



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

جامعة الإخوة منتوري Constantine

كلية علوم الطبيعة والحياة Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

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 appliqué*

Intitulé :

**L'étude comparative de Lectine extraite à partir de trois plantes  
*Spergularia -rubra-L Jet pest , Inula Viscosa leaves et Linum  
usitatissimum***

Présenté et soutenu par : BOULAHIDID Amina

FTAIMI Imen

01/ 07 /2018

➤ Jury d'évaluation

Président du jury : N.BAALI

(MCB-UFM Constantine)

Rapporteur : A.BAHI

(MCB-UFM Constantine)

Examineur : S.DJEMAI ZOUGHLACHE

(MCA-UFM Constantine)

Année universitaire : 2017-2018

# Remerciements

*Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant et Miséricordieux de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les Moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste Travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre Encadreur Dr BAHI Ahlem Maître de conférences au département De Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des frères Mentouri Constantine, qui nous a encadrées et dirigées ce Travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, ces encouragements, sa gentillesse Nous sommes très honoré de travailler avec elle*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de notre jury de mémoire : A notre président du jury Monsieur Necib. Y professeur au département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire À L'Université des Frères Mentouri Constantine.*

*C'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de mémoire.*

*A l'examinatrice Dr DJEMAI ZOUGHLACHE Soumia Maître assistante à l'université des frères Mentouri, nous sommes fière que vous avez acceptés d'examiner et de juger notre travail*

*Sans oublier de remercier vivement les membres de l'équipe laborantine.*

*Merci*



# SOMMAIRE

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction

## Etude bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur les lectines

1. Définition des lectines .....	1
2. Historique .....	2
3. La structure des lectines .....	4
4. Les sites de liaisons des lectines .....	6
5. La spécificité et l'affinité des lectines .....	7
6. La Classification des lectines .....	9
6.1. Chez les animaux .....	9
6.2. Chez les végétaux .....	9
7. Distribution des lectines dans le monde de vivant .....	10
7.1. Les lectines animales .....	11
7.2. Les lectines des plantes .....	12
7.3. Les lectines des microorganismes .....	13
8. Fonction biologique des lectines.....	14
8.1. Chez les plantes .....	14
8.2. Chez l'homme .....	14
9. Propriétés des lectine.....	15
9.1-L'interaction lectine–glucide .....	15
9.2. L'agglutination des cellules .....	15
10. L'intérêt des lectines .....	17
11. Le rôle des lectines dans l'immunité.....	18

### Chapitre II : Le système sanguin

#### Les groupes sanguins

1. Historique .....	20
2. Le système ABO .....	20

3. Facteur rhésus .....	20
4. Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO .....	21
5. détermination du groupe sanguin.....	22

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

#### **Le stress oxydant**

1. Définition.....	24
2. Les espèces réactives de l'oxygène.....	25
3. Les cibles biologiques du stress oxydant.....	26
3.1. Les lipides.....	26
3.2. Les protéines.....	28
3.3. Les acide nucléiques.....	29
4. Le stress oxydant et les pathologies.....	30
5. Systèmes de défenses antioxydants .....	30
5.1. Les systèmes enzymatiques.....	31

### **Chapitre VI: Généralités sur les plantes**

1. <i>Spergularia Rubra L Jet pest</i> .....	32
2. <i>Inula viscosa leaves</i> .....	35
3. <i>Linum usitatissimum</i> .....	37

### **Chapitre V -Matériels et méthodes**

1. Matériels végétales.....	39
2. Les méthodes végétales.....	39
2.1. La Préparation des plantes.....	39
2.2. L'extraction des plantes.....	40
2.3. Le test d'hémagglutination.....	42
2.4. Le teste de la limite d'hémagglutination.....	43
2.5. L'effet de la température sur l'hémagglutination .....	44

2.6. Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides et des glycoprotéines.....	44
2.7. Le test de la limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides.....	44
2.8. test d'agglutination sur les hématies humaines ABO.....	45
2.9. Le test des métaux.....	45
2.10. L'effet du pH sur l'hémagglutination.....	45
2.11. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Séphadex G200.....	45
2.12. L'activité antioxydant des lectine in vitro.....	46
2.13. Dosages des protéines.....	46

## **Chapitre IV-Résultats et discussion**

1. Le test d'hémagglutination .....	47
2. La limite d'hémagglutination .....	49
3. L'effet de la température sur l'hémagglutination .....	52
4. L'effet d'inhibition d'hémagglutination npar des saccharides .....	54
5. teste de limite d'inhibition d'hémagglutination par les saccharides.....	57
6. L'effeted'agglutination sur les hématies humaines ABO .....	59
7. L'effetedes métaux (oligoéléments) .....	62
8. L'effet du pH sur l'hémagglutination .....	64
9. L'extraction des lectines par la chromatographie sur colonne de Séphadex G200.....	65
10. L'activité antioxydant des lectines in vitro.....	67
1- Teste du superoxyde dismutase (SOD).....	68
2- Teste du fer ferrique (FTC).....	68
11. résultats des dosages des protéines (Méthode de LOWRY).....	69
Conclusion et perspective.....	71
Références bibliographiques.....	72
Annexe.....	88

## Résumé

---

### Résumé

Ce travail porte sur la recherche de la présence des lectines et la propriété biologique qui est l'activité antioxydante de fleurs de *Spergularia-rubra-L Jet pest* les racines de *Inula Viscosa leaves* et les graines de *linum usitatissimum* la présence des lectines dans les extraits de ces plantes a été effectué par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon.

L'activité hémagglutinante de *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, *linum usitatissimum* a été 1:8 (256) et de 1:9 (512) et de 1:8 (256) respectivement, le traitement thermique des lectines *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, de 30°C jusqu'à 90°C n'a pas été suffisant pour leur inactivation (**thermorésistante**), par contre *linum usitatissimum* (**pas thermorésistante**). *Inula Viscosa leaves*, *linum usitatissimum* reste stable toute au long de gamme du pH testée de 1 jusqu'à 12 pendant une heure, par contre *Spergularia-rubra-L Jet* [9 jusqu'à 11] l'agglutination est nulle, Le test d'inhibition a été effectué avec certains saccharides (**lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose**) qui a montré que les lectines de *Spergularia-rubra-L Jet pest* a été spécifiquement inhibé par tous les saccharides sauf galactose, glucose et *linum usitatissimum* a été spécifiquement inhibé par: **lactose, galactose et arabinose**. Pour le test d'ABO les lectines de *linum usitatissimum* agglutine l'hématie de groupe A et AB seulement (**spécifique**). Les lectines de *Spergularia-rubra-L Jet pest* et *linum usitatissimum* présente une inhibition vis à vis du calcium (Ca<sup>2+</sup>) et magnésium (Mg<sup>2+</sup>) **métalloprotéine**. La purification sur colonne de Séphadex G200 ont montrés un seul pic pour de *Spergularia-rubra-L Jet pest* et *linum usitatissimum* et deux pic pour *Inula Viscosa leaves*. Les méthodes appliquées pour mesurer l'activité antioxydant in vitro sont: le test du SOD (superoxyde dismutase) et le fer ferrique.

L'évaluation de l'activité antioxydant par le test du SOD, a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait de *Inula viscosa leaves* puis *linum usitatissimum* et *Spergularia-rubra L Jet pest*. Pour le test du Fer ferrique a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait de *linum usitatissimum* puis *Inula viscosa leaves* et finalement *Spergularia-rubra L Jet pest*.

Pour le dosage des protéines La plante qui donne la concentration des protéines la plus élevée c'est *Inula viscosa leaves* puis *Spergularia-rubra L Jet pest* et *linum usitatissimum*.

**Mots clés** : plantes médicinales, lectines, hémagglutinante, système ABO, inhibition, monosaccharide, activité antioxydant, piégeage des radicaux libres, SOD, fer ferrique

### Abstract

## Résumé

---

This Work deals with the search for the presence of lectins and the biological property is the antioxidant activity of *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, and *linum usitatissimum* the presence of lectins in the extracts of these plants was made by the test hemagglutination and biological study. The extraction was made by grinding and maceration in a buffer solution of extract from hemagglutinating. The hemagglutinating activity in the following plants which are *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, and *linum usitatissimum* was 1: 8 (256) ; 1: 9 (512) ; 1: 8 (256) respectively, the heat treatment of the Lectin in *Spergularia. rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, from 30 ° C up to 90 ° C was not enough for their inactivation (heat-resistant), *linum usitatissimum* 70 ° C was sufficient to inhibit agglutination. The Hemagglutinating of the two plants; *Inula Viscosa leaves* and *linum usitatissimum* remains stable throughout the pH range tested from 1 up to 12 for one hour, but ; *Spergularia-rubra-L Jet pest* was stable at pH ranges between [1 to 8] and PH 12, The inhibition test was carried out with certain saccharides (lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose) which showed that the Lectin of *Spergularia-rubra-L Jet pest* was specific inhibited by all the saccharides tested except glucose and galactose, *linum usitatissimum* was specifically inhibited by three saccharides: lactose, galactose and arabinose. For the ABO test, the Lectin of *usitatissimum linum* extract does not show a selectivity for the ABO groups B and O. The Lectin of *Spergularia-rubra-L Jet pest* and *linum usitatissimum* exhibit inhibition against calcium (Ca<sup>2+</sup>) and magnesium (Mg<sup>2+</sup>) is a metalloprotein, The use of Sephadex G200 column purification showed a single spike for *Spergularia-rubra-L pest* and *Linum usitatissimum* and two peaks for *Inula Viscosa leaves*. The evaluation of the antioxidant activity by these tests, have shown a great antioxidant activity power ,especially;for,the *Inula Viscosa leaves* extract , than *Linum Usitatissimum* and *Spergularia-rubra l jet pest* .In contrast ;the ferric iron test has shown a great antioxidant activity power especially for the *linum usitatissimum* extract than in *Inula viscosa leaves* and *Spergularia –rubra l jet pest* . For the portion of proteins , the plant that gives the highest concentration of proteins is *Inulaviscosa leaves* than *Spergularia-rubra l jet pest* and *linum usitatissimum*.

**Key words:** medicinal plants, Lectin, hemagglutinating, ABO system, inhibition, monosaccharide, antioxidant activity, free radical scavenging, SOD, ferric iron .

## المخلص

الليكتينات هي من عائلة البروتينات والبروتينات السكرية الغير متجانسة والقابلة للتعرف على السكريات قليلة التعدد والسكريات المتعددة.

الغرض من هذا البحث هو استخلاص ودراسة مختلف خصائص الليكتينات والخصائص البيولوجية التي هينشاطمضادللأكسدةفي ثلاث نباتات طبيعية: *Spergularia-rubra-L Jet pest* وجذور *Inula viscosaleaves* وبنور *linum usitatissimum* من خلال التراص الدموي ودراسهماالبيولوجية.

أبدى مستخلص: *Spergularia-rubra-L Jet pest*— حدة تراص تقدر ب 1:8 (256). في حين أبدى مستخلص *Inula viscosaleaves* حدة تراص تقدر ب : 9 : 1 ( 512 ).

و أبدى مستخلص *linum usitatissimum*. حدة تراص تقدر ب : 8 : 1 ( 256 )

المعالجة الحرارية لكل من المستخلصين *Spergularia-rubra-L Jet pest* — و *Inula viscosaleaves* ابتداء من درجة حرارة 30 حتى 90 لم يكن كافيا لتثبيطها , يبقى نشاط التراص للمستخلصين *Inula viscosa leaves* و *linum usitatissimum* مستقر عند جميع درجات الحموضة المختبرة من 1 إلى 12 لمدة ساعة واحدة بينما مستخلص *Spergularia-rubra-L Jet pest* يبقى مستقر في درجة حموضة من [1-8] و12. اختبار التثبيط مع السكريات الأحادية أظهر أن الليكتينات *Spergularia-rubra-L Jet pest* تثبط على وجه التحديد السكريات الأحادية المالتوز , ارابينوز, اللاكتوز, فركتوز باستثناء الجلوكوز والجالاكتوز, لكتينات *linum usitatissimum* تثبط هي الأخرى مع ثلاثة سكريات أحادية. : اللاكتوز , الجالاكتوز والأرابينوز, من أجل اختبار نظام ABO ليكتينات مستخلصات *Spergularia-rubra-L Jet pest* *Inula viscosaleaves pest* لا تملك أي إنتقائية مع فصائل الدم البشرية بينما ليكتينات *linum usitatissimum* تملك إنتقائية مع فصائل الدم A تم إجراء اختبار المعادن و أثبتت ليكتينات *Spergularia-rubra-L Jet pest* و *linum usitatissimum* تثبيط ضد الكالسيوم والمغنيسيوم على عكس غيره من المعادن, وقد أظهر الإستخلاص باستخدام هلام sephadex G 200 الحصول على نروة مع مستخلص *Spergularia-rubra-L Jet pest* و *linum usitatissimum* و ذروتين مع مستخلص *Inula viscosa leaves*

الطرق المستخدمة لقياسالنشاطالمضادللأكسدةفيالمختبر هي: تحديدالبروتين. اختبار الهيئة العامة للصدود(ديسموتاز الفائق) وثيوسانات الحديد. في اختبار الهيئة العامة

للصدودكشفقيمالنشاطالمضادللأكسدةمنخلالهذاالاختبار, قوةمضادةللأكسدةكبيرةبالنسبةلمستخلص *Inula viscosa leaves* و *linum usitatissimum* و *Spergularia-rubra-L Jet pest* وفي اختبار الهيئة العامةثيوسانات

الحديدكشفقيمالنشاطالمضادللأكسدةمنخلالهذاالاختبار, قوةمضادةللأكسدةكبيرةبالنسبةلمستخلص *linum usitatissimum*

*Spergularia-rubra-L Jet pest* و *Inula viscosa leaves*

في اختبار تحديد البروتين *Inula viscosa leaves* و *Spergularia-rubra-L Jet pest* و *linum usitatissimum*

الكلمات المفتاحية : النباتات الطبية, الليكتينات, النشاطالمضادللأكسدة, نشاطالتراص, نظامالمر الدموي , إمساكالجذور الحرة , الهيئة العامةللصدود, ثيوساناتالحديد



**Con A** : Concavoline A lectine

**ConBr** : Lectine de Canavaliabrasiliensis

**Man**:Mannose

**R** :rhésus

**VIH** :humanimmunodeficiency virus

% = pourcent

**Ca<sup>++</sup>** = Ion calcium

**Mg<sup>++</sup>** = Ion Magnisium

**Mn<sup>++</sup>**=Ion Manganèse

**4-HNE** = 4-hydroxynonéal

**EDTA** = Ethylène diamine tetraacetic

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

**FTC** = thiocyanate de fer

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** = peroxyde d'hydrogène

**HO°** = radical hydroxyle

**KD** = kilo dalton

**LH** = hydrogène du l'acide gras

**MDA** = malondialdéhyde

**ml**= Millilitre

**mg /ml** = Milligramme/ Millilitre

**nm** = Nanomètre

**O<sub>2</sub>°-** = anion superoxyde

**O<sub>2</sub>°-** = anion radicalaire superoxyde

**1O<sub>2</sub>** = oxygène singulet

**pH** = potentiel Hydro isoélectrique

**PBS** = la solution tampon phosphate di-sodique

**ROS** =réactiveoxygènespecies

**RL** = radicaux libres

**ROO°** = les radicaux peroxydes

**SOD** = superoxyde dismutase

**µl** = Microlitre

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : les lectines et leurs applications .....	1
Tableau 02 : Historique de la découverte des lectines .....	2
Tableau 03 : La Spécificité osidique de certaines plantes a lectines .....	8
Tableau 04 : Les Lectines spécifiques des groupes sanguins .....	22
Tableau 05 : Classification classique d' <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> .....	34
Tableau 06 : Classification classique d' <i>Inula viscosa leaves</i> . .....	36
Tableau 07 : Classification classique d' <i>linum usitatissimum</i> .....	38
Tableau08 :Les noms scientifiques des douze plantes testées.....	42
Tableau 09 :L'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait de plusieurs plantes et grains médicinale.....	47
Tableau 10: L'Activité de la limite d'hémagglutination d' <i>Spergularia-rubra-L Jet pest, Inula viscosa leaves, linum usitatissimum</i> .....	50
Tableau 11 : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait d' <i>Spergularia- rubra-L Jet pest, Inula viscosa leaves, linum usitatissimum</i> .....	52
Tableau 12: le teste d'Inhibition de l'extrait brut d' <i>Spergularia-rubra-L Jet pest, Inula viscosa leaves, linum usitatissimum</i> avec(lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose).....	55
Tableau 13 : les concentrations minimales en lactose, fructose, arabinose, maltose provoquant l'Inhibition de l'activité d'hémagglutination d'extrait d' <i>Spergularia-rubra-L Jet pest,</i> .....	57
Tableau 14: Les concentrations minimales en arabinose, galactose, lactose provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait <i>linum usitatissimum</i> .....	58
Tableau 15: L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut d' <i>Spergularia-rubra-L Jet pest, Inula viscosa leaves, linum usitatissimum</i> .....	60
Tableau 16 : l'effet des métaux $MnCl_2, CaCl_2, FeCl_2, MgCl_2$ , sur l'activité agglutinante des extraits des <i>Spergularia-rubra-L Jet pest, Inula viscosa leaves</i> et <i>linum usitatissimum</i> .....	62
Tableau 17 : L'effet du pH sur l'activité d'hémagglutinante de l'extrait des <i>Spergularia-rubra-L Jet pest, Inula viscosa leaves, linum usitatissimum</i> .....	64
Tableau 18: résultats des tests de l'activité anti oxydante.....	67
Tableau 19 : résultats du test de dosage des protéines des plantes <i>Spergularia-rubra-L Jet pest,</i> <i>Inula viscosa leaves</i> et <i>linum usitatissimum</i> .....	69

## LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Représentation graphique d'un monomère de ConcanavaleineA de <i>canavali ensiformis</i> en complexe avec le trimannosoïde .....	4
Figure 02 : Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique .....	5
Figure 03 : Représentation schématique de différents fimbriae de la bactérie d' <i>Escherichia coli</i> .....	6
Figure 04 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides .....	7
Figure 05 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides monosaccharide et oligosaccharide .....	8
Figure 06 : La classification structurale des lectines des plants .....	10
Figure 07 : Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe avec le Sialyl Lewis X (PDB 1G1T) .....	11
Figure 08 : Tétramère de la protéine ConM de <i>Canavaliamaritima</i> complexée avec le tréhalose (code PDB 2CY6) .....	12
Figure 09 : Représentation schématique de la distribution de la groupe ABO et la Rhésus sur la membrane d'une hématie .....	21
Figure 10 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO .....	22
Figure 11 : stress oxydant .....	24
Figure 12 : Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie .....	26
Figure 13 : Réactions de la peroxydation lipidique .....	27
Figure 14 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire .....	28
Figure 15 : Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires .....	29
Figure 16 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants .....	31
Figure 17 : la plante de <i>Spergularia rubra L jet pest.</i> .....	33
Figure 18 : la plante d' <i>Inula viscosa leaves.</i> .....	35
Figure 19 : la plante de <i>linum usitatissimum.</i> .....	37

Figure 20 : représente la technique d'extraction de l'extrait brut.....	41
Figure 21: Courbe représenté la Filtration d'extrait de <i>Spergularia-rubra-L Jet pest par</i> colonne de Séphadex G200.....	65
Figure 22: Courbe représenté la Filtration d'extrait d' <i>Inula viscosa leaves</i> ,par la colonne de Séphadex G200 .....	66
Figure 23: Courbe représenté la Filtration d'extrait de <i>linum usitatissimum .par la</i> colonne de Séphadex G200.....	66

## LISTE DES PHOTOS

Photo 01 : Représente la matérielle végétale de <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> , <i>linum usitatissimum</i> .....	39
Photo 02 : poudre des trois plantes médicinales <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> , <i>linum usitatissimum</i> .....	40
Photo 03:l'agglutination des hématies du lapin avec l'extrait des plusieurs plantes médicinales.....	48
Photo 04: test de la limite d'hémagglutination de <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> .....	50
Photo 05: test de la limite d'hémagglutination d' <i>Inula viscosa leaves</i> .....	51
Photo 06: test de la limite d'hémagglutination de , <i>linum usitatissimum</i> .....	51
Photo 07: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extraitde <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> .....	53
Photo 08: L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extraitde <i>linum usitatissimum</i> .....	54
Photo 09: Le test d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait brute de <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> , <i>linum usitatissimum</i> avec lessaccharides.....	56
Photo 10: Les concentrations minimales en fructose, lactose, arabinose, maltose provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait <i>Spergularia-rubra-L Jet</i> .....	57
Photo 11 : Les concentrations minimales en lactose, galactose, arabinose provoquant l'inhibition d'hémagglutination d'extrait <i>linum usitatissimum</i> .....	59
Photo 12: L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> , <i>linum usitatissimum</i> .....	61
Photo 13:L'effet du métal sur l'activité agglutinante des extraits de <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> , <i>linum usitatissimum</i> .....	63
Photo 14: L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de <i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> , <i>Inula viscosa leaves</i> , <i>linum usitatissimum</i> .....	64

## 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 (1995) en 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 liées à des hydrates de carbone ne peuvent être considérées 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 l'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 des plantes médicinales *Spergularia-rubra*-L Jet pest, *Inula Viscosa* leaves et de *Linum usitatissimum*. 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 hémagglutination avec le sang des lapins.
- Etude l'effet de la température, pH et métaux sur l'activité de ces lectines.
- Etude l'affinité de ces lectines vers le glucide par le test d'inhibition d'une part et vers les globules rouges de l'être humain par le test ABO d'autre part.

