
perspectives***

## Conclusion

Nous avons extrait des substances à partir des racines de deux plantes médicinales *zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa*, ces molécules ont une activité agglutinante sur les hématies, et donc ce que signifie la présence de lectine.

Les extraits de *zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa L* ne présentent aucune spécificité pour les saccharides testés, donc qu'il n'y a pas une affinité différente chez les monosaccharides et les glycoprotéines.

les lectines de *zizyphus jujuba L* n'agglutinent aucune des types des groupes sanguins du système ABO, tandis que les lectines de *calycotome villosa* agglutinent tous les types de groupe sanguin.

les lectines de *calycotome villosa* présente une inhibition avec les trois métaux testés ( $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ), alors montre que notre lectine est une métalloprotéine, tandis que le *zizyphus jujuba* qui n'ont pas été inhibé par les trois métaux.

Les lectines de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* sont thermorésistants, et ils sont différemment stables dans la gamme des pH neutre, alcalin et acide.

Le test immunomodulateur montre un effet positif de l'extrait de *zizyphus jujuba* et *calycotome villosa* sur l'activité phagocytaire et l'amélioration de la vitesse d'élimination des substances étrangères de l'organisme.

l'extrait *calycotome villosa* possède une activité antioxydant maximale par rapport à l'extrait de *zizyphus jujuba*.

## Perspectives :

Ce travail peut être la première étape d'une naissance des nouvelles lectines à partir de deux plantes médicinales qui n'ont jamais été étudiées en Algérie.

Les résultats obtenus, encourageant la poursuite des études par :  
Des tests de l'activité antivirale, l'activité anticancéreuse La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC, La détermination des poids moléculaires des lectines par électrophorèse et leur séquençage.

**Abuja PM, Albertini R.** (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*. 306, 1-17.

**Adlouni, A.** (2010). L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Phytothé*. 8, 89-97.

**Aymeric Luc, Gérard Lefranc** : Immunologie humaine, éditions De Boeck Université, **2009**, ISBN 978-2-8041-1910-2, pp.

**ALENCAR. N. M., CAVALCANTE. C. F., VASCONCELOS. M. P., LEITE. K. B., Assreuy J** (1997). Role of nitric oxide and superoxide in *G. lamblia* killing. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 30(1): 93-99

**ARAGAO. K. S., ASSREUY. A. M., NOGUEIRA. N. A., CAVADA. B. S. VALE. M. R.** Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J Pharm Pharmacol*, **2005**. 57: 919-922.

**ARAGAO. K. S.** études structure-fonction de lectine (Disc I et Disc II) de *Disctyostelium discoideum*. Biomolécules. Université Joseph-Fourier-Grenoble I. France, **2009**. Pp:17-27.

**Baskin SI, Salem H.** (1994). Oxidant, Antioxydant and Free Radicals. *Academic press Inc.* 363, pp 25-62.

**Barouki R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* n°3, 22, 266-72.

**Bothan M. B, Weil K. R.** (2011) Biochimie de harper. 4ème édition. DE BOECK : 510.

**Boucher C.** (2008) Une brève histoire des idées de Galilée à Einstein. *FIDES*: 94-95.

**Brooker, Will** (2001) **Batman Unmasked: Analyzing a Cultural Icon**, Continuum

**Boyd, W.C. and ShaopleiGgh, E,** (1954). Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins) : 119, 419.

**Bouchara J-P, Trouchin G.** (2003) Lectines fongiques et adhérence In *Les Mycoses*. Paris: 167.

**BOYD. W. C., SHAPLEIGH. E.** Specific precipitation activity of plant agglutinins (lectins).

*Science*, 1954. 119 : 419.

**BABOSA. T.** In vivo lymphocyte activation and apoptosis by lectins of the diocleinae subtribe. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2001. 95 (5): 673-678.

**BANWELL. J. G.** Phytohaemagglutinins derived from red kidney bean: a cause for intestinal malabsorption associated with bacterial overgrowth in the rat. *Gastroenrology*, 1983. 84: 506-515.

**Bréhima Koné, Antoine Kalinganire et Modibo Doumbia.** 2009 La culture du jujubier : un manuel pour l'horticulteur sahélien. ICRAF Technical Manual no. 10. Nairobi : World Agroforestry Centre.

**Bonnefont-Rousselot D, Thérond P, Beaudoux JL, Peynet J, Legrand A, Delattre J.** (2001). Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ?. *Ann Biol Clin.* 59(4), 453-459

**Beaudoux JL, Delattre J, Peynet J.** (2003). Lipoprotéines et athérosclérose : mécanismes moléculaires et cellulaires. In : Delattre J, Durand G, Jardillier JC. Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-Sciences Flammarion, Paris. pp 91-107.

**Barouki R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* n°3, 22, 266-72.

**Barr RD, Woodger BA, Rees PH.** (1973). Levels of mercury in urine correlated with the use of skin lightening creams. *Am J Clin Pathol.* 59, 36-40.