## **INTRODUCTION**

---

- Etude de L'activité anti-oxydante des lectines in vitro.
- Dosage des protéines par la méthode de Lowry



### 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 and Sharon ,1998**) Cette classe des protéines est dénommée par Boyd en 1954, sous le nom «lectines» dérivée du mot latin «lectus» qui est le participe passé du verbe «légère», qui veut dire «sélectionner» ou «choisir» (**Liener et 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 reconnaissance 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 (**Meite et al, 2006**) Bien qu'il existe des lectines thermorésistantes (**Guillaume, 1993**), Quelques lectines importantes sont énumérées dans le tableau 1

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

Lectines	Exemple et commentaire
Lectine de légumes	Concanavalline A, lectine de pois
Agglutinine de germe de blé	Fréquemment utilisée dans l'étude des surfaces ou membranaires de cellules normales ou cancéreuses
Racine	Glycoprotéines cytotoxiques provenant des graines de racine
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	Lectines animales se lient le B-galactose, elles ont des rôles dans les interactions

	cellule-cellule extracellulaire	et	cellule-matrice
--	------------------------------------	----	-----------------

## 2. Historique

En 1888, P. H Stillmarka découvre la première lectine qui décrit dans sa thèse de doctorat présentée à l'université de Doprart (maintenant Tartu, Estonie) que des extraits de graines de ricin (*Ricinus communis*) agglutinaient des érythrocytes. (Sharon and Lis, 2004). A partir de ce moment, d'autres substances d'origine végétale possédant une activité hémagglutinante ont été découvertes. Ensuite P. Ehrlichea 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 concanavaleine A (Sumner, 1919). Il fallut patienter presque vingt ans et les travaux de Sumner et Howell en 1936 pour que la spécificité de ces protéines pour les sucres soit mise en évidence avec l'inhibition de l'hémagglutination de la concanavaleine A par des saccharoses (Sumner et Howell, 1936).

En 1954, Boyd et Sharpleigh ont démontré la propriété de ces protéines d'agglutiner sélectivement des érythrocytes humains d'un groupe sanguin donné (Boyd et Sharpleigh, 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	Toxicité de la graine d' <i>Abrus precatorius</i>
1886	Dixson	Toxicité de la graine de <i>Ricinus communis</i>
1888	Stillmark	Activité hémagglutinante de la graine de <i>Ricinus communis</i> Toxicité de la graine de <i>Croton</i> <i>trigium</i>

1890	Erich	Utilisation de l'abrine et la ricine dans les recherches immunologiques
1891	Hellin	Activité hémagglutinante de la graine d'Abrus Precatorius
1897	Elfstrand	Introduction du terme d' 'hémagglutinine
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 à Hemagglutinines
1949	Liener	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolus vulgaris
1949	Jaffe	Inactivation Thermique des hémagglutinines de Phaseolus vulgaris
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 Phaseolus vulgaris
1965	Agrawal &Golstein	Chromatographie

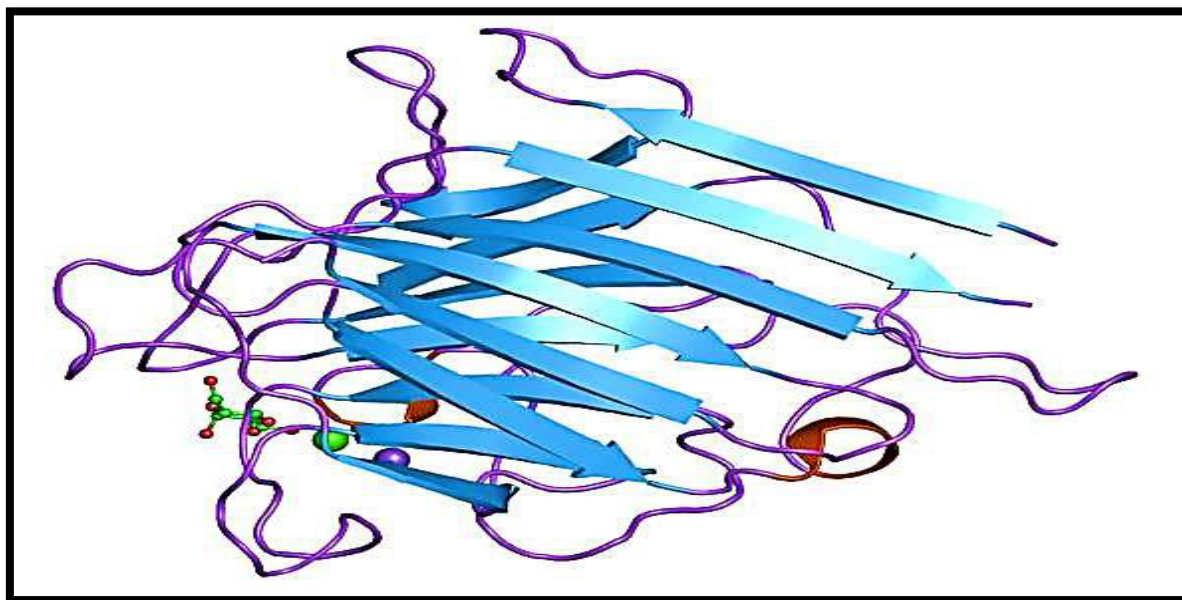
		d'affinité pour la purification des lectines
1966	Boyd	Lectines dans les algues
1981	Réinsérer al	L'utilisation de lectines dans les greffes de moelle osseuse
1990	Yamauchi&Minamikawa	Expression de Con A dans les cellules d'Escherichia coli

### 3. La Structure des lectines

Les lectines sont classées en trois grandes classes selon leur topologie :

#### 3.1. 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 1)

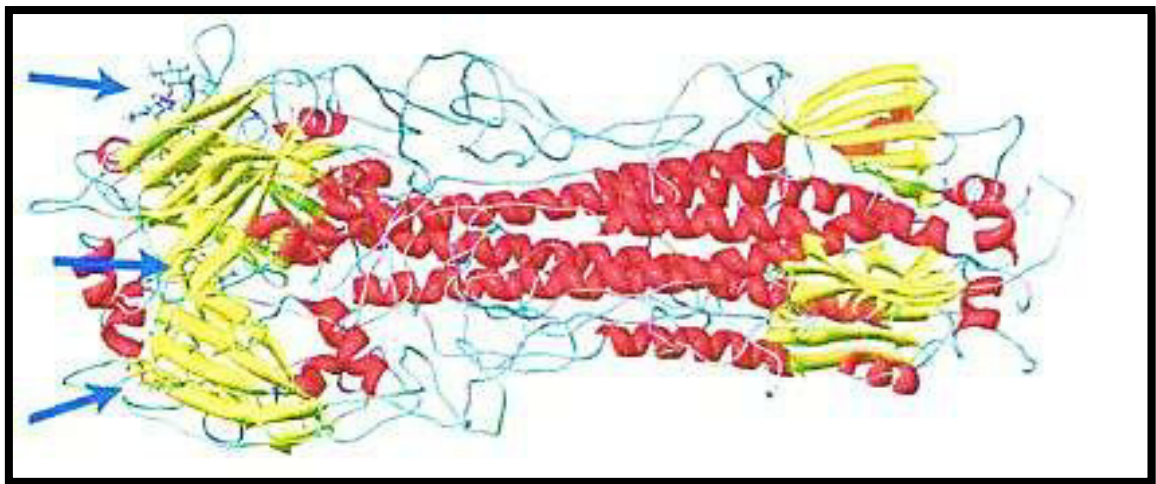


**Figure 01** : Représentation graphique d'un monomère de concanavaleine A de *canavalia ensiformis* en complexe avec le trimannosoïde (Lenka, 2006).

La protéine est représenté par un ruban rouge pour les hélices  $\alpha$ , un ruban bleu 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)

### 3.2. Les lectines en mosaïques

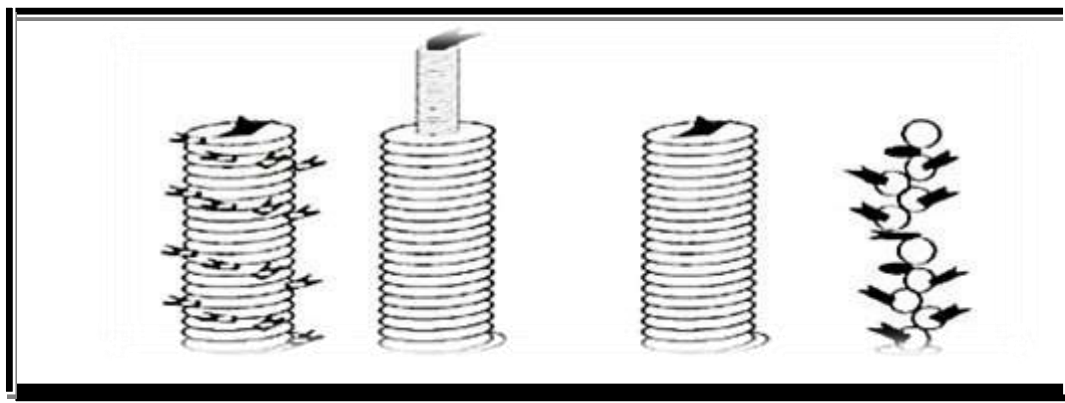
Cette classe regroupe diverses lectines de différentes sources (animale, virus) il s'agit de molécules complexe composée de plusieurs type de domaines ou modules, dont un seul possède le site de liaison (Lenka *et al*, 2006).(figure 2)



**Figure 02:** Représentation graphique d'un trimère d'hémagglutinine de virus influenza en complexe avec de l'acide sialique (Lenka *et al*, 2006).

### 3.3. 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 joue qu'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)

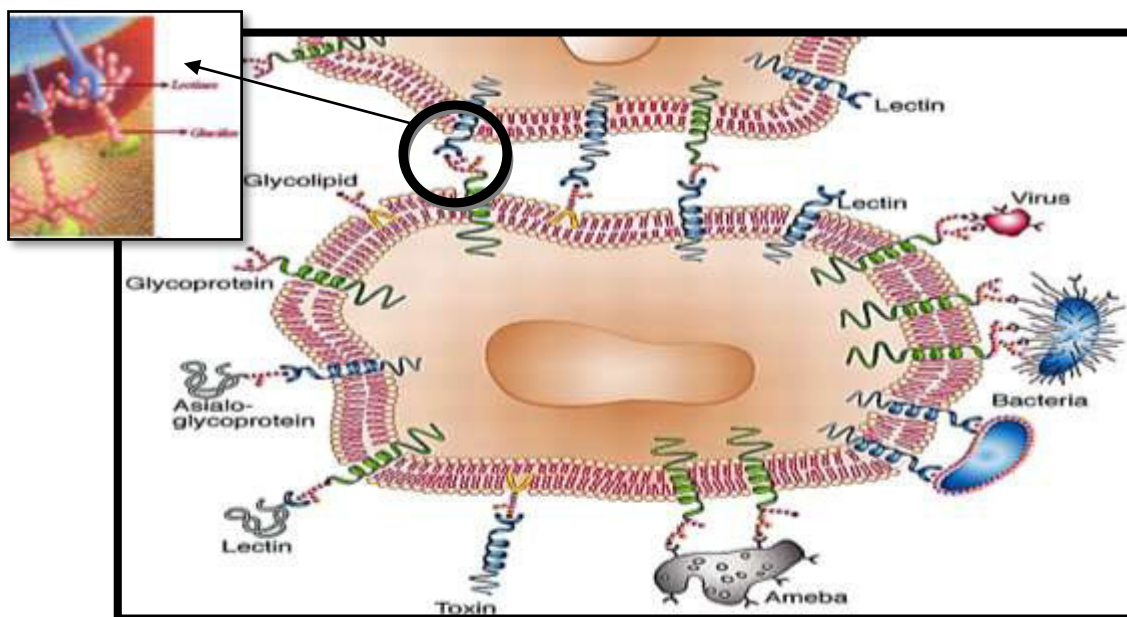


**Figure 03 : Représentation** schématique de différents fimbriae de la bactérie d'Escherichia Coli(Lenka, 2006).

#### 4. Les sites de liaisons des lectines

Le site de liaison d'une lectines 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 lectines 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 lectines-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 lient (Gabius, 1985).





**Figure 04** : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides (Ghazarian ,*et all.*, 2011)

## 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 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 acétylgalactosamine (GalNAc), le N-acétylglucosamine (GlcNAc), le Fucose (Fuc), l'Acide sialique (acide N-acetylneuraminique, NeuAc) (**Lis and 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 épitopes 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 and Brewer, 2002**). (figure 05)

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

Espèces	Spécificité
<i>Abrus precatorius</i>	Gal
<i>Adenidigitata</i>	Gal
<i>Aleuriaaurantiaca</i>	L-Fuc
<i>Canavalia brasiliensis</i>	Man >Glc
<i>Canavalia ensiformis</i>	Man >Glc
<i>Dolichosbiflorus</i>	GalNAc
<i>Phaseolus vulgaris</i>	GalNAc
<i>Vicia sativa</i>	Man
<i>Ulex europaeus I</i>	L Fuc
<i>Momordicacharantia</i>	GalNAc
<i>Cytissussessilifolia</i>	GlcNac>Fuc>Gal
<i>Datura stramonium</i>	GlcNAc

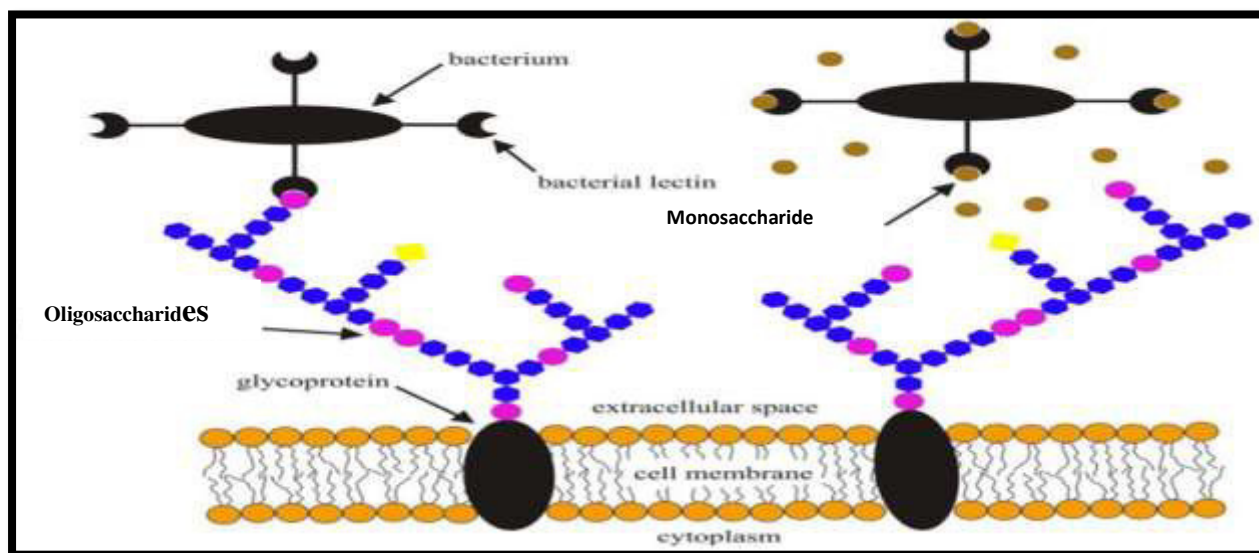


Figure 05 : Représentation schématique d'exemples d'interaction lectines-glucides monosaccharides et oligosaccharides (Ghazarian *Het all .*,2011)



## 6. La Classification des lectines

### 6.1. Chez les animaux

#### ➤ 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**).

#### ➤ 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

#### ➤ 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**).

#### ➤ 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 Lectines de *Canavalia brasiliensis*) (Van Damme *et al.*, 1998).

### ➤ 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 activant les ribosomes comme laricin) (Peumans *et Van Damme*, 1995).

### ➤ 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 structurellement et fonctionnellement (Van Damme *et al.*, 1998).

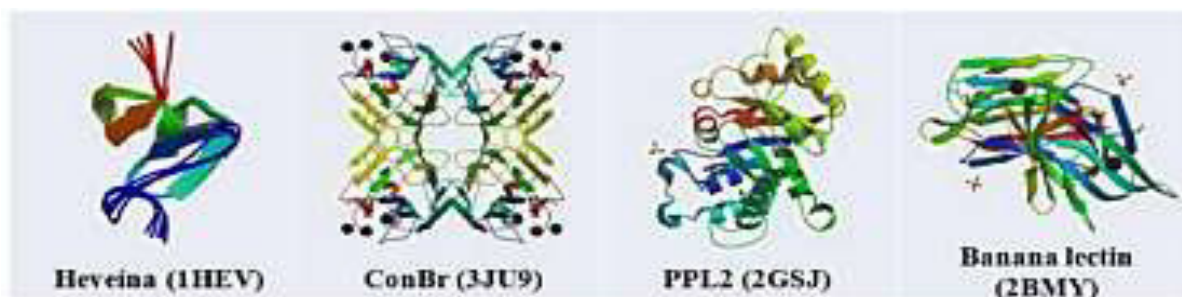


Figure 06 : La classification structurale des lectines des plants (Van Damme *et al.*, 1998).

## 7. Distribution des lectines dans le monde de vivant

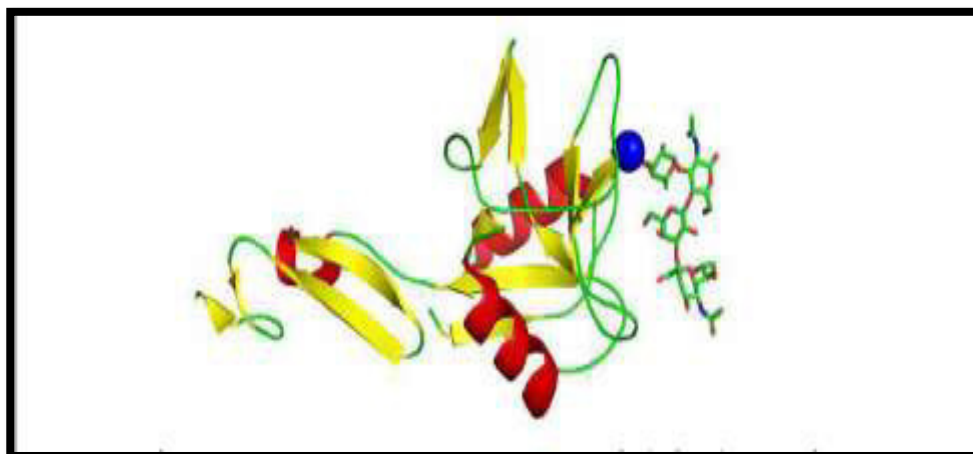
Initialement décrites dans le règne végétal où elles sont particulièrement abondantes, notamment chez les légumineuses et les graminées, les molécules sont en fait des molécules universelles. Elles sont en effet largement répandues dans le monde vivant puisque l'on en

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 *sigles*.

- 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) (Lefler *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 SialylLewisX (PDB 1G1T) (Somers *et al.*, 2000) (Figure 7).



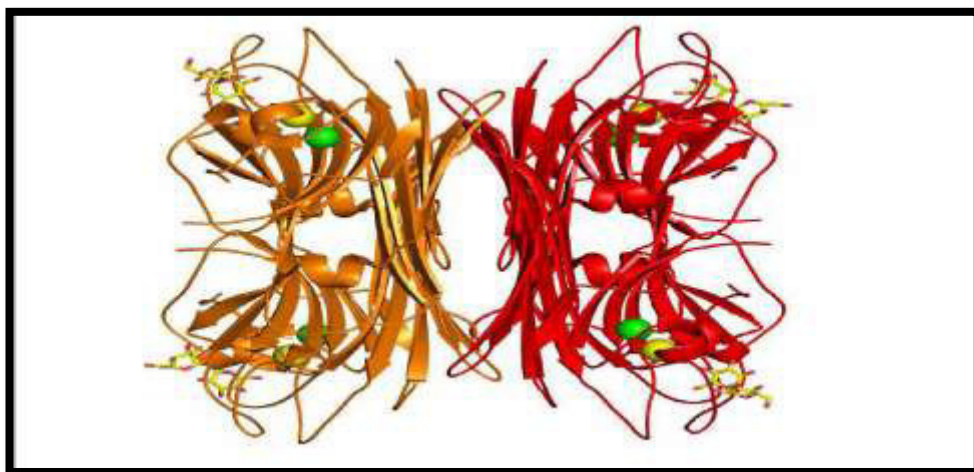
**Figure 07 :** Représentation graphique de la structure de l'E-selectine humaine en complexe avec le SialylLewisX (PDB 1G1T) (Somers, *et al.* 2000) Le calcium est représenté par une sphère bleue et le ligand par des bâtonnets.

- Les *Sigles*, 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 glycoconjugué de la surface de l'ovule interagit avec une lectine (spermadhésine) du spermatozoïde (Topfer-Petersen *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 08 :** Tétramère de la protéine ConM de *Canavalia maritima* 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 Gal1-3GalNAc (Transueet 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 par le microorganisme, et nécessite la présence à la surface des deux protagonistes de molécules complémentaires de type récepteur-ligand (Bouchara et Trouchin, 2003) Les microorganismes pathogènes, virus, bactéries, champignons ou parasites eucaryotes, utilisent fréquemment des lectines pour reconnaître les sucres présents sur la surface des cellules hôtes. Ces interactions lectines-sucres jouent également un rôle dans l'adhésion sur les tissus richement glycosylés présents dans les voies respiratoires, digestives ou dans l'appareil urogénital (Imberty et Varrot 2008, Sharon 1996) L'exemple le plus marquant de lectines 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 polymère hydrate qu'elles produisent, et donc forment un biofilm (Imberty, 2011) Les lectines bactériennes connues peuvent être classées en trois familles principales : les lectines fimbriales (pili et flagelles), les toxines et les lectines solubles (Imberty et al., 2005) *Entamoeba histolytica* est un parasite entérique qui peut tuer les cellules hôtes via un mécanisme dépendant du contact. Cette action assassine implique la protéine de surface amibienne dénommée le Gal / GalNAc lectine se lie au galactose et au N-acétyl galactosamine permettant l'adhérence des amibes aux cellules hôtes (Boettner et al., 2002) Les lectines des champignons 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 (**Sheet 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 (mitogenécité) et de la germination ; intervention dans les processus de reconnaissance de cellule à cellule (**Etzler, 1986 ; Kaminski et al., 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 pathogénèse (**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'hémagglutination 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 (**Gokeret 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 (**Rydzet al, 2013**) car elles sont responsables au transport des protéines, peptides et les médicaments natifs (**Sutapaet 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 glycannes interagissent par des liaisons non-covalentes avec les acides aminés formant la cavité de reconnaissance saccharidique de La lectines (**Jeyaprakashet *al*, 2003**) La partie non glycanique des glycoconjugués peut également interagir avec les acides aminés avoisinant la cavité de reconnaissance (**Jeyaprakashet *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**).

#### Il ya Autres propriétés

##### ➤ L'activité 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**).

##### ➤ 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**).

➤ **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**).

➤ **La propriété antivirale**

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 *Narcissus tortifolius* (**Lopez, 2003**).

➤ **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**)



## 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 and Sharon , 1998**). Aujourd'hui les lectines sont largement utilisées comme outils dans la recherche, dans le secteur biomédical et dans le domaine agronomique.

### ➤ 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 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**)

### ➤ Dans le domaine biomédical

#### a) Hématologie

Certaines lectines reconnaissent spécifiquement les antigènes des groupes sanguins humains (**Boyd and 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 être 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 a 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 transporteurs pour diriger drogues et produits pharmaceutiques vers les cellules cancéreuses.

#### **➤ 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 années1890, 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 compliment, 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 lectines liant le mannose (mannose binding lectin, MBL) est une molécule de la reconnaissance de la voie lectines 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**).

## 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

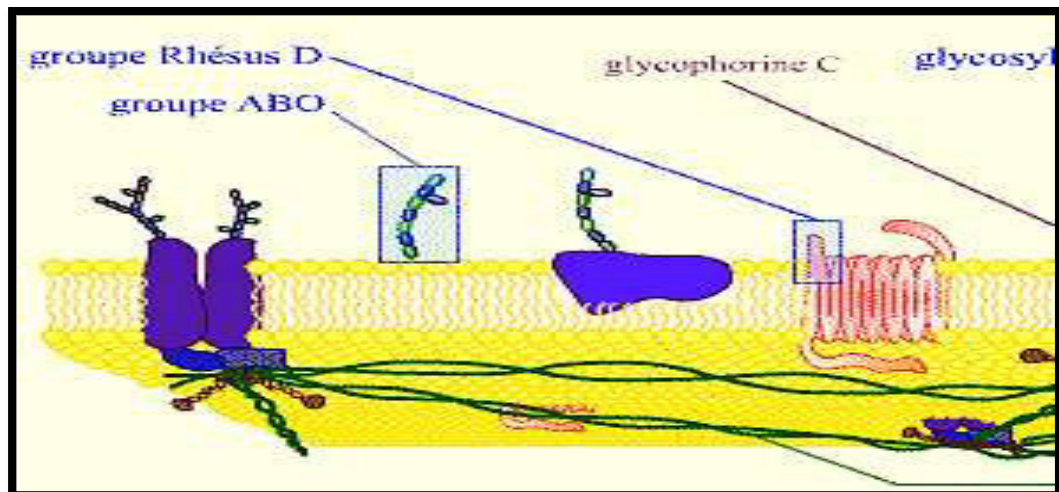
Le système de groupe sanguin ABO se définit à la fois par la présence d'antigène sur les hématies et par la présence d'anticorps naturels réguliers dans le plasma. La présence sur les globules rouges d'un antigène exclut la présence dans le plasma de l'anticorps qui lui correspond, exemple : si, dans 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**



**Figure 09** : Représentation schématique de la distribution de group ABO et Rhésus sur la membrane d'une hématie (David Germanaud, *et all.*,2003)

#### 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 un enzyme qui ajoute une molécule de N-acétyl-galactosamine à la chaîne oligosaccharide pour former l'antigène A, alors que les sujets du groupe B ont une enzyme qui ajoute une molécule de galactose pour former l'antigène B. Les globules rouges des sujets du groupe AB expriment en plus la structure de base dépourvue des glucides terminaux, ce qui explique pourquoi des alloanticorps ne sont pas produits contre le groupe O (Parham, 2000) (figure 10)

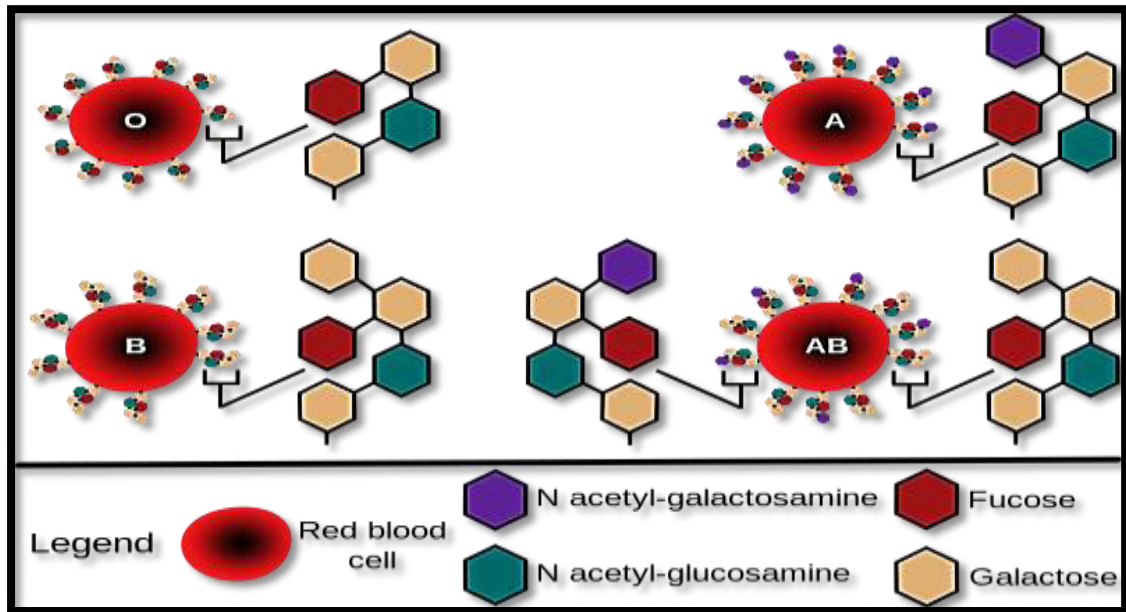


Figure 10 : Structure des antigènes de groupes sanguins du système ABO (Yazer M,et all (2006)).

### 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 04).

Tableau 04:Les Lectines spécifiques des groupes sanguins(Béziat *et al*, 1996).

Origine de lectine	Groupe spécifique	Référence
<i>Bandereirasimplicifolia-I</i>	B	
<i>Sophora japonica</i>	A, B	Richard, 1998
<i>Vicia villosa</i>	A	

<i>Nelumbo vucifea</i>	B	<b>Gokeret <i>al</i>, 2008</b>
------------------------	---	--------------------------------

## Le stress oxydant

### 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 *et al.*, 2008).

La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite « stress oxydant » (figure 06). Ce terme est défini initialement comme étant « Un déséquilibre profond de la balance entre les peroxydants 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 (réactive oxygène 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).

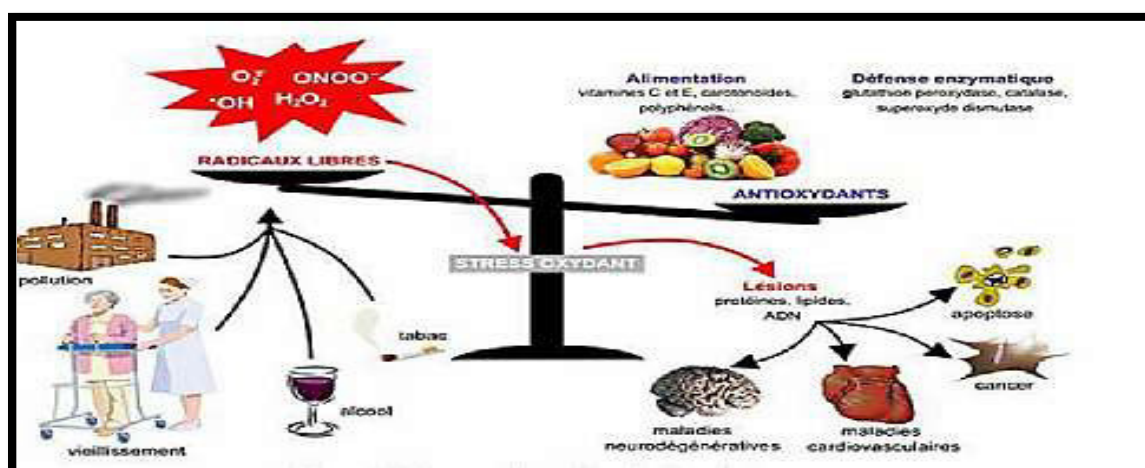
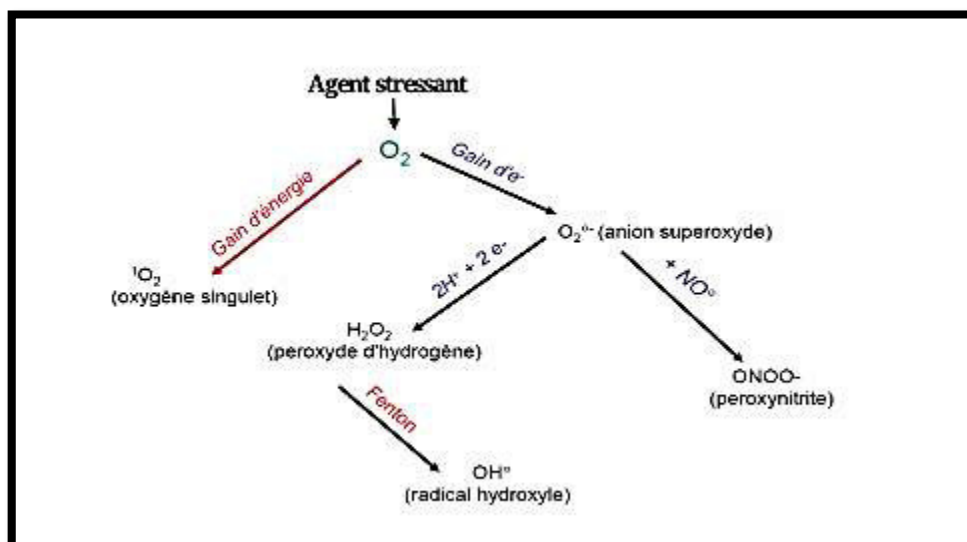


Figure 11 : Stress oxydant (Durackova, 2008)



## 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 (1O<sub>2</sub>) (Simonian and 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, les radicaux comme les peroxydes (ROO<sup>°</sup>) ou surtout le radical hydroxyle (HO<sup>°</sup>), 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut se décomposer en HO<sup>-</sup> et HO<sup>°</sup> selon la réaction de Fenton. Le radical HO<sup>°</sup> 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 13) (Favier, 1997).



**Figure 12 :** Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003)

L'oxygène singlet ( $^1O_2$ ) 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 singlet 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 singlet. 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 hydro peroxyde ( $\text{LOOH}$ ), c'est la phase « Propagation » de la peroxydation lipidique. Ces hydro peroxydes 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 08). 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**).

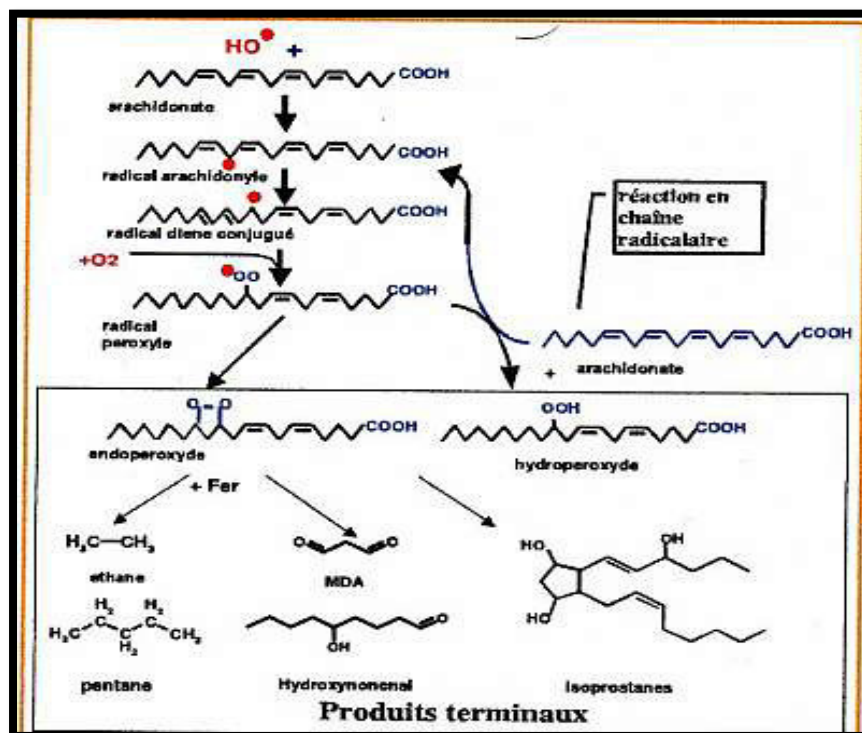


Figure13 : Réactions de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

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 peroxydationlipidiques 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 09). Les protéines comportant un pont sulfhydrique sont les plus sensibles aux attaques radicalaires, 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).

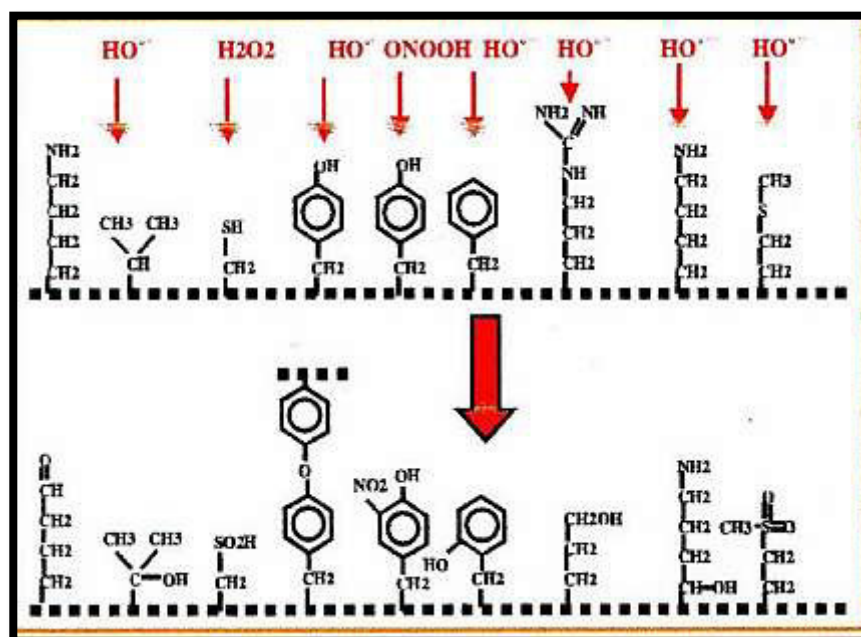


Figure 14 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

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).

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 10) (Hayakawa *et al.*,1991). Les bases puriques sont plus sensibles aux ROS (surtout l'°OH et le peroxydinitrite), 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- OH dG 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).

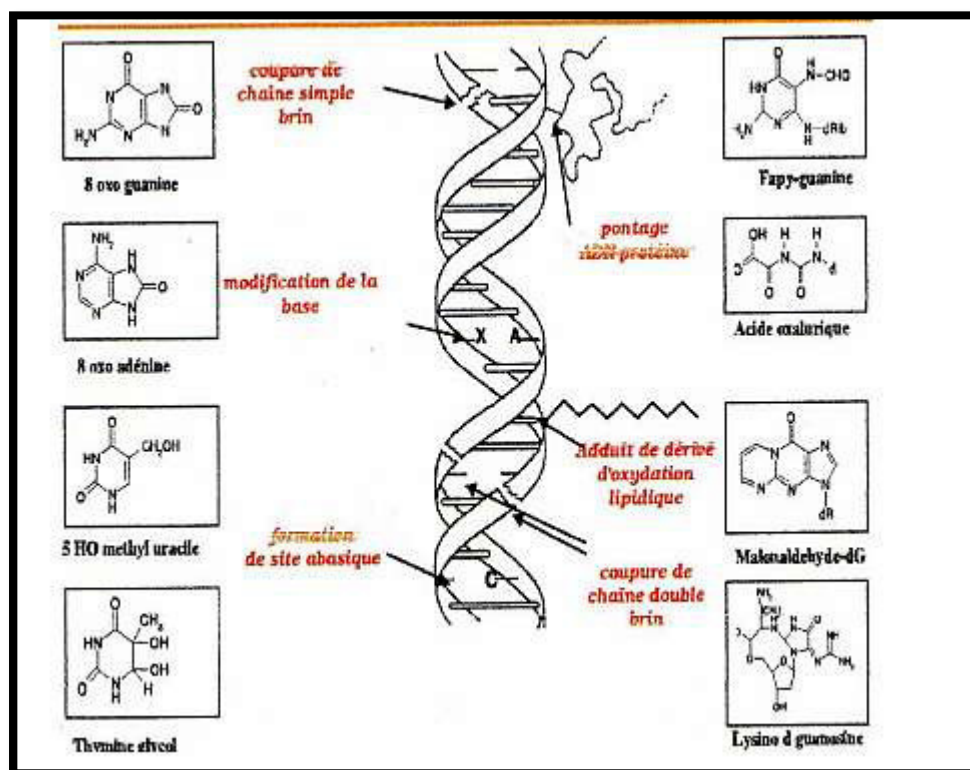


Figure 15 : Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires (Favier, 2003)

#### 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'hyperoxygénation, 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 (**Bonnefon- Rousselot *et al.* 2001 ; Sohal *et al.*,2002 ; Delattre *et al.*, 2005**).

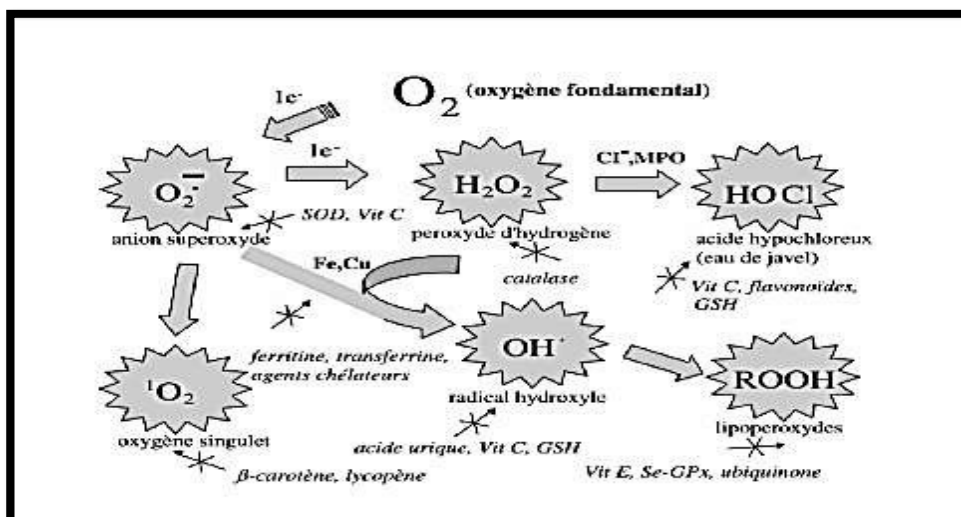
Le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies comme : le cancer, les maladies neurodégénératives et le vieillissement accéléré. Il est admis que le stress oxydant est un facteur potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, 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-Rousslot, 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 16). 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**).





**Figure16** : 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) le 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  $H_2O_2$ , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

#### ➤ La Superoxyde dismutase

Comme l'indique son nom, la superoxyde dismutase (SOD) accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Il existe plusieurs isoenzymes 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).

## GENERALITE SUR LES PLANTES

### 1. *Spergularia Rubra L Jet Pest*

*Spergularia rubra L Jet Pest*, est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle de la famille des Caryophyllacées.

#### ➤ Noms communs

sabline rouge, *Spergularia* rouges, calcaire, fleur de sable et casse pierre c'est le nom le plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions.