**Bohm, B.A.** *Introduction to Flavonoids*; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, 1998

**Bors, W.; Heller, W.; Michel, C.; Saran, M.** Flavonoids as antioxidants: Determination of radical scavenging efficiencies. *Methods Enzymol.* 1990, 186, 343-355

**BEN GHAYAT1-2 A., HAMROUNI2 L., MASTOURI Y2 ., HANANA 3 M. & CHARLES4 G.** Impacts des métaux toxiques sur la végétation de la mine de Djebel Hallouf dans la région de Sidi Bouaouane à Bou Salem dans le Nord-Ouest de la Tunisie *Geo-Eco-Trop.*, 2013, 37, 2 : 243 -254

**CHIKHI. I.** Composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie. Chimie Bio-Organique et Thérapeutique. Université Abou bekrbelkaid – Tlemcen. Algérie, **2014**.

**Curtin J F, Donovan M, Cotter TG.** (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J of Imm Methods*. 265, 49-72.

**Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget JP, Ravanat JL, Sanvaigo.** (1999). Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat*. 424, 9-21.

**CHABROL. E., FIESCHI. F., GIRARD. E.** caractérisation structurale et fonctionnelle d'une lectine de type C des cellules de langerhans : la langéline. Chimie et sciences du vivant. Université de Grenoble, **2012**. Pp: 63-64.

**CROCKER. P. R.** Siglecs: sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell-cell interactions and signalling. *Curr. Opin. Struct. Biol*, **2002**. 12: 609-615

**Chrispeels, MJ and Raikhel, NV** (1991). Lectins, Lectin genes and their role in plant defense. *Plant cell*. (3): 1-9.

**cavaillon J-M.** (2005) Médiateurs de l'inflammation In Vincent J-L., Martin C. *Sepsis sévère et choc septique*. SPINGER-VERLAGE. France:23.

**Cherian MG, Hursh JB, Clarkson TW, Allen J.** (1978). Radioactive mercury distribution in biological fluids and excretion in human subjects after inhalation of mercury vapor. *Arch Environ Health*. 33, 109-14.

**Danic et Lefrère, 2011** la transformation sanguine et le don de sang traité par cinéma  
hématologie 17 (16) , 402-409

**Diana XD.** (1988). Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic response in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water. *Toxicol Environ Health*. 24(3), 357-72.

**Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj Drickamer.K.** (1993) Ca<sup>2+</sup>-dependent carbohydrate-recognition domains in animal proteins. *Curr. Opin Struct. Biol*, 3, 393-400.

**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.

**Delattre J.** (2005). Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris – new york. p :620

**DOLE.A.et LINDEBERG . S.**,2005 agrarian diet and diseases of affluence do evolutionary novel dietary lectin cause leptin resistance, *bio med central* doi .10.1186, 1472, 68235-10.

**Dr . Jaber bin Salim Al-Qahtani** , - le 14 Janvier, 2013 , Numéro 16275, journal Al-riyadh

**Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, Avimadj M.** (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine*. Gvozdkakova A (ed) pp 19-43.

**Dharmananda Subhuti.** *Zizyphus*. Institute for Traditional Medicine. [Consulté le 19 novembre 2006] [www.itmonline.org](http://www.itmonline.org)

**D. Boettner, G. Paganelli, Y. Guezennec, G. Rizzoni, M.J. Moran** Proton Exchange Membrane (PEM) fuel cell system model for automotive vehicle simulation and control. *ASME Journal of Energy Resources Technology*, 124 (2002), pp. 1–8 March 2002

**DEVI. P. R., KOMBIAH. P., SUDHAKAR. R. G., BABU. G.** Purification And Characterization Of A Novel Lectin From *Geotrupes Stercorarius*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 2014. 15 (2): 157-162.

**DEEKSHA. M., SANGHA. K., KHURANA. D. S., KAUR. G., BALA. M., SINGH. B.** Screening for Lectin Quantification in Brassica Spp and Vegetable Crops. *Journal of Environmental and Applied Bioresearch*, 2015. 3(1) : 20-24.

**Dam TK and Brewer CF.** (2002) Thermodynamic studies of lectin-carbohydrate interactions by isothermal titration calorimetry. *Chem. Rev.* (102): 387-429.

**Delatorre P et al.**(2006). Crystal structure of a lectin from *Canavalia maritima* (ConM) in complex with trehalose and maltose reveals relevant mutation in ConA-like lectins. *J Struct Biol*, (154) 280-286.

**Etzler, M.E.** (1986) Distribution and function of plant lectins. In Liener, I.E., Sharon, N., and Goldstein, I.J. (Eds.), *The lectins: properties, functions and applications in biology and medicine*. Academic Press, Orlando, FL, pp. 371–435.

**Essig DA and Nosek TM.** (1997). Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species. *Can J Appl Physiol.* 22, 409-428

**Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G.** (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Rad Biol Med.* 13, 341 - 349

**Emsley J, White HE, O'Hara BP, Oliva G, Srinivasan N, Tickle IJ, Blundell TL, pepys MB, Wood SP.** Nature. 1994 Jan 27;367(6461):338-45

**Edelman G.M, Cunningham B.A, Reeke G.N, Becker J.W, Waxdal M.J and Wang J.L. FALASCA. A. I.** Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maximowics. *Febs Lett*, 1989. 246(1-2): 159 -162.