#### ➤ Nom scientifique

*Spergularia Rubra L Jet Pest*

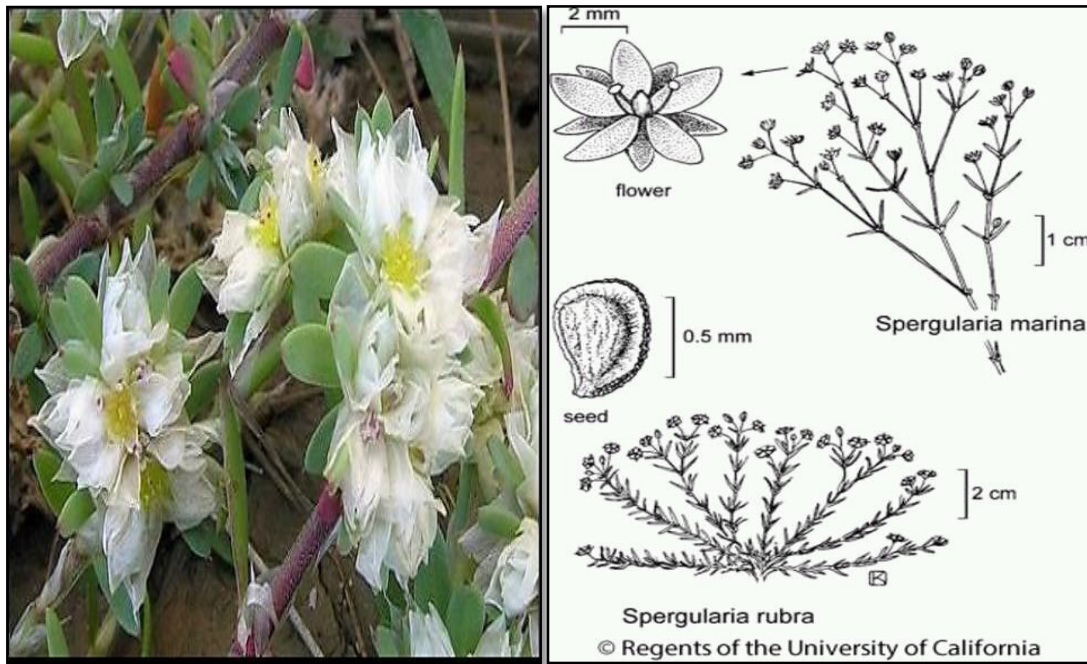
#### ➤ Environnement naturel

Terrain avec des formations de sable est l'environnement préféré pour cette plante Son nom français indique que, donc Lieux sablonneux et siliceux,

### 1.1. Description botanique *Spergularia rubra L Jet Pest*

*Spergularia rubra L Jet Pest* est une plante dont la racine est fibreuse et longue et dont les tiges pouvant atteindre jusqu'à 25 centimètres sont dressées ou étalées les feuilles opposer linier petite sont munies de stipules lancéolées les fleurs visible de mai a septembre sent déposées solitaire a l'extrémité des tiges le fruit est une capsule qui contient des nombreuses graines noire. (Pierre.M et lys.M, 2007). (Ronald.L , et al.,2012)





**Figure 17** : la plante de *Spargularia Rubra L Jet Pest*, (Ronald.L, et al.,2012)

### 1.2. Usages de *Spargularia Rubra L Jet Pest*

Sablina est la plante spécifique des voix urinaire elle favorise l'expulsion des boues est des calculs rénaux de plus elle calme les inflammations des voix digestive est des voix urinaire. (Pierre.M et lys.M, 2007).

### 1.3. Les Propriété médicinal de *Spargularia Rubra L Jet Pest*

- Réduit l'acide urique. ( Diminution du taux sanguin d'acide urique).( **Boullard. 2001**)
- bénéfique dans les crises de goutte et rhumatisme.
- Efficace dans les infections des traitements urinaires, comme la cystite ou la colique néphritique.
- Dissous les Lithiases (calculs) urinaires et rénales (**Bézanger-Beauquesne et al., 1980**)
- Hyper uricémie.
- faire disparaître les taches de rousseur et sombre du visage.(usage externe).
- Traite les affections vésical

- Aide à soulager la douleur de la goutte et des articulations  
Ainsi que le traitement efficace des infections de la vessie (**Bézanger-Beauquesne, et al., 1980**)

#### 1.4. Les substances actives et les Composants principaux de la plante

- Flavonoïdes
- Coumarines
- Sels alcalins, carbonates de sodium et de potassium ont une action brisée et fondue des calculs rénaux
- Saponosides

#### 1.5. Classification de *Spergularia Rubra L Jet Pest*

**Tableau 5** : Classification classique de *Spergularia Rubra L Jet Pest* (J.Presl & C.Presl, 1819)

<b><u>Règne</u></b>	<b><u>Plantae</u></b>
<b><u>Division</u></b>	<b><u>Magnoliophyta</u></b>
<b><u>Classe</u></b>	<b><u>Magnoliopsida</u></b>
<b><u>Ordre</u></b>	<b><u>Caryophyllales</u></b>
<b><u>Famille</u></b>	<b><u>Caryophyllaceae</u></b>
<b><u>Genre</u></b>	<b><u>Spergularia</u></b>
<b><u>Espèce</u></b>	<b><u>Spergularia rubra</u></b>

## 2. *Inula Viscosa leaves*

### ➤ Nom commun

Est Inule visqueuse

### ➤ nom vernaculaire

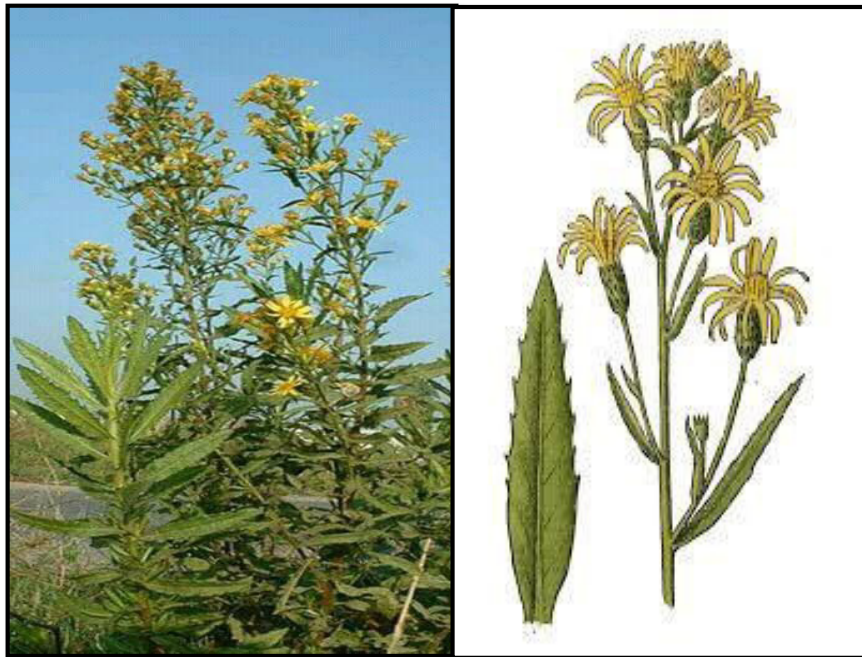
Est magramane

### ➤ nom scientifiques

Est *Inula Viscosa leaves*

### 2.1. Description botanique *inula viscosa leaves* :

C'est une plante arbuste, vivace, elle pousse dans les champs « sauvages » dans les alentours du bassin méditerranéen, dans les collines , les zones humides et les bord de la route et apprécie les sols secs et calcaires . (Baytop.T,(1984) -Wenqiao ,*et al.*,(2004)) *Inula viscosa* est une plante d'un hauteur de 0,5 à 01 mètre qui appartient à la famille **Asteraceae**, la floraison est à la fin d'été et le début d'automne, d'une couleur jaune sa croissance est rapide et d'une multiplication semi-division.



**Figure 18** : la plante *d'Inula Viscosa leaves*

(<http://scathcraft.wordpress.com/2016/07/24/inulla-visqueuse>)

## 2.2. Les Propriété médicinal d'*Inula Viscosa leaves*

- La partie aérienne de cette plante est utilisée sous la forme de décoction dans le traitement du diabète, hypertension et les néphropathies.
- Dans la médecine traditionnelle de la région du bassin méditerranéen, *Inula viscosa* était pour longtemps utilisable comme anti-inflammatoire (**Barbetti.P, et all., (1985)**).
- activité antiseptique, activité antipyrétique (**Lauro.L et Rolih.C(1990) ,Yaniv.Z, et all., (1987)**)
- Dans la médecine traditionnelle Espagnole, *Inula viscosa* est utilisé dans le traitement de désordre Gastroduodéal (**Lastra.C, et all.,(1993)**)
- Dans la Jordanie et la région de moyen orient, la médecine traditionnelle attribue à l' *Inula viscosa* plusieurs utilités telle que : anthelminthique, expectorant, diurétique, traitement de bronchite, tuberculose, l'anémie et le cataplasme pour les douleurs de rhumatisme.
- Elle est aussi prescrite comme un agent promoteur dans l'induction de l'avortement et la stérilité des femelles. (**Karim.F etQuraan.S, (1986) -Karim.F, et all.,(1990) ,Al-Khalil.S, et all., (1992)**).

## 2.3. Classification d'*inula viscosa leaves*

**Tableau 6** : Classification classique de *Inula Viscosa leaves* (**Greuter, 1973**)

Règne	Plantae
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inula Viscosa leaves</i>
Nom latin	<i>Inula viscosa</i> synonyme : <i>Capularia viscosa</i>

### 3. *linum usitatissimum*

est une espèce de plantes dicotylédones de la famille des *Linaceae*, originaire d'Eurasie

➤ **Nom commun :**

Est connu par le nom le lin cultivé

➤ **Nom scientifiques :**

*Le linum usitatissimum*

#### 3.1. Description botanique de *linum usitatissimum*

*Le linum usitatissimum* est une plante herbacée annuelle ayant une tige fibreuse pouvant atteindre 40 a70 centimètre de hauteur, cylindrique, effilée, fragile, dressés, simple a la base, rameuse sur la hauteur. Les feuilles sont simples et épaisses, alternes et lancéolées. Les fleurs sont solitaires et bleu pâle. Les fruits ont la forme de petites capsules sphériques, qui renferment des graines brunes, ovales et aplaties. (pierre.M, lys.M ,2007) .

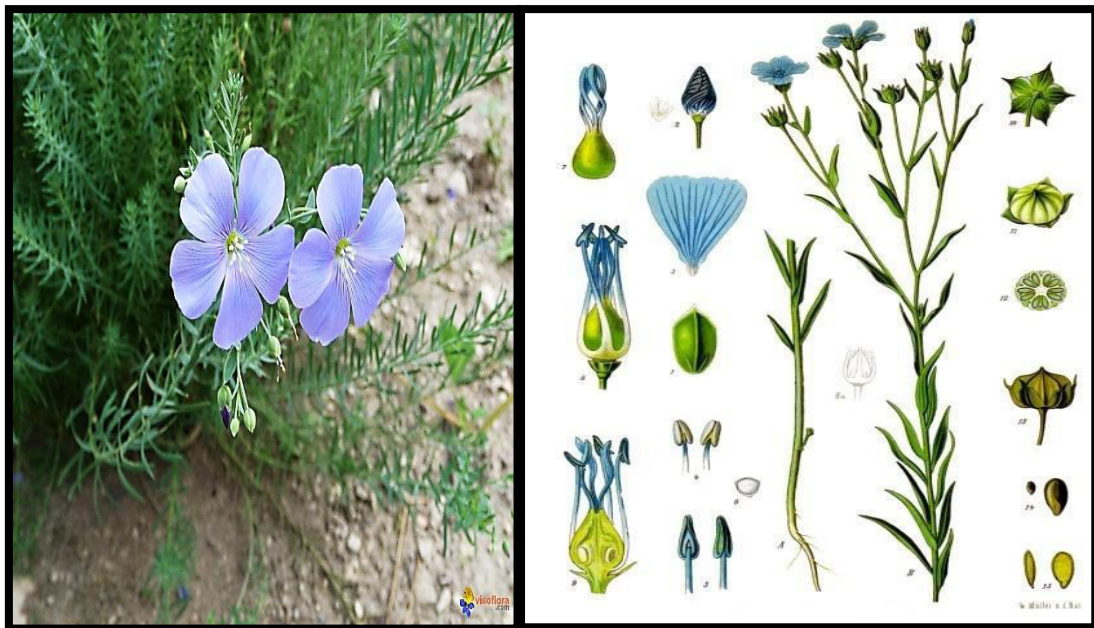


Figure19: de *linum usitatissimum* (Koehler,1887)

#### 3.2. Propriétés médicinales du *linum usitatissimum*

➤ **UTILISATION INTERNE**

Laxatif d'action mécanique ; anti-inflammatoire ; ralentisseur de l'absorption du cholestérol ; antispasmodique ; antioxydant ; nutritif. (Fleurantin.J ,2004)

➤ **UTILISATION EXTERNE**

Emollient ; adoucissant. (Fleurantin.J ,2004), soigne les inflammations cutanées, les dermatoses douloureuses, les contusions, les ulcères, les plaies enflammées.

➤ **INDICATIONS THÉRAPEUTIQUES USUELLES**

Réduction du taux de cholestérol et des symptômes liés à la ménopause ; traitement de la constipation, du syndrome du côlon irritable, de la gastrite, de l'entérite et des colites ; diminution des douleurs pulmonaires et des troubles urinaires.

### 3.3. Classification de *linum usitatissimum*

**Tableau 7** : classification de *linum usitatissimum*

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Linales</i>
<b>Famille</b>	<i>Linaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Linum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Linum usitatissimum</i>
<b>Noms communs</b>	<i>lin, lin cultivé, lin domestique, lin usuel, lin des fleurs</i>



## Matériel et Méthodes des tests phytochimiques

### 1. Matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur trois plantes médicinales :

- a) *Spergularia Rubra L Jet Pest* (fleur)
- b) *Inula Viscosa leaves* (racine)
- c) *linum usitatissimum* (graine)



**Photo 01** : représente les matériels végétales *Spergularia Rubra L Jet Pest* (fleur)(a) , *Inula Viscosa leaves* (racine)(b) et *linum usitatissimum* (Graines)(c)

### 2. Les méthodes

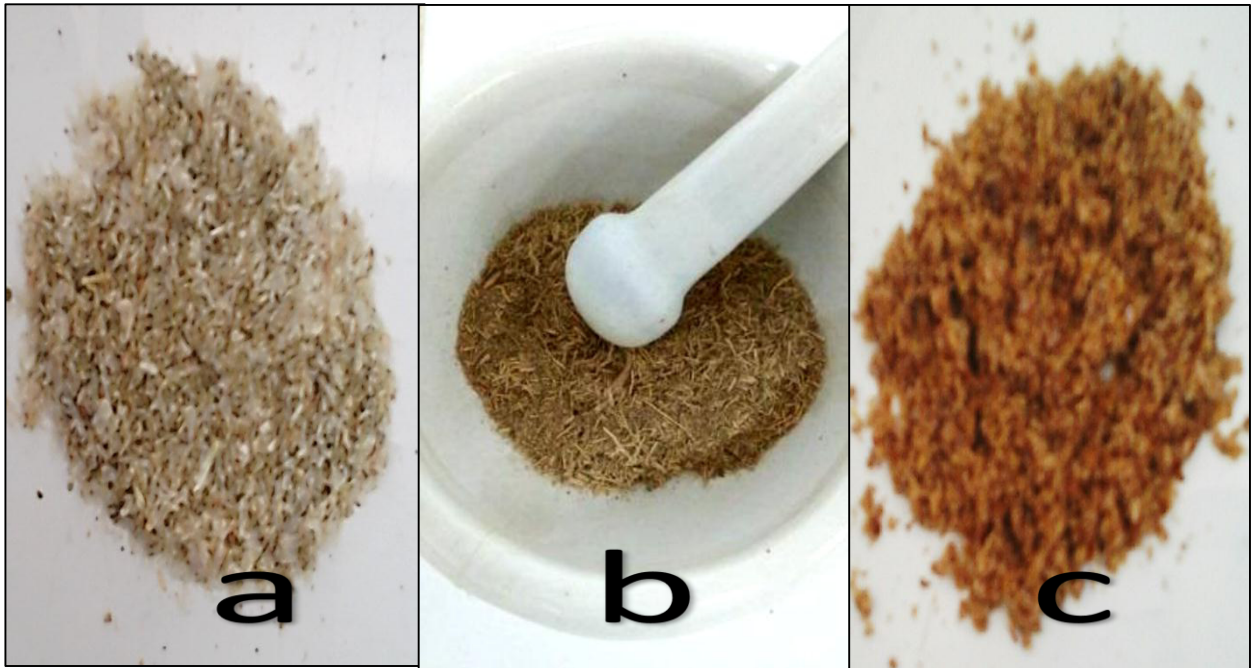
#### 2.1. La Préparation des plantes

Pour les trois plantes (les fleurs de *Spergularia Rubra L Jet Pest* , la racine d'*Inula Viscosa leaves* et les graines des *linum usitatissimum*)

- **Lavage** : rincées avec l'eau et débrassé de toute impureté.
- **Séchage** : séchées à température ambiante pendant 7 jours.

- **Broyage** : coupées, puis ils sont broyés dans un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre.

Pour les graines des *linum usitatissimum* ont été rincés à l'eau et séchées à l'air pendant 7 jours ; broyées dans un mortier afin d'obtenir une poudre qui a été conservé dans une boîte fermé.



**Photo 02** : poudre des trois plantes médicinales *Spergularia Rubra L Jet Pest* (a) , *Inula Viscosa leaves* (b) et *linum usitatissimum* (c)

## 2.2. L'EXTRACTION DES PLANTES

- **Principe**

Cette opération réalisée afin de récupérer des substances hydrosolubles à partir d'une poudre des racines à l'aide d'une solution tampon phosphate di-sodique (PBS).

- **La Technique d'extraction**

30 ml du tampon PBS (0,1 M pH 7,4) (**Annexe 01**) a été ajouté à 9 g de poudre des Plantes, l'ensemble est agité, et laissé pendant 24 h à 4 °C, après la centrifugation de cette



Suspension à 6000 tour /minute pendant 30 minutes, le surnageant a été récupéré et conservé au frais. Ce surnageant formé, représente l'**extrait brut**, qui est d'abord été testé sur les Hématies, puis passé dans la colonne de chromatographie (voir Figure 14).

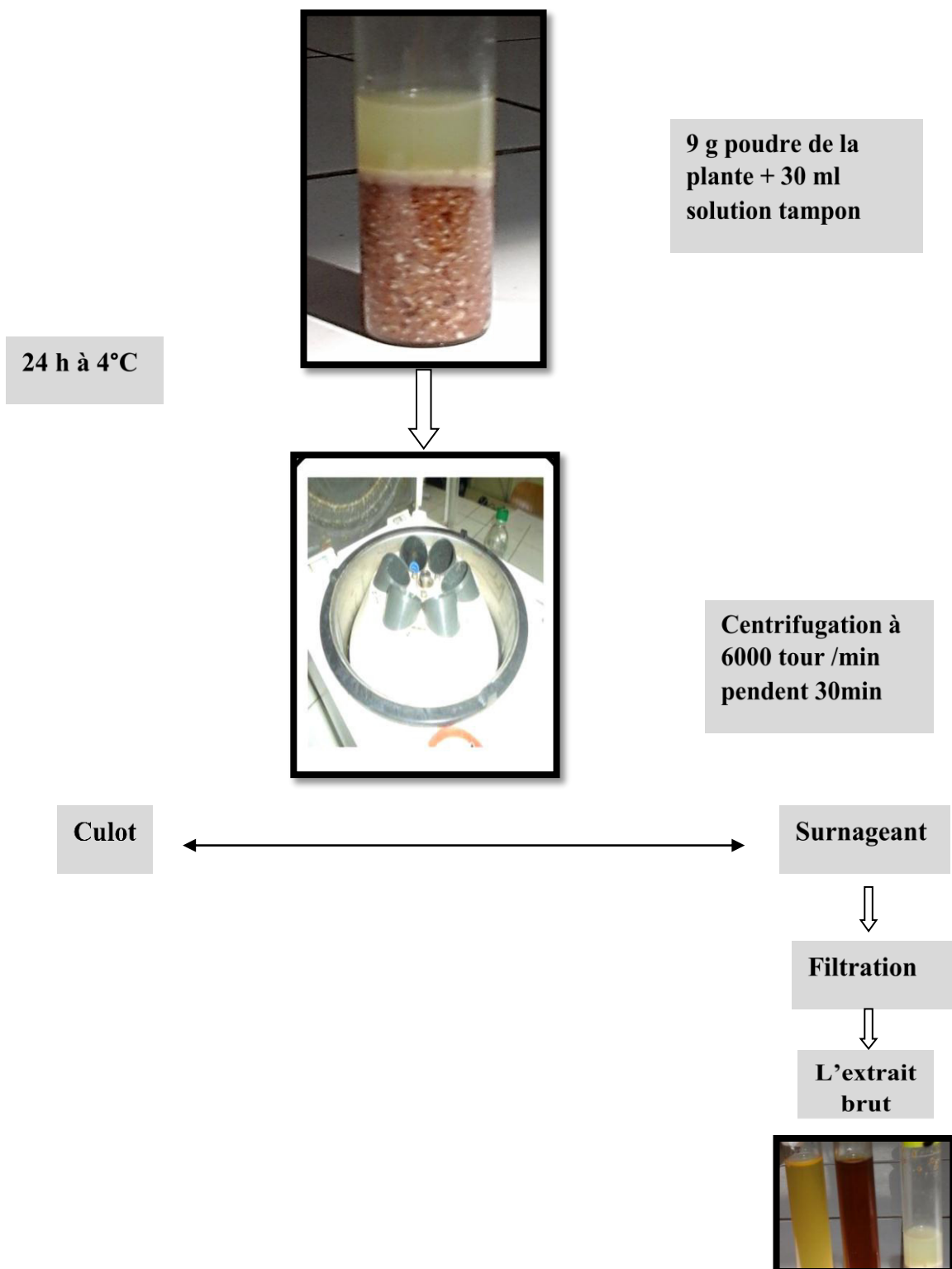


Figure 20 : représente la technique d'extraction de l'extrait brut

### 2.3. Le test d'hémagglutination

Au début Le teste d'hémagglutination a été effectuée pour la mise en évidence la présence des lectines dans les extraits de douze plantes médicinales [*Inula Viscosa leaves* ( racine ), *linum usitatissimum* (graine) ,*Spergularia\_Rubra\_Ljet Pest* (fleur), *Salavia officnalis* (plan) *Hhyacinthus* (plante ) et *Saxifragaceae* (plante), *Germandée* ( plante), *Zingiber-officinale* (plante) et *Inula Viscosa leaves* (plante) ,*Malva-parviflora* (plante) *Niggellasativa* (grain) et *Trignella-foenum-graecuml* (graine)] , ensuit nous avons choisi trois plantes ***Spergularia-rubra-L Jet pest* (fleur) , *Inula Viscosa leaves*(racine) et *linum usitatissimum* (graine)** pour réaliser notre étude.