**Favier A.** (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. *L'act Chim.* 108-115.

**Favier A.** (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin.* 55 (1), 9 - 16.

*Facts, hypotheses and perspectives. Andrologia*, 1998. 30: 217-224.

**GOLDSTEIN. I. J., HUGHES. R. C., MONSIGNY. M., OSAWA. T., SHARON. N.**

What

should be called a lectin. *Nature*, 1980. 285: 66.

**Gabius H.J, Springer W.R and Barondes S.H.** (1985). Receptor for the cell binding site of discoidin I. *Cell*, (42): 449-456.

**Goker-Alpan O, Lopez G, Vithayathil J, Davis J, Hallett M, Sidransky E.** The spectrum of parkinsonian manifestations associated with glucocerebrosidase mutations. *Arch Neurol* 2008;65:1353-7

**Galan P, Preziosi P, Triol I.** (1997). Antioxydant et prevention cahiers de nutrition et de diététique. 359-370

**Guénard H et al.** (2001). Physiologie humaine. 3ème édition. PARDEL : 497

**Garrel C, Ceballos-Picot I, Germain G, Al-Gubory K H.** (2007). Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F<sub>2</sub>α-induced luteal cell death in vivo. *Free Rad Res.* 41, 251-9.

**Gutteridge J.** (1992). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Comm.* 19, 598-620.

**Greuter, W.; Burdet, H.M.; Long, G. (Eds).** *Med-Checklist 4: A Critical Inventory of Vascular Plants of the Circum-mediterranean Countries; Dicotyledones (Lauraceae-Rhamnaceae)*; C.B. de Genève: Geneva, 1989.

**Gomes-Rezende JA, Gomes-Alves AG, Menino JF, Coelho MA, Ludovico P, p, Sturme MH, Rodrigues F** (2012) Functionality of the Paracoccidioides Mating alpha-Pheromone-Receptor System. *PLoS One* 7(10):e47033.

**Gomes, 1994** histamine release induced by glucose (manose ) specific lectins isolated from brazilian beans comparaison with concanvalin A agent 41.132.135

**Goker H, Haznedaroglu I.C, Ercetin S et al.** (2008) Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract ankaferd blood stoooper. *Jint. Med. Res* (36) : 163-170.

**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.

**Ghopskins W, Evrard C-M.** (2003). Physiologie Végétale. DE BOECK, 1ère édition : 104-105.



**Greer, S.** (1985). Cancer: Psychiatric aspects. In: K. Granville-Grossman, K. (Ed.), Recent advances in Clinical Psychiatry. Vol. 5, Edinburgh. Churchill 'Livingstone, Chapter 5, 87-104.

**Greer Walker M, Santer M, Benjamin M, Norman D** (1985) Heart structure of some deepsea fish (Teleostei: Macrouridae). *J Zool (London)* 205:75–89.

**Guillaume J.** (1993) Nutrition et Alimentation des Poisson et Crustacés. Terrain: 396.

**GUILLOT. J., GUERRY. M., KONSKA. G., CALDEFIE-CHEZET. F., DE LATOUR. M., PENAULT-LLORCA. F.** Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation : cas des carcinomes mammaires. *Bull Cancer*, **2004**. 91: 141-158

**Hardman, K.D. and Ainsworth, C.F.** (1972). Structure of concanavalin A at 2.4 Å resolution. *Biochemistry*, (11) 4910-4919.

**Holzenberger M, Dupont J, Ducos B, Leneuve P, Geloën A, Even PC, Cervera P, Le bouc Y.** (2003). IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nat.* 421(6919), 182-187

**HIRABAYASHI. J.** Lectin-based structural glycomics: glycoproteomics and glycan profiling. *Glycoconj. J*, **2004**. 21: 35-40.

**HAN. H. J., JUNG. M. G., KIM. M. J, YOON. S. K, LEE. P. K., KIM. G. H.** Purification and characterization of a D-mannose specific lectin from the green marine alga, *Bryopsis plumosapre*. *Phycological Research*, **2010**. 58: 143–150.

**HUANG. Y., TAN. J. M., WANG. Z., YI., S.W., HUANG. X. WANG. W., REN. Q.** Cloning and characterization of two different L-type lectin genes from the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Dev. Comp. Immunol*, **2014**. 46: 255–266.

**Imberty A, Varrot A** (2008) Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates. *Curr Opin Struct Biol* 18: 567–576.

**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.

**Jenkins AJ, Hill MA, Rowley KG.** (2007). Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed) pp123-160

**JAFFE W.G.** hemagglutinins (Lectins). In toxic constituents of plant foodstuffs. New – York, Academic Press, **1980**. p: 502.