**Tableau 8** : l'extrait brut des douze plantes médicinale

Le nom scientifique
<i>Salavia officnalis</i> (plant)
<i>Zingiber-officinale</i> (plante)
<i>Saxifragaceae</i> (plante)
<i>Inula_viscosa_leaves</i> (racine)
<i>Trignella-foenum-graecuml</i> (graine)
<i>Malva-parviflora</i> (plante)
<i>Niggellasativa</i> (graine)
<i>Germandrée tomenteuse</i> (plante)
<i>linum usitatissimum</i> (graine)
<i>Inula viscosa leaves</i> (plante)
<i>Lavande vraie</i> (plante)
<i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> (fleur)

Ce test est basé sur l'observation de l'agglutination, et donc de la précipitation des érythrocytes en présence de lectine. Il a été porté sur les hématies du lapin.

### **2.3.1. La Préparation des hématies à 3%**

Le sang humain est collecté à partir de deux bénévoles (notre sang), le sang du lapin est collecté à partir des lapins provenant au niveau de l'animalerie de l'université de Constantine 1. 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.

#### **➤ Lavage des hématies**

Le tube contenant une quantité de sang (1.5 ml) a été centrifugé à 3000tr /min pendant 30 min le surnageant résultant est versé et une solution de Na Cl 0.9% est ajoutée au culot ; après avoir bien mélangé le tube est soumis à nouveau à une centrifugation. L'opération est répétée 3 fois jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair.

#### **➤ La dilution des hématies**

Après avoir terminé le lavage le culot contenant les globules rouges est dilué par une solution saline d'eau physiologique sachant que 1.5 ml des hématies dans 48.5 ml de Na Cl 0.9% afin d'obtenir des hématies à 3%.

#### **➤ La technique d'hémagglutination**

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

### **2.4. Le teste de limite d'hémagglutination**

Ce test permet de déterminer le pouvoir agglutinant et en déduire le titre en lectine. Dans une première étape, 50 µl de tampon ont été déposés dans chaque puits, ensuite un volume de 50 µl d'extrait a été ajouté au premier puits uniquement, puis une gamme de concentration par double dilution a été réalisée dans les puits suivants.

Ensuite un volume de 50 µl des hématies a été ajouté aux extraits d'élués dans chaque puits.

La lecture d'activité hémagglutinante a été réalisée après 1 h d'incubation à une température ambiante (25° C).

### **2.5. L'effet température sur l'hémagglutination**

Quatre tubes à essai, contenant chacun une aliquote de l'extrait brut ont été incubé à des températures différentes (30, 50, 70, 90 °C) dans un bain marie pendant 30 min. Après le temps requis, l'extrait brut chauffé a été refroidi à la température ambiante, enfin le test d'hémagglutination a été fait.

### **2.6. Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides**

La spécificité des lectines aux glucides a été étudié par la capacité d'une série des saccharides à inhiber l'agglutination des hématies du lapin.


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 (0,1g/1ml de Na Cl 0,9%) (**Annexe 2,3**)(lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose). Le mélange a été incubé pendant 1 h à température ambiante, cela permettre au lectines de reconnaître 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.


### **2.7. Le 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 au 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 02**) 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, 50µl 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.

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

Ce teste a été effectuées sur les antigènes des hématies humaines appartenant au système du groupe sanguin ABO en utilisant les érythrocytes des différents groupes sanguin.

Lorsque la lectine agglutine avec les déférents groupes sanguins  lectine non spécifique

Lorsque la lectine agglutine avec un seul groupe sanguin  lectine spécifique  
(réactif pour le groupage)

Dans un puits d'une microplaque, 50 µl des hématies de chaque groupe a été ajouté à 50 µl d'extrait de plante. Après 1heure d'incubation, la lecture a été faite à l'oeil nu.

## 2.9. L'effet des métaux (oligoélément) sur l'activité d'agglutination

Premièrement, l'EDTA est ajouté à l'extrait *des trios plantes*. 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>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MnCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>2</sub>) (Annexe 03), enfin 50 µl de sang de lapin sont ajoutés au mélange, la lecture a été faite à l'oeil nu après 1h d'incubation.

## 2.10. 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.

## 2.11. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 200

### ➤ La préparation de la colonne de Séphadex G200.

4 g de Séphadex G200 a été mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH : 7,4). Le mélange a ensuite été incubé pendant 48 h à température ambiante. Enfin il a été

coulé dans une colonne. Un échantillon de surnagent d'extrait brut a été récupéré puis versé au niveau de la colonne Séphadex G200 et équilibrée avec un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), avec lequel elle a été recueillie par élution dans des tubes secs (5ml/tube). L'extrait récupéré a été testé sur les hématies du lapin pour s'assurer de la présence de l'activité hémagglutinante de notre extrait.

Les extraits issus de la chromatographie sur colonne sont placés dans le spectrophotomètre à UV afin de mesurer l'absorbance à longueur d'onde 280 nm, qui a été utilisée pour estimer la teneur en protéines dans les éluât de la colonne et tracer la courbe d'absorbance en fonction des tubes.

## 2.12. L'activité antioxydant des lectines in vitro

Toutes les fractions récupérées par la chromatographie sur colonne de séphadex G200 sont lyophilisé ensuite conservé pour mesuré l'activité antioxydant des lectines in vitro.

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

Le dosage du superoxyde dismutase (SOD) est réalisé selon la méthode (**d'Asada *et al* (1974) (Annexe 04)**).

### ➤ Dosage de l'activité de fer ferrique

Le dosage de l'activité de fer ferrique est réalisé selon la méthode de (**Yıldırım *et al* 2000) (Annexe 04)**).

## 2.13. Dosage des proteïns

Le dosage des proteïns est réalisé selon la method de (**lowry, 1951) (Annexe04)**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Le test d'hémagglutination

Les résultats de teste d'hémagglutination des lectines avec les extraits brute des plantes médicinales ont été présentés dans le (tableau 09)

**Tableau 09** : L'agglutination des hématies du lapin par l'extrait brut des douze plantes médicinales

Nom commun des plantes	Le nom scientifique	Résulta d'agglutination
A/ Saugé	<i>Salavia officnalis</i> (plant)	++
B/ Gingembre	<i>Zingiber-officinale</i> (plante)	+
c/ Saxifrage	<i>Saxifragaceae</i> (plante)	++
D/ magramane	<i>Inula_viscosa_leaves</i> (racine)	+++
E / Fenugrec	<i>Trignella-foenum-graecuml</i> (graine)	-
F / Mauves	<i>Malva-parviflora</i> (plante)	-
G / Nigelle cultivée	<i>Niggellasativa</i> (graine)	-
H/ Teucrium polium	<i>Germandrée tomenteuse</i> (plante)	+

I / Lin cultivée	<i>linum usitatissimum</i> (graine)	+++
J/ magramane	<i>Inula viscosa leaves</i> (plante)	+
k /Lavandula_angustifolia	<i>Lavande vraie</i> (plante)	++
L / Sabline rouge	<i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i> (fleur)	++

- : Agglutination absente

+ : faible agglutination

++ : Forte agglutination

+++ : très forte agglutination



**Photo 03** : l'agglutination des hématies du lapin par l'extrait *des plantes* (A B C D E F G H

I J K L)

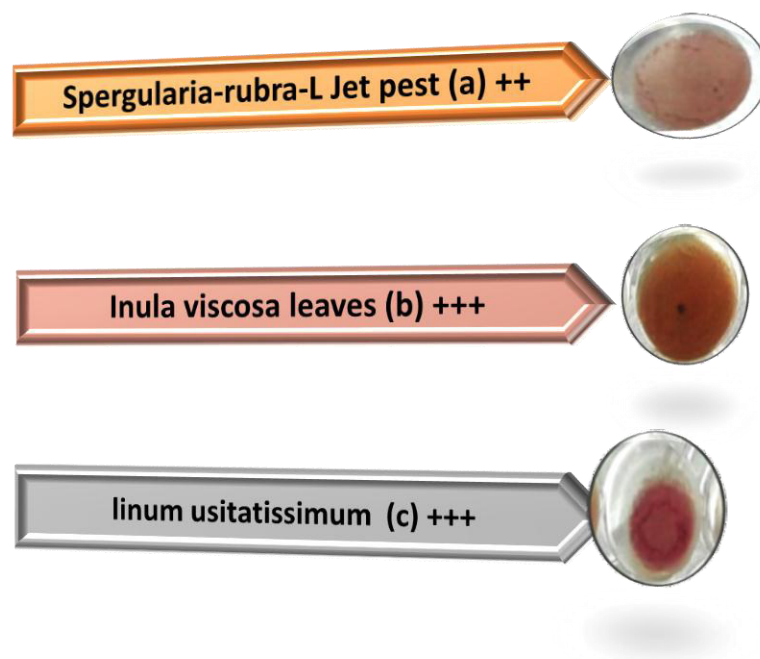
Nous avons testé l'activité d'héماغglutinante des extraits de douze plantes médicinales :

L'extrait de *Inula Viscosa leaves* [ racine D], *linum usitatissimum* [graine I] montre une très forte agglutination (+++) vis-à-vis les hématies du lapin 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) , par contre l'extrait de *Spergularia\_Rubra\_Ljet Pest*[fleur L],*Salavia*



*officinalis* (plant A) *Hhyacinthus* (plante K) et *Saxifragaceae* (plante C) montre une forte agglutination(++) ,une faible agglutination (+) pour l'extrait brut des *Germandée* ( plante H), *Zingiber-officinale* (plante B) et *Inula Viscosa leaves*(plante J) Ces résultat positif indiquent qu'elles contiennent effectivement des substances à activité agglutinante sur les hématies (Lectine). Par contre d'autres espèces n'ont pas cette activité (-) tel que *Malva-parviflora* (plante F) *Niggellasativa* (grain G) et *Trignella-foenum-graecuml* (graine E).

- Les trois plantes que nous avons choisi pour notre étude c'est : *Spergularia-rubra-L Jet pest* (fleur) , *Inula Viscosa leaves*(racine) et *linum usitatissimum* (graine)



## 2. La limite d'hémagglutination

Les résultats de l'activité de La limite d'hémagglutination est exprimée en fonction du rapport de dilution pour lequel on observe une hémagglutination. Ont été présentés dans le (**tableau09**)

**Tableau 10** : L'Activité de la limite d'hémagglutination des *Spergularia-rubra-L Jet pest (a)*, *Inula Viscosa leaves (b)* et *linum usitatissimum (c)*

Dilution Extrait	1/ 2	1/ 4	1/ 8	1/ 16	1/ 32	1/ 64	1/ 128	1/ 256	1/ 512	1/ 1024	1/ 2048	1/ 4096
<i>Spergularia_Rubra_Ljet Pest (a)</i>	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Inula Viscosa leaves (b)</i>	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	-	-	-
<i>Linum usitatissimum (c)</i>	++	++	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

- : Agglutination absente /+ : faible agglutination.

++ Forte agglutination /+++ : très forte agglutination



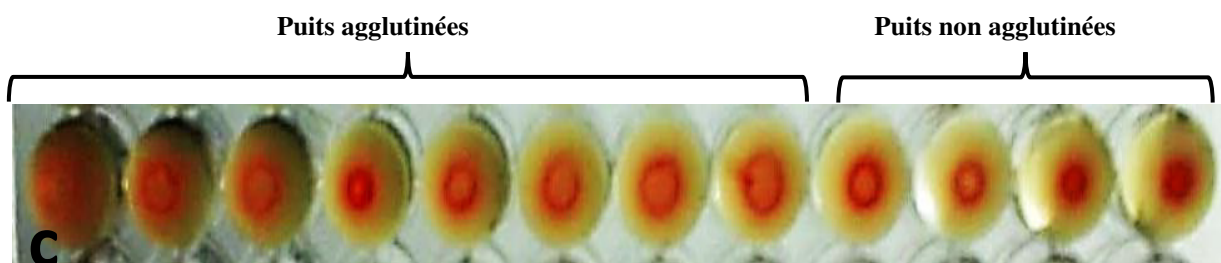
**Photo 04** : test de la limite d'hémagglutination de *Spergularia-rubra-L Jet pest (a)*

L'activité hémagglutinante des extraits de *Spergularia-rubra Ljet pest (a)* a été de **1:8(256 UH.ml-1)**, ( **tableau 10**) montre une très forte agglutination lors de sa dilution au niveau des 1<sup>er</sup> jusqu'à 4<sup>eme</sup> puits alors qu'elle diminue au niveau des 4 puits qui suivent (5<sup>eme</sup> jusqu'à 8<sup>eme</sup>) puits et disparaît complètement au niveau des puits suivants (**9 jusqu'à 12**) (Terfezia bouderei a montré une forte agglutination allant jusqu'au 7<sup>ème</sup> puits, **Zitouni et al ,2015**).



**Photo 05 :** test de la limite d'hémagglutination des *Inula Viscosa leaves* (b)

L'activité hémagglutinante des extraits des *Inula Viscosa leaves* (b) a montré une très forte agglutination lors de sa dilution au niveau des 1<sup>er</sup> puits alors qu'elle diminue au niveau des puits suivants jusqu'à 9<sup>eme</sup> puits (512 UH.ml-1), (tableau 10) et disparaît complètement au niveau des puits suivants (10 jusqu'à 12) par contre dans une autre étude réalisée sur la lectine EHL isolé à partir d'*Euphorbia helioscopia*, l'activité hémagglutinante a été stabilisée dans une concentration minimale de 15µg/ml (Shaista et al., 2014).



**Photo 06 :** test de la limite d'hémagglutination des *linum usitatissimum* (c)

Nos résultats ont montré que l'activité agglutinante des extraits de *linum usitatissimum* (c) est semblable aux extraits des *Spergularia-rubra-Lljet pest* (a) a été de 1<sup>er</sup> jusqu'à 8<sup>eme</sup> puits (256 UH.ml-1), (Terfezia bouderei, Zitouni et al, 2015), par contre l'activité agglutinante de *Inula Viscosa leaves* (c) a été 9<sup>eme</sup> puits (512 UH.ml-1)(tableau 10), Alors que l'absence d'agglutination au niveau des autres puits est due à la dilution effectuée donc les fractions contenues sont des diluâtes de l'extrait brute.

### 3. L'effet de température sur l'héماغglutination

Les résultats obtenus après l'exposition de nos extraits à différentes températures 30° 50° 70° 90°C ont été présentés dans le (tableau 11).

**Tableau 11 :** L'effet de la température sur l'activité héماغglutinante des extraits des *Spergularia-rubra-L Jet pest (a)*, *Inula viscosa leaves(b)* et *linum usitatissimum (c)*

Température Extrait	30°	50°	70°	90°
<i>Spergularia Rubra</i> – <i>L Jet Pest (a)</i>	++	+	+	+
<i>Inula Viscosa leaves</i> (b)	+++	+++	++	+
<i>linum usitatissimum</i> (c)	+	+	+	-

- : Agglutination absente

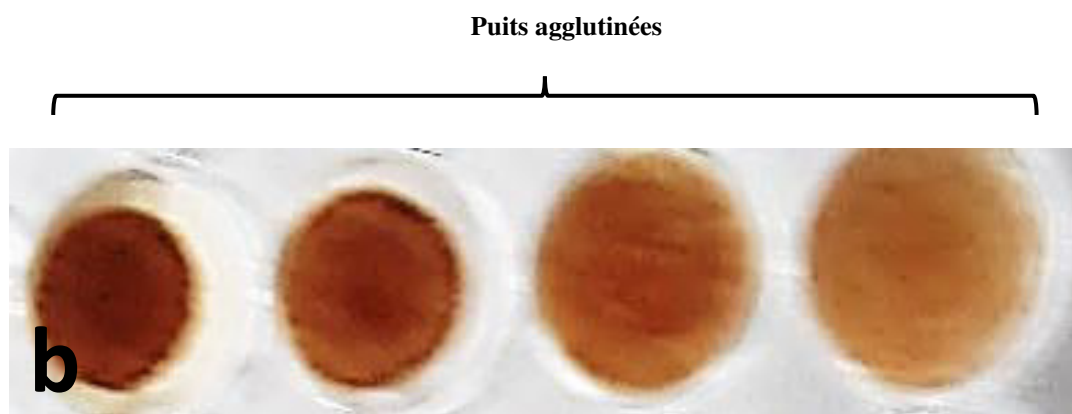
+ : faible agglutination.

++ : Forte agglutination.

+++ : Très forte agglutination

Puits agglutinés





**Photo 07** : L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait des *Spergularia-rubra-L Jet pest (a)* et *Inula viscosa leaves(b)*

Le traitement thermique des extraits bruts des *Spergularia-rubra L Jet pest (a)* et *Inula viscosa leaves(b)* à différentes températures de 30°, 50°, 70°, 90° C pendant 30 min, n'est pas suffisant pour inactiver totalement l'activité d'hémagglutinante. Donc cette Lectine présente une forte résistance à haute température, (**thermorésistante**), Le même résultat est prouvé également pour *Pterocladia capillacea* qui pousse jusqu'à 100°C (Necib *et al.*, 2015).

Les racines de *Inula viscosa leaves (c)* garde son activité d'agglutination jusqu'à 50°C, mais à 70° l'activité est réduite passe de (+++) à (++) (tableau 11)

À 90° leur activité d'hémagglutinante devient significativement réduite (+), par contre pour le traitement thermique de *Spergularia-rubra-L Jet pest (a)* à 50°C a été suffisant pour réduire significativement l'activité d'hémagglutinante, elle passe de (++) à (+) et garde cette activité jusqu'à 90°C (tableau 11).



**Photo 08 :** L'effet de la température sur l'activité hémagglutinante de l'extrait de *linum usitatissimum* (c)

Le traitement thermique d'extrait de *linum usitatissimum* (c) à 30°C a réduit significativement leur activité hémagglutinante (+) jusqu'à 70°C et lorsque le chauffage a été atteint 90°C l'activité hémagglutinante de *linum usitatissimum* (c) est devenue nulle et a été suffisante pour inactiver totalement l'activité hémagglutinante elle passe de (+) à (-) (**tableau 11**). Cette résultat indique que nos hémagglutinines sont faiblement résistantes à la température (**pas thermorésistante**). Cette résultat presque semblable à la Lectine de *Phaseolus vulgaris* qui reste native à 60°, avec une perte totale d'activité à 80 °C (**Andrew et al., 2014**).

#### 4. Le test d'inhibition d'hémagglutination par des saccharides

Le test d'inhibition a été effectué avec certains saccharides (lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose) pour déterminer la spécificité des extraits aux glucides. L'agglutination est absente dans le cas où la Lectine va fixer l'inhibiteur plutôt que les hématies, les résultats obtenus ont été décrits dans le (**tableau 12**).

**Tableau 12** : Le test d'inhibition des extraits bruts des *Spergularia-rubra-L Jet pest (a)*, *Inula viscosa leaves(b)* et *linum usitatissimum (c)* avec le (lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose)

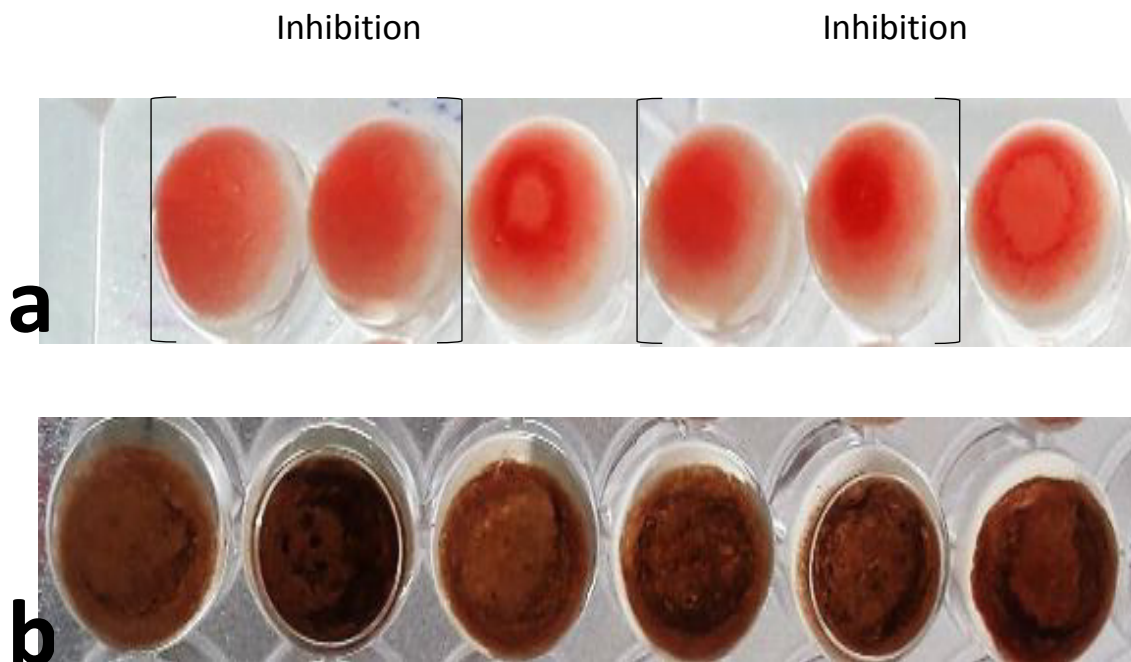
Monosaccharide Extrait	Lactose	Fructose	Galactose	arabinose	maltose	glucose
<i>Spergularia_Rubra_L Jet Pest (a)</i>	-	-	+	-	-	++
<i>Inula -Viscosa leaves (b)</i>	++	+++	++	+++	+++	+++
<i>linum usitatissimum (c)</i>	-	++	-	-	++	++

+++ : Très forte agglutination.

++ : Forte agglutination.