**JAIN. D., KAUR. K. J., SALUNKE. D. M.** Plasticity in protein-peptide recognition: crystal structures of two different peptides bound to concanavalin A. *Biophys J*, **2001**. 80: 2912-2921.

**Ji LL, Fu R, Mitchell EW.** (1992) Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol*. 73, 1854-1859

**Jean-François LÉGER – 2007** [www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org) Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine, Benoît Bock & al., version 3.02 du « 26 janvier 2016 ». [www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org)

**Julve, Ph.**, 2015 ff. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 30 octobre 2015. <http://perso.wanadoo.fr/philippe.julve/catminat.htm>

**JEYAPRAKASH. A. A., KATIYAR. S., SWAMINATHAN. C. P., SEKAR. K., SUROLIA. A.** Structural basis of the carbohydrate specificities of jacalin: an X-ray and modeling study. *J Mol Biol*, **2003**, 332: 217-228.

**Karagözler A., Erdag C.S., Çalmaz Emek Y.** (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111 :400-407.

**Kulkarni G.V** (1998). Role of mitochondrial membrane potential in concanavalin A induced apoptosis in human fibroblast. *Experimental cell.Research*, (245):170-178.

**Kamsar,f.,Nakajima,T.,Park,J.H.,S.S.:** desing and implementation of aframework for building smart object systems.*J. super comtus* .54(1) , 4-28 (2010)

**KENOTH. R.** Thermodynamic and kinetic analysis of porphyrin binding to *Trichsanthes cucumerina* seed lectin. *Eur. J. Biochem*, **2001**. 268: 5541-5549.

**Kehrer JP.** (1993). Free radcals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Review in Toxicol.* 23 (1), 21-48.

**Kagi JHR.** (1993). Evolution , structure and chemical activity of class 1 metallothioneins: an overview, in: Suzuki, KT, Imura, N, Kimura, M. (Eds), *Metallothionein III: Biological roles and medical implications*, Birkhauser verlag, Berlin.29-56.

**Liener, I. E.; Sharon, N. and Goldstein, I.J.,** (1986). *The Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine*. Academic Press, Orlando, FL. pp: 600.

**LAM. S. K., NG. T. B.** Lectins: production and practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, **2011**. 89: 45-55

**Lazo JS, Pitt BR.** (1995). Mettalothionein and cell, death by anticancer drug. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 35, 655-677.

**Lis H., Sharon N.** (1998) Lectins: carbohydrate- specific proteins that mediate cellular recognition. *Chem. Rev* **98**: 673-674.

**Lopez P, et al. (2003)** A novel germ line-specific gene of the phosducin-like protein (PhLP) family. A meiotic function conserved from yeast to mice. *J Biol Chem* 278(3):1751-7

**Lehucher-Michel MP, Lesgards JF, Delubac O, Stocker P, Durand P, Prost M.** (2001) Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse méd.* 30, 1076-1081.

**LEFFLER. H., CARLSSON. S., HEDLUND. M., QIAN. Y., POIRIER. F.** Introduction

**Levine RL.** (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease.

*Free Radic Biol Med.* 32, 790-796.

**LENKA. S., IMBERTY. A., JAROSLAVE. K.** modélisation moléculaire des lectines et des glycosyltransférases. Biologie cellulaire. Université de Grenoble I. France, **2006**. Pp 56-58.

**MURDOCK. L. L., SHADE. R. E.** Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insectects. *J. Agric. Food. Chem*, **2002**. 50 (22): 6605-661.

**Milbury P E. et Richer A C.** (2008). Understanding the Antioxidant Controversy; Ed: PRAEGER; p: 81-100

**Montagnier L, Olivier R, Pasquier C.** (1998). Oxidative stress in cancer. AIDS, and neurodegenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* 22, 359-378.

**Meite A., Kauame K.G., Kati-Coulibaly S.** (2006) Substances antinutritionnelles. *Méd.Nut* **42(4)**: 179-187.

**Marnett LJ.** (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat Res.* 424, 83-95.

**MORALES. G. J., MADRIGAL. S. E., JOSE ROBERTO VILLAGOMEZ. I. J. R., ZUÑIGA. P. C., JOSE GUTIERREZ. S. J., BECERRIL. F. M.** Purification, Biochemical Characterization, and Bioactive Properties of a Lectin Purified from the Seeds of White Tepary Bean (*Phaseolus Acutifolius* Variety *Latifolius*). *Molecules*, **2011**. 16: 2561-2582

**Marc Beyrouthy**, chef du département des sciences agronomiques à la faculté des sciences agronomiques et alimentaires de l'Usek. [www.marcbeyrouthy.com](http://www.marcbeyrouthy.com)

Mr plante le 26.11.2015 <http://www.mr-plantes.com/2015/11/jujube/> .