+ : faible agglutination

- : inhibition







**Photo 09 :** Le test d'inhibition d'hémagglutination de l'extrait brute de *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula viscosa leaves*, *linum usitatissimum* avec les saccharide avec le (lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose)

L'extrait de *Spergularia-rubra L Jet pest* (a) a été spécifiquement inhibé par tous les saccharides testés sauf le glucose et galactose (**tableau 12**) donc cette Lectine est fortement associé à lactose, fructose, arabinose, maltose que les hématies si pour ça L'agglutination ne se fait pas contre il Ya une faible affinité avec le glucose et galactose sont contraire par rapport au Lectin de corail *Sinularia lochmodes qui* reconnaît spécifiquement les sucres D-galactose (**Jimbo et al, 2000**). Cette inhibition due à l'occupation des sites de reconnaissances par un ou plus de saccharides.

L'extrait de *Inula viscosa leaves* (b) ne montre aucun inhibition avec tous les saccharides testés (**tableau 12**), dans ce cas la Lectine va fixer l'hématie plutôt que les l'inhibiteur, donc le résultat est très fort agglutination (+++) C'est le cas des lectines purifiées à partir des graines de *Phaseolus acutifolius* (**Valadez et al. 2011**) et à partir de bactérie *Canavaliaensiformis* (**Kulkarni et Tayade, 2013**).

L'extrait de *linum usitatissimum* (c) a été spécifiquement inhibé par trois saccharides : lactose galactose arabinose sauf le fructose , le glucose et maltose(**tableau 12**).



5. Le test de limite d'inhibition d'agglutination par les saccharides

Tableau 13 : Les concentrations minimales en lactose, fructose, arabinose, maltose, provoquant l'inhibition d'agglutination d'extrait de *Spergularia-rubra -L Jet pest (a)*

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Extrait												
Fructose	-	-	-	-	+	++	++	+++	+++	++++	+++	+++
Lactose	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Arabinose	-	+	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+++
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	+++	+++

+++ : Très forte agglutination.  
 ++ : Forte agglutination.  
 + : faible agglutination  
 - : inhibition

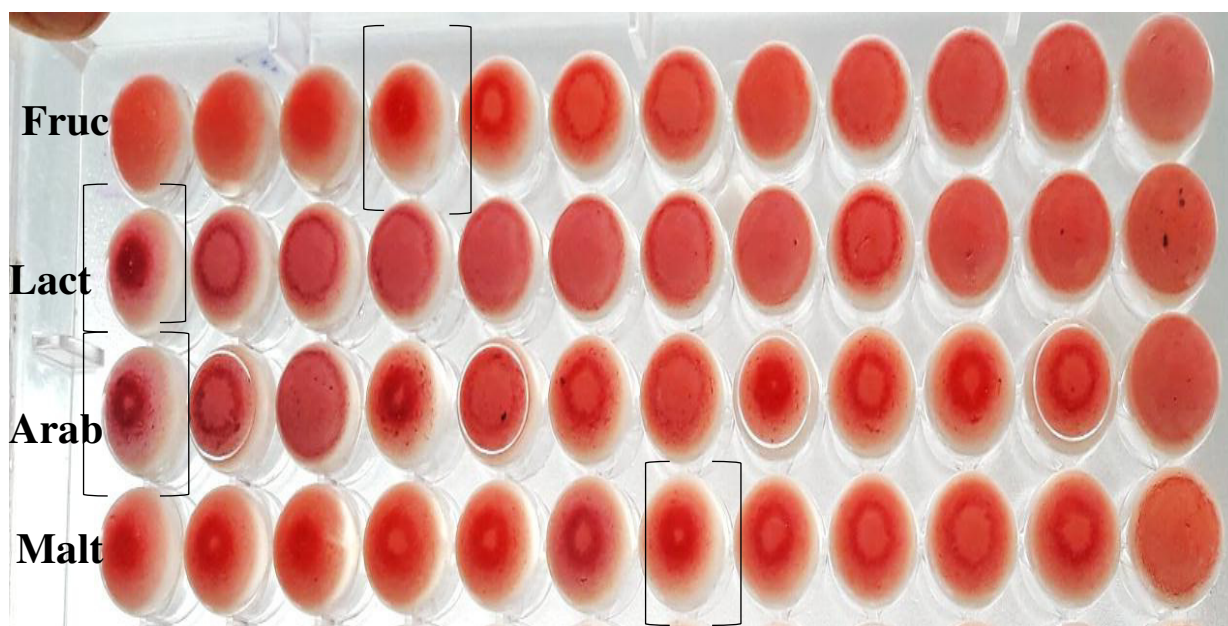


Photo 10 : Les concentrations minimales en fructose , lactose , arabinose , maltose , provoquant l'inhibition d' L'extrait du *Spergularia-rubra L Jet pest (a)*

L'extrait du *Spergularia-rubra Ljet pest (a)* a démontré une inhibition avec certains saccharides (fructose, lactose, arabinose, maltose) (**tableau 13**) ce qui prouve la différenciation de ses récepteurs. La concentration minimale a été calculée avec le fructose et a été démontrée qu'elle est de l'ordre de **0,00625g/ml** au niveau du **4<sup>ème</sup> puits**, en utilisant une concentration initiale de 0,1g/ml, alors que le lactose et l'arabinose prouve une concentration minimale de **0,05g/ml** dans le **1<sup>er</sup> puits**, et pour le maltose la concentration minimale qui provoque l'inhibition d'agglutination est **0,000781g/ml** dans 7<sup>ème</sup> puits donc elle est très fort inhibiteur que lactose et l'arabinose.

**Tableau 14** : Les concentrations minimales en arabinose, galactose, lactose, provoquant l'inhibition d'agglutination d'extrait de *linum usitatissimum (c)*

Délution Extrait	1/ 2	1/ 4	1/ 8	1/ 16	1/ 32	1/ 64	1/ 128	1/ 256	1/ 512	1/ 1024	1/ 2048	1/ 4096
Arabinose	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Galactose	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Lactose	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

+++ : Très forte agglutination.

++ : Forte agglutination.

+ : faible agglutination

- : inhibition



[ ] : inhibition

**Photos 11** : Les concentrations minimales en lactose, galactose, arabinose, provoquant l'inhibition d'agglutination d'extrait de *linum usitatissimum* (c)

L'extrait de *linum usitatissimum* (c) inhibé par trois sucre arabinose, galactose et lactose (tableau 14)

Pour l'arabinose une faible dilution dans le 1<sup>er</sup> puits limite leur inhibition donc la concentration minimale qui provoque l'inhibition d'agglutination **supérieure à 0,05mg /l**.

Alors que le galactose, lactose prouve une concentration minimale de 0,05g/ml dans le 1er puits, donc les trois saccharides sont **des faibles inhibiteurs** pour l'extrait de *Linum usitatissimum* par une **concentration minimale  $\geq 0,05$** .

## 6. L'effet d'agglutination sur les hématies humaines ABO

Les résultats d'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut des plantes ont été décrit dans le (tableau 15) .

**Tableau 15:** L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut des *Spergularia-rubra-L jet pest (a)*, *Inula viscosa leaves(b)*, *linum usitatissimum (c)*

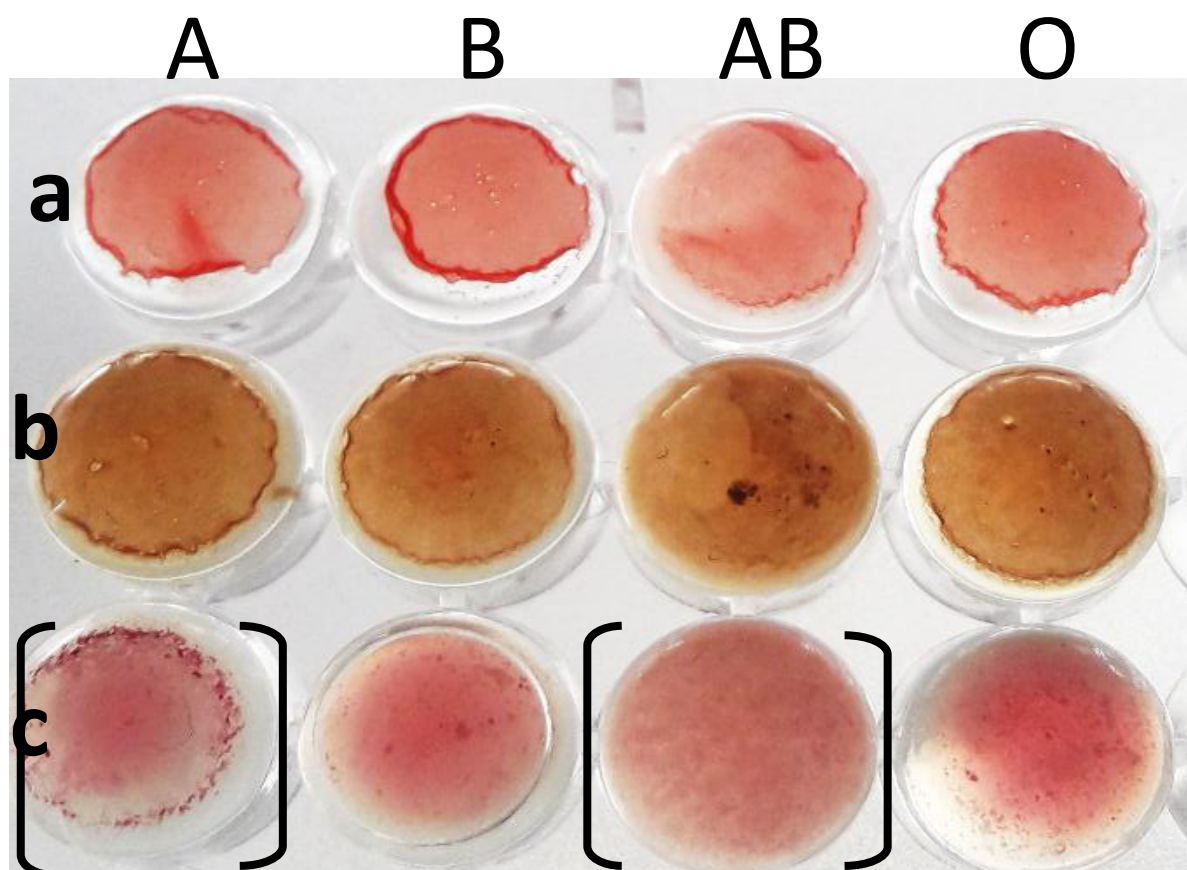
Groupe sanguin Extrait	A	B	AB	O
<i>Spergularia Rubra_</i> <i>L Jet Pest (a)</i>	+++	+++	+++	+++
<i>Inula Viscosa leaves</i> <i>(b)</i>	+++	+++	++	+++
<i>linum usitatissimum</i> <i>(c)</i>	+++	-	+	-

- : Agglutination absente

+ : faible agglutination.

++ : Forte agglutination.

+++ : très forte agglutination



**Photos 12** :L'agglutination des hématies humaines (A, B, O, AB) par l'extrait brut *Spergularia-rubra-L Jet pest* (a)*Inula viscosa leaves*(b) et *linum usitatissimum* (c)

Les résultats indiquent que la lectine des *Spergularia-rubra-L Jet pest* (a) et de *Inula viscosa leaves* (b) ont donné une très forte agglutination avec tous les hématies de système ABO (**tableau 15**), cette poly agglutinabilité est due au fait que la lectine reconnaît le même sucre sur la membrane globulaire des différents groupes sanguins, 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).

Nous pouvons alors classer dans la catégorie des lectines agglutinantes les érythrocytes de tous les groupes sanguins humains, donc cette lectine **non spécifique**



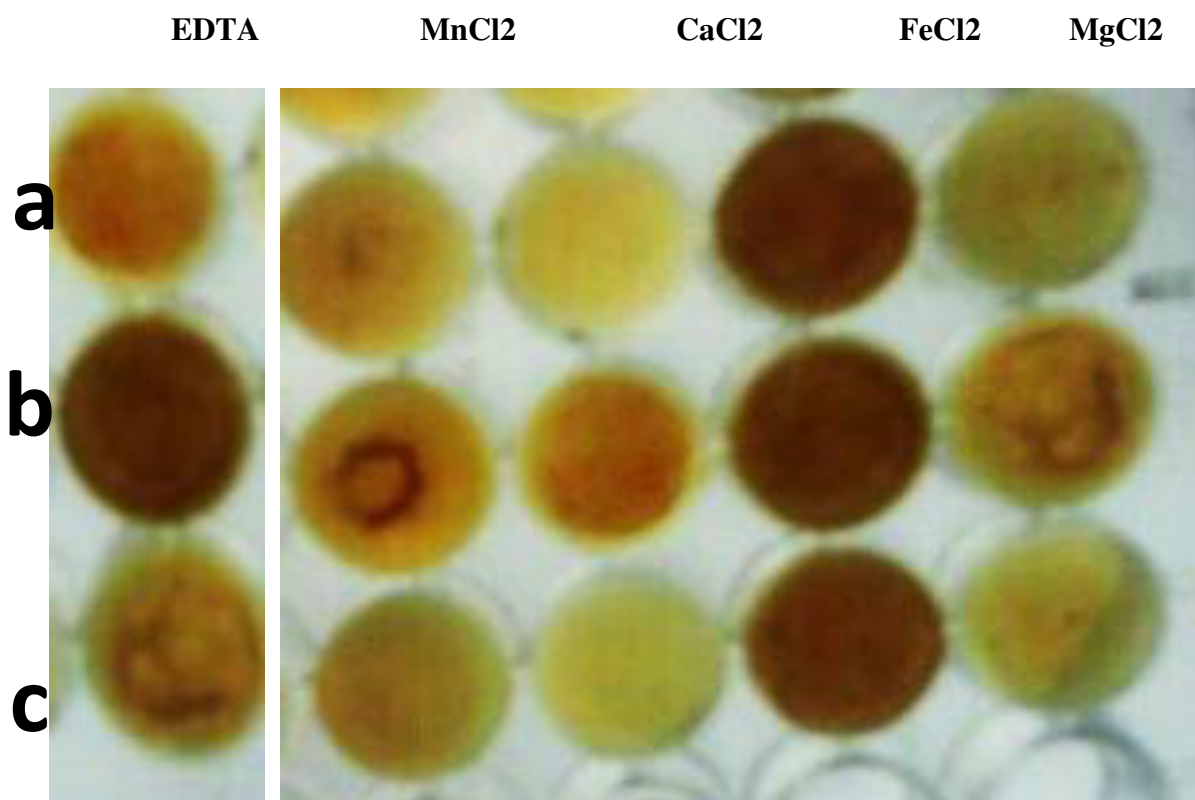
Lectine de *linum usitatissimum* (c) agglutine fortement l'hématie de groupe A et donné une faible agglutination avec l'hématie de groupe AB seulement (**tableau 15**) donc Nous pouvons alors classer dans la catégorie des lectine agglutinent les érythrocytes de type A, donc cette lectine **est spécifique** (réactif pour le groupage) Ces résultats sont comparables à ceux d'Escargot *Helix pomatia* (HPA) (**Camus, 1899**) qui lui aussi avait prouvé le même type de résultats .Alors qu'il ne présente aucune hémagglutination avec les autres groupes sanguins (B et O) ce qui n'est pas le cas de *Pterocladia capillacea* (*algue rouge*) qui lui a une activité avec le groupe B (**NecibY et al, 2014**).

### 7. l'effet des métaux (oligoélément) sur l'activité d'agglutination

**Tableau 16** : l'effet des métaux MnCl<sub>2</sub> (1), CaCl<sub>2</sub> (2), FeCl<sub>2</sub> (3), MgCl<sub>2</sub> (4), sur l'activité agglutinante des extraits des *Spergularia-rubra L jet pest* (a) *Inula viscosa leaves*(b) et *linum usitatissimum* (c)

Oligoéléments Extrait	EDTA	Mn Cl <sub>2</sub>	Ca Cl <sub>2</sub>	Fe Cl <sub>2</sub>	Mg Cl <sub>2</sub>
<i>Spergularia_Rubra_L_</i> <i>L Jet Pest(a)</i>	+	+	-	+++	-
<i>Inula Viscosa leaves</i> (b)	+++	++	++	+++	++
<i>linum usitatissimum</i> (c)	+	+	-	++	-

- : Agglutination absente/+ : faible agglutination./++ : Forte agglutination./+++ : très forte agglutination



**Photo 13:** L'effet du métaux sur l'activité agglutinante des extrait de *Spargularia-rubra-L Jet pest*, *Inula viscosa leaves*, *linum usitatissimum*

La lectine de des *Spargularia-rubra L Jet pest* (a) et *linum usitatissimum* (c) présente une inhibition vis à vis du calcium (Ca<sup>2+</sup>) et (Mg<sup>2+</sup>) (tableau 16) donc cette Lectine est fortement associée à (Ca<sup>2+</sup>) et (Mg<sup>2+</sup>) que l'hématies, contrairement aux autres métaux (Mn<sup>2+</sup> et l'agent Chélatant EDTA et Fe<sup>2+</sup>) qui eux ont présenté une agglutination lors du contact avec l'extrait. Ce résultat montre que notre lectine est **une métalloprotéine**, contrairement à red alga *Pterocladia Capillacea* qui ne présente aucune activité avec les métaux ce qui fait d'elle une lectine non métalloprotéine (Necib elal, 2014). contrairement à *Inula viscosa leaves* (racine) L'hémagglutination n'a pas été influencée par l'addition de Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> ou de l'agent Chélatant EDTA, ce qui suggère que les cations divalents ne sont pas essentiels à l'activité Hémagglutination de cette extrait, Donc ne présente aucune activité avec les métaux ce qui fait d'elle une **lectine non métalloprotéine** ressemble a red alga *Pterocladia Capillacea* (Necib elal, 2014). Ces résultats sont cohérents avec les études menées sur *Geotrupes Stercorarius* (Devi et al, 2014) et *Clarias gariepinus* (Odekanyin et Kuku, 2014).

## 8. L'effet du pH sur l'agglutination

Tableau 17: L'effet du pH sur l'activité d'hémagglutinante de l'extrait des *Spergularia-rubra-L Jet pest (a) Inula viscosa leaves(b) , linum usitatissimum (c)*

PH	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Extrait</b>												
<i>Spergularia Rubra Jet Pest (a)</i>	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	+++
<i>Inula Viscosa-leaves (b)</i>	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Linum usitatissimum (c)</i>	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

- : Agglutination absente

+ Faible agglutination.

++ : Forte agglutination.

+++ : très forte agglutination



Photo 14 : L'effet du pH sur l'activité hémagglutinante de l'extrait des *Spergularia-rubra L Jet pest (a) Inula viscosa leaves(b)et linum usitatissimum (c)*



L'activité d'agglutination des lectines de *Spergularia-rubra L Jet pest(a)* est fort et stables dans un intervalle allant de [3 à 8] et PH 12, alors qu'elle est faible de [1 à 2] par contre de [9 à 11] l'agglutination est nulle (tableau 17)

L'extrait de *Inula viscosa leaves (b)*, *linum usitatissimum (c)* contient une fort résistance à toute du long de gamme du pH testée de 1 jusqu'à 12. L'activité d'hémagglutination des lectines reste fort et stable dans un intervalle (3 à 12). et faible de (1 à 2) Ces résultats ont été comparés çà ceux de *Cyperus rotundus* et de *Pteroclatiella capillacea* qui ont montré que la lectines sont stable au pH [2-12] (tableau 17) (Necib *et al*, 2015).

### 9. L'extraction des lectines par chromatographie sur colonne de séphadex G 200

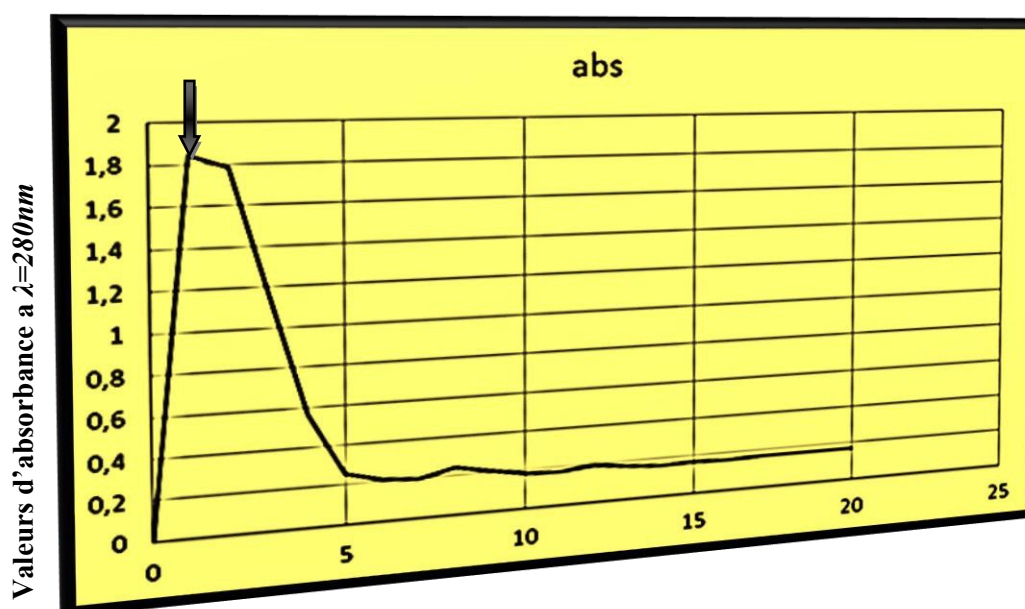


Figure 21 : : la courbe d'Absorbance de l'extrait des *Spergularia-rubra L Jet pest (a)* après leur passage à travers la colonne de séphadex G200. Les valeurs d'Absorbance à 280 nm se trouve dans les tubes de 1 à 20

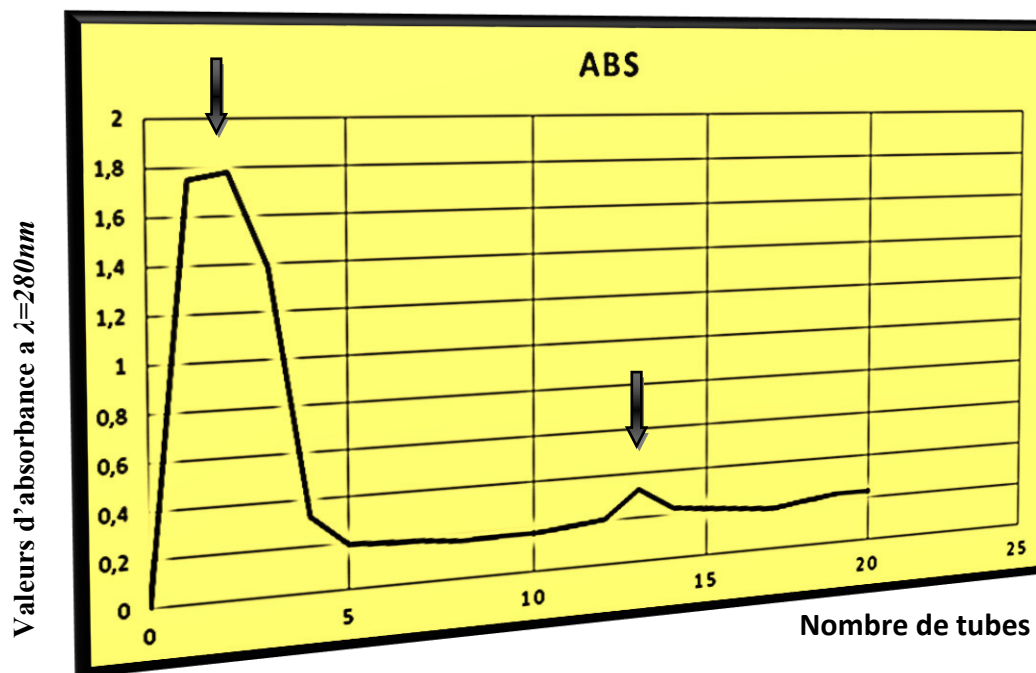


Figure 22 : la courbe d'absorbance de l'extrait de *Inula viscosa leaves* (b) après leur passage à travers la colonne de séphadex G200. Les valeurs d'absorbance à 280 nm se trouvent dans les tubes de 1 à 20

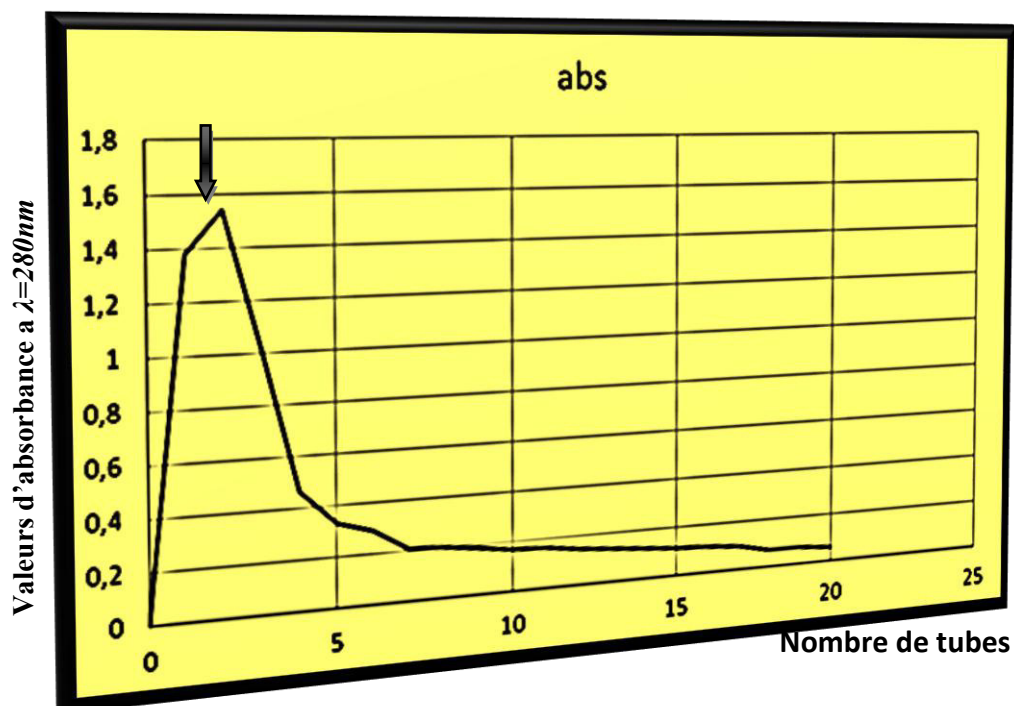


Figure 23 : la courbe d'Absorbance de l'extrait de *linum usitatissimum* (c) après leur passage à travers la colonne de séphadex G200. Les valeurs d'Absorbance à 280 nm se trouvent dans les tubes de 1 à 20

Le volume de rétention : 5 ml. L'éluant : PBS à 0.1 M, pH 7,4. La longueur d'onde  $\lambda=280\text{nm}$

La filtration par chromatographie sur colonne de séphadex G200 et la lecture à 280nm ont montrés un bon fractionnement des extraits (pics séparées)

L'extrait de *Spergularia-rubra-Lljet pest (a) et de linum usitatissimum (b)* ont donné un seul pic chacun ,1<sup>er</sup> tub (1,843 nm) (figure 21) ,2eme (1,537 nm) (figure 23) respectivement ce résultat est en accord avec celle des lectines de *Cyperus Rotundus et Pistacia Lentiscus* en marquer un seul pic (Necib *et al.* 2015). Par contre l'extrait de *Inula viscosa leaves(b)* elle a donnée deux pic dans le 2<sup>ème</sup> (1,781 nm) et 13<sup>ème</sup> (0,326 nm) (figure22). .des résultats similaires ont été obtenus avec les lectines de *Clarias gariepinus fractionées* sur le gèle séphadex G 150 avec un volume de rétention de 4 ml (Odekanyin et Kuku, 2014), Afin de confirmer la présence de Lectine au niveau du ces tubes du 3<sup>ème</sup> extrait, un test d'hémagglutinine a été effectué avec les hématies de lapin selon le protocole décrit dans le chapitre précédent. Les résultats obtenus par la suite ont réellement confirmé la présence des lectines avec une Hémagglutination.

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

Les résultats des pourcentages des scavenger des radicaux libres (%) SOD %, Fer ferrique ont été décrit dans le (tableau 18) .

**Tableau 18** : résultats des tests de l'activité anti oxydante

Plants	Le pourcentage de scavenger des radicaux libres (%)	
	SOD %	Fer ferrique%
<i>Spergularia-rubra-L Jet pest</i>		
(A)	36.5 ± 0.13	17.5 ± 0.2
<i>Inula viscosa leaves</i>		
(A)	38.7 ± 0.14	19.7 ± 0.1
(B)	26.8 ± 0.12	10.3 ± 0.1

<i>linum usitatissimum</i>		
(A)	38.4 ± 0.2	23.4 ± 0.15
Standard (ascorbique)	76.17 ± 0.17	71.47 ± 0.13

### 1. Le test du superoxyde dismutase (SOD)

on remarquent que l'activité anti oxydant de , *Inula viscosa leaves* , *linum usitatissimum* et *Spergularia-rubra L Jet pest* presque proche avec un pourcentage d'inhibition (**fraction (A) 38.7% , 38.4% et 36.5%**)(**tableau 18**) respectivement et ils sont moyen par apport au standard (**acide ascorbique** )(71.47%) contrairement au travaux de (Necib et al . ,2016) qui montre que les lectines extrait a partir de 4 plantes Morus nigra, Ruta graveolens, Cyperus rotundus et Pistacia lentiscus présentent un activité antioxydante maximal de 211.11%/g/ml, 158.75 µg/ml, 357.14µg/ml and 335.7µg/ml respectivement par apport au standard (**acide ascorbique** ).

### 2. Test du fer ferrique (FTC)

la plante qui possède la grande transformation des ions Fe 3+ en ions ferreux Fe 2+ c'est *linum usitatissimum* avec un pourcentage d'inhibition (**23.4 %**) élève par apport au *Inula viscosa leaves* et *Spergularia-rubra L Jet pest* qui montre un pourcentage d'inhibition ((**fraction (A) 19.7%,fraction (B) 10.3%**) , (**17.5%**)) (**tableau 18**) respectivement et faible par rapport au standard (**acide ascorbique** )(71.47%) contrairement au travaux de (Necib et al . ,2016) qui montre une activité anti oxydant plus fort par des lectines extrait de Morus nigra, Ruta graveolens, Cyperus rotundus et Pistacia lentiscus qui ont la capacité de réducteur Fe+3 en Fe+2 avec une activité anti oxydante de 281.25µg/ml, 116.2µg/ml, 334.52µg/ml et 300 µg/ml respectivement.

## 11. résultats de dosage des protéines

**Tableau 19** : résultats du test de dosage des protéines des plantes *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves* et *linum usitatissimum*

	Plante	Concentration des protéines (mg/ml)
<b>Brute</b>	<b>Spergularia-rubra-L Jet pest</b>	<b>1.42 ± 0.02</b>
	<b>Inula Viscosa leaves</b>	<b>1.88 ± 0.1</b>
	<b>linum usitatissimum</b>	<b>1.32 ± 0.02</b>
<b>Lectine purifié</b>	<b>Spergularia-rubra-L Jet pest</b>	<b>0.35 ± 0.01</b>
	<b>Inula Viscosa leaves</b>	(A) <b>0.72 ± 0.02</b> (B) <b>0.137 ± 0.01</b>
	<b>linum usitatissimum</b>	<b>0.37 ± 0.01</b>

Le **Tableau19** montre la Concentration des protéines brut extraire à partir de *Spergularia-rubra-L Jet pest* , racine de *Inula viscosa leaves* et les graines de *linum usitatissimum* et d'autre part la concentration des lectines purifiée.

La plante qui donne la concentration des protéines la plus élevée c'est **Inula viscosa leaves** de **1.88** (mg/ml) pour les protéines brut et **0.72** (mg/ml) pour la fraction (A) de lectines purifié et **0.137** (mg /ml) pour le fraction (B) puis **Spergularia-rubra-L Jet pest 1.42** (mg/ml) pour les protéines brut et une concentration des lectines de **0.35** (mg/ml) finalement **linum usitatissimum** présente la concentration la plus bas des protéine brut de **1.32** (mg/ml) et **0.37**

(mg/ml) pour les lectines purifié proche au lectines du **Spergularia-rubra-L Jet pest** et moin que **Inula viscosa leaves**.



Ces dernières années, de nombreux chercheurs ont été intéressés par les composés biologiquement actifs isolés des extraits de plantes, qui sont considérés comme de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

A l'issus de ce travail, une étude d'extraction de nouvelles lectines des espèces *Spergularia-rubra-L Jet pest* (Fleure), *Inula Viscosa leaves* (racine) et *linum usitatissimum* (graine) a été réalisée. La recherche des lectines à partir de notre plantes a conduit à une activité d'agglutination.

- Les extraits *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves* agglutinent avec tous les types de groupe sanguins humains, Alors sont généralement désignées comme non spécifique par contre L'extrait de *linum usitatissimum* montré une spécificité de groupe sanguin A.
- les lectines de *Spergularia-rubra-L Jet pest* et *linum usitatissimum* sont thermorésistants par rapport a l'extrait d'*Inula Viscosa leaves*.
- l'extrait de *Inula Viscosa leaves* et *linum usitatissimum* il sont différemment stables dans des pH neutre, alcalin et acide contrairement a l'extrait de *Spergularia-rubra-L Jet pest*
- La chromatographie sur colonne de séphadex G200 a donné un seul pic pour *Spergularia - rubra-L Jet pest* et *linum usitatissimum* et deux pic pour l'extrait d'*Inula Viscosa leaves*
- L'extrait de *Spergularia-rubra-L Jet pest* ont montré une inhibition avec tous les sucres testés sauf galactose et glucose, L'extrait de *linum usitatissimum* ont montré une inhibition avec trois sucres lactose, galactose, arabinose.
- La lectine de des *Spergularia-rubra L Jet pest* et *linum usitatissimum* Présente une inhibition vis à vis du calcium (**Ca<sup>2+</sup>**) et (**Mg<sup>2+</sup>**) donc une lectine **métalloprotéine**
- Les extraits ont présentées une activité antioxydant importante vis-à-vis de l'Acide ascorbique.
- Les perspectives à court terme de ce travail sont nombreuses.
  - La purification des lectines par chromatographie d'affinité et HPLC
  - la détermination des poids moléculaire des lectines par électrophorèse et leur séquençage
  - Des tests de l'activité antivirale,
  - l'activité anticancéreuse.



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

Alencar .N.M, Cavalcante CF, Vasconcelos .M.P, Leite KB, Aragao .K.S, Al-Khalil.S, Al-Eisawi.D et Fischer.N, (1992). Phytochemical analysis of Jordanian *Inula viscosa*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 6, PP :307-309 .

Alencar NM, Cavalcante CF, Vasconcelos MP, Leite KB, Aragao KS, Assreuy AM, Nogueira NA, Cavada BS and Vale MR. (2005). Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J Pharm Pharmacol*.(57) , 919-922.

Andrew S A, Randy C F, Xiuli D, Yau SC, Wenliang P, Tzi BN. (2014) .Purification and Characterization of a Glucosamine- Binding Antifungal Lectin from *Phaseolus vulgaris* cv. Chinese Pinto Beans with Antiproliferative Activity Towards Nasopharyngeal Carcinoma Cells. *Appl Biochem Biotechnol*.172, 672–686.

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

Assreury.A.M.S (1997) Anti-inflammatory effect of glucose-mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. *Mediators of inflammation* 6, 201-210.

Assreuy .A.M, Nogueira NA, Cavada BS and Vale MR. (2005). Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. *J Pharm Pharmacol*.(57) , 919-922.

Ayméric J-L, Lefranc G. (2009). *Immunologie Humaine*. De Boeck & Laccier S.A. Paris. 24.

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

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

**Barbetti.P,Chiappini.I, Fardella.GetMenghini.A, (1985),**A new eudesmane acid from *Inulaviscosa*,*PlantaMedica*PP: 51- 471 .

**Barouki R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* n°3.22, 266-72.

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

**Baytop.T,(1984).** Therapy with Medicinal Plants in Turkey.*SanalPress,Istambul.* P: 167.

**Beaudeau 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.

**Benayache.S, Benayach.F,Dendougui.H et Jay.M.(1991).** Les flavonoïdes d'*Inulaviscosa*L. *Plantes médicinales et phytothérapie.* Tome xxv, n°4, PP: 170-176.

**Bézanger-Beauquesne L.,Pinkas M., Torck M. et Trotin F. – (1980)** *Plantes médicinales des régions tempérées .*

**Béziat D, Courbil R, Faure C, Meudec J-M. (1996) .** La thérapeutique transfusionnelle comprendre pour réussir. *HEURES DE FRANCE* , 226.

**Boettner.D.R, Huston.C ,Petri.J.R, William.A.(2002).** Galactose/Nacétylgalactosamine lectin : the coordinator of host cell killing. *J. Biosci* 27 , 553-557.

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

**Bothan .M.B, Weil .K.R(2011).** *Biochimie de harper.* 4<sup>ème</sup> édition. DEBOECK ,510.

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

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

**Boullard Bernard . (2001)***Plantes médicinales du monde. Croyances et réalités,* estem,05042001.

**Boyd .W.C and Shapleigh E .(1954).** Specific precipitation activity of plantagglutinins (lectins). *Science.*119, 419.

**Boyd .W.C, Shapleigh E. (1945)** .Specific precipitation activity of plantagglutinins (lectins). Science 119 .4193  
**Sumner J. B. (1919)** The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. J. Biol. Chem. 37, 137-142.

**Brooker M. I. H. & Kleinig D.A. (2006)**.Field guide to Eucaliptus.Vol.1.South-eastern Australiathirdedition.Bloomings. Melbourne.

**Brooker.C. (2001)** .Le corps humain: étude, structure et fonction, le rôle infirmerdans la pratique clinique. 2ème édition .DE BOECK .196.

**Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget JP, Ravanat JL, Sanvaigo.(1999).**

Hydroxylradicals and DNA base damage. Mutat. 424, 9-21.

**Cavaillon J-M. (2005)** .Médiateurs de l'inflammation In Vincent J-L .MartinC. Sepsis sévère et choc septique. SPINGER-VERLAGE. France.23.

**Chabrol E, Fieschi F, Girard E. (2012)** . caractérisation structurale etfonctionnelle d'une lectines de type C des cellules de langerhans : la langérine. Chimie et sciences du vivant. Université de grenoble. 2012. pp 63-64.

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

**Chrispeels .M.J and Raikhel NV. (1991)** . Lectins, lectin genes, and their rolein plant defense. Plant Cell. 3, 1-9.

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

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

**Dam T.K and Brewer C.F. (2002)** . Thermodynamics of lectin-carbohydrateinteractions

by isothermal titration calorimetry. Chem. Rev.102, 387-429.

- Danic B, Lefrère J-J. (2011)** .La transfusion sanguine et le don de sang traité parle cinéma. *Hématologie* 17(16) ,402-409 .
- David Germanaud, Gilles Furelaud,** Groupes sanguins et conséquences médicales, *Planet Vie*,Dimanche 1 juin 2003[https://planet-vie.ens.fr/article/1523/groupes-sanguins-consequences medicale](https://planet-vie.ens.fr/article/1523/groupes-sanguins-consequences-medicale).
- De Hoff P.L, Brill LM, Hirsch AM. (2009)** .Plant lectins : the ties that bind inroot symbiois and plant defense. *Mol. Genet. Genomies* 282 , 1-5.
- Deeksha M, Sangha K, Khurana D S, Kaur G, Bala M, Singh B. (2015)** .Screening for Lectin Quantification in BrassicaSpp and VegetableCrops.*Journal of Environmental and AppliedBioresearch.* 3(1) , 20-24.
- Delatorre P et al. (2006).** Crystal structure of a lectin from Canavaliamaritima(ConM) in complex with trehalose and maltose reveals relevant mutation in ConA-like lectins. *J Struct Biol.* 154, 280-286.
- Delattre J. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris–newyork. pp 620.
- Devi.P.R., Kombiah. P., Sudhakar. R. G., Babu. G.** Purification AndCharacterization Of A Novel Lectin From GeotrupesStercorarius. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*,2014. 15 (2): 157-162.
- Diana XD. (1988).** Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responsein mice after long-term exposure to nickel sulfata in the drinking water . *Toxicol Environ Health.* 24(3), 357-72.
- Dole.AetLindeberg S. (2005).**Agrarian diet and diseases of affluence-doevolutionary novel dietrylectins cause leptin resistance.*Bio, mad central lid.doi .10.1186 ,1472-6823-5-10 .*
- Drickamer K. (1993 ) .** Ca<sup>2+</sup>-dependent carbohydrate-recognition domains inanimal proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3, 393-400.
- Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, KodjohN,Avimadj M.(2008).** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress.*Mitochondrial medicine.*Gvozdjakova A (ed) pp 19-43.

**E**delman .G.M, Cunningham B.A, Reeke G.N, Becker J.W, Waxdal M.Jand Wang J.L.

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

**Emsley.J, White H.E, O'Hara B.P, Oliva G, Srinivasan N, Tickle I.J, Blundell T.L, Pepys M.B and Wood S.P. (1994)** . Structure of pentameric human serum amyloid P component. Nature. 367, 338-345.

**Essig DA and Nosek TM. (1997)**. Muscle fatigue and induction of stress protein genes: actual 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.

**Etzler .M.E. (1986)**. Distribution and function of plant lectins in The lectins: properties, functions and applications in biology and medicine. Orlando (USA) : Liener IE, Sharon N, Goldstein IJ. Academic Press. Inc. pp 371-437.

**F**alasca A I. (1989) . Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of

Trichosanthes kirilowii Maximowicz. Febs Lett. 246(1-2), 159 -162.

**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.

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

**Fleurentin ,J.** Guérisseurs et plantes médicinales du Yémen. Au pays de l'encens, de l'aloès et du café », Chroniques yéménites [En ligne], 12 | 2004, mis en ligne le 10 septembre 2007, consulté le 28 mai 2018.

**G**abius. H.J, Springer W.R and Barondes S.H. (1985). Receptor for the cell binding site of

discoidin I. Cell. (42), 449-456.

- Galan P, Preziosi P, Triol I. (1997).** Antioxydant et prevention cahiers de nutrition et de diététique. 359-370.
- 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.
- Ghopskins W, Evrard C-M. (2003).** Physiologie Végétale. DE BOECK. 1<sup>ère</sup> édition , 104-105.
- Goker H, Haznedaroglu I.C, Ercetin S et al. (2008).** Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract ankaferd blood steeper. 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.
- Goldstein I.J , Hughes R.C , Monsigny M , Ozawa T & Sharon N.(1980).** What should be called a lectin? Nature.285, 60.
- Gomes B .S, Siqueira A. B .S, Maria R. C. C , Teisceira V G E H, Anuda F V S, Naximmento K.S.D, De Lima A.N, Souza-Motta M, Porto A L F. (2012).** Antifungal activity of lectins against yeast of vaginal secretion. Braz. J. Microbiol 43(2) ,770-778.
- Gomes J. (1994).** Histamine release induced by glucose (mannose) specific lectins isolated from Brazilian beans. Comparaison with concanavalin A. Agent Action . 41, 132-135 .
- Greer F, Brewer AC, Pusztai A. (1985).** Effect of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) toxin on tissue weight and composition and some metabolic functions of rats. Brit. J. Nutr. 54, 95 -103.
- Guénard H et al.(2001).** Physiologie humaine. 3<sup>ème</sup> édition. PARDEL , 497.
- Guillaume J. (1993).** Nutrition et Alimentation des Poisson et Crustacés. Terrain,396.
- Guillot .J, Guerry M, Kanska G, Caldefie-Chezet F, De Latour M and Penault-Llorca F. (2004).** Modification des glycoconjugués au cours du processus de cancérisation : cas des carcinomes mammaires. Bull Cancer. 91, 141-158.
- Gutteridge J. (1992).** Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free Rad Res Comm. 19, 598-620.