**McGuffin M (Dir).** *Botanical Safety Handbook*, CRC Press, États-Unis, 1997. National Library of Medicine (Ed). PubMed, NCBI. [Consulté le 19 novembre 2006]. [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)

**Martínez-Cayuela, M.** (1995) Oxygen free radicals and human disease. *Bioch.* 77, 147-161

**M.** (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine*.

Gvozdjakova A (ed) pp 19-43

**Marnett LJ.** (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat Res.* 424, 83-95

**NACHBAR. M.S., OPPENHEIM. J. D.** Lectin in the United States diet: a survey of lectins in commonly consumed foods and a review of the literature. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1980. 33: 2238 -2345.

**Nair J, Barbin A, Velic I, Bartsch H.** (1999). Etheno DNA-base adducts from endogenous reactive species. *Mutat.* 424, 59-69.

**NECIB. Y, BAH. A., MEROUANE. F., BOUADI. H., BOULAHROUF. K.** immunomodulatory activity of lectin extracted from the red marine alga *pterocladiella capillacea*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2015. 4(1): 1693-1706.

**NECIB. Y, BAH. A., MEROUANE. F., BOUADI. H., BOULAHROUF. K** comparative study of a new lectin extracted from roots of plants: *Cyperus rotundus*, *Pistacia lentiscus* and *Ruta graveolens*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2015. 4(1): 1720-1733.

**NECIB. Y., BAH. A., DERRI. N, FATEH MEROUANE. F, BOUADI. H., BOULAHROUF. K.** Immunomodulatory Activity Of Lectin Extracted From Bark Of The Black Mulberry (*Morus Nigra*). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2014. 4(1): 1707-1719

**Odekanyin. O. O., Kuku. A.** characterization of galactose specific lectin from the skin mucus of african catfish *clarias gariepinus burchell*, 1822. *Academic journals*, 2014. 9(20): 869-879.

**Pereira Nunes X, Souza Silva F., Alneida J.R.G. et al., (2012).** Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère édition Venketeshwer Rao. Pp 1-20.

**Pontet M.** (1996) Structure et activité biologique d'une nouvelle famille de lectines animales: les galectines. *Immunoanal.Biol. Spéc* **11**: 297-305

**Pizzorno JE Jr, Murray Michael T (Ed).** *Textbook of Natural Medicine*, Churchill Livingstone, États-Unis, 3<sup>e</sup> édition, 2006. Version en ligne [consultée le 19 novembre 2006]: [www.naturalmedtext.com](http://www.naturalmedtext.com)

**Peumans W.J., Van Damme J.M.** (1995)-lectine as plant defense proteins. *PlantPhysiol.*, 109,347-352.

**Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO.** (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaiss Coeur Poumons*. 4(5), 359-370.

**POIROUX. G.** Evaluation du potentiel de lectines végétales dans le ciblage de médicaments anticancéreux: Application à la Photochimiothérapie. *Biologie cellulaire et Biochimie*. Toulouse. Université Toulouse III - Paul Sabatier, **2011**.Pp: 35-50.

**PEUMANS. W. J., VAN DAMME. E. J.** lectine as plant defense proteins. *Plant Physiol*, **1995**. 109:347-352.

**Piquet M A. et Hébuterne X.** (2007). Nutrition en pathologie digestive ; Ed : DOIN ; p: 16-20.

**PNUE** (Programme des Nations Unies pour l'Environnement). (2002). L'évaluation mondiale du mercure.

**Packer T, Ritschler HJ, Wessel K.** (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med*. 22, 359-378.

**Powers SK , Lennon SL.** (1999) Analysis of cellular responses to free radicals: focus on

exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 58, 1025-1033.

**PARHAM. P.** Le système immunitaire. De Boeck Université, **2000**. p: 340.

**RAMATA. N.** Etude de l'activité hemagglutinante des lectines isolées des graines de *Abrus precatorius L.* la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Mali. Université de Bamako, **2010**. Pp: 8-24.

**Roberts, J. R. & Hedges, J. R.** (1998). *Clinical Procedures in Emergency Medicine* (3rd ed.). Philadelphia: Saunders.

**RENATO DE A, MOREIRA** (1991). Plant lectins, chemical and biological aspects. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 86, Suppl. II, 211-218.

**RYDZ. N., SWYSTUN. L. L., NOTLEY. C., PATERSON. A. D., RICHES. J. J., SPONAGLE. K., BOONYAWAT. B., MONTGOMERY. R. R., JAMES. P. D., LILLICRAP. D.** The c-type lectin receptor clec4m binds, internalizes, and clears von willebrand factor and contributes to the variation in plasma von willebrand factor levels. *Blood*, **2013**. 121: 5228–5237.

**Roos, A.P.W., Schrooten, C., Mullaart, E., Calus, M.P.L., Veerkamp, R.F.** Breeding value estimation for fat percentage using dense markers on *Bos taurus* autosome 14. *J. Dairy Sci.* 2007;90:4821–4829.

**Robert, 2008** les glycoprotéine in biochimie de harper DEBOECK , 527

**Ramé A., Naccache P.** (2001) Transfusion sanguine. LAMARRE: 05.

**RUDIGER, H. and GABIUS, H.J.,** (2001). Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconj J*, 18, 589-613.

**Sharon N., Lis H.** (2004) History of lectin : from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*.**14**, **53R-62R** : 11

**Sharon, and halima lis 2003** lectine kluwer académi publishers

**Scherver R., Godoy H.T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2- diphenyl-1-picryl hydrazyl method. *Food Chemistry* 112: 654-658

**Sumner JB,** 1919 The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. *J Biol Chem* 37:137-142 21.

**Sumner JB and SF Howell** , 1936 The isolation of a fourth crystallizable Jack Bean globulin through the digestion of canavalin with trypsin. *J Biol Chem* 113: 007-61

**Sharon N., Lis H.**(1993)Carbohydrate in cell recognition. *Scientific American*.**268(1)**:82-89.

**SOMERS. W.S., TANG. J., SHAW. G. D., CAMPHAUSEN. R. T.** Insights into the molecular basis of leukocyte tethering and rolling revealed by structures of P- and E-selectin bound to SLex and PSGL-1. *Cell*, **2000**. 103: 467-479.

**Santos, A.C.; Vyemura, S.A.; Lopes, J.L.; Bazon, J.N.; Mingatto, F.E.;** Curtic. Effect of naturally occurring Flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. *Free Radic. Biol. Med.* **1988**, 24, 1455-1461

**Sankaranarayanan, R., Sekar, K., Banerjee, R., Sharma, V., Surolia, A. & Vijayan, M.** (1996). *Nature Struct. Biol.* 3, 596-603.

**sharon N.** (1983) Lectin receptors as lymphocyte surface markers. *Advances in immunology* **34**: 213-291.

**Singh J (2012)** Zoonotic malaria: *Plasmodium knowlesi*, an emerging pathogen. *Curr Opin Infect Dis* 25: 530–536

**SHE. Q. B., NG. T. B., LIU. W. K.** A novel lectin with potent immunomodulatory activity isolated from both fruiting bodies and cultures mycelia of the edible mushroom *Volvariella volvacea*. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **1998**. 247: 106-111

**SHARON. N.** Carbohydrate-lectin interactions in infectious disease. *Adv. Exp. Med. Biol*, **1996**. 408: 1-8.

**SUTAPA. B. M., GOPA. R. P.** exploring plant lectines in diagnostic. Prophylaxis and therapie. *Journal of medicinal plants research*, **2013**. 7(47): 3444-3451



**SHAISTA. R., SAKEENA. Q., ISHFAK. H. W., SHOWKAT. A. G., AKBAR. M., RABIA. H.** Purification and partial characterization of a Fructose-binding lectin from the leaves of *Euphorbia helioscopia*. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **2014**. 27(6): 1805-1810.

**Simonian N A, Coyle JT.** (1996). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann review of Pharmacol and Toxicol.* 36, 83-106.

**Sen CK.** (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction. *Med Sci Sports Exer.* 33 (3), 368-370.

**Stevnsner T, Tharslund T, De souza-pinto NC, Bohr VA.** (2002). Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol.* 37, 1189-1196.

**Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC.** (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med.* 33 (5), 575-586.

**Singh U, Devaraj S and Jialal I.** (2005). Vitamin E, Oxidative stress, and inflammation. *Ann Rev of Nut.* 25, 151-175.

**Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S.** (2004). Dietary magnesium intake in relation to plasma insulin levels and risk of type 2 diabetes in women *Diabetes Care.* 27, 59-65

**Transue, T. R., Smith, A. K., Mo, H., Goldstein, I. J. & Saper, M. A.** (1997). Structure of benzyl T-antigen disaccharide bound to *Amaranthus caudatus* agglutinin. *Nat Struct Biol* 4, 779–783.

**TOPFER- PETERSEN. E., ROMERO. E., VARELA. P. F., EKHLASI-HUNDRIESER. m., DOSTALOVA. Z., SANZ. L., CALVETE. J. J.** Spermadhesins: a new protein family.

(1972) The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* (69): 2580-2584.

**Therapeutic Research Faculty (Ed).** Jujube, *Natural Medicines Comprehensive Database.* [Consulté le 25 septembre 2006]. [www.naturaldatabase.com](http://www.naturaldatabase.com)

**TANNE. A., NEYROLLES. O.** C-type lectins in immune defense against pathogens: The murine dc-sign homologue signr3 confers early protection against mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*, **2010**. 1: 285–290.

**Van Damme EJ, Peumans WJ, Barre A, Rougé P** (1998) Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionarily related proteins with diverse

biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences* 17: 575-692.

to galectins. *Glycoconj. J.*, **2004**. 19: 433-440.

**Voet D., Voet J. G.** (2005) *Biochimie*. 2ème édition, DE BOECK : 378.

**VALADEZ. V. C., GUZMAN. P. A., JAVIER SOTO. C. F., ÁLVAREZ. M. G.,**

**Wright C.S. et Hester, G .** 1996 , the 2.0Å structure of a cross linked complex between snowdrop lectin and branched mannopentose; evidence from glycophorin j.mpl.biol .232,620-638

**WEIS. W. I., BRUNGER. A. T., SKEHEL. J. J., WILEY. D. C.** Refinement of the influenza virus hemagglutinin by simulated annealing. *J Mol Biol*, **1990**. 212: 737-761.