**H**ardman K.D and Ainsworth CF. (1972). Structure of concanavalin A at 2.4 Å resolution.

Biochemistry. 11, 4910-4919.

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

**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.

<http://scathcraft.wordpress.com/2016/07/24/inulla-visquese>.

**Hung Y, Tan J.M, Wang Z Y I S W, Hung X, Wang W, Ren Q.** (2014). Cloning and characterization of two different L-type lectin genes from the Chinese mitten crab *Eriocheirsinensis*. Dev. Comp. Immunol. 2014. 46, 255–266.

**I**mberty Anne. (2011). Les bactéries aiment nos sucres : approche structurale et thermodynamique des interactions protéines et glucides In « De la recherche à l'enseignement 8 Septembre 2012 ». Société Chimique de France. Paris Tech , 1-12.

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

**Imberty A, Mitchell EP and Wimmerová M.** (2005). Structural basis for high affinity glycan recognition by bacterial and fungal lectins. Curr. Opin. Struct. Biol.15, 525-534.

**J**. Presl & C. Presl, (1819) classification de *Spergularia rubra*.

**Jacques Béraud,** Le technicien d'analyses biologiques : guide théorique et pratique, Éditions TEC & DOC, Tours, 2001 (ISBN 2-7430-0404-5).

**Jaffe W.G. .**(1980). hemagglutinins (Lectins) . In toxic constituents of plant foodstuffs. New – York. Academic Press. pp 502.

**Jain D, Kaur K J, Salunke D M. (2001).**Plasticity in protein-peptide recognition: crystal structures of two different peptides bound to concanavalin A. *Biophys J.* 80 ,2912-2921.

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

**Jeyaprakash A A, Katiyar S, Swaminathan C P, Sekar K, Surolia A. (2003).** Structural basis of the carbohydrate specificities of jacalin: an X-ray and modeling study. *J Mol Biol.* 332,217-228.

**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.

**Kaminski P.A , Buffard D et Strosberg A D. (1987).** The pea lectin gene family contains only one functional gene. *Plant molec. Biol.* Vol. 9.N°5, pp 497-507.

**Karim.F, Al Oklah.A, Suleiman.S, Quraan.S(1990),** Poisonous Plants in Jordan. *Jordan Natural History Museum Irbid* P: 47 .

**Karim.F et Quraan.S, (1986).** Medicinal Plants of Jordan. *Jordan Natural History Museum, Irbid.* P: 65 .

**Kawsar S A, Aftabuddin S, Yasuimitsu H, Ozeki Y. (2010).** The cytotoxic activity of two D-galactose binding lectins purified from marine invertebrates. *Arch. Biol. Sci. Belgrade* 62(4), 1027-1034.

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

**Kindt.T, R. Goldsby, B. Osborne** (traduit de l'anglais par C. Fridman), *Immunologie : le cours de Janis Kuby*, Dunod, Paris, 2008 (6<sup>e</sup> édition) ([ISBN 978-2-10-051242-3](https://doi.org/10.1017/9782100512423)) .

**Koehler's Medicinal-plants.1887.**

**Kramer .K.U, Green PS (1990)** Les familles et les genres des plantes vasculaires, vol. 1 Pteridophytes et Gymnospermes. Springer-Verlag, Berlin, Allemagne.

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



**Kulkarni .S.R, Tayade V.J. (2013).** Bacteriostatic activity of CON A lectin from *Canavalia ensiformis*. *Indian J. Pharm. Biol. Res.* 1(4),59 -63.

**Laija. S. N., Mahesh. S., Smitha. L. S., Remani. P.** Isolation and partial characterization of two plant lectins. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2010. 2(4): 232-237.

**Lastra.C, Lopez.A, et Motiva.V,(1993),** Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*, 59.PP:497-501 .

**Lauro.L et Rolih.C(1990),** Observations and research on an extract of *Inula viscosa* , *Bollettino Societa Italiana Biological Sperimentale*, 66. PP: 829-834 .

**Lazo JS, Pitt BR. (1995).** Metallothionein and cell, death by anticancer drug. *Ann Rev*

**Leffler .H , Carlsson S, Hedlund .M, Qian Y and Poirier.F. (2004).** Introduction to galectins. *Glycoconj. J.* 19, 433-440.

**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.

**Lenka S, Imberty A, Jaroslave K. (2006).** modélisation moléculaire des lectines et des glycosyltransferases. *Biologie cellulaire. Université de Grenoble I. France.* pp 56- 58.

**Levine RL. (2002).** Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. *Free Radic Biol Med.* 32, 790-796.

**Liener I, Sharon N, Goldstein J. (1986).** The lectins Properties. Functions and Applications in biologie and medicine. *Academic Press INC. London LID.* pp 13-24.

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

**Lopez S. (2003).** Anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) activity of lectins from *Narcissus* species. *Planta medica.* 69 (2), 109-112 .

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

- Martínez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Bioch.* 77, 147-161.
- Meite A , Kauame .K.G , Kati-Coulibaly S. (2006).** Substances antinutritionnelles. *Méd.Nut* 42(4), 179-187.
- Milbury P E et Richer A C. (2008).** Understanding the Antioxidant Controversy. Ed: PRAEGER. pp 81-100.
- Montagnier L, Olivier R, Pasquier C. (1998).** Oxidative stress in cancer. AIDS, and neurodegenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* 22, 359-378.
- Mukherjee S , Zheng H , Derebe.M.G, Callenberg K M , Partch C L, Rollins D , Propheeter .D.C, Jiang .Q.X.(2014).** Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. *Nature.* 505, 103–107.
- Murdock.L.L, Shade.R.E .(2002).** Lectins and protease inhibitors as plant defenses against insect pests. *J.Agric. food. Chem.* 50 (22),6605-6611 .
- N**achbar .M.S , Oppenheim .J.D.(1980). 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.* 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, Bahi A, Merouane F, Bouadi H , Boulahrouf K.(2016).** Antioxydant ,Antiinflammatory and antimicrobial properties of new lectins purified from roots of Algerian plants: *Morus Nigra*, *Ruta Graveolens*, *Cyperus Rotundus* and *Pistacia Lentiscus*. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 5(2), 39-53.
- Necib Y, Bahi A, Merouane F ,Bouadi H , Boulahrouf K .(2015).** comparative study of a new lectin extracted from roots of plants: *Cyperus rotundus*, *Pistacia lentiscus* and *Ruta graveolens*. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 4(1), 1720-1733.
- Necib. Y., Bahi A ., Derri. N, Fateh Merouan. 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.

**O**dekanyin. 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.

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

**Parham P. (2000)**. Le système immunitaire. De BOECK Université ,340 .

**Peumans.W.J , Vandamme.J.M. (1995)**.lectine as plant defense proteins.*Plant Physiol*.109,347-352.

*Pharmacol Toxicol*. 35, 655-677.

Pierre.M,lys.M,Secrets des plantes pour se soigner naturellement Relié – 14 mars 2007, 978-2844165862.

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

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

**Poiroux G. (2011)**. 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.pp 35-50.

**Pontet M. (1996)**. Structure et activité biologique d'une nouvelle famille de lectines aniPrix.

**Powers SK , Lennon SL. (1999)**. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*. 58, 1025-1033.

**R**A, Liston A, Strauss.S.H (1998) Phylogénie et systématique de *Pinus*. Dans: Richardson DM (ed) *Ecologie et biogéographie de Pinus*. Cambridge University Press, Cambridge, Royaume-Uni, pp. 49-68. males: les galectines. *Immunoanal.Biol. Spéc* 11,297-305.

- Ramata N. (2010).** 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. PP 8- .
- Ramé A, Naccache P. (2001).** Transfusion sanguine. LAMARRE ,05 .
- Renato De A, Moreira. (1991).** Plant lectins, chemical and biological aspects. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. Vol. 86. Suppl. II, 211-218.
- Richard.H.T. (1998).** Application of lectin histochemistry and cytochemistry in diagnostic and prognosis. Methods molecular medicine 9 , 73-94.
- Robert K, Marry .M.D,PhD. (2008).** Les glycoprotéines in Biochimie de Harper. DEBOECK ,527.
- Roberts.D.L, Weix.D.J , Dahms.N.M and Kim.J.J.(1998).** Molecular basis of lysosomal enzyme recognition: three-dimensional structure of the cation-dependent mannose 6-phosphate receptor. Cell. 93, 639-648.
- Ronald L. Hartman & Richard K . Rabler 2012.** *Spergularia rubra*, in Jepson Flora Project (eds.) Jepson eFlora :<http://ucjeps.berkeley.edu/eflora/eflora-display.php?tid=45090>
- Roos A, Daha .M.R, Vanpelt J, Berger S P. (2007).** Lectine liant le mannose dans les maladies rénales. Flammarion-Médecine-Science-Actualités Néphrologiques 13 , 134- 157.
- Rudiger H and Gabius .H.J. (2001).** Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications. Glycoconj J . 18, 589-613.
- Rydz N, Swytun L L, Notley C , Paterson A D, Riches J J, Sponagle K , Booyawat B , Montgomery .R.R , James P D, Lillicrap D. (2013).** 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. 121, 5228–5237.
- Sankaranarayanan R , Sekar K , Banerjee R , Sharma V , Surolia A and Vijayan M. (1996).** A novel mode of carbohydrate recognition in jacalin, a Moraceae plant lectin with a b-prism fold. Nature Struct. Biol. 3, 596-603.

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

**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.

**Sharon .N and Halima, Lis. (2003).** Lectins. Kluwer Academic Publishers.

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

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

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

**Sharon N. (1996).** Carbohydrate-lectin interactions in infectious disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 408, 1-8.

**She Q B, NG T B, Liu W K A. (1998).** novel lectin with potent immunomodulatory activity isolated from both fruiting bodies and cultures mycelia of the edible mushroom *Volvarellae*. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* 247 , 106-111.

**Sies H. (1993).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Amer J of Med.* 91, 31S-38S.

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

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

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

**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.

**Somers WS , Tang J , Shaw GD and Camphausen RT. (2000).** Insights into the molecular basis of leukocyte tethering and rolling revealed by structures of P- and E-selectin bound to SLe<sup>x</sup> and PSGL-1. *Cell*. 103, 467-479.

**Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Acad. Sci. Paris, Ser. B*. 327, 649-662.

**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.

**Sumner J B, Howell SF. (1936).** Identification of hémagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. *J. Bacteriol*. 32(2), 227-237.

**Sumner J B. (1919).** The globulins of the Jack Bean, *Canavalia ensiformis*. *J. Biol. Chem*. 37, 137-142.

**Sutapa B M, Gopa R P. (2013).** Exploring plant lectins in diagnostic prophylaxis and therapy. *Journal of medicinal plants research*. 7(47), 3444-3451.

**Sze S C W, Ho J C K, Liu W K. (2004).** Volvariella volvacea lectin activates mouse T lymphocytes by a calcium dependent pathway. *J. Cell. Biochem*. 92, 1193-1202.

**Tanne A , Neyrolles O. (2010).** C-type lectins in immune defense against pathogens:

The murine DC-sign homologue signr3 confers early protection against Mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*. 1, 285-290.

**Topfer-Petersen E , Romero A , Varela PF , Ekhlesi-Hundrieser M, Dostalova Z, Sanz L and Calvete JJ. (1998).** Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. *Andrologia*. 30, 217-224.

**Transue T R , Smith A K , Mo H , Goldstein I J and Saper M A. (1997).** Structure of benzyl T-antigen disaccharide bound to *Amaranthus caudatus* agglutinin. *Nat. Struct. Biol*. 10, 779-783.

**V**aladez. V. C., Guzman. P. A., Javier Soto. C. F., Álvarez. M.G., 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.

**Vandamme E J, Peumans W J , Barre A, Rougé P.(1998)**. Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*.17(6) , 575-692.

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

**W**angh .N.G .T.G. (1998). Ribosome inactivating protein and lectin from bittermelon (*Momordica charantica*) seeds: sequence comparison with related protein. *Biochemical and biophysical research communication*.253, 143- 146.

**Weis W I , Brunger A T, Skehel J J and Wiley D C. (1990)**. Refinement of the influenza virus hemagglutinin by simulated annealing. *J Mol Biol*.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.

**Wenqiao Wang, B, H, Ben Daniel et Yigal Cohen (2004)** Control of Plant Diseases by Extracts of *Inula viscosa*, *Phytopathology*, PP: 1042-1047 .

**Wright.C.S and Hester G.(1996)**. The 2.0 Å structure of a cross-linked complex between snowdrop lectin and a branched mannopentaose: evidence for two unique binding models. *Structure*.4,1339-1352.

**X**u .S , Wang .L , Wang .X.W , Zhao Y R B I W J , Zhao X F , Wang J XL.(2014). Type lectin from the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* promotes hemocyte phagocytosis. *Dev. Comp. Immunol*. 2014. 44, 397–405.

**Y**aniv.Z, Dafni.A, Friedman.Jet Palvitch.D, (1987), Plants used for treatments of diabetes in Israel. *Journal of ethnopharmacology*,19.PP :145-151 .

**Yazer M, Olsson M, Palcic M (2006).** "The cis-AB blood group phenotype: fundamental lessons in glycobiology". *Transfus Med Rev.* 20 (3): 207–17. doi:10.1016/j.tmr.2006.03.002. PMID 16787828.

**Yeh .K.W, Chen.J.C, Lin .M.I , Chen .Y.M , Lin CY. (1997).** Functional activity of sporamin from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. *Plant Mol Biol.*33,565–570 .

**Yıldırım A, Mavi A, Oktay M, Kara AA, Algur OF, Bilalolu V.(2000).** Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tiliaargentea* Desf Ex DC), sage (*Salvia triloba* L) and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.*48, 5030-5034.

**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.

**Zhang .H , Peatman .E , Liu .H , Feng .T , Chen.L , Liu.Z.(2012).** 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 *Terfeziabouderei*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 50.



## Annexe 01 : Préparation du Tampon

Préparation de la solution tampon phosphate di-sodique PBS (0,1M ; pH 7, 4) Pour 5 litres

Produit chimique	Quantité
Disodium phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	0,435 g
Monosodium phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )	5 g
Chlorure de sodium (Na Cl)	45 g
Eau distillée	5 L

## Annexe 02: Préparation des saccharides.

- Préparation des saccharides

Sucre	Na Cl
0,1 g	1 ml

## Annexe 03 : Préparation des Métaux et Na Cl

- Préparation des métaux (0,1M)

Métaux	Quantité	NaCl
$\text{MgCl}_2$	0,095g	10 ml
$\text{Ca Cl}_2$	0,11g	10ml
$\text{Mn Cl}_2$	0,125g	10ml
$\text{Fe Cl}_2$	0,164g	10ml

- Préparation du Na Cl 0,9 M :

Na Cl	Eau distillée
0,9	0,1L

## Annexe 04 : Méthodes de dosage de l'activité antioxydante in vitro (SOD, Fer ferrique).

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

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

- 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 une longueur 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 :

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

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

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

### 2. Dosage de fer ferrique

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 chloride (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 suivant :

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

## 1. Dosage des protéines par la méthode de Lowry

La méthode de Lowry est une autre méthode de dosage colorimétrique des protéines, En milieu alcalin, fixation d'ions  $\text{Cu}^{2+}$  par chélation (en milieu alcalin,  $\text{Cu}^{2+}$  est stabilisé par du tartrate) sur les protéines et réaction de réduction de  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Cu}^+$ .

Mise en présence du milieu avec le réactif acide phosphomolybdo-tungstique de Folin, La présence de protéines et du  $\text{Cu}^+$ , en milieu acide, entraîne (par les aminoacides tryptophane, tyrosine, cystéine, cystine ...) la réduction du réactif de Folin en espèces moléculaires réduites colorées en bleu ( $\lambda_{\text{max}}$  vers 745-750 nm). En fait, la réaction est encore mal comprise. Selon la composition en aminoacides des protéines à doser, la capacité de réduction du réactif de Folin est plus ou moins importante.

### Mode opératoire

En tube :

- solution protéique 0,8 ml
- 4 ml de réactif cuproalcalin. Mélanger et attendre au moins 10 minutes à température ambiante.
- 0,4mL de réactif de Folin 1 N en agitant immédiatement chaque tube Incuber 30 minutes à température ambiante.
- Lire à 750 nm.

### La préparation de réactif cuproalcalin

Par trois solutions :

- Solution A : dissoudre 10g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (carbonate de sodium) a 2% dans 500mL de NaOH (0,1H)
- Solution B : dissoudre 0,05g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  a 1% dans l'eau distillée
- Solution C : 0,1g de tartrate double de potassium et sodium dans 2% dans l'eau distillée.

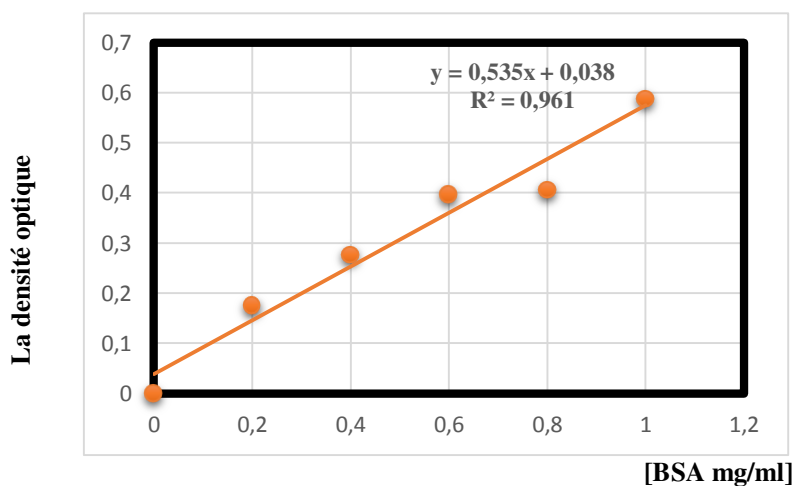
- a 96 ml de solution A, ajouter 2ml de solution B + 2ml de solution C

-Pour le réactif de Folin : solution commerciale 2 N diluée au 1/2

### Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

BSA.....1g

Tubes	1	2	3	4	5	6
<b>BSA (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>
<b>Eau distillée (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	<b>100</b>	<b>80</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>20</b>	<b>0</b>
<b>BA (ml)</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>BS (ml)</b>	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>	<b>0.4</b>



## L'étude comparative de Lectine extraite à partir de trois plantes *Spergularia -rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves* et *Linum usitatissimum*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliqué

### Résumé

Ce travail porte sur la recherche de la présence des lectines et la propriété biologique qui est l'activité antioxydante de fleurs de *Spergularia-rubra-L Jet pest* les racines de *Inula Viscosa leaves* et les graines de *linum usitatissimum* la présence des lectines dans les extraits de ces plantes a été effectuée par le test d'hémagglutination et leur étude biologique. L'extraction a été faite par broyage et macération dans une solution tampon. L'activité hémagglutinante de *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, *linum usitatissimum* a été 1:8 (256) et de 1:9(512) et de 1:8(256) respectivement, le traitement thermique des lectines *Spergularia-rubra-L Jet pest*, *Inula Viscosa leaves*, de 30°C jusqu'à 90°C n'a pas été suffisant pour leur inactivation (**thermorésistante**), par contre *linum usitatissimum* (**pas thermorésistante**). *Inula Viscosa leaves*, *linum usitatissimum* reste stable toute au long de gamme du pH testée de 1 jusqu'à 12 pendant une heure, par contre *Spergularia-rubra-L Jet* à [9 jusqu'à 11] l'agglutination est nulle, Le test d'inhibition a été effectué avec certains saccharides (**lactose, fructose, galactose, arabinose, maltose, glucose**) qui a montré que les lectines de *Spergularia-rubra-L Jet pest* a été spécifiques inhibé par tous les saccharides sauf galactose, glucose et *linum usitatissimum* a été spécifiquement inhibé par: **lactose, galactose et arabinose**. Pour le test d'ABO les lectines de *linum usitatissimum* agglutine l'hématie de groupe A et AB seulement (**spécifique**). Les lectines de *Spergularia-rubra-L Jet pest* et *linum usitatissimum* présente une inhibition vis à vis du calcium (Ca<sup>2+</sup>) et magnésium (Mg<sup>2+</sup>) **métalloprotéine**. La purification sur colonne de Séphadex G200 ont montrés un seul pic pour de *Spergularia-rubra-L Jet pest* et *linum usitatissimum* et deux pic pour *Inula Viscosa leaves*. Les méthodes appliquées pour mesurer l'activité antioxydant in vitro sont: le test du SOD (superoxyde dismutase) et le fer ferrique. L'évaluation de l'activité antioxydant par le test du SOD, a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait de *Inula viscosa leaves* puis *linum usitatissimum* et *Spergularia-rubra L Jetpest*. Pour le teste du Fer ferrique a révélé un grand pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait de *linum usitatissimum* puis *Inula viscosa leaves* et finalement *Spergularia-rubra L Jetpest* Pour le dosage des protéines La plante qui donne la concentration des protéines la plus élevée c'est **Inula viscosa leaves** puis *Spergularia-rubra L Jetpest* et *linum usitatissimum*

**Mots clés :** plantes médicinales, lectines, hémagglutinante, système ABO, inhibition, monosaccharide, activité antioxydant, piégeage des radicaux libres, SOD, fer ferrique

**Laboratoire de recherche :** BIOCHIME.

Jury d'évaluation :

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

**Date de soutenance :** 01/07/2018