**Welch WJ.** (1992). Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev.* 72, 1063-1081

**WANG. H., NG. T. G.** Ribosome inactivating protein and lectin from bitter melon (*Momordica charantica*) seeds: sequence comparison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication*, **1998**. 253: 143-146.

**XU. S., WANG. L., WANG. X. W., ZHAO. Y. R., BI. W. J., ZHAO. X. F., WANG. J.**  
x. L-type lectin from the kuruma shrimp *Penaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. *Dev. Comp. Immunol*, **2014**. 44: 397–405.

**ZHANG. H., PEATMAN. E., LIU. H., FENG. T., CHEN. L., LIU. Z.** Molecular characterization of three L-type lectin genes from channel catfish, *Ictalurus punctatus* and their responses to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Fish Shellfish Immunol*, **2012**. 32: 598-608.

**Zitouni A, Bahi A, Necib Y. (2015)** Immunomodulatory Activity of Lectins Extracted from *Terfezia bouderei*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **50** :285-287.

**Zitouni A, Bahi A, Necib Y. (2014)** Immunomodulatory Activity of Lectins Extracted from *Terfezia bouderei*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **50** :285-287.

**Zelko IN, Marian TJ, Folz RJ.** (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Rad Biol & Med.* 33, 337-349.



# *Annexe*

## Annexe

### Annexe 01 : Préparation du Tampon, Monosaccharides, Métaux et Nacl.

- Préparation de la solution tampon phosphate di-sodique PBS (0,1M ; pH7,2)

Pour 5 litres

Produit chimique	Quantité
Disodium phosphate (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0,435 g
Monosodium phosphate (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	5 g
Chlorure de sodium (Na Cl)	45 g
Eau distillée	5 L

- Préparation des monosaccharides

Sucre	Na Cl
0,1 g	1 ml

- Préparation des métaux

Métaux	Quantité	NaCl
MgCl <sub>3</sub>	0,048 g	100 ml
CaCl <sub>3</sub>	0,032 g	4 ml
MnCl <sub>3</sub>	0,15 g	4 ml

- Préparation du NaCl(0,1M ;0,2M ;0,3M)

	NaCl	Eau distillée
0,1M	1,91g	0,33L
0,2M	5,8g	0,5L
0,3M	8,7g	0,5L

### Annexe 02 : Méthodes de dosage de l'activité antioxydante in vitro (DPPH, SOD ,Fer ferrique).

#### 1. Dosage de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)

La procédure expérimentale du dosage du superoxyde dismutase est la suivante :

## *Annexe*

- ✚ Prélever 0.1 ml de mélange (méthionine (13mM) et Na<sub>2</sub>EDTA (0.1mM)).
- ✚ Ajouter 0.8922ml de tampon phosphate (50mM, pH=7.8).
- ✚ Ajouter 0.05ml du surnageant.
- ✚ Ajouter 0.95ml de tampon phosphate.
- ✚ Ajouter 0.0852ml de NBT (2.64mM).
- ✚ Ajouter 0.0226ml de riboflavine (0.26mM).
- ✚ La réduction du NBT est estimée après 20min à unelongeur d'onde 580nm contre le blanc.

Le pourcentage (Y) contre unité de SOD (quantité des protéines enzymatiques capable d'inhiber 50% de NBT) peut être calculé selon l'équation suivante :

$$Y = \left[ \frac{DO_{\text{étalon}} - DO_{\text{échant}}}{DO_{\text{étalon}}} \times 100 \right] \times \frac{20}{C}$$

**20** : Facteur de dilution de l'échantillon dans le milieu réactionnel.

**C** : la concentration des protéines dans l'échantillon (mg/ml).

### **2. Effet scavenger du radical DPPH in vitro**

La procedure experimentale est basé sur les étapes suivantes :

- Prélever 50µl de plasma
- Ajouter 1.95ml de DPPH
- Laisser le mélange a l'obscurité pendant 30min, la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH.
- Lire l'absorbance à unelongeur d'onde : 517nm.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échat}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

## *Annexe*

La procédure expérimentale est basée sur les étapes suivantes :

- 1ml lectin mélangé avec 2.5 ml tampon phosphate
- 2.5ml potassium ferricyanide 1%
- Mélangé bien puis incubé pendant 20min.
- Ajouter 2.5 ml TCA (10%)
- Ajouter 0.5 ml ferrique chlorure (0.1%)
- Lire l'absorbance à 700 nm après 10 min contre le blanc qui contient le méthanol à la place d'échantillon

L'activité de fer ferrique est estimée selon l'équation suivante

$$\text{Fer ferrique (\%)} = (A - A_{\text{min}}) / (A_{\text{max}} - A_{\text{min}}) \times 100.$$

#### **4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford**

##### ➤ **Mode opératoire**

- Prélever 0.1ml de l'homogénat.
- Ajouter 5ml du réactif coloré (BBC).
- Agiter et laisser 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon à 595 nm contre le blanc contenant l'eau distillée

à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé (0 → 1mg/ml de sérum albumine de bovin).

##### ➤ **Réactif de Bradford**

- Bleu de coomassie.....0.1g
- Ethanol(95%).....50ml

Agitation pendant deux heures (agitation magnétique) puis ajouter

- Acide orthophosphorique (85%)
- Eau distillée.....qsp 1000 ml

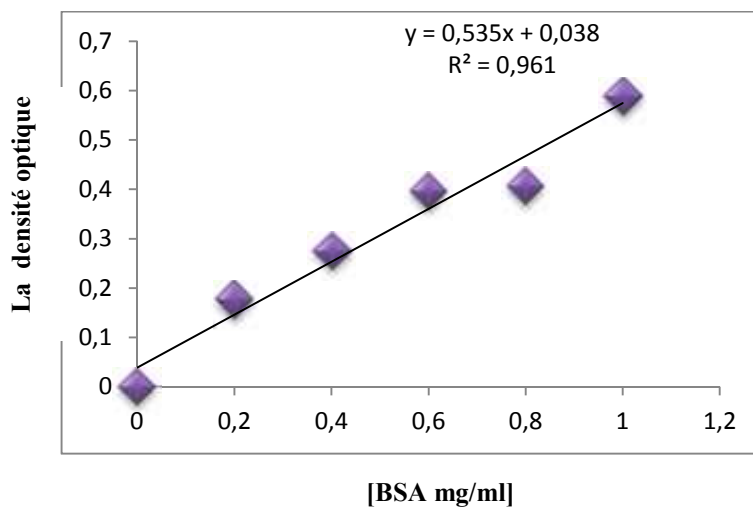
Ce réactif doit être filtré puis conservé pendant 1 mois à une température de 4°C et à l'abri de la lumière.

## Annexe

### Annexe 03 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

- BSA.....1g
- Eau distillée.....qsq1000ml

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BC (ml)	5	5	5	5	5	5





## Etude de l'effet des lectines extraites à partir des plantes médicinales (*Zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa*) sur l'activité immunitaire et antioxydant

Option : Biochimie Moléculaire et santé

### Résumé

Les lectines forment une famille de protéines et de glycoprotéines hétérogène qui reconnaissent certaines structures oligosaccharidiques. Le but de ce travail est de chercher la présence des lectines dans les extraits racinaires de deux plantes médicinales par le test d'hémagglutination et leur étude biologique.

L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon suivi par la chromatographie sur colonne et puis par l'activité immunitaire et l'activité antioxydante.

L'activité hémagglutination d'extrait de *calycotome villosa* L a été de 1/9 ( 512) tandis qu'elle a été de 1/8 (256) de *zizyphus jujuba* L.

Les lectines de *zizyphus jujuba* et *Calycotome villosa* L ne présentent aucune spécificité pour les saccharides testés. Un test des métaux a été réalisé, les lectines de *calycotome villosa* présente une inhibition avec les trois métaux testée, alors montre que notre lectine est une métalloprotéine, contrairement le *zizyphus jujuba* qui n'ont pas été inhibé par les trois métaux. Les lectines de deux plantes reste stable toute au long de gamme du pH testée de **1 jusqu'à 12**. Pour le traitement thermique l'extrait racinaire de *Calycotome villosa* L et *zizyphus jujuba* L, a réduit significativement leur activité hémagglutinante, Mais jusqu'à 90 °C, elle n'a été pas suffisant pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante. Les lectines de *calycotome villosa* L agglutinent tous les types des groupes sanguins ( ont données une forte sélectivité surtout sur les hématie du groupe A et B ), par contre les lectines de *zizyphus jujuba* L n'agglutine aucune des types des groupes sanguins.

L'application de la chromatographie sur colonne de séphadex G 25 sur les extraits, *zizyphus jujuba* L et *Calycotome villosa* L ont données un seul pic. Et sur colonne de sephadex G75 sur l'extrait de *zizyphus jujuba* L a donné un seul pic par contre l'extrait de *calycotome villosa* a montré deux pic. Un autre test a montré que plus la dose employée augmente plus le système immunitaire est stimulé, ce qu'il prouve l'effet qu'exerce les lectines de *Calycotome villosa* L et *zizyphus jujuba* L sur le système immunitaire.

l'extrait *calycotome villosa* possède une activité antioxydant maximale par rapport a l'extrait de *zizyphus jujuba*.

**Mots clés :** Lectines, Extraction, Activité hémagglutinante, Plante médicinale, Saccharide, Système ABO

**Laboratoire de recherche :** Biochimie , Enzymologie

Jury d'évaluation :

Président du jury : BAHY A.	(MCB.UFM Constantine)
Rapporteur : NECIB Y.	(Pr.UFM Constantine)
Examineur : DJEMAI ZOUGHLACHE S.	(MAA UFM Constantine)

**Date de soutenance :** 02/07/2016